

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4090689号
(P4090689)

(45) 発行日 平成20年5月28日 (2008. 5. 28)

(24) 登録日 平成20年3月7日 (2008. 3. 7)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 1 D 3/386 (2006. 01)	C 1 1 D 3/386
C 1 1 D 3/39 (2006. 01)	C 1 1 D 3/39
C 1 2 N 9/24 (2006. 01)	C 1 2 N 9/24
C 1 2 N 9/50 (2006. 01)	C 1 2 N 9/50

請求項の数 12 (全 72 頁)

(21) 出願番号	特願2000-509797 (P2000-509797)	(73) 特許権者	590005058
(86) (22) 出願日	平成10年6月10日 (1998. 6. 10)		ザ プロクター アンド ギャンブル カ
(65) 公表番号	特表2001-515130 (P2001-515130A)		ンパニー
(43) 公表日	平成13年9月18日 (2001. 9. 18)		アメリカ合衆国オハイオ州, シンシナティ
(86) 国際出願番号	PCT/US1998/012023		ー, ワン プロクター アンド ギャンブ
(87) 国際公開番号	W01999/009130		ル ブラザ (番地なし)
(87) 国際公開日	平成11年2月25日 (1999. 2. 25)	(74) 代理人	100064285
審査請求日	平成17年5月10日 (2005. 5. 10)		弁理士 佐藤 一雄
(31) 優先権主張番号	97870120.9	(74) 代理人	100067079
(32) 優先日	平成9年8月14日 (1997. 8. 14)		弁理士 小野寺 捷洋
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100091487
			弁理士 中村 行孝
		(74) 代理人	100094640
			弁理士 紺野 昭男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マンナナーゼおよびペルカーボネートを含んだ洗剤組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

全組成物の 0. 0 0 0 1 ~ 2 重量% の *Bacillus agaradherens* 由来のマンナナーゼ酵素および 0. 1 ~ 5 0 重量% のペルカーボネートを含んでなる洗剤組成物。

【請求項 2】

マンナナーゼが全組成物の 0. 0 0 0 5 ~ 0. 5 重量% のレベルで存在している、請求項 1 に記載の洗剤組成物。

【請求項 3】

マンナナーゼが全組成物の 0. 0 0 1 ~ 0. 0 2 重量% のレベルで存在している、請求項 1 または 2 に記載の洗剤組成物。

【請求項 4】

ペルカーボネートが全組成物の 0. 5 ~ 3 5 重量% のレベルで存在している、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の洗剤組成物。

【請求項 5】

ペルカーボネートが全組成物の 1 ~ 2 5 重量% のレベルで存在している、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の洗剤組成物。

【請求項 6】

ペルカーボネートが 2 5 0 ~ 9 0 0 μm の平均粒径を有している、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の洗剤組成物。

【請求項 7】

プロテアーゼ酵素を更に含んでいる、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の洗剤組成物。

【請求項 8】

プロテアーゼ酵素が、IUPAC 分類 EC3.4.-.- からのプロテアーゼである、請求項 7 に記載の洗剤組成物。

【請求項 9】

プロテアーゼ酵素が、IUPAC 分類 EC3.4.21.-からのエンド - セリンプロテアーゼである、請求項 8 に記載の洗剤組成物。

【請求項 10】

プロテアーゼ酵素が、IUPAC 分類 EC3.4.21.62 からのズブチリシンプロテアーゼである、請求項 9 に記載の洗剤組成物。 10

【請求項 11】

しみ抜きおよび／または白さ維持向けの、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載された組成物の使用。

【請求項 12】

マンナン含有化粧品および食物しみの除去向けの、請求項 11 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の分野】

本発明は、マンナーゼおよびペルカーボネートを含んでなる洗剤組成物に関する。 20

【0002】

【発明の背景】

ペルボレートは、過酸化水素放出メカニズムにより有効酸素を供する洗濯または皿用の添加物として、当業界では周知である。ペルボレートは、その高性能さとその魅力的なコストのために、洗濯または皿用の洗剤で広く用いられている。

【0003】

しかしながら、ペルボレートから過酸化水素の放出中に形成される副産物、即ちメタボレート誘導体、デンプンのような糖ポリマーとの複合体は、クリーニング上のマイナス要因となることが、当業界で認識されている（EP - A - 736, 085）。グアーガムのようなマンノースポリマーもペルボレートと架橋して、食物または化粧品のしみをペルボレート含有洗剤で除去することを一層難しくさせることが、意外にもわかった。加えて、グアーガムとのペルボレート架橋はこのようなガム／ボレート複合体基質に対する酵素の活性を減少させることが、意外にもわかった。 30

【0004】

實際上、食物および化粧品のしみ／汚れは大部分の消費者関連しみ／汚れを代表しており、増粘剤／安定剤のような食品添加物もよく含んでいる。確かに、親水コロイドガムおよび乳化剤は常用されている食品添加物である。“ガム”という用語は工業的に有用な多糖類（長鎖ポリマー）またはそれらの誘導体のグループを表しており、熱または冷水中で水和して粘稠な溶液、分散液またはゲルを形成する。ガムは天然および改質品として分類される。天然ガムには、海草抽出物、植物滲出物、種子または根からのガム、および微生物発酵により得られるガムがある。改質（半合成）ガムには、セルロースおよびデンプン誘導体、およびある合成ガム、例えば低メトキシシルベクチン、プロピレングリコールアルギネート、およびカルボキシメチルおよびヒドロプロピルグアーガムがある（Gums in Encyclopedia Chemical Technology 4thEd., Vol.12, pp.842-862, J.Baird, Kelco division of Merck）。R.L.Whistler and J.N.BeMiller による Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (Eagan Press - 1997), Chap.4, pp.63-89 および P.Laslo による Direct Food Additives in Fruit Processing, Bioprinciples and Applications, Vol.1, Chapter II, pp.313-325 (1996) Technomic publishing も参照。これらガムのうち一部、例えばグアーガム（E412）、ローカストビーン（イナゴマメ）（E410）は、多くの食品分野に単独でまたは組合せて広く用いられている（Gums in ECT 4thEd., Vol.12, pp.842-862, J.Bair 40 50

d, Kelco division of Merck)。

【0005】

これらの食物および化粧品しみに用いられているグアーガムは、マメ科植物 *Cyamopsis tetragonoloba* の種子内乳から得られる。双子葉植物種子から抽出されたグアーガム（グラランとも称される）は 1 - 4, b - D - マンノピラノシル単位主鎖から構成されており、ドレッシングおよび冷凍製品および化粧品で増粘剤として用いられている（H. -D. Belitz, Food Chemistry, pp. 243, English version of the second edition, Springer-verlag, 1987, ISBN 0-387-15043-9 (US)) & (Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, R. L. Whistler, eagan press, 1997, ISBN 0-913250-92-9) & (Industrial Gum, second editions, R. L. Whistler, pp. 308, Academic Press, 1973, ISBN 0-12-74-6252-x)。イナゴマメガム（キャロブ・ビーン (carob bean) ガムまたは St Jon's bread と称される）も食品産業で用いられており、地中海地方で栽培されている常緑植物の種子から抽出される。イナゴマメガムはそれより少数の D - ガラクトシル側鎖ということのみでグアーガムの構造とはおそらく異なっており、同様の 1 - 4, b - D - マンノピラノシル主鎖を有している。マメ科植物種子では、水溶性ガラクトマンナンが主要な貯蔵炭水化物であって、一部の場合には全乾燥重量の 20% 以内を占めている。ガラクトマンナンはマンノース残基の O - 6 に α - ガラクトースを連結させており、それはマンノース残基の O - 2 および O - 3 で様々な程度にアセチル化させることもできる。

10

【0006】

加えて、漂白しうるしみに対するペルカーボネートの作用は、当業界で広く知られている。ペルカーボネートから放出される活性成分、即ち H_2O_2 は、ボレート物質の放出ではなく、ペルボレートから放出される活性成分と同一である。特に特定レベルにおける、ペルカーボネートとマンナーゼとの併用は、特に低温で、マンナンを含んだ食物および化粧品しみのような異なるしみて相乗的な除去性を発揮することが、意外にも発見された。特定レベルでペルカーボネート／マンナーゼ／プロテアーゼからなる三元系では、上記のしみに対してより良い結果を示すことが、更にわかった。

20

【0007】

マンナーゼはいくつかの *Bacillus* 生物で同定された。例えば、Talbot et al., Appl. Environ. Microbiol., vol. 56, No. 11, pp. 3505-3510 (1990) は、162 kDa の MW および 5.5 ~ 7.5 の至適 pH を有したダイマー形をとる、*Bacillus stearothermophilus* 由来の β - マンナーゼについて記載している。Mendoza et al., World J. Microbiol. Biotech., Vol. 10, No. 5, pp. 551-555 (1994) は、38 kDa の MW、pH 5.0 / 5.5 °C で至適活性および 4.8 の pI を有した *Bacillus subtilis* 由来の β - マンナーゼについて記載している。J0304706 は、ゲルろ過により測定すると 37+ / - 3 kDa の MW、8 ~ 10 の至適 pH および 5.3 ~ 5.4 の pI を有した *Bacillus* sp. 由来の β - マンナーゼについて開示している。J63056289 はアルカリ性で熱安定性な β - マンナーゼの産生について記載しており、これは例えばマンナンの β - 1, 4 - D - マンノピラノシド結合を加水分解して、マンノオリゴ糖を産生する。J63036774 は、アルカリ性 pH で β - マンナーゼおよび β - マンノシダーゼを産生する *Bacillus* 微生物 FERM P - 8856 に関する。*Bacillus amyloliquefaciens* からの精製マンナーゼと、パルプおよび紙の漂白に有用なその調製方法は、WO97 / 11164 で開示されている。WO91 / 18974 は、極度の pH および温度で活性なグルカナーゼ、キシラナーゼまたはマンナーゼのようなヘミセルラーゼ、およびその産生法について記載している。WO94 / 25576 は、*Aspergillus aculeatus* CBS 101.43 由来のマンナーゼ活性を示す酵素について記載しており、これは植物または藻類細胞壁物質の分解または改質が望まれる様々な目的で用いられる。WO93 / 24622 はリグノセルロースパルプを漂白するための、*Trichoderma reesei* から単離されたマンナーゼについて開示している。

30

40

【0008】

しかしながら、洗剤組成物で優れたクリーニング性能、即ち特にマンナン含有化粧品およ

50

び食物のしみに対する優れたしみ抜き、黒ずみクリーニングおよび白さ維持向けの、マンナナーゼおよびペルカーボネートの相乗的組合せは、以前に認識されていなかった。

加えて、洗剤組成物で優れたクリーニング性能、即ち優れたしみ抜き、黒ずみクリーニングおよび白さ維持向けの、マンナナーゼおよびペルカーボネートおよびプロテアーゼの相乗的組合せも、以前に認識されていなかった。

【0009】

【発明の要旨】

本発明は、マンナナーゼおよびペルカーボネートを含んでなる洗剤組成物に関する。これらの組成物は、優れたクリーニング性能、即ち特にマンナン含有化粧品および食物のしみに対する優れたしみ抜き、黒ずみクリーニングおよび白さ維持を発揮する。

10

【0010】

【発明の具体的な説明】

本発明の洗剤組成物の必須要素はマンナナーゼ酵素である。マンナナーゼの使用は、グアーガムのような親水コロイドガムを含有した化粧品および食物しみのようなしみに対して、有意のしみ抜き効果を発揮する。

【0011】

我々は、ペルボレートおよびマンナナーゼの組合せが限定的な性能効果を発揮することを、意外にも発見した。この限定的な性能は、しみに含まれる親水コロイドガムと架橋するメタボレートの存在に起因していると考えられる。逆に、ペルカーボネート、即ちメタボレート誘導体の形成なしに有効酸素を供する物質の使用は、本発明のマンナナーゼと組み合わせると、顕著な相乗的クリーニング性を発揮することがわかった。

20

【0012】

したがって、本発明は、ペルカーボネートと組み合わせたマンナナーゼ酵素の使用に関する。この組合せは、グアーガムまたはローカストビーンガム（イナゴマメガム）のようなマンナナーゼ感受性親水コロイドガムを含有した食物および化粧品のしみて、顕著な相乗的ホワイトニングおよび／またはしみ抜き効果を発揮する。理論に拘束されることなく、ペルカーボネート漂白剤はしみに存在するガムと複合化せず、そのため酵素および／または漂白剤を上記のしみに接近させやすくしていると考えられる。しかも、この相乗効果は、a) 架橋せずにガム含有しみの発色原を漂白するペルカーボネートの使用、およびb) より可溶性の小さな残渣を形成させて、衣類のコットン表面に高い親和性を有することが知られた親水コロイド残渣の高度な除去を行えるような、親水コロイドポリマーに対するマンナナーゼの作用に起因していると考えられる。加えて、相乗作用は、水和グアーガムとの架橋剤として作用することが知られたボレートイオンの不存在によると考えられる（Industrial Gum, second editions, R.L. Whistler, pp.317, Academic Press, 1973, ISBN, 0-12-74-6252-x 参照）。

30

【0013】

マンナナーゼ酵素

本発明の洗剤組成物の必須要素はマンナナーゼ酵素である。

下記3種のマンナン分解酵素が本発明に包含される：EC 3.2.1.25：β - マンノシダーゼ、EC 3.2.1.78：エンド - 1, 4 - β - マンノシダーゼ（以下“マンナナーゼ”と称される）および EC 3.2.1.100：1, 4 - β - マンノビオシダーゼ（IUPAC Classification - Enzyme nomenclature, 1992, ISBN 0-12-227165-3, Academic Press）。

40

【0014】

更に好ましくは、本発明の洗剤組成物は、マンナナーゼと称されるβ - 1, 4 - マンノシダーゼ（EC 3.2.1.78）を含んでいる。“マンナナーゼ”および“ガラクトマンナナーゼ”という用語は、公にはマンナン エンド - 1, 4 - β - マンノシダーゼと称され、β - マンナナーゼおよびエンド - 1, 4 - マンナナーゼという別称を有して、次の反応：マンナン、ガラクトマンナン、グルコマンナンおよびガラクトグルコマンナンにおける1, 4 - β - D - マンノシド結合のランダム加水分解を触媒するとして当業界に従い定義された、マンナナーゼ酵素を表している。

50

【0015】

特に、マンナーゼ（EC3.2.1.78）はマンナンを分解するポリサッカラーゼのグループを構成しており、マンノース単位を有したポリオース鎖を開裂しうる、即ちマンナン、グルコマンナン、ガラクトマンナンおよびガラクトグルコマンナンのグルコシド結合を開裂しうる酵素を表している。マンナンは β -1, 4-結合マンノースから構成される主鎖を有した多糖であり、グルコマンナンは主鎖または多少規則的に交互に β -1, 4-結合マンノースおよびグルコースを有した多糖であり、ガラクトマンナンおよびガラクトグルコマンナンは α -1, 6-結合ガラクトース側鎖を有したマンナンおよびグルコマンナンである。これらの化合物はアセチル化してもよい。

【0016】

ガラクトマンナンおよびガラクトグルコマンナンの分解はガラクトース側鎖の全体的または部分的な除去により促進される。更に、アセチル化されたマンナン、グルコマンナン、ガラクトマンナンおよびガラクトグルコマンナンの分解は、全体的または部分的な脱アセチル化により促進される。アセチル基はアルカリまたはマンナンアセチルエステラーゼにより除去できる。マンナーゼから、あるいはマンナーゼと α -ガラクトシダーゼおよび/またはマンナンアセチルエステラーゼとの組合せにより放出されたオリゴマーは、 β -マンノシダーゼおよび/または β -グルコシダーゼにより遊離マルトースを放出させるために、更に分解させることができる。

【0017】

マンナーゼがいくつかのBacillus生物で同定された。例えば、Talbot et al., Appl. Environ. Microbiol., Vol. 56, No. 11, pp. 3505-3510 (1990)は、162 kDaの分子量および5.5~7.5の至適pHを有したダイマー形で、Bacillus stearothermophilus 由来の β -マンナーゼについて記載している。Mendoza et al., World J. Microbiol. Biotech., Vol. 10, No. 5, pp. 551-555 (1994)は、38 kDaの分子量、pH 5.0および55℃で至適活性、および4.8のpIを有した、Bacillus subtilis 由来の β -マンナーゼについて記載している。JP-0304706は、ゲルろ過により測定すると373 kDaの分子量、8~10の至適pHおよび5.3~5.4のpIを有した、Bacillus sp. 由来の β -マンナーゼについて開示している。JP-63056289はアルカリ性で熱安定性な β -マンナーゼの産生について記載しており、これは例えばマンナンの β -1, 4-D-マンノピラノシド結合を加水分解して、マンノオリゴ糖を産生する。JP-63036774は、アルカリ性pHで β -マンナーゼおよび β -マンノシダーゼを産生するBacillus微生物FERM P-8856に関する。JP-08051975は、好アルカリ性Bacillus sp. AM-001からのアルカリ性 β -マンナーゼについて開示している。パルプおよび紙の漂白に有用なBacillus amyloliquefaciensからの精製マンナーゼ、およびその調製方法は、WO97/11164で開示されている。WO91/18974は、極度のpHおよび温度で活性なグルカナーゼ、キシラナーゼまたはマンナーゼのようなヘミセルラーゼについて記載している。WO94/25576は、マンナーゼ活性を示す、Aspergillus aculeatus CBS 101.43由来の酵素について開示しており、これは植物または藻類細胞壁物質の分解または改質に有用なことがある。WO93/24622は、リグノセルロースパルプを漂白するために有用な、Trichoderma reeseiから単離されたマンナーゼについて開示している。マンナン含有ヘミセルロースを分解しうるヘミセルラーゼはWO91/18974で記載されており、Bacillus amyloliquefaciensからの精製マンナーゼはWO97/11164で記載されている。

【0018】

詳しくは、このマンナーゼ酵素は下記のようなアルカリ性マンナーゼ、最も好ましくは細菌源に由来したマンナーゼである。特に、本発明の洗剤組成物は、Bacillus agardherens および/またはBacillus subtilis 株168、遺伝子yght由来のマンナーゼから選択されるアルカリ性マンナーゼを含んでいる。

“アルカリ性マンナーゼ酵素”という用語は、7~12、好ましくは7.5~10.5の所定pHで、その最大活性の少なくとも10%、好ましくは少なくとも25%、更に好まし

10

20

30

40

50

くは少なくとも40%の酵素活性を有する酵素を含めた意味である。

【0019】

最も好ましくは、本発明の洗剤組成物は*Bacillus agaradherens* 由来のアルカリ性マンナーゼを含んでいる。そのマンナーゼは

- i) *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 により産生されるポリペプチド
- ii) SEQ ID NO: 2 の32 - 343 位で示されたようなアミノ酸配列を含んだポリペプチド、または
- iii) 上記ポリペプチドと少なくとも70%相同的であるか、あるいは1つまたはいくつかのアミノ酸の置換、欠失または付加により上記ポリペプチドから誘導されたか、あるいは精製形で上記ポリペプチドに対するポリクローナル抗体と免疫反応性である、i) またはii) で規定されたポリペプチドのアナログである。

10

【0020】

本発明は

- (a) マンナーゼ活性を有して、SEQ ID NO: 1 のヌクレオチド97 - ヌクレオチド1029 で示されたようなヌクレオチドの配列を含んだポリペプチドについてコードしているポリヌクレオチド分子；
 - (b) (a) の種ホモログ；
 - (c) SEQ ID NO: 2 でアミノ酸残基32 - アミノ酸残基343 のアミノ酸配列と少なくとも70%同一である、マンナーゼ活性を有したポリペプチドについてコードしているポリヌクレオチド分子；
 - (d) (a)、(b) または (c) と相補的な分子；および
 - (e) (a)、(b)、(c) または (d) の縮重ヌクレオチド配列
- からなる群より選択される、マンナーゼ活性を有した単離ポリペプチドにも関する。

20

【0021】

本発明のマンナーゼについてコードするポリヌクレオチド分子 (DNA 配列) を含んだプラスミド pS J 1678 は *Escherichia coli* の株中に組み込まれて、Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Federal Republic of Germany に、特許出願のための微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に従い、1998年5月18日付で寄託番号DSMZ 12180として本発明者らにより寄託された。

30

【0022】

第二の最も好ましい酵素は*Bacillus subtilis* 株168由来のマンナーゼであり、そのマンナーゼは

- i) SEQ ID NO: 5 で示されたDNA配列のコード部分またはその配列のアナログによりコードされている、および／または
- ii) SEQ ID NO: 6 で示されたようなアミノ酸配列を含んだポリペプチド、または
- iii) 上記ポリペプチドと少なくとも70%相同的であるか、1つまたはいくつかのアミノ酸の置換、欠失または付加により上記ポリペプチドから誘導されたか、あるいは精製形で上記ポリペプチドに対するポリクローナル抗体と免疫反応性である、ii) で規定されたポリペプチドのアナログである。

40

【0023】

本発明は

- (a) マンナーゼ活性を有して、SEQ ID NO: 5 で示されたようなヌクレオチドの配列を含んだポリペプチドについてコードしているポリヌクレオチド分子；
- (b) (a) の種ホモログ；
- (c) SEQ ID NO: 6 のアミノ酸配列と少なくとも70%同一である、マンナーゼ活性を有したポリペプチドについてコードしているポリヌクレオチド分子；
- (d) (a)、(b) または (c) と相補的な分子；および
- (e) (a)、(b)、(c) または (d) の縮重ヌクレオチド配列

50

からなる群より選択される、マンナナーゼ活性を有した単離ポリペプチドにも関する。

【0024】

定義

更に詳しく本発明を説明する前に、下記の用語が最初に定義される：

“オルトログ”(ortholog)(または“種ホモログ”)という用語は、異なる種の類似ポリペプチドまたはタンパク質と相同性を有した、ある種から得られるポリペプチドまたはタンパク質を示している。

“パラログ”(paralog)という用語は、同種の別なポリペプチドまたはタンパク質と相同性を有した、所定の種から得られるポリペプチドまたはタンパク質を示している。

【0025】

“発現ベクター”という用語は、その転写に関与する追加セグメントと作動可能に連結された、目的のポリペプチドについてコードするセグメントを含んだ、線状または環状のDNA分子を示している。このような追加セグメントにはプロモーターおよびターミネーター配列があり、1以上の複製起点、1以上の選択マーカー、エンハンサー、ポリアデニル化シグナルなどを場合により含むこともある。発現ベクターはプラスミドまたはウイルスDNAから通常誘導されるか、あるいは双方の要素を含んでいてもよい。本発明の発現ベクターは組換えDNA操作にうまく付せるいかなる発現ベクターであってもよく、ベクターの選択はそのベクターが導入される宿主細胞によく依存する。そのため、ベクターは自律複製ベクター、即ち余分な染色体部分として存在するベクター(その複製は染色体複製と独立している)、即ちプラスミドであってもよい。一方、ベクターは、宿主細胞中に導入されたときに宿主細胞ゲノム中に組み込まれて、それが組み込まれた染色体と一緒に複製されるものであってもよい。

ポリペプチドまたはタンパク質の発現に関連して本明細書で用いられる“組換え発現された”または“組換えで発現された”という用語は、当業界の標準定義に従い定義される。タンパク質の組換え発現は、すぐ上で記載されたように発現ベクターを用いることにより通常行われる。

【0026】

“単離された”という用語は、ポリヌクレオチド分子にあてはめたときには、そのポリヌクレオチドがその自然遺伝子環境から取り出されて、他の外来または望んでいないコード配列を含まずに、遺伝子工学処理されたタンパク質産生系内での使用に適した形をとっていることを示している。このような単離分子はそれらの自然環境から離されたものであり、cDNAおよびゲノムクローンがある。本発明の単離DNA分子はそれらが通常伴う他の遺伝子を含んでいないが、プロモーターおよびターミネーターのような天然5'および3'非翻訳領域を含んでいてもよい。随伴領域として何があるかは当業者に明らかであろう(例えば、Dynan and Tijan, Nature, 316, 774-78, 1985参照)。

【0027】

“単離ポリヌクレオチド”という用語は、“クローン化ポリヌクレオチド”と別称することもある。タンパク質/ポリペプチドにあてはめたときには、“単離された”という用語は、そのタンパク質がその自然環境以外の状況下でみられることを示している。好ましい形態において、単離されたタンパク質は他のタンパク質、特に他の相同的タンパク質(即ち、“相同的不純物”(下記参照))を実質的に含んでいない。40%以上の純粋形、更に好ましくは60%以上の純粋形でタンパク質を供することが好ましい。更に一層好ましくは、高度に純粋な形で、即ちSDS-PAGEで調べると、純度80%以上、更に好ましくは純度95%以上、更に一層好ましくは純度99%以上でタンパク質を供することが好ましい。“単離タンパク質/ポリペプチド”という用語は、“精製タンパク質/ポリペプチド”と別称することもある。

“相同的な不純物”という用語は、本発明のポリペプチドが元々得られた相同的細胞に由来した不純物(例えば、本発明のポリペプチド以外のポリペプチド)を意味している。特定の微生物源に関連して本明細書で用いられている“から得られた”という用語は、ポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドが特定の供給源によりまたはその供給源の遺伝子

10

20

30

40

50

が挿入された細胞により産生されていることを意味している。

“作動可能に連結された”という用語は、DNAセグメントに関するとき、そのセグメントが意図した目的に沿って機能するように配列され、例えば転写がプロモーターで始まり、コードセグメントからターミネーターへと進むことを示している。

【0028】

“ポリヌクレオチド”という用語は、5'から3'末端へと読まれるデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド塩基の一本鎖または二本鎖ポリマーを示している。ポリヌクレオチドにはRNAおよびDNAを含み、天然源から単離されるか、インビトロで合成されるか、または天然および合成分子の組合せから作製される。

“ポリヌクレオチド分子の相補体”という用語は、対照配列と比較して相補的な塩基配列および逆の配向を有したポリヌクレオチド分子を示している。例えば、配列5' A T G C A C G G G 3'は5' C C C G T G C A T 3'と相補性である。

“縮重ヌクレオチド配列”という用語は、(ポリペプチドをコードする対照ポリヌクレオチド分子と比較して) 1以上の縮重コドンを含んだヌクレオチドの配列を示している。縮重コドンはヌクレオチドの異なるトリプレットを有していながら、同様のアミノ酸残基をコードしている(即ち、G A UおよびG A Cトリプレットは各々A s pをコードしている)。

【0029】

“プロモーター”という用語は、RNAポリメラーゼの結合および転写の開始に関与するDNA配列を有した遺伝子の部分を示している。プロモーター配列は、通常、但し必ずではないが、遺伝子の5'非コード領域でみられる。

“分泌シグナル配列”という用語は、もっと大きなポリペプチドの要素として、それが合成される細胞の分泌経路を介して、その大きなポリペプチドを指図するポリペプチド(“分泌ペプチド”)をコードするDNA配列を示している。大きなペプチドは、分泌経路を経た移行中に分泌ペプチドを取除くように通常開裂される。

【0030】

他の関連配列を得るために本発明の配列を用いる方法

本発明のマンナナーゼをコードするポリヌクレオチド配列に関して本明細書で開示された配列情報は、他の相同的なマンナナーゼを同定するための手段として用いることができる。例えば、ポリメラーゼ鎖反応(PCR)は、様々な微生物源の、特に異なるBacillus種の他の相同的なマンナナーゼをコードする配列を増幅させるために用いることができる。

【0031】

活性試験用のアッセイ

マンナナーゼ活性を有する本発明のポリペプチドは、当業界で知られる標準試験操作に従い、例えば0.2% A Z C Lガラクトマンナン(キャロブ)、即ち3グラム当たりUS\$ 110.00でMegazyme社からCat No.1-AZGMAとして市販されているエンド-1, 4-β-D-マンナナーゼのアッセイ向け基質(Megazyme's Internet address: <http://www.megazyme.com/Purchase/index.html>)を含有した、寒天プレートに設けられた4mm径ホールに、試験すべき溶液を入れて、マンナナーゼ活性について試験される。

【0032】

ポリヌクレオチド

本発明の単離ポリヌクレオチドは、少なくとも中度の厳密な条件下で、SEQ ID NO. 1またはそれと相補的な配列の類似サイズ領域とハイブリッド形成する。

特に、本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも中度の厳密な条件下で、但し好ましくは以下で詳細に記載されたような高度に厳密な条件下で、SEQ ID NO. 1の97-1029位で示された全配列を含んだ変性二本鎖DNAプローブ、または少なくとも約100塩基対の長さを有するSEQ ID NO. 1のサブ配列を含んだプローブとハイブリッド形成する。ヌクレオチドプローブと相同的DNAまたはRNA配列との中度または高度の厳密な条件下におけるハイブリッド形成を調べるために適した実験条件は、5×SSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム、Sambrook et al., 1989)中で10分間にわたる

10

20

30

40

50

、ハイブリッド形成させるDNAフラグメントまたはRNAを含有したフィルターの前浸漬、 $5\times$ SSC、 $5\times$ デンハート溶液 (Sambrook et al.,1989)、0.5% SDSおよび変性超音波処理サケ精子DNA 100 μ g/ml (Sambrook et al.,1989) の溶液中におけるフィルターのプレハイブリッド形成、その後濃度 10 ng/ml のランダムプライム化 (Feinberg, A.P. and Vogelstein, B. (1983) Anal. Biochem. 132:6-13)、 ^{32} P - dCTP 標識 (1×10^9 cpm/ μ g 以上の比活性) プローブを含有した同溶液中約 45℃で12時間にわたるハイブリッド形成からなる。次いで、そのフィルターは、少なくとも60℃ (中度の厳密さ)、更に好ましくは少なくとも65℃ (中度/高度の厳密さ)、更に一層好ましくは少なくとも70℃ (高度の厳密さ) 更になお一層好ましくは少なくとも75℃ (非常に高度の厳密さ) において、 $2\times$ SSC、0.5% SDSで30分間にわたり2回洗浄する。オリゴヌクレオチドプローブがこれらの条件下でハイブリッド形成する分子は、x線フィルムを用いて検出される。

10

【0033】

前記のように、本発明の単離ポリヌクレオチドにはDNAおよびRNAがある。DNAおよびRNAを単離するための方法は当業界で周知である。目的の遺伝子をコードするDNAおよびRNAは、当業界で公知の方法により、Gene Bank またはDNAライブラリーでクローニングすることができる。

次いで、本発明のマンナナーゼ活性を有したポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、例えばハイブリッド形成またはPCRにより同定および単離される。

本発明は、異なる細菌株からの対応ポリペプチドおよびポリヌクレオチド (オルトログまたはパラログ) も更に提供する。Bacillus種を含めたグラム陽性の好アルカリ性株からのマンナナーゼポリペプチドが特に関心をもたれる。

20

【0034】

本発明のマンナナーゼ活性を有したポリペプチドの種ホモログは、慣用的なクローニング技術と共に、本発明により提供される情報および組成物を用いて、クローニングすることができる。例えば、本発明のDNA配列は、そのタンパク質を発現する細胞タイプから得られた染色体DNAを用いてクローニングしうる。適切なDNA源は、本明細書で開示された配列からデザインされるプローブでノーザンブロットをプローブすることにより同定できる。次いで、ライブラリーが陽性細胞系の染色体DNAから作製される。次いで、マンナナーゼ活性を有したポリペプチドをコードする本発明のDNA配列は、様々な方法により、例えば、本明細書および請求の範囲で開示された配列からデザインされるプローブ、または開示された配列に基づく1組以上の縮重プローブとのプロービングにより単離することができる。本発明のDNA配列は、ポリメラーゼ鎖反応またはPCR (Mullis、US特許4,683,202) を用い、本明細書で開示された配列からデザインされたプライマーを利用してクローニングしてもよい。追加の方法として、DNAライブラリーが宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするために使用でき、目的のDNAの発現は、B.agaradherens, NCIMB 40482からクローニングされ、物質および方法の箇所と例1とで記載されたように発現および精製されたマンナナーゼに対する抗体 (モノクローナルまたはポリクローナル) で、またはマンナナーゼ活性を有したポリペプチドに関する活性試験により検出することができる。

30

40

【0035】

Escherichia coli DSM12180に存在するプラスミドpSJ1678中にクローニングされたDNA配列および/または本発明のアナログDNA配列のマンナナーゼコード部分は、マンナン分解活性を有する酵素を産生する細菌種Bacillus agaradherens の株、好ましくはNCIMB 40482株、または本明細書で記載されたような他のもしくは関連生物からクローニングしてもよい。

一方、類似配列は Escherichia coli DSM12180 (添付されたSEQ ID NO: 1と同一であると考えられる) 中に存在するプラスミドから得られるDNA配列、例えばそのサブ配列に基づき、および/または、DNA配列によりコードされたマンナナーゼの他のアミノ酸配列を生じないが、酵素の産生向け宿主生物のコドン使用に相当するヌク

50

レオチド置換の導入により、または異なるアミノ酸配列（即ち、本発明のマンナン分解酵素の変種）を生じるヌクレオチド置換の導入により構築してもよい。

【0036】

ポリペプチド

SEQ ID NO: 2のアミノ酸No. 32 - 343の配列は成熟マンナーゼ配列である。

本発明はSEQ ID NO: 2のポリペプチドと実質上相同的なマンナーゼポリペプチドおよびその種ホモログ（パラログまたはオルトログ）も提供する。“実質上相同的な”という用語は、SEQ ID NO: 2のアミノ酸No. 32 - 343で示された配列と70%、好ましくは少なくとも80%、更に好ましくは少なくとも85%、更に一層好ましくは少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチド、またはそれらのオルトログまたはパラログを表すために、ここでは用いられている。このようなポリペプチドは、SEQ

ID NO: 2のアミノ酸No. 32 - 343で示された配列またはそのオルトログもしくはパラログと、更に好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは98%以上同一である。配列同一性は、参考のためその全体で本明細書に組み込まれる、Needleman, S.B. and Wunsch, C.D. (1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-453で開示されたように、GCGプログラムパッケージで供給されるGAPのような当業界で知られるコンピュータプログラム（Program Manual for the Wisconsin Package, Version 8, August 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711）により常法で調べられる。GAPはポリペプチド配列比較のために下記設定：3.0のGAPクリエーション・ペナルティ (creation penalty) および0.1のGAPエクステンション・ペナルティ (extension penalty) で用いる。

ポリヌクレオチド分子の配列同一性は、DNA配列比較のために下記設定：5.0のGAPクリエーション・ペナルティ および0.3のGAPエクステンション・ペナルティでGAPを用いて、同様の方法により調べられる。

【0037】

本発明の酵素調製は、微生物から、好ましくは細菌、古細菌 (archaea) または真菌から、特にBacillus、好ましくは、Bacillus agaradherens 種、およびすべての種が整列16S rDNA配列に基づきBacillus agaradherens と好ましくは少なくとも95%、更に一層好ましくは少なくとも98%相同的である高度に関連したBacillus種からなる群より選択される好アルカリ性Bacillus株に属する細菌のような細菌から行うことが好ましい。

実質上相同的なタンパク質およびポリペプチドは、1以上のアミノ酸置換、欠失または付加を有するとして特徴づけられる。これらの変化は性質上小さなものであることが好ましく、即ちタンパク質またはポリペプチドの折りたたみまたは活性に有意な影響を与えない保存的なアミノ酸置換（表2参照）および他の置換；典型的には1～約30アミノ酸の小さな欠失；アミノ末端メチオニン残基、約20～25残基以内の小さなリンカーペプチドのような小さなアミノ - またはカルボキシル - 末端伸長、またはポリヒスチジン部分、プロテインAのような精製（親和性標識）を促す小さな伸長である（Nilsson et al., EMBO J., 4:1075, 1985; Nilsson et al., Methods Enzymol., 198:3, 1991; 一般的にFord et al., Protein Expression and Purification 2:95-107, 1991 参照；参考のため本明細書に組み込まれる）。DNAコード親和性標識は市販業者（例えば、Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ; New England Biolabs, Beverly, MA）から入手できる。

しかしながら、上記変化は性質上小さなものであることがたとえ好ましいといっても、このような変化は、本発明のマンナーゼポリペプチドへの、アミノ - またはカルボキシル - 末端双方の伸長として300アミノ酸以内またはそれ以上の大きなポリペプチドの融合のように、性質上大きなものであってもよい。

【0038】

表1

保存的アミノ酸置換

塩基性	: アルギニン、リジン、ヒスチジン
酸性	: グルタミン酸、アルパラギン酸
極性	: グルタミン、アルパラギン
疎水性	: ロイシン、イソロイシン、バリン
芳香族	: フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン
小さい	: グリシン、アラニン、セリン、トレオニン、メチオニン

【0039】

20種の標準アミノ酸に加えて、非標準アミノ酸（例えば4-ヒドロキシプロリン、6-N-メチルリジン、2-アミノイソ酪酸、イソバリンおよび α -メチルセリン）も本発明によるポリペプチドのアミノ酸残基の代わりに用いてよい。限定数の非保存的アミノ酸、遺伝コードによりコードされないアミノ酸、および非天然アミノ酸もアミノ酸残基の代わりに用いてよい。“非天然アミノ酸”は、タンパク質合成後に修飾されたか、および／または標準アミノ酸の場合とは異なる化学構造を側鎖に有している。非天然アミノ酸は化学合成されるか、または好ましくは市販されており、ピペコリン酸、チアゾリジンカルボン酸、デヒドロプロリン、3-および4-メチルプロリン、および3,3-ジメチルプロリンがある。

【0040】

本発明のマンナナーゼポリペプチドにおける必須アミノ酸は、部位特異的突然変異誘発またはアラニンスキニング突然変異誘発（Cunningham and Wells, Science, 244:1081-1085, 1989）のような、当業界で知られる操作に従い同定することができる。後者の技術では、単一のアラニン変異が分子のあらゆる残基で導入され、得られた変異分子は分子の活性にとり重要なアミノ酸残基を同定するために生物学的活性（即ち、マンナナーゼ活性）について試験される。Hilton et al., J. Biol. Chem., 271:4699-4708, 1996 も参照。酵素の活性部位または他の生物学的相互作用も、推定の接触部位アミノ酸の変異と共に、核磁気共鳴、結晶学的手法、電子回折または光親和性標識のような技術でわかるような構造の物理的分析により調べることができる。例えば、de Vos et al., Science, 255:306-312, 1992 ; Smith et al., J. Mol. Biol., 224:899-904, 1992 ; Wlodaver et al., FEBS Lett., 309:59-64, 1992 参照。必須アミノ酸の同定は、本発明によるポリペプチドと関連したポリペプチドとの相同性の分析から推論することもできる。

【0041】

多数のアミノ酸置換は、Reidhaar-Olson and Sauer (Science, 241:53-57, 1988) Bowie and Sauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:2152-2156, 1989)、WO 95/17413またはWO 95/22625により開示されたような、突然変異誘発、組換えおよび／または再編成(shuffling)、その後関連スクリーニング操作の公知方法を用いて、実施および試験することができる。簡単に言えば、これらの著者らは、ポリペプチドで2以上の位置を同時にランダム化するか、または異なる変異の組換え／再編成（WO 95/17413、WO 95/22625）を行い、その後で機能性ポリペプチドについて選択し、次いで変異したポリペプチドを配列決定して、各位置で許容しうる置換の範囲を調べる方法について開示している。使える他の方法には、ファージディスプレイ（例えば、Lowman et al., Biochem. 30:10832-10837, 1991 ; LadnerらのUS特許第5,223,409号 ; Huse, WIPO公開WO 92/06204）および領域特異的突然変異誘発（Derbyshire et al., Gene, 46:145, 1986 ; Ner et al., DNA, 7:127, 1988）がある。

【0042】

上記のような突然変異誘発／再編成方法は、宿主細胞でクローン化された突然変異ポリペプチドの活性を検出するために、高処理量自動スクリーニング方法と組み合わせることができる。活性ポリペプチドについてコードする突然変異したDNA分子は宿主細胞から回収して、現行装置を用いて迅速に配列決定しうる。これらの方法は目的のポリペプチドで個別アミノ酸残基の重要度の迅速な決定を行え、未知構造のポリペプチドに適用すること

10

20

30

40

50

もできる。

上記方法を用いて、当業者は、SEQ ID NO: 2の残基32 - 343と実質的に相同的であって、野生型タンパク質のマナーゼ活性を留めた、様々なポリペプチドを同定および／または作製することができる。

【0043】

タンパク質産生

全鎖長タンパク質、その断片および融合タンパク質を含めた本発明のタンパク質およびポリペプチドは、慣用的な技術に従い遺伝子工学処理宿主細胞で産生させることができる。適切な宿主細胞は、外来DNAで形質転換またはトランスフェクトさせて、培養で増殖させる細胞タイプであって、細菌、真菌細胞および培養されたそれより高等の真核細胞がある。細菌細胞、特にグラム陽性生物の培養細胞が好ましい。例えば*Bacillus subtilis*、*Bacillus lentus*、*Bacillus brevis*、*Bacillus stearothermophilus*、*Bacillus alaphilus*、*Bacillus amyloliquefacience*、*Bacillus coagulans*、*Bacillus circulans*、*Bacillus lautus*、*Bacillus thuringiensis*、*Bacillus licheniformis*および*Bacillus agaradherens*、特に*Bacillus agaradherens* からなる群の*Bacillus*属のグラム陽性細胞が特に好ましい。

10

【0044】

クローン化DNA分子を操作して、外来DNAを様々な宿主細胞中に導入するための技術は、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987; "Bacillus subtilis and other Gram-Positive Bacteria", Sonensheim et al., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C. で開示されており、これらは参考のため本明細書に組み込まれる。

20

一般的に、本発明のマナーゼについてコードするDNA配列は、発現ベクター内における転写プロモーターおよびターミネーターを通常含めて、その発現に必要な他の遺伝要素と、作動可能に連結されている。ベクターは1以上の選択マーカーおよび1以上の複製起点も通常含んでいるが、当業者は、ある系では、選択マーカーが別なベクターで供されて、外来DNAの複製が宿主細胞ゲノム中への組み込みにより行われることもわかるであろう。プロモーター、ターミネーター、選択マーカー、ベクターおよび他の要素の選択は、当業者のレベル内における通常のデザインの問題である。多くのこのような要素は文献で記載されており、市販元から入手することができる。

30

【0045】

宿主細胞の分泌経路にポリペプチドを向かわせるためには、分泌シグナル配列（リーダー配列、プレプロ配列またはプレ配列としても知られる）が発現ベクターに形成される。分泌シグナル配列はそのポリペプチドのものでもよく、あるいは他の分泌タンパク質から誘導したり、またはデノボ合成してもよい。多数の適切な分泌シグナル配列が当業界で知られており、適切な分泌シグナル配列、特に*Bacillus*宿主細胞での分泌に関する詳しい記載については、"Bacillus subtilis and other Gram-Positive Bacteria", Sonensheim et al., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C. およびCutting, S.M. (eds.) "Molecular Biological Methods for Bacillus", John Wiley and Sons, 1990が参考にされる。分泌シグナル配列は正しい読み枠でDNA配列に結合される。分泌シグナル配列は目的のポリペプチドについてコードするDNA配列の5'側に通常位置するが、あるシグナル配列は目的のDNA配列で他の箇所に位置してもよい（例えば、Welch et al., US特許第5,037,743号; HollandらのUS特許第5,143,830号参照）。

40

【0046】

形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞は、選択された宿主細胞の増殖に必要な栄養素および他の成分を含有した培地で、慣用的な操作に従い培養される。規定培地および複合培地を含めた様々な適切な培地が当業界で知られており、炭素源、窒素源、必須アミノ酸、ビタミンおよびミネラルを通常含有している。培地は、必要であれば、成長因子

50

または血清のような成分も含有してよい。増殖培地は、例えば、薬物選択または必須栄養素の欠乏により、外部から加えられたDNAを含有する細胞について通常選択するが、これは発現ベクター上におかれた選択マーカーにより補われるか、または宿主細胞中にコトランスフェクトされる。

【0047】

タンパク質単離

発現された組換えポリペプチドが分泌されたとき、そのポリペプチドは増殖培地から精製してもよい。好ましくは、発現宿主細胞はポリペプチドの精製前に培地から（例えば遠心により）除去される。

発現された組換えポリペプチドが宿主細胞から分泌されないとき、宿主細胞は好ましくは壊されて、ポリペプチドが水性“抽出物”中に放出されるが、これはこのような精製技術の第一段階である。好ましくは、発現宿主細胞は（例えば遠心により）細胞破壊前に培地から集められる。

細胞破壊は、慣用的な技術により、例えばリゾチーム消化によるか、または細胞を高圧に曝すことにより行える。このような細胞破壊技術の詳しい記載については（Robert K. Scobes, Protein Purification, Second edition, Springer-Verlag）参照。

【0048】

発現された組換えポリペプチド（またはキメラポリペプチド）が分泌されても、またはそうでなくても、それは分別および／または慣用的な精製法および培地を用いて精製することができる。

硫酸アンモニウム沈降および酸またはカオトロプ(chao trope)抽出は、サンプルの分別に用いてもよい。例示の精製ステップには、ヒドロキシアパタイト、サイズ排除、FPLCおよび逆相高性能液体クロマトグラフィーがある。適切な陰イオン交換媒体には、誘導デキストリン、アガロース、セルロース、ポリアクリルアミド、特殊シリカなどがある。

PEI、DEAE、QAEおよびQ誘導体が好ましく、DEAE Fast-Flow Sepharose (Pharmacia, Piscataway, NJ)が特に好ましい。例示のクロマトグラフィー媒体には、フェニル、ブチルまたはオクチル基で誘導された媒体、例えばPhenyl-Sepharose FF (Pharmacia)、Toyopearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA)、Octyl-Sepharose (Pharmacia) など；またはポリアクリル樹脂、例えばAmberchrom CG 71 (Toso Haas)などがある。適切な固体支持体には、ガラスビーズ、シリカベース樹脂、セルロース樹脂、アガロースビーズ、架橋アガロースビーズ、ポリスチレンビーズ、架橋ポリアクリルアミド樹脂などがあり、これらはそれらが用いられる条件下で不溶性である。これらの支持体は、アミノ基、カルボキシル基、スルフヒドリル基、ヒドロキシル基および／または炭水化物部分によりタンパク質の結合を行える反応基で修飾してもよい。カップリング化学の例には、臭化シアン活性化、N-ヒドロキシスクシンイミド活性化、エポキシド活性化、スルフヒドリル活性化、ヒドラジン活性化と、カルボジイミドカップリング化学向けにカルボキシルおよびアミノ誘導体とがある。これらと他の固体媒体は周知であって、当業界で広く用いられており、市販元から入手できる。

具体的な方法の選択は通常のデザインの問題であり、選択された支持体の性質により部分的には決められる。例えば、Affinity Chromatography: Principles & Methods, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988 参照。

【0049】

本発明のポリペプチドまたはその断片は化学合成で作製してもよい。本発明のポリペプチドは、モノマーまたはマルチマーでも、グルコシル化または非グルコシル化、ペギル化(pegylated)または非ペギル化されていてもよく、開始のメチオニンアミノ酸残基を含んでいても、またはそうでなくてもよい。

【0050】

本明細書で開示された配列情報に基づくと、本発明のマンナナーゼをコードして、SEQ ID NO. 1で示されたDNA配列、少なくとも97位～1029位のDNA配列を含んだ全鎖長DNA配列がクローニングされる。

クローニングは、下記のような当業界で知られる標準操作により行われる：

■Bacillus株、特に株B.agaradherens,NCIMB 40482からゲノムライブラリーを調製し；

■このようなライブラリーを適切な基質プレート上におき；

■SEQ ID NO. 1に基づくプローブを用いた標準ハイブリッド形成技術により、本発明のポリヌクレオチド配列を含むクローンを同定するか、または

■SEQ ID NO. 1からの配列情報に基づくプライマーを用いた逆PCR戦法により、上記Bacillus agaradherens,NCIMB 40482 ゲノムライブラリーからクローンを同定する。逆PCRに関する詳細については、M.J.McPherson et al.("PCR A practical approach" Information Press Ltd,Oxford England) が参考にされる。

【0051】

本明細書で開示された配列情報（SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 2）に基づく、関連微生物からのゲノムライブラリー、特にBacillusの好アルカリ性種のようなBacillus属の他の株からのゲノムライブラリーを用いた類似戦法により、本発明の相同的マンナーゼをコードする相同的ポリヌクレオチド配列を単離することが、当業者にとって通常の作業である。

一方、本発明のマンナンまたはガラクトマンナン分解酵素をコードするDNAは、Escherichia coli DSM12180に存在するプラスミドから得られるDNA配列に基づき作製された合成オリゴヌクレオチドプローブの使用により、適切な供給源、例えば上記生物のいずれからもうまくクローニングされる。

【0052】

したがって、本発明のポリヌクレオチド分子は Escherichia coli DSM12180から単離してもよく、上記のようなクローニングにより得られるプラスミドは寄託されている。しかも、本発明は株 Escherichia coli DSM12180の単離された実質的に純粋な生物学的培養物にも関する。

本関係において、“酵素調製物”という用語は、単一種の微生物からおそらく単離および精製される慣用的な酵素発酵産物（このような調製物はいくつかの異なる酵素活性を通常含んでいる）；単成分酵素、好ましくは慣用的な組換え技術を用いて細菌または真菌種から誘導される酵素（その酵素は発酵させてから、おそらく別々に単離および精製されており、異なる種、好ましくは真菌または細菌種に由来している）の混合物；組換えマンナーゼの発現向け宿主細胞として働く微生物の発酵産物（但し、その微生物は、微生物の天然発酵産物である他の酵素、例えばペクチン分解酵素、プロテアーゼまたはセルラーゼを同時に産生する）、即ち対応する天然微生物により通常産生される酵素複合体を意味している。

【0053】

本発明の酵素調製物を産生する方法では、マンナーゼをその酵素の産生を行える条件下で産生しうる微生物、例えば野生型株を培養して、培養物からその酵素を回収する。培養は慣用的な発酵技術を用いて行われ、例えば、マンナーゼ酵素の産生を誘導する増殖培地で十分な通気を確保するために攪拌しながらシェイクフラスコまたは醗酵槽で培養する。増殖培地は、ペプトン、酵母エキスまたはカザミノ酸のような慣用的なN源、デキストロースまたはスクロースのような少量の慣用的なC源、およびグアーガムまたはイナゴマメガムのような誘導物質を含有していてもよい。回収は慣用的な技術、例えば遠心または口過によるバイオマスおよび上澄の分離、上澄の回収、または目的の酵素が細胞内にあるならば細胞の破壊、おそらくその後でEPO406314で記載されたような精製またはWO97/15660で記載されたような結晶化を用いて行える。

【0054】

免疫交差反応性

免疫交差反応性を調べる上で用いられるポリクローナル抗体は、精製されたマンナーゼ酵素の使用により作製してもよい。更に詳しくは、本発明のマンナーゼに対する抗血清は、N.Axelsen et al.in: A Manual of Quantitative Immunoelectrophoresis,Blackwell Scientific Publications,1973,Chapter 23またはA.Johnstone and R.Thorpe,Immunoche

10

20

30

40

50

mistry in Practice, Blackwell Scientific Publications, 1982 (更に詳しくは p.27-31) で記載された操作に従いウサギ (または他の齧歯類) を免疫することで作製される。精製免疫グロブリンは、例えば塩沈降 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)、その後透析および例えば DEAE-Sephadex でのイオン交換クロマトグラフィーにより、抗血清から得られる。タンパク質の免疫化学的な特徴づけは、オクタロニー二重拡散分析 (Ouchterlony in: Handbook of Experimental Immunology (D.M.Weir, Ed.), Blackwell Scientific Publications, 1967, pp.655-706)、交差免疫電気泳動 (N.Axelsen et al., 前掲, Chapters 3 and 4) またはロケット免疫電気泳動 (N.Axelsen et al., Chapter 2) により行える。

【0055】

本発明の酵素または酵素調製物を産生する有用な細菌の例は、好ましくは *Bacillus/Lactobacillus* 細分類からのグラム陽性菌、好ましくは *Bacillus* 属からの株、更に好ましくは *Bacillus agaradherens* の株、特に株 *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482 である。

本発明には、上記された性質を有して、相同的な不純物を含まずに、慣用的な組換え技術を用いて産生される、単離マンナナーゼを含んでいる。

【0056】

マンナナーゼの触媒活性 (ManU) の測定

比色アッセイ：基質：pH 10.0 の 0.1 M グリシン緩衝液中におけるキャロブからの 0.2% AZCL - ガラクトマンナン (Megazyme, Australia)。アッセイは、攪拌しながら、40℃の温度コントロール下において、サーモミキサー上 1.5 ml Eppendorf ミクロ管で行われる。酵素 0.05 ml と共に 20 分間にわたる基質 0.750 ml のインキュベートを、1500 rpm で 4 分間の遠心により停止させる。上澄の色を 1 cm キュベット中 600 nm で測定する。1 ManU (マンナナーゼ単位) は 1 cm で 0.24 abs を示す。

【0057】

Bacillus agaradherens マンナナーゼ NCIMB 40482 の獲得株

Bacillus agaradherens NCIMB 40482 はマンナナーゼ酵素コード DNA 配列を含んでいる。

E. coli 株： *E. coli* S J 2 の細胞 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjöholm, C. (1990), *Bacillus brevis* からの細胞外酵素、 α -アセト乳酸デカルボキシラーゼをコードする *aldB* のクローニング, J. Bacteriol., 172, 4315-4321) を用意して、供給業者により記載されているように、BIO-RAD の Gene PulserTM エレクトロポレーター (electroporator) を用いて、エレクトロポレーション (electroporation) により形質転換させた。

B. subtilis P L 2 3 0 6：この株は、既知の *Bacillus subtilis* セルラーゼ遺伝子の転写単位において壊された破壊 *apr* および *npr* 遺伝子を有する *B. subtilis* D N 1 8 5 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjöholm, C. (1990), *Bacillus brevis* からの細胞外酵素、 α -アセト乳酸デカルボキシラーゼをコードする *aldB* のクローニング, J. Bacteriol., 172, 4315-4321) であって、セルラーゼ陰性細胞になっている。破壊は本質的には (Eds. A. L. Sonenshein, J. A. Hoch and Richard Losick (1993), *Bacillus subtilis* and other Gram-Positive Bacteria, American Society for microbiology, p.618) で記載されたように行った。

コンピテント細胞を用意して、Yasbin, R. E., Wilson, G. A. and Young, F. E. (1975) Transformation and transfection in lysogenic strains of *Bacillus subtilis*: evidence for selective induction of prophage in competent cells, J. Bacteriol., 121, 296-304 で記載されたように形質転換した。

【0058】

プラスミド

p S J 1 6 7 8 (参考のためその全体で本明細書に組み込まれる WO 94/19454 で詳細に記載されている)

10

20

30

40

50

pMOL944: このプラスミドは、*Bacillus subtilis* でプラスミドを増殖させる要素、カナマイシン耐性遺伝子を本質的に含んで、*B.licheniformis* ATCC 14580 の amyL 遺伝子からクローニングされた強いプロモーターおよびシグナルペプチドを有した pUB110 誘導体である。シグナルペプチドは、そのシグナルペプチドと融合させて、タンパク質の成熟部分をコードする DNA をクローニングさせる上で、それを便利にさせる SacII 部位を含んでいる。これは、細胞の外側に向かうプレタンパク質の発現につながる。

プラスミドは、以下で簡単に記載された慣用的な遺伝子工学技術により構築された。

【0059】

pMOL944の構築

pUB110 プラスミド (McKenzie, T, et al., 1986, Plasmid, 15:93-103) を独特な制限酵素 NciI で切断した。プラスミド pDN1981 (P.L. Jorgensen et al., 1990, Gene, 96, p.37-41) でコードされた amyL プロモーターから増幅された PCR 断片を NciI で切断し、NciI 切断 pUB110 に挿入して、プラスミド pSJ2624 を得た。

【0060】

用いられた 2 つの PCR プライマーは下記配列を有している：

#LWN5494 5' - GTCGCCGGGGCGGCCGCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC - 3'

#LWN5495 5' - GTCGCCCGGGAGCTCTGATCAGGTACCAAGCTTGTCTGCAGCAATGAGGCAGCAAGAAGAT - 3'

【0061】

プライマー #LWN5494 は NotI 部位をプラスミドに挿入する。

次いで、プラスミド pSJ2624 を SacI および NotI で切断し、pDN1981 でコードされた amyL プロモーターで増幅された新しい PCR 断片を SacI および NotI で切断し、この DNA 断片を SacI - NotI 切断 pSJ2624 に挿入して、プラスミド pSJ2670 を得た。

【0062】

このクローニングは、同様のプロモーターと、但し反対方向で、最初の amyL プロモータークローニングに置き換わる。PCR 増幅に用いられる 2 種のプライマーは下記配列を有している：

#LWN5938 5' - GTCGGCGGGCCGCTGATCACGTACCAAGCTTGTCTGCAGCAATGAGGCAGCAAGAAGAT - 3'

#LWN5939 5' - GTCGGAGGCTCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC - 3'

【0063】

プラスミド pSJ2670 を制限酵素 PstI および BclI で切断し、(参考のためその全体で本明細書に組み込まれる、WO95/26397 として公開された国際特許出願で開示されている) アルカリ性アミラーゼ SP722 をコードするクローン化 DNA 配列から増幅された PCR 断片を PstI および BclI で切断し、挿入して、プラスミド pMOL944 を得た。PCR 増幅に用いられる 2 種のプライマーは下記配列を有している：

#LWN7864 5' - AACAGCTGATCACGACTGATCTTTTAGCTTGGCAC - 3'

#LWN7901 5' - AACTGCAGCCGCGGCACATCATTAATGGGACAAATGGG - 3'

プライマー #LWN7901 は SacII 部位をプラスミドに挿入する。

【0064】

Bacillus agaradherens からのマンナナーゼ遺伝子のクローニング

ゲノム DNA 調製：

株 *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 を WO94/01532 で記載されたように液体

10

20

30

40

50

培地で増殖させた。30℃、300rpmで16時間のインキュベート後に細胞を集め、ゲノムDNAをPitcher et al. (Pitcher, D.G., Saunders, N.A., Owen, R.J. (1989), チオシアン酸グアニジウムによる細菌ゲノムDNAの迅速な抽出, Lett. Appl. Microbiol., 8, 151-156)で記載された方法により単離した。

【0065】

ゲノムライブラリー構築：

ゲノムDNAを制限酵素Sau3Aで部分的に切断し、0.7%アガロースゲルで電気泳動によりサイズ分別した。大きさ2および7kbの断片をDEAE-セルロース紙上で電気泳動により単離した (Dretzen, G., Bellard, M., Sassone-Corsi, P., Chambon, P. (1981), アガロースおよびアクリルアミドゲルからのDNA断片の回収のために信頼しうる方法, Anal. Biochem., 112, 295-298)。

単離されたDNA断片をBamHI切断pSJ1678プラスミドDNAに連結させ、連結混合物を用いて、E. coli SJ2を形質転換させた。

【0066】

陽性クローンの同定：

上記のように構築されたE. coliのDNAライブラリーを、0.2%AZCL-ガラクトマンナン (Magazyme) および9μg/mlクロラムフェニコールを含有したLB寒天プレート上でスクリーニングし、37℃で一夜インキュベートした。マンナナーゼ活性を表すクローンは、青色拡散ハローとして出現した。これらクローンの1つからのプラスミドDNAを一夜培養ブロス (250rpmで振盪しながら、9μg/mlクロラムフェニコール含有TY中37℃でインキュベートされた細胞) 1mlでQiagenプラスミドスピンプレップ (spin preps) により単離した。

このクローン (MB525) をクローン化Sau3A DNA断片のDNA配列決定で更に特徴づけた。DNA配列決定は、Taqデオキシ末端サイクル配列決定キット (Perkin-Elmer, USA)、蛍光標識ターミネーターおよびプライマーとして適切なオリゴヌクレオチドを用いて、プライマーウォーキング (primerwalking) により行った。

配列データの分析はDevereux et al. (1984) Nucleic Acids Res., 12, 387-395 に従い行った。マンナナーゼをコードする配列はSEQ ID NO: 1で示されている。誘導されたタンパク質配列はSEQ ID NO: 2で示されている。

【0067】

B. subtilisにおけるマンナナーゼのサブクローニングおよび発現：

本発明のマンナナーゼコードDNA配列を、下記2種のオリゴヌクレオチドからなるPCRプライマーセットを用いて、PCR増幅させた：

マンナナーゼ. 上. SacII

5' - CAT TCT GCA G C C G C G G C A G C A A G T A C A G
G C T T T T A T G T T G A T G G - 3'

マンナナーゼ. 下. NotI

5' - G A C G A C G T A C A A G C G G G C C G C G C T A T T T C
C C T A A C A T G A T G A T A T T T T C G - 3'

制限部位SacIIおよびNotIIは下線部分である。

【0068】

前記されたようなB. agaradherens NCIMB 40482から単離された染色体DNAを、製造業者の指示に従い Amplitaq DNAポリメラーゼ (Perkin Elmer) を用いて、PCR反応で鋳型として用いた。PCR反応は、200μMの各dNTP、2.5単位の AmpliTaq ポリメラーゼ (Perkin Elmer, Cetus, USA) および100pmolの各プライマーを含有したPCR緩衝液 (pH 8.3の10mM Tris-HCl、50mM KCl、1.5mM MgCl₂、0.01% (w/v) ゼラチン) 中で始めた。

PCR反応はDNAサーマル・サイクラー (Landgraf, Germany) を用いて行った。94℃で1分間のインキュベート1回、その後94℃で30秒間にわたる変性のサイクルプロフィールを用いて行われるPCRサイクル30回、60℃で1分間のアニーリング、および

72℃で2分間の伸長。増幅産物の一部5μLを0.7%アガロースゲル(NuSieve, FMC)で電気泳動により分析した。大きさ1.4kbのDNA断片の出現は、遺伝子セグメントの適正な増幅を示していた。

【0069】

PCR断片のサブクローニング

前記のように得られたPCR産物の一部45μLを、製造業者の指示に従い、QIAquick PCR精製キット(Qiagen, USA)を用いて精製した。精製DNAをpH8.5の10mM Tris-HCl 50μLで溶離させた。

pMO1944 5μgおよび精製PCR断片25μLをSacIIおよびNotIで切断し、0.8%低ゲル化温度アガロース(SeaPlaque GTG, FMC)ゲルで電気泳動し、関連断片をゲルから切出して、製造業者の指示に従いQIAquick ゲル抽出キット(Qiagen, USA)を用いて精製した。次いで、単離されたPCR DNA断片を、SacII-NotI切断および精製されたpMO1944に連結させた。連結は、0.5μgの各DNA断片、1UのT4 DNAリガーゼおよびT4リガーゼ緩衝液(Boehringer Mannheim, Germany)を用いて、16℃で一夜かけて行った。

連結混合物を用いて、コンピテント B.subtilis PL2306を形質転換させた。形質転換細胞をLBPG-10μg/mlカナマイシンプレート上においた。37℃で18時間のインキュベート後に、コロニーがプレート上でみられた。いくつかのクローンを、一夜培養ブロスからプラスミドDNAを単離することにより分析した。

1つのこのような陽性クローンを上記のように寒天プレート上に数回にわたり再度線状に塗り、このクローンをMB594と命名した。クローンMB594を37℃でTY-10μg/mlカナマイシン中において一夜増殖させ、翌日に細胞1mlを用いて、B.subtilis プラスミド調製について製造業者の勧めに従い、Qiaprep Spin Plasmid Miniprep Kit #27106でその細胞からプラスミドを単離した。このDNAはDNA配列決定してみると、マンナナーゼの成熟部分に相当するDNA配列、即ち添付SEQ ID NO:3の94-1404位を示した。求められた成熟タンパク質はSEQ ID NO:4で示されている。SEQ ID NO:1の配列によりコードされるマンナナーゼの3'末端が、PCRで用いられた下方プライマーのデザインのために、SEQ ID NO:3で示されたもの変わったことは、明らかであろう。得られたアミノ酸配列はSEQ ID NO:4で示されており、SEQ ID NO:2のC末端(SHHVREIGVQFSAADNSSGQTALYVDNVTLR)はSEQ ID NO:4のC末端(IIMLGK)に変わることが明らかである。

【0070】

培地:

TY (Ausubel, F.M. et al. (eds.), "Current protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, 1995で記載されたとおり)

LB寒天 (Ausubel, F.M. et al. (eds.), "Current protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, 1995で記載されたとおり)

LBPGは0.5%グルコースおよび0.05Mリン酸カリウム、pH7.0で補充されたLB寒天(上記参照)である。

BPX培地はEP0506780(WO91/09129)で記載されている。

【0071】

Bacillus agaradherens 由来マンナナーゼの発現、精製および特徴づけ

物質および方法の箇所前記されたように得られたクローンMB594を、37℃、300rpmで、2個の500mlバッフル付きシェイクフラスコ中において、カナマイシン10μg/ml含有の25×200ml BPX培地で増殖させた。

クローンMB594(バッチ#9813)のシェイクフラスコ培養液6500mlを集め、pHを5.5に調整した。陽イオン剤(C521)146mlおよび陰イオン剤(A130)292mlを凝集のため攪拌中に加えた。凝集物質は6℃で20分間にわたり9000rpmでSorval RC 3B遠心機を用いて遠心により分離させた。上澄をWhatman ガラス

フィルター G F / D を用いて清澄化させ、最後にカットオフ 10 k D a の filtron で遠心した。

この濃縮物 750 m l は水酸化ナトリウムを用いて p H 7 . 5 に調整した。透明な溶液を、p H 7 . 5 の 50 m m o l T r i s で平衡化された 900 m l Q - Sepharose カラムを用いて、陰イオン交換クロマトグラフィーに付した。マンナナーゼ活性を伴う画分は塩化ナトリウム勾配を用いて溶離させた。

純粋な酵素は、S D S - P A G E で分子量 38 k D a の単一バンドを示した。マンナナーゼ酵素のアミノ酸配列、即ち翻訳 D N A 配列は、S E Q I D N O : 2 で示されている。

【0072】

10

動力学定数の測定：

基質：イナゴマメガム（キャロブ）および還元糖分析（P H B A H）、Sigma 製のイナゴマメガム（G - 0753）

異なる濃度のイナゴマメガムおよび 40 °C、p H 10 で 20 分間にわたるインキュベートを用いた動力学測定では、

K c a t : 467 / s e c

K m : 0.08 g / L

M W : 38 k D a

p I (等電点) : 4.2 を示した。

マンナナーゼの至適温度は 60 °C であることがわかった。p H 活性プロフィールとして、p H 8 ~ 10 の最大活性を示した。D S C 示差走査熱量測定では T r i s 緩衝液中 p H 7 . 5 で融点として 77 °C を示し、この酵素が非常に熱安定性であることを示した。

20

基質としてキャロブからの 0.2 % A Z C L - ガラクトマンナンおよび 40 °C で前記のようなインキュベートを用いた洗剤適合性では、慣用的な液体洗剤と優れた適合性、および慣用的な粉末洗剤と良好な適合性を示している。

【0073】

Bacillus subtilis マンナナーゼ 168 の獲得

Bacillus subtilis β - マンナナーゼを下記のように特徴づけて精製した：Bacillus subtilis ゲノムを既知の Bacillus 種 β - マンナナーゼ遺伝子配列との相同性について調べた

30

(Mendoza et al., Biochemica et Biophysica Acta, 1243:552-554, 1995)。産物が不明の y d h T のコード領域は既知の Bacillus β - マンナナーゼと 58 % 類似性を示した。下記

のオリゴヌクレオチド：5' - G C T C A A T T G G C G C A T A C T G T G T C G C C T G T G - 3' および 5' - G A C G G A T C C C G G A T T C A C T C A A C G A T T G G C G - 3' をデザインして、推定 β - マンナナーゼの成熟部分についてコードする配列を増幅させた。Bacillus subtilis 株 1 A 9 5 から

の全ゲノム D N A を鋳型として用い、前記プライマーを用いて y d h T 成熟領域を増幅させた。P C R は、AMPLITAQ D N A ポリメラーゼ (Perkin Elmer, Applied Biosystems, Foster City, C A) 入りの GENE-AMP P C R キットを用いて行う。95 °C で 5 分間にわたる最初の溶融期間に続いて、25 サイクルの下記プログラム：95 °C で 1 分間の溶融、55 °C で 2 分間のアニーリング、および 72 °C で 2 分間の伸長を行った。最終サイクルの後に、反応は完全な伸長まで 72 °C で 10 分間維持した。P C R 産物は QlAquick P C R 精製キット (Qiagen, Chatsworth, C A) を用いて精製した。

40

【0074】

Bacillus subtilis 株 1 A 9 5 から増幅された y d h T 成熟領域を下記のように（既に記載された）発現ベクター p P G 1 5 2 4 中に挿入した。増幅された 1028 b p 断片を M f e I および B a m H I で切断した。発現ベクター p P G 1 5 2 7 を E c o R I および B a m H I で切断した。制限産物は QlAquick P C R 精製キット (Qiagen, Chatsworth, C A) を用いて精製した。2つの断片を T 4 D N A リガーゼを用いて（13 時間、16 °C で）連結させて、コンピテント E. coli 株 D H 5 - α を形質転換させるために用いた。アンピシリン耐性コロニーを D N A 作製のために培養した。次いで D N A を制限分析により特徴

50

づけた。プラスミド p P G 3 2 0 0 は y d h T 遺伝子の成熟領域を含んでいる。次いでプラスミド p P G 3 2 0 0 を用いて、コンピテント *Bacillus subtilis* 株 P G 6 3 2 (Saunders et al., 1992) を形質転換させた。

【0075】

7つのカナマイシン耐性 *Bacillus subtilis* コロニーおよび1つの P G 6 3 2 コントロールクローンを取出して、25%マルトリン 1 ml、10 mM $MnCl_2$ 120 μ L および 50 mg/ml カナマイシン 20 μ L で補充された 20/20/5 培地 (20 g/L トリプトン、20 g/L 酵母エキス、5 g/L NaCl) 20 ml 中で増殖させた。クローンを、タンパク質の発現のために、250 rpm および 37°C で振盪しながら、250 ml バッフル付きフラスコ中で一夜増殖させた。細胞を 14,000 rpm で 15 分間にかけて沈降させた。各上澄 1 μ L を 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 6.0) 99 μ L で希釈した。この希釈液 1 μ L を、製造業者の指示に従い、エンド-1,4- β -マンナーゼ Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Ireland) を用いてアッセイした。吸光度は Beckman DU640 分光光度計において 590 nm で読んだ。クローン 7 は 1.67 の最大吸光度を示した。P G 6 3 2 コントロールは 590 nm で吸光度を示さなかった。

10

【0076】

上澄を 10~20% Tris-グリシンゲル (Novex, San Diego, Ca) で SDS-PAGE により分析して、38 kDa の予想タンパク質サイズを確認した。サンプルは次のように調製した。y d h T クローン 7 の 500 μ L サンプルおよび P G 6 3 2 上澄を 100% トリクロロ酢酸 (Sigma) 55.5 μ L で沈降させ、5% トリクロロ酢酸 100 μ L で洗浄し、Tris-グリシン SDS サンプル緩衝液 (Novex) 50 μ L に再懸濁して、5 分間煮沸した。各サンプル 1 μ L を 30 mA で 90 分間にわたりゲル上で電気泳動に付した。大きなバンドのタンパク質は、y d h T クローン 7 の場合に、38 kDa でランすることが観察された。

20

Bacillus subtilis y d h T クローン 7 の 10 L 発酵を B. Braun Biostat C 醗酵槽で行った。発酵条件は次のとおりであった。細胞を 20/20/5 に似た富培地において 37°C で 18 時間増殖させた。発酵ランの最後に細胞を除去し、接線フローろ過システムを用いて上澄を 1 L に濃縮した。濃縮上澄中における β -マンナーゼの最終収量は、3 g/L であることがわかった。

【0077】

発酵上澄からの β -マンナーゼの精製は次のように行った：上澄 500 ml を 10,000 rpm、4°C で 10 分間遠心した。次いで、遠心された上澄を、Spectrapor 12, 000~14,000 mol. wt. カットオフ膜 (Spectrum) において、10 mM リン酸カリウム (pH 7.2) 4 L で 2 回交換して、4°C で一夜透析した。透析された上澄を 10,000 rpm、4°C で 10 分間遠心した。200 ml Q Sepharose fast flow (Pharmacia) 陰イオン交換カラムを 20°C で 10 mM リン酸カリウム (pH 7.2) 1 L で平衡化し、上澄 300 ml をカラムにのせた。210 ml (サンプル A) および 175 ml (サンプル B) の 2 つのフロースルー (flow through) フラクションを集めた。2 つのフラクションを前記のようにアッセイし、但しサンプルは 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 6.0) 199 μ L で希釈したところ、それらは各々 0.38 および 0.52 の吸光度を示した。各サンプル 2 μ L を Tris-グリシン SDS サンプル緩衝液 (Novex, CA) 8 μ L に加えて、5 分間煮沸した。得られたサンプルを 10~20% Tris-グリシンゲル (Novex, CA) において 30 mA で 90 分間電気泳動に付した。38 kDa に相当する主要バンドは各サンプルに存在しており、全タンパク質の 95% 以上を占めていた。BCA タンパク質アッセイ (Pierce) を、標準として牛血清アルブミンを用いて、製造業者の指示に従い両サンプルで行った。サンプル A および B は各々 1.3 mg/ml および 1.6 mg/ml の β -マンナーゼを含有していた。タンパク質の同定は、イオンスプレー質量スペクトル測定およびアミノ末端アミノ酸配列分析により行った。

30

40

【0078】

精製された β -マンナーゼサンプルは、次のように酵素活性を特徴づけるために用いた

50

。すべてのアッセイでは、はじめの方で記載されたように、エンド - 1, 4 - β - マンナーゼ Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Ireland) を用いた。pH 範囲 3. 0 ~ 9. 0 での活性は 50 mM クエン酸リン酸緩衝液中で調べ、pH 9. 5 での活性測定は 50 mM CAPSO (Sigma) 中で調べ、pH 10. 0 ~ 11. 0 範囲では 50 mM CAPS 緩衝液を用いた。Bacillus subtilis β - マンナーゼの至適 pH は pH 6. 0 ~ 6. 5 であることがわかった。温度活性プロファイルは 50 mM クエン酸リン酸緩衝液 (pH 6. 5) 中で調べた。酵素は 40 ~ 45 °C で至適活性を示した。Bacillus subtilis β - マンナーゼは 15 °C 未満および 80 °C 以上で有意な活性を留めていた。 β - 1, 4 - ガラクトマンナンに対する比活性は、製造業者の指示に従いエンド - 1, 4 - β - マンナーゼ Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Ireland) を用いると、160, 000 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg}$ β - マンナーゼであることがわかった。Bacillus subtilis β - マンナーゼのヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 5 および 6 で示されている。

【0079】

マンナーゼは、組成物の好ましくは 0. 0001 ~ 2 重量%、更に好ましくは 0. 0005 ~ 0. 1 %、最も好ましくは 0. 001 ~ 0. 02 % の純粋酵素レベルで、本発明の組成物中に配合される。

【0080】

本発明の酵素は、触媒ドメインを含んだ酵素コアに加えて、セルロース結合ドメイン (CBD) も含んでおり、その酵素のセルロース結合ドメインおよび酵素コア (触媒活性ドメイン) は作動可能に連結されている。セルロース結合ドメイン (CBD) はコードされた酵素の内在性部分として存在していても、または他の起源の CBD が酵素中に導入されて、酵素ハイブリッドを形成していてもよい。この関係において、“セルロース結合ドメイン” という用語は、Peter Tomme et al. "Cellulose-Binding Domains: Classification and Properties" in "Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates", John N. Saddler and Michael H. Penner (Eds.), ACS Symposium Series, No. 618, 1996 で定義されたように理解される。この定義では 120 以上のセルロース結合ドメインを 10 ファミリー (I ~ X) に分類しており、CBD がセルラーゼ、キシラナーゼ、マンナーゼ、アラビノフラノシダーゼ、アセチルエステラーゼおよびキチナーゼのような様々な酵素でみられることを明らかにしている。CBD は非加水分解性多糖結合タンパク質として藻類、例えば紅藻 Porphyra purpurea でもみられる; Tomme et al. 前掲参照。しかしながら、ほとんどの CBD はセルラーゼおよびキシラナーゼからであり、CBD はタンパク質の N および C 末端でみられるか、または内部にある。酵素ハイブリッドは当業界で知られており (例えば、WO 90/00609 および EO 95/16782 参照)、マンナーゼ酵素をコードする DNA 配列にリンカーでまたはそれなしで連結されたセルロース結合ドメインについてコードする DNA の断片を少なくとも含んだ DNA 構築物を宿主細胞中に組み込み、その宿主細胞を増殖させて、融合遺伝子を発現させることにより作製してもよい。酵素ハイブリッドは下記式により記載される:

CBD - MR - X

上記式中 CBD は少なくともセルロース結合ドメインに相当するアミノ酸配列の N 末端および C 末端領域である; MR は中間領域 (リンカー) であって、結合であるか、または好ましくは約 2 ~ 約 100 炭素原子、更に好ましくは 2 ~ 40 炭素原子の短い連結基であるか、あるいは好ましくは約 2 ~ 約 100 アミノ酸、更に好ましくは 2 ~ 40 アミノ酸である; X は本発明の酵素の N 末端および C 末端領域である。

【0081】

上記酵素は、植物、動物、細菌、真菌および酵母起源のように、いかなる適切な起源であってもよい。起源は更に中温性でもまたは好極限性 (好冷性、好栄養性、好熱性、好圧性、好アルカリ性、好酸性、好塩性など) でもよい。精製または非精製形のこれら酵素も用いてよい。現在では、本発明のクリーニング組成物で性能効力を最大にさせるため、タンパク質/遺伝子工学技術により野生型酵素を修飾することが慣例的である。例えば、変種はこのような組成物の常用成分に対する酵素の適合性が増すようにデザインされる。一方

、酵素変種の至適 pH、ブリーチまたはキラント安定性、触媒活性などが特定のクリーニング用途と合うように調整されるよう、変種をデザインしてもよい。

【0082】

特に、ブリーチ安定性の面では酸化されやすいアミノ酸について、および界面活性剤適合性の面では表面電荷について、注意が払われるべきである。このような酵素の等電点の一部の荷電アミノ酸の置換により修正してもよく、例えば等電点の増加はアニオン性界面活性剤との適合性を改善する上で役立つ。酵素の安定性は、例えば追加の塩橋を形成させ、金属結合部位を補強してキラント安定性を増すことにより、更に高められる。

【0083】

ペルカーボネート化合物

本洗剤組成物は、 $250 \sim 900 \mu\text{m}$ 、好ましくは $500 \sim 700 \mu\text{m}$ の平均径を有する粒子の形態で、典型的には $0.1 \sim 50$ 重量%、好ましくは $0.5 \sim 35$ 重量%、最も好ましくは $1 \sim 25$ 重量% のアルカリ金属ペルカーボネートブリーチを含有している。洗濯用添加物は、典型的には $20 \sim 80\%$ の上記ペルカーボネート粒子を含有している。

本発明による好ましい洗剤組成物は、全組成物の $0.0001 \sim 2\%$ (全組成物の重量による純粋酵素) のマンナナーゼレベルおよび $0.1 \sim 50$ 重量% のペルカーボネートレベル、好ましくは $0.0005 \sim 0.5\%$ のマンナナーゼレベルおよび $0.5 \sim 35\%$ のペルカーボネートレベル、更に好ましくは $0.001 \sim 0.1\%$ のマンナナーゼレベルおよび $1 \sim 25\%$ のペルカーボネートレベルで含んでいる。

【0084】

アルカリ金属ペルカーボネートブリーチは通常ナトリウム塩の形である。ナトリウムペルカーボネートは、 $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ に相当する式を有した付加化合物である。貯蔵安定性を高めるために、ペルカーボネートブリーチは、例えばアルカリ金属サルフェートおよびカーボネートの別な混合塩でコートしてもよい。このようなコーティングは、コーティングプロセスと共に、1977年3月9日付でInterox に認可されたGB-1, 466, 799で既に記載されている。混合塩コーティング物質対ペルカーボネートの重量比は、 $1:2000 \sim 1:4$ 、更に好ましくは $1:99 \sim 1:9$ 、最も好ましくは $1:49 \sim 1:19$ の範囲内である。好ましくは、混合塩は硫酸ナトリウムおよび炭酸ナトリウムのものであり、一般式 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot n \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3$ (n は $0.1 \sim 3$ 、好ましくは n は $0.3 \sim 1.0$ 、最も好ましくは n は $0.2 \sim 0.5$ である) を有している。

【0085】

本発明の目的に適したペルカーボネートはWO97/35591で記載されたナトリウムペルカーボネートであり、 $350 \mu\text{m}$ 以下が 20% 以下で、 $500 \sim 1000 \mu\text{m}$ の固有平均粒径、および相対湿度 80% 、 32°C で24時間のとき $30 \text{ g} / 1000 \text{ g}$ サンプル以下の吸湿量で特徴づけられるか、または $500 \sim 1200 \mu\text{m}$ の平均粒径および16時間で $3 \mu\text{W} / \text{g}$ 以下の 40°C で7日間経過した熱放射で特徴づけられる。WO97/35806で記載されたような塩化物塩析剤の使用なしに水性媒体中で過酸化水素および炭酸ナトリウムから作られたナトリウムペルカーボネートも適切である。

他の適切なコーティング物質は、 $\text{SiO}_2 : \text{Na}_2\text{O}$ 比 $1.6:1 \sim 2.8:1$ のナトリウムシリケート、およびマグネシウムシリケートである。

【0086】

市販のカーボネート／サルフェートでコートされたペルカーボネートブリーチは、製造プロセス中に混入する、EDTA、1-ヒドロキシエチリデン 1, 1-ジホスホン酸 (HEDP) またはアミノホスホネートのような重金属イオン封鎖剤を低レベルで含有していることがある。本明細書で記載されたような、混入上好ましい重金属イオン封鎖剤には、有機ホスホネートおよびアミノアルキレンポリ (アルキレンホスホネート)、例えばアルカリ金属エタン 1-ヒドロキシジホスホネート、ニトリロトリメチレンホスホネート、エチレンジアミンテトラメチレンホスホネートおよびジエチレントリアミンペンタメチレンホスホネートがある。

【0087】

洗剤成分

本発明の洗剤組成物は、少なくとも1種の追加洗剤成分を含有していなければならない。これら追加成分の性質そのもの、およびその配合レベルは、組成物の物理的形態、およびそれが用いられるクリーニング操作の性質に依存する。

本発明による洗剤組成物には、液体、ペースト、ゲル、固形石鹼、錠剤、スプレー、フォーム、粉末または顆粒がある。顆粒組成物は“コンパクト”形態でもよく、液体組成物は“濃縮”形態でもよい。

【0088】

好ましい態様において、本発明は、マンナナーゼおよびペルカーボネートを含んだ洗濯組成物に関する。第二の態様では、本発明は皿洗い組成物に関する。

10

【0089】

本発明の組成物は、例えば、手および機械皿洗い組成物、手および機械洗濯洗剤組成物、例えば洗濯添加組成物、および汚れた布帛の浸漬および／または前処理向けに適した組成物、すすぎ添加布帛柔軟剤組成物として処方される。

【0090】

手皿洗いで使用の組成物として処方されるとき、本発明の組成物は、好ましくは、界面活性剤と、好ましくは有機ポリマー化合物、起泡増強剤、II族金属イオン、溶媒、ヒドロトロープおよび追加酵素から選択される他の洗剤化合物とを含有している。

洗濯機洗浄法で使用に適した組成物として処方されるとき、本発明の組成物は、好ましくは、界面活性剤およびビルダー化合物の双方と、好ましくは有機ポリマー化合物、漂白剤、追加酵素、起泡抑制剤、分散剤、ライムソープ分散剤、汚れ懸濁および再付着防止剤、および腐食抑制剤から選択される1種以上の洗剤成分とを更に含有している。洗濯組成物は追加洗剤成分として柔軟剤も含有することができる。マンナナーゼおよびペルカーボネートを含むこのような組成物は、洗濯洗剤組成物として処方されたとき、布帛クリーニング、しみ抜き、白さ維持、カラー・アピアランス (color appearance)、転染阻止および衛生処理を行うことができる。

20

本発明の組成物は、固形または液体形態で、洗剤添加製品としても使用できる。このような添加製品は慣用的な洗剤組成物の性能を補強または増強するためにあり、クリーニングプロセスのどの段階で加えてもよい。

【0091】

30

必要であれば、本洗濯洗剤組成物の密度は、20℃で測定された組成物で、400～1200 g/L、好ましくは500～950 g/Lである。

本組成物の“コンパクト”形態は、密度、および組成面では無機フィラー塩の量で最もよく反映される；無機フィラー塩は粉末形態をとる洗剤組成物の慣用成分である；慣用的な洗剤組成物では、フィラー塩は実質量、典型的には全組成物の17～35重量%で存在する。コンパクト組成物において、フィラー塩は全組成物の15重量%を超えない、好ましくは組成物の10%を超えない、最も好ましくは5%を超えない量で存在する。本組成物で意味されるような無機フィラー塩は、サルフェートおよびクロリドのアルカリおよびアルカリ土類金属塩から選択される。好ましいフィラー塩は硫酸ナトリウムである。

【0092】

40

本発明による液体洗剤組成物は“濃縮形態”でもよく、このような場合に、本発明による液体洗剤組成物は慣用的な液体洗剤と比較して少量の水を含有している。典型的には、濃縮液体洗剤の水分は、好ましくは洗剤組成物の40重量%未満、更に好ましくは30%未満、最も好ましくは20%未満である。

本発明で使用に適した洗剤化合物は、下記化合物からなる群より選択される。

【0093】

界面活性剤系

本発明による洗剤組成物は、界面活性剤がノニオン性および／またはアニオン性および／またはカチオン性および／または両性および／または双極性および／または半極性界面活性剤から選択できる、界面活性剤系を通常含んでいる。

50

界面活性剤は、典型的には0.1～60重量%のレベルで存在する。更に好ましい配合レベルは、本発明による洗剤組成物の1～35重量%、最も好ましくは1～30重量%である。

界面活性剤は、好ましくは、組成物中に存在する酵素成分と適合するように処方される。液体またはゲル組成物では、界面活性剤は、最も好ましくは、これらの組成物において酵素の安定性を促進するか、または少くともそれを分解しないように処方される。

本発明に従い用いられる好ましい界面活性剤系は、界面活性剤として、本明細書で記載されたノニオン性および／またはアニオン性界面活性剤を1種以上含んでいる。

【0094】

アルキルフェノールのポリエチレン、ポリプロピレンおよびポリブチレンオキシド縮合物は本発明の界面活性剤系のノニオン性界面活性剤として使用に適しており、ポリエチレンオキシド縮合物が好ましい。これらの化合物には、直鎖または分岐鎖配置で炭素原子約6～約14、好ましくは炭素原子約8～約14のアルキル基を有するアルキルフェノールと、アルキレンオキシドとの縮合産物がある。好ましい態様において、エチレンオキシドは、アルキルフェノール1モル当たり約2～約25モル、更に好ましくは約3～約15モルのエチレンオキシドに相当する量で存在する。このタイプの市販ノニオン性界面活性剤には、GAF Corporationから販売されているIgepalTMCO-630、すべてRohm & Haas Company から販売されているTritonTMX-45、X-114、X-100およびX-102がある。これらの界面活性剤はアルキルフェノールアルコキシレート（例えば、アルキルフェノールエトキシレート）と通常称される。

【0095】

一級および二級脂肪族アルコールと約1～約25モルのエチレンオキシドとの縮合産物が、本発明のノニオン性界面活性剤系のノニオン性界面活性剤として使用に適している。脂肪族アルコールのアルキル鎖は直鎖または分岐、一級または二級であり、通常約8～約22の炭素原子を有している。炭素原子約8～約20、更に好ましくは炭素原子約10～約18のアルキル基を有するアルコールと、アルコール1モル当たり約2～約10モルのエチレンオキシドとの縮合産物が好ましい。アルコール1モル当たり約2～約7モルのエチレンオキシド、最も好ましくは2～5モルのエチレンオキシドが上記の縮合産物中に存在する。このタイプの市販ノニオン性界面活性剤の例には、双方ともUnion Carbide Corporation から販売されているTergitolTM15-S-9（C₁₁-C₁₅直鎖アルコールとエチレンオキシド9モルとの縮合産物）、TergitolTM24-L-6 NMW（C₁₂-C₁₄一級アルコールとエチレンオキシド6モルとの、狭い分子量分布の縮合産物）；Shell Chemical Companyから販売されているNeodolTM45-9（C₁₄-C₁₅直鎖アルコールとエチレンオキシド9モルとの縮合産物）、NeodolTM23-3（C₁₂-C₁₃直鎖アルコールとエチレンオキシド3.0モルとの縮合産物）、NeodolTM45-7（C₁₄-C₁₅直鎖アルコールとエチレンオキシド7モルとの縮合産物）、NeodolTM45-5（C₁₄-C₁₅直鎖アルコールとエチレンオキシド5モルとの縮合産物）；The Procter & Gamble Companyから販売されているKyroTMEOB（C₁₃-C₁₅アルコールとエチレンオキシド9モルとの縮合産物）；Hoechst から販売されているGenapol LA 030または050（C₁₂-C₁₄アルコールとエチレンオキシド3または5モルとの縮合産物）がある。これらの産物におけるHLBの好ましい範囲は8～11、最も好ましくは8～10である。

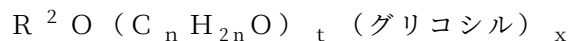
【0096】

本発明の界面活性剤系のノニオン性界面活性剤として、約6～約30の炭素原子、好ましくは約10～約16の炭素原子をもつ疎水基と、約1.3～約10、好ましくは約1.3～約3、最も好ましくは約1.3～約2.7の糖単位をもつ多糖、例えばポリグリコシドの親水基とを有する、1986年1月21日付で発行されたLlenado のUS特許第4,565,647号明細書で開示されたアルキル多糖も有用である。5または6つの炭素原子を有する還元糖も使用でき、例えばグルコース、ガラクトースおよびガラクトシル部分がグルコシル部分の代わりに使用できる（場合により、疎水基が2、3、4位などに結合されて、グルコシドまたはガラクトシドの代わりにグルコースまたはガラクトースを与える

）。例えば、追加糖単位の1つの位置と先の糖単位の2、3、4および／または6位との間に、糖間結合が存在していてもよい。

【0097】

好ましいアルキルポリグリコシドは下記式を有している：



上記式中 R^2 はアルキル、アルキルフェニル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルキルフェニルおよびそれらの混合物からなる群より選択される（アルキル基は約10～約18、好ましくは約12～約14の炭素原子を有する）； n は2または3、好ましくは2である； t は0～約10、好ましくは0である； x は約1.3～約10、好ましくは約1.3～約3、最も好ましくは約1.3～約2.7である。グリコシルは、好ましくはグルコースから誘導される。これらの化合物を製造するためには、アルコールまたはアルキルポリエトキシアルコールを最初に形成させ、その後グルコースまたはグルコース源と反応させてグルコシド（1位に結合）を形成させる。追加グリコシル単位も、それらの1位と先のグリコシル単位の2、3、4および／または6位、好ましくは主に2位との間で結合させてよい。

【0098】

プロピレンオキシドとプロピレングリコールとの縮合により形成された疎水性ベースとエチレンオキシドとの縮合産物も、本発明の追加ノニオン性界面活性剤系として使用に適している。これら化合物の疎水性部分は好ましくは約1500～約1800の分子量を有し、非水溶性を示す。この疎水性部分へのポリオキシエチレン部分の付加は全体的に分子の水溶性を増す傾向があり、産物の液性はポリオキシエチレン含有率が縮合産物の全重量の約50%のところまでに留められるが、これは約40モル以内のエチレンオキシドとの縮合に相当する。このタイプの化合物の例には、BAS Fから販売されている、ある種の市販PlurafacTMLF404 およびPluronicTM界面活性剤がある。

【0099】

本発明のノニオン性界面活性剤系のノニオン性界面活性剤として、プロピレンオキシドとエチレンジアミンとの反応から得られる産物と、エチレンオキシドとの縮合産物も、使用に適している。これら産物の疎水性部分はエチレンジアミンおよび過剰プロピレンオキシドの反応産物からなり、通常約2500～約3000の分子量を有する。この疎水性部分は、縮合産物が約40～約80重量%のポリオキシエチレンを含んで、約5000～約11,000の分子量を有する程度まで、エチレンオキシドと縮合される。このタイプのノニオン性界面活性剤の例には、BAS Fから販売されている、ある種の市販TetronicTM化合物がある。

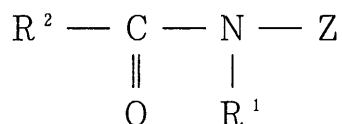
【0100】

本発明の界面活性剤系のノニオン性界面活性剤として、アルキルフェノールのポリエチレンオキシド縮合物、一級および二級脂肪族アルコールと約1～約25モルのエチレンオキシドとの縮合産物、アルキル多糖、およびそれらの混合物が、使用上好ましい。3～15のエトキシ基を有する $C_8 - C_{14}$ アルキルフェノールエトキシレート、2～10のエトキシ基を有する $C_8 - C_{18}$ アルコールエトキシレート（好ましくは C_{10} 平均）、およびそれらの混合物が最も好ましい。

【0101】

高度に好ましいノニオン性界面活性剤は、下記式のポリヒドロキシ脂肪酸アミド界面活性剤である：

【化1】



上記式中 R^1 はHであるか、あるいは R^1 は C_{1-4} ヒドロカルビル、2-ヒドロキシエチ

ル、2-ヒドロキシプロピルまたはそれらの混合物であり、 R^2 は C_{5-31} ヒドロカルビルであり、Zは直鎖ヒドロカルビル鎖とその鎖に直接結合された少なくとも3つのヒドロキシルとを有するポリヒドロキシヒドロカルビル、またはそのアルコキシ化誘導体である。好ましくは、 R^1 はメチルであり、 R^2 は直鎖 C_{11-15} アルキルまたは C_{16-18} アルキルまたはアルケニル鎖、例えばココナツアルキル、またはそれらの混合物であり、Zは還元アミノ化反応でグルコース、フルクトース、マルトース、ラクトースのような還元糖から誘導される。

【0102】

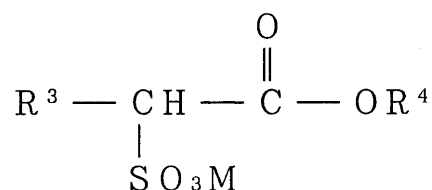
用いられる適切なアニオン性界面活性剤は、"The Journal of the American Oil Chemists Society", 52 (1975), pp.323-329 に従い気体 SO_3 でスルホン化された $C_8 - C_{20}$ カルボン酸（即ち、脂肪酸）の直鎖エステルを含めた、直鎖アルキルベンゼンスルホネート、アルキルエステルスルホネート界面活性剤である。適切な出発物質には、獣脂、パーム油などから誘導されるような天然脂肪物質がある。

10

【0103】

特に洗濯適用向けに好ましいアルキルエステルスルホネート界面活性剤には、下記構造式のアルキルエステルスルホネート界面活性剤がある：

【化2】



20

上記式中 R^3 は $C_8 - C_{20}$ ヒドロカルビル、好ましくはアルキル、またはそれらの組合せであり、 R^4 は $C_1 - C_6$ ヒドロカルビル、好ましくはアルキル、またはそれらの組合せであり、Mはアルキルエステルスルホネートと水溶性塩を形成するカチオンである。適切な塩形成カチオンには、ナトリウム、カリウムおよびリチウムのような金属、置換または非置換アンモニウムカチオン、例えばモノエタノールアミン、ジエタノールアミンおよびトリエタノールアミンがある。好ましくは、 R^3 は $C_{10} - C_{16}$ アルキルであり、 R^4 はメチル、エチルまたはイソプロピルである。 R^3 が $C_{10} - C_{16}$ アルキルであるメチルエステルスルホネートが特に好ましい。

30

【0104】

他の適切なアニオン性界面活性剤には、式 $ROSO_3M$ の水溶性塩または酸であるアルキルサルフェート界面活性剤があり、ここでRは好ましくは $C_{10} - C_{24}$ ヒドロカルビル、好ましくは $C_{10} - C_{20}$ アルキル部分を有するアルキルまたはヒドロキシアルキル、更に好ましくは $C_{12} - C_{18}$ アルキルまたはヒドロキシアルキルであり、MはHまたはカチオン、例えばアルカリ金属カチオン（例えばナトリウム、カリウム、リチウム）、アンモニウムまたは置換アンモニウム（例えば、メチル-、ジメチル-およびトリメチル-アンモニウムカチオン、およびテトラメチルアンモニウムおよびジメチルピペリジニウムカチオンのような四級アンモニウムカチオン、およびエチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミンのようなアルキルアミンから誘導される四級アンモニウムカチオン、およびそれらの混合物など）である。典型的には、 $C_{12} - C_{16}$ アルキル鎖は低い洗浄温度（例えば約 50°C 以下）で好ましく、 $C_{16} - C_{18}$ アルキル鎖は高い洗浄温度（例えば約 50°C 以上）で好ましい。

40

【0105】

洗浄目的に有用な他のアニオン性界面活性剤も、本発明の洗剤組成物中に含有させることができる。これらには、石鹼の塩（例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウムおよび置換アンモニウム塩、例えばモノ、ジおよびトリエタノールアミン塩を含む）、 $C_8 - C_{22}$ 一級または二級アルカンスルホネート、 $C_8 - C_{24}$ オレフィンスルホネート、例えば英国特許明細書第1,082,179号明細書で記載されたように、アルカリ土類金属シト

50

レートの熱分解産物のスルホン化により製造されるスルホン化ポリカルボン酸、 $C_8 - C_{24}$ アルキルポリグリコールエーテルサルフェート（10モル以内のエチレンオキシドを含む）；アルキルグリセロールスルホネート、脂肪アシルグリセロールスルホネート、脂肪オレイルグリセロールサルフェート、アルキルフェノールエチレンオキシドエーテルサルフェート、パラフィンスルホネート、アルキルホスフェート、アシルイセチオネートのようなイセチオネート、N-アシルタウレート、アルキルサクシナメートおよびスルホサクシネート、スルホサクシネートのモノエステル（特に飽和および不飽和 $C_{12} - C_{18}$ モノエステル）およびスルホサクシネートのジエステル（特に飽和および不飽和 $C_6 - C_{12}$ ジエステル）、アシルサルコシネート、アルキルポリグルコシドのサルフェートのようなアルキル多糖のサルフェート（ノニオン性非サルフェート化合物は以下で記載されている）
 、分岐一級アルキルサルフェート、および式 $RO(CH_2CH_2O)_k - CH_2COO^-M^+$ （Rは $C_8 - C_{22}$ アルキルであり、kは1～10の整数であり、Mは可溶性塩形成カチオンである）のようなアルキルポリエトキシカルボキシレートがある。トール油中に存在するか、またはそれから誘導される、ロジン、水素添加ロジン、樹脂酸および水素添加樹脂酸のような、樹脂酸および水素添加樹脂酸も適切である。

10

【0106】

別な例は、"Surface Active Agents and Detergents" (Vol. I and II, Schwartz, Perry and Berch)で記載されている。様々なこのような界面活性剤は、1975年12月30日付で発行されたLaughlinらのUS特許第3,929,678号明細書の第23欄58行目～第29欄23行目でも一般的に開示されている（参考のため本明細書に組み込まれる）。

20

【0107】

本組成物中に含有されるとき、本発明の洗濯洗剤組成物は典型的には約1～約40重量%、好ましくは約3～約20%のこのようなアニオン性界面活性剤を含んでいる。

【0108】

高度に好ましいアニオン性界面活性剤には、式 $RO(A)_mSO_3M$ の水溶性塩または酸であるアルキルアルコキシ化サルフェート界面活性剤があり、ここでRは非置換 $C_{10} - C_{24}$ アルキルまたは $C_{10} - C_{24}$ アルキル部分を有するヒドロキシアルキル基、好ましくは $C_{12} - C_{20}$ アルキルまたはヒドロキシアルキル、更に好ましくは $C_{12} - C_{18}$ アルキルまたはヒドロキシアルキルであり、Aはエトキシまたはプロポキシ単位であり、mはゼロより大きく、典型的には約0.5～約6、更に好ましくは約0.5～約3であり、MはHまたはカチオン、例えば金属カチオン（例えばナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、マグネシウム等）、アンモニウムまたは置換アンモニウムカチオンである。アルキルエトキシ化サルフェートおよびアルキルプロポキシ化サルフェートが本発明では考えられる。置換アンモニウムカチオンの具体例には、メチル、ジメチル、トリメチル-アンモニウムカチオン、並びにテトラメチルアンモニウムおよびジメチルピペリジニウムカチオンのような四級アンモニウムカチオン、並びにエチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミンのようなアルキルアミンから誘導されるもの、それらの混合物などがある。例示の界面活性剤は、 $C_{12} - C_{18}$ アルキルポリエトキシレート（1.0）サルフェート（ $C_{12} - C_{18}E(1.0)M$ ）、 $C_{12} - C_{18}$ アルキルポリエトキシレート（2.25）サルフェート（ $C_{12} - C_{18}E(2.25)M$ ）、 $C_{12} - C_{18}$ アルキルポリエトキシレート（3.0）サルフェート（ $C_{12} - C_{18}E(3.0)M$ ）および $C_{12} - C_{18}$ アルキルポリエトキシレート（4.0）サルフェート（ $C_{12} - C_{18}E(4.0)M$ ）であり、Mは便宜上ナトリウムおよびカリウムから選択される。

30

40

【0109】

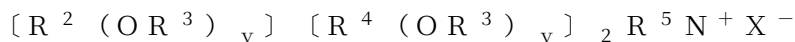
本発明の洗剤組成物は、カチオン性、両性、双極性および半極性界面活性剤、並びに本明細書で既に記載されたもの以外のノニオン性および／またはアニオン性界面活性剤も含有してよい。

【0110】

本発明の洗剤組成物で使用に適したカチオン性洗浄界面活性剤は、1つの長鎖ヒドロカルビル基を有するものである。このようなカチオン性界面活性剤の例には、アンモニウム界

50

面活性剤、例えばアルキルトリメチルアンモニウムハロゲンナイド、および下記式を有する界面活性剤がある：



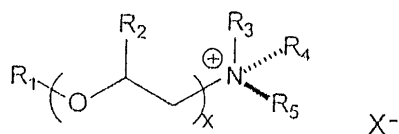
上記式中 R^2 はアルキル鎖中に約 8 ～ 約 18 の炭素原子を有するアルキルまたはアルキルベンジル基である；各 R^3 は $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CH_2OH)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ およびそれらの混合物からなる群より選択される；各 R^4 は $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、2つの R^4 基を連結して形成されたベンジル環構造、 $-CH_2CHOH-CHOHCO R^6CHOHCH_2OH$ (R^6 は約 1000 以下の分子量を有するヘキソースまたはヘキソースポリマーである)、および y が 0 でないとき水素からなる群より選択される； R^5 は R^4 と同様であるか、または $R^2 + R^5$ の炭素原子の総数が約 18 以下となるアルキル鎖である；各 y は 0 ～ 約 10 であって、 y 値の合計は 0 ～ 約 15 である； X はいずれか適合しうるアニオンである。

10

【0111】

本発明に適した四級アンモニウム界面活性剤は下記式 (I) を有している：

【化 3】

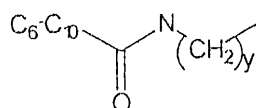


20

式 I

上記式中 R_1 は短鎖長アルキル ($C_6 - C_{10}$) または下記式 (II) のアルキルアミドアルキルである：

【化 4】



30

式 II

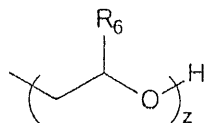
(y は 2 ～ 4、好ましくは 3 である)；

上記式中 R_2 は H または $C_1 - C_3$ アルキルである；

上記式中 x は 0 ～ 4、好ましくは 0 ～ 2、最も好ましくは 0 である；

上記式中 R_3 、 R_4 および R_5 は同一であるかまたは異なっており、短鎖アルキル ($C_1 - C_3$) または下記式 III のアルコキシ化アルキルである；

【化 5】



40

式 III

(R_6 は $C_1 - C_4$ であり、 z は 1 または 2 である)

上記式中 X^- は対イオン、好ましくはハライド、例えばクロリドまたはメチル硫酸である。

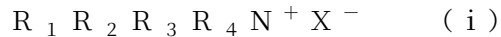
50

【0112】

好ましい四級アンモニウム界面活性剤は、 R_1 が C_8 、 C_{10} またはそれらの混合物、 $x = 0$ 、 R_3 、 $R_4 = CH_3$ および $R_5 = CH_2CH_2OH$ である、式 I で定義されたようなものである。

【0113】

高度に好ましいカチオン性界面活性剤は、下記式を有した、本組成物で有用な水溶性四級アンモニウム化合物である：



上記式中 R_1 は $C_8 - C_{16}$ アルキルであり、 R_2 、 R_3 および R_4 の各々は独立して $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキル、ベンジルおよび $-(C_2H_4)_x H$ (x は 2～5 の値を有する) であり、 X はアニオンである。 R_2 、 R_3 または R_4 のうち 1 以下はベンジルでなければならない。

R_1 にとり好ましいアルキル鎖長は $C_{12} - C_{15}$ であり、特にそのアルキル基はココナツまたはパーム核脂肪から誘導される鎖長の混合物であるか、あるいはオレフィンビルドアップまたはオキシアルコール合成により合成で誘導される。 R_2 、 R_3 および R_4 にとり好ましい基はメチルおよびヒドロキシエチル基であり、アニオン X はハライド、メト硫酸、酢酸およびリン酸イオンから選択される。

【0114】

本発明で使用に適した式 (i) の四級アンモニウム化合物の例は以下である：

ココナツトリメチルアンモニウムクロリドまたはブロミド

ココナツメチルジヒドロキシエチルアンモニウムクロリドまたはブロミド

デシルトリエチルアンモニウムクロリド

デシルジメチルヒドロキシエチルアンモニウムクロリドまたはブロミド

C_{12-15} ジメチルヒドロキシエチルアンモニウムクロリドまたはブロミド

ココナツジメチルヒドロキシエチルアンモニウムクロリドまたはブロミド

ミリスチルトリメチルアンモニウムメチルサルフェート

ラウリルジメチルベンジルアンモニウムクロリドまたはブロミド

ラウリルジメチル (エテノキシ) $_4$ アンモニウムクロリドまたはブロミド

コリンエステル (R_1 が $CH_2 - CH_2 - O - C(=O) - C_{12-14}$ アルキルであり、 R_2 、 R_3 、 R_4 がメチルである、式 (i) の化合物)

ジアルキルイミダゾリン (式 (i) の化合物)

【0115】

本発明で有用な他のカチオン性界面活性剤は、1980年10月14日付で発行されたCambridgeのUS特許第4,228,044号および欧州特許出願EP第000,224号明細書にも記載されている。

【0116】

典型的なカチオン性布帛柔軟化成分には非水溶性四級アンモニウム布帛柔軟化活性剤またはそれらに相当するアミン前駆体があり、ジ鎖アルキルアンモニウムクロリドまたはメチルサルフェートが最も常用されている。

これらの中で好ましいカチオン性柔軟剤には以下がある：

- 1) ジタロージメチルアンモニウムクロリド (D TDMAC)
- 2) ジ水素添加タロージメチルアンモニウムクロリド
- 3) ジ水素添加タロージメチルアンモニウムメチルサルフェート
- 4) ジステアリルジメチルアンモニウムクロリド
- 5) ジオレイルジメチルアンモニウムクロリド
- 6) ジパルミチルヒドロキシエチルメチルアンモニウムクロリド
- 7) ステアリルベンジルジメチルアンモニウムクロリド
- 8) タロートリメチルアンモニウムクロリド
- 9) 水素添加タロートリメチルアンモニウムクロリド
- 10) C₁₂₋₁₄ アルキルヒドロキシエチルジメチルアンモニウムクロリド
- 11) C₁₂₋₁₈ アルキルジヒドロキシエチルメチルアンモニウムクロリド
- 12) ジ (ステアロイルオキシエチル) ジメチルアンモニウムクロリド (D S OEDMAC)
- 13) ジ (タローオキシエチル) ジメチルアンモニウムクロリド
- 14) ジタローイミダゾリニウムメチルサルフェート
- 15) 1 - (2 - タローイルアミドエチル) - 2 - タローイルイミダゾリニウムメチルサルフェート

10

【0117】

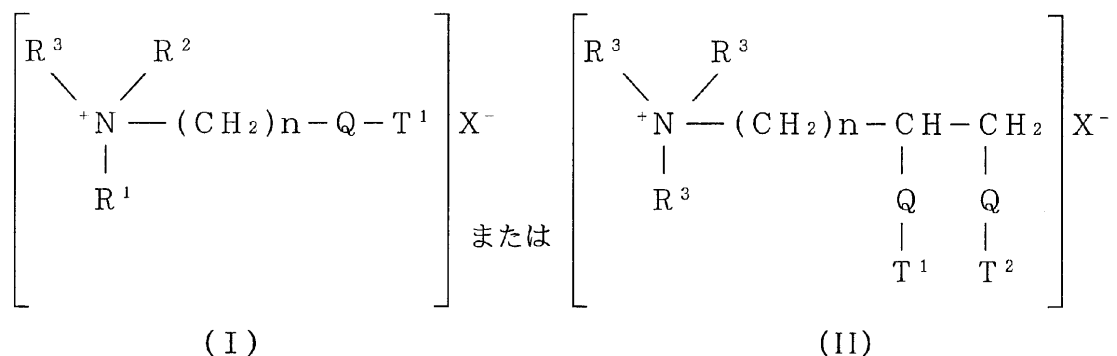
生分解性四級アンモニウム化合物が、伝統的に用いられているジ長鎖アルキルアンモニウムクロリドおよびメチルサルフェートの代わりとして提供されている。このような四級アンモニウム化合物は、カルボキシ基のような官能基を介在させた長鎖アルキル (アルケニル) 基を有している。上記物質およびそれらを含む布帛柔軟化組成物は、E P - A - 0, 040, 562 および E P - A - 0, 239, 910 のような多数の文献で開示されている。

20

【0118】

四級アンモニウム化合物およびそのアミン前駆体は、下記式 (I) または (II) を有している：

【化6】



30

上記式中Qは - O - C (O) - 、 - C (O) - O - 、 - O - C (O) - O - 、 - N R⁴ - C (O) - 、 - C (O) - N R⁴ - から選択される；

R¹は (CH₂)_n - Q - T² または T³ である；

R²は (CH₂)_m - Q - T⁴ または T⁵、あるいは R³ である；

R³は C₁ - C₄ アルキル、C₁ - C₄ ヒドロキシルアルキルまたは H である；

R⁴は H、C₁ - C₄ アルキルまたは C₁ - C₄ ヒドロキシルアルキルである；

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵は独立して C₁₁ - C₂₂ アルキルまたはアルケニルである；

n および m は 1 ~ 4 の整数である；および

X⁻は柔軟剤適合性アニオンである。柔軟剤適合性アニオンの非制限例にはクロリドまたはメチルサルフェートがある。

40

50

【0119】

アルキルまたはアルケニル鎖 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 は、少なくとも 11 の炭素原子、好ましくは少なくとも 16 の炭素原子を有していなければならない。その鎖は直鎖でもまたは分岐でもよい。獣脂は長鎖アルキルおよびアルケニル物質の便利で安価な供給源である。 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 が獣脂に典型的な長鎖物質の混合物を表している化合物が特に好ましい。

【0120】

本水性布帛柔軟化組成物で使用に適した四級アンモニウム化合物の具体例には：

- 1) N, N - ジ (タローイルオキシエチル) - N, N - ジメチルアンモニウム クロリド
- 2) N, N - ジ (タローイルオキシエチル) - N - メチル, N - (2 - ヒドロ キシエチル) アンモニウムメチルサルフェート
- 3) N, N - ジ (2 - タローイルオキシ - 2 - オキシエチル) - N, N - ジメチルアンモニウムクロリド
- 4) N, N - ジ (2 - タローイルオキシエチルカルボニルオキシエチル) - N, N - ジメチルアンモニウムクロリド
- 5) N - (2 - タローイルオキシ - 2 - エチル) - N - (2 - タローイルオキシ - 2 - オキシエチル) - N, N - ジメチルアンモニウムクロリド
- 6) N, N, N - トリ (タローイルオキシエチル) - N - メチルアンモニウム クロリド
- 7) N - (2 - タローイルオキシ - 2 - オキシエチル) - N - (タローイル - N, N - ジメチルアンモニウムクロリド)
- 8) 1, 2 - ジタローイルオキシ - 3 - トリメチルアンモニオプロパンクロリドおよび上記物質の混合物がある。

【0121】

本組成物中に含有されるとき、本発明の洗剤組成物は典型的には 0.2 ～ 約 25 重量%、好ましくは約 1 ～ 約 8 % のこのようなカチオン性界面活性剤を含む。

【0122】

両性界面活性剤も本発明の洗剤組成物で使用に適している。これらの界面活性剤は、二級または三級アミンの脂肪族誘導体、あるいはヘテロ環式二級および三級アミンの脂肪族誘導体として広く記載することができ、ここで脂肪族基は直鎖でもまたは分岐鎖であってもよい。脂肪族置換基の 1 つは少なくとも約 8 つの炭素原子、典型的には約 8 ～ 約 18 の炭素原子を有し、少なくとも 1 つはアニオン性水溶性基、例えばカルボキシ、スルホン酸、硫酸基を有している。両性界面活性剤の例については、1975 年 12 月 30 日付で発行された Laughlin らの US 特許第 3,929,678 号明細書の第 19 欄 18 ～ 35 行目参照。本組成物中に含有されるとき、本発明の洗剤組成物は典型的には 0.2 ～ 約 15 重量%、好ましくは約 1 ～ 約 10 % のこのような両性界面活性剤を含む。

【0123】

双極性界面活性剤も洗剤組成物で使用に適している。これらの界面活性剤は、二級および三級アミンの誘導体、ヘテロ環式二級および三級アミンの誘導体、あるいは四級アンモニウム、四級ホスホニウムまたは三級スルホニウム化合物の誘導体として広く記載することができる。双極性界面活性剤の例については、1975 年 12 月 30 日付で発行された Laughlin らの US 特許第 3,929,678 号明細書の第 19 欄 38 行目～第 22 欄 48 行目参照。

本組成物中に含有されるとき、本発明の洗剤組成物は典型的には 0.2 ～ 約 15 重量%、好ましくは約 1 ～ 約 10 % のこのような双極性界面活性剤を含む。

【0124】

半極性ノニオン性界面活性剤は、炭素原子約 10 ～ 約 18 の 1 つのアルキル部分、炭素原子約 1 ～ 約 3 のアルキル基およびヒドロキシルアルキル基からなる群より選択される 2 つの部分をもつ水溶性アミノオキシド；炭素原子約 10 ～ 約 18 の 1 つのアルキル部分、炭

10

20

30

40

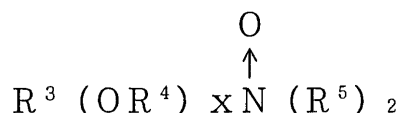
50

素原子約1～約3のアルキル基およびヒドロキシアルキル基からなる群より選択される2つの部分を有した水溶性ホスフィンオキシド；炭素原子約10～約18の1つのアルキル部分、炭素原子約1～約3のアルキルおよびヒドロキシアルキル部分からなる群より選択される部分を有した水溶性スルホキシドを含めた、特定カテゴリーのノニオン性界面活性剤である。

【0125】

半極性ノニオン性洗剤界面活性剤には、下記式を有したアミノキシド界面活性剤がある：

【化7】



10

上記式中 R^3 は約8～約22の炭素原子を有するアルキル、ヒドロキシアルキル、アルキルフェニル基またはそれらの混合物である； R^4 は約2～約3の炭素原子を有するアルキレン、ヒドロキシアルキレン基またはそれらの混合物である；

x は0～約3である；各 R^5 は約1～約3の炭素原子を有するアルキルまたはヒドロキシアルキル基、あるいは約1～約3のエチレンオキシド基を有するポリエチレンオキシド基である。 R^5 基は、例えば酸素または窒素原子を介して互いに結合されて、環構造を形成していてもよい。

20

これらのアミノキシド界面活性剤には、特に C_{10} - C_{18} アルキルジメチルアミノキシドおよび C_8 - C_{12} アルコキシエチルジヒドロキシエチルアミノキシドがある。

本組成物中に含有されるとき、本発明のクリーニング組成物は典型的には0.2～約15重量%、好ましくは約1～約10%のこのような半極性ノニオン性界面活性剤を含む。

【0126】

本発明の洗剤組成物は、一級または三級アミンの群から選択される共界面活性剤(cosurfactant)を更に含んでもよい。

本発明で使用に適した一級アミンには、式 $\text{R}_1 \text{NH}_2$ によるアミンがあり、ここで R_1 は C_6 - C_{12} 、好ましくは C_6 - C_{10} アルキル鎖、または $\text{R}_4 \text{X} (\text{CH}_2)_n$ であり、 X は $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ または $-\text{NH}-$ であり、 R_4 は C_6 - C_{12} アルキル鎖であり、 n は1～5、好ましくは3である。 R_1 アルキル鎖は直鎖でもまたは分岐鎖でもよく、12以下、好ましくは5未満のエチレンオキシド部分を介在させてもよい。

30

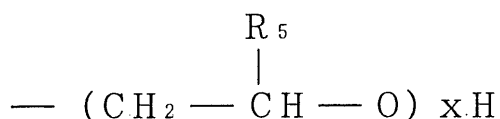
上記式による好ましいアミンは n -アルキルアミンである。本発明で使用に適したアミンは、1-ヘキシルアミン、1-オクチルアミン、1-デシルアミンおよびラウリルアミンから選択される。他の好ましい一級アミンには、 C_8 - C_{10} オキシプロピルアミン、オクチルオキシプロピルアミン、2-エチルヘキシルオキシプロピルアミン、ラウリルアミドプロピルアミンおよびアミドプロピルアミンがある。

【0127】

本発明で使用に適した三級アミンには式 $\text{R}_1 \text{R}_2 \text{R}_3 \text{N}$ を有する三級アミンがあり、ここで R_1 および R_2 は C_1 - C_8 アルキル鎖または

40

【化8】



であり、 R_3 は C_6 - C_{12} 、好ましくは C_6 - C_{10} アルキル鎖であるか、または R_3 は $\text{R}_4 \text{X} (\text{CH}_2)_n$ (X は $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ または $-\text{NH}-$ である)であり、 R_4 は C_4 - C_{12} であり、 n は1～5、好ましくは2～3である。 R_5 は H または C_1 - C_2 アルキルであり、 x は1～6である。 R_3 および R_4 は直鎖でもまたは分岐鎖でもよく、 R_3 アルキル鎖は12以下、好ましくは5未満のエチレンオキシド部分を介在させてもよ

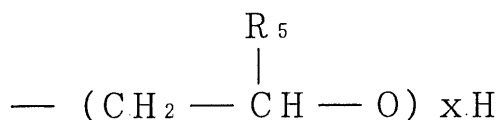
50

い。

【0128】

好ましい三級アミンは、 R_1 が $C_6 - C_{12}$ アルキル鎖で、 R_2 および R_3 が $C_1 - C_3$ アルキルまたは

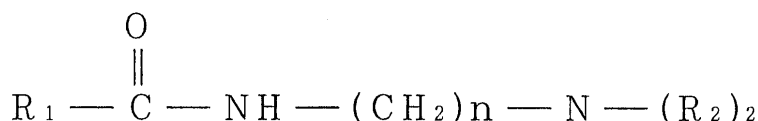
【化9】



(上記式中 R_5 は H または CH_3 であり、 $x = 1 \sim 2$ である) である、 $R_1 R_2 R_3 N$ である。 10

下記式のアミドアミンも好ましい：

【化10】



上記式中 R_1 は $C_6 - C_{12}$ アルキルであり、 n は $2 \sim 4$ 、好ましくは n は 3 であり、 R_2 および R_3 は $C_1 - C_4$ である。 20

【0129】

本発明の最も好ましいアミンには、1 - オクチルアミン、1 - ヘキシルアミン、1 - デシルアミン、1 - ドデシルアミン、 C_{8-10} オキシプロピルアミン、N - ココ - 1, 3 - ジアミノプロパン、ココナツアルキルジメチルアミン、ラウリルジメチルアミン、ラウリルビス(ヒドロキシエチル)アミン、ココビス(ヒドロキシエチル)アミン、2 モルプロポキシ化ラウリルアミン、2 モルプロポキシ化オクチルアミン、ラウリルアミドプロピルジメチルアミン、 C_{8-10} アミドプロピルジメチルアミンおよび C_{10} アミドプロピルジメチルアミンがある。

本組成物で使用上最も好ましいアミンは、1 - ヘキシルアミン、1 - オクチルアミン、1 - デシルアミン、1 - ドデシルアミンである。特に望ましいのは、 n - ドデシルジメチルアミン、ビスヒドロキシエチルココナツアルキルアミン、7 回エトキシ化オレイルアミン、ラウリルアミドプロピルアミンおよびココアミドプロピルアミンである。 30

【0130】

慣用的な洗剤酵素

洗剤組成物は、マンナナーゼ酵素およびペルカーボネートに加えて、クリーニング性能、布帛ケアおよび／または衛生処理効果を発揮する 1 種以上の酵素を更に含むことができる。好ましくは、本発明の洗剤組成物はプロテアーゼを含む。プロテアーゼ酵素を更に含んだ本発明の組成物は更に良いホワイトニングおよびしみ抜き効果を発揮することが、意外にもわかった。

【0131】

適切なプロテアーゼは、IUPAC 分類 E C 3.4.-.- からのプロテアーゼ、好ましくは IUPAC 分類 E C 3.4.21.- からのエンド - セリンプロテアーゼ、更に好ましくは IUPAC 分類 E C 3.4.21.62 からのズブチリシンプロテアーゼである。これらの E C 3.4.21.62 はプロテアーゼは、*B. subtilis* および *B. licheniformis* の特定株から得られるズブチリシン(ズブチリシン BPN および BPN') である。1 つの適切なプロテアーゼは *Bacillus* 株から得られ、 $8 \sim 12$ の pH 範囲で最大活性を有し、デンマークの Novo Industries A/S により開発されて、ESPERASE^R として販売されており、以下 "Novo" と称される。この酵素および類似酵素の製法は Novo の G B 1, 2 4 3, 7 8 4 で記載されている。他の適切なプロテアーゼには、Novo の ALCALASE^R、DURAZYM^R および SAVINASE^R、並びに Gist-Brocades の MAXATASE^R、MAXACAL^R、PROPERASE^R および MAXAPEM^R (タンパク質工学処理 Maxaca 50

1) がある。タンパク質分解酵素には、修飾細菌セリンプロテアーゼ、例えば1987年4月28日付で出願された欧州特許出願第87/303761. 8号明細書(特に第17、24および98頁)に記載されて、以下“プロテアーゼB”と称されるものと、以下“プロテアーゼA”と称される修飾細菌セリントタンパク質分解酵素に関する1986年10月29日付で公開されたVenegasの欧州特許出願第199, 404号明細書に記載されたものがある。リジンが27位でアルギニンから置き換わり、チロシンが104位でバリンから置き換わり、セリンが123位でアスパラギンから置き換わり、アラニンが274位でトレオニンから置き換わった、*Bacillus*由来のアルカリセリンプロテアーゼの変種である、以下“プロテアーゼC”と称されるプロテアーゼが適切である。プロテアーゼCは、1991年5月16日付で公開されたWO91/06637に対応するEP909159 58:4に記載されている。特にプロテアーゼCの遺伝子修飾変種も本発明に含まれる。

10

【0132】

“プロテアーゼD”と称される好ましいプロテアーゼは、天然でみられないアミノ酸配列を有したカルボニルヒドロラーゼ変種であり、WO95/10591、および1994年10月13日付で出願されたC.GhoshらのUS8/322, 677の“プロテアーゼ酵素を含有した漂白組成物”と題する特許出願に記載されたような、*Bacillus amyloliquefaciens*ズブチリシンのナンバリングに従い、好ましくは+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および/または+274からなる群より選択されるものに相当する1以上のアミノ酸残基位置と組合せて、+76位に相当する位置において、上記カルボニルヒドロラーゼで複数のアミノ酸残基の代わりに異なるアミノ酸を用いることにより、前駆体カルボニルヒドロラーゼから誘導される。次の残基: +33、+62、+67、+76、+100、+101、+103、+104、+107、+128、+129、+130、+132、+135、+156、+158、+164、+166、+167、+170、+209、+215、+217、+218および+222のうち1以上と共に+210位に相当する前駆体酵素上で置き換えられた複数のアミノ酸残基の置換により誘導されたアミノ酸配列を有する、WO95/10591に記載されたプロテアーゼのカルボニルヒドロラーゼ変種も適切であるが、ここでナンバリングされた位置は*Bacillus amyloliquefaciens*由来の天然ズブチリシンまたは他のカルボニルヒドロラーゼもしくはズブチリシン、例えば*Bacillus lentus*ズブチリシンの相当アミノ酸残基に対応している(1997年6月4日付で出願された同時係属特許出願US8/60/048, 550)。

20

30

【0133】

特許出願EP251446およびWO91/06637に記載されたプロテアーゼ、WO91/02792に記載されたプロテアーゼBLAP^R、およびWO95/23221に記載されたそれらの変種も、本発明に適している。NovoのWO93/18140Aに記載された*Bacillus* sp.NCIMB 40338からの高pHプロテアーゼも参照。プロテアーゼ、1種以上の他の酵素および可逆性プロテアーゼインヒビターを含有した酵素洗剤は、NovoのWO92/03529Aに記載されている。所望であれば、減少した吸着性および向上した加水分解性を有するプロテアーゼが、Procter & GambleのWO95/07791に記載されたように入手できる。本発明に適した洗剤向けの組換えトリプシン様プロテアーゼは、NovoのWO94/25583に記載されている。他の適切なプロテアーゼは、UnileverのEP516200で記載されている。

40

タンパク質分解酵素は、組成物の0.0001~2重量%、好ましくは0.001~0.2%、更に好ましくは0.005~0.1%の純粋酵素レベルで、本発明の洗剤組成物中に配合される。

【0134】

上記酵素には、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、ペルオキシダーゼ、グルコアミラーゼ、アミラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼ、エステラーゼ、クチナーゼ、ペク

50

チナーゼ、ケラタナーゼ、レダクターゼ、オキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、リボキシゲナーゼ、リグニナーゼ、プルラナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、マラナーゼ、 β -グルカナナーゼ、アラビノシダーゼ、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、ラッカーゼまたはそれらの混合物から選択される酵素がある。

好ましい組合せは、1種以上の植物細胞壁分解酵素と一緒にした、プロテアーゼ、アミラーゼ、リパーゼ、クチナーゼおよび／またはセルラーゼのような常用酵素のカクテルを有した、洗剤組成物である。

【0135】

本発明で使えるセルラーゼには、細菌または真菌双方のセルラーゼを含む。好ましくは、それらは5～12の至適pHおよび50CEVU(Cellulose Viscosity Unit)/mg以上の比活性を有する。適切なセルラーゼはBarbesgaardらのUS特許第4,435,307号明細書、J61078384およびWO96/02653で開示されており、そこではHumicola insolens、Trichoderma、ThielaviaおよびSporotrichumから各々産生される真菌セルラーゼについて開示している。EP739982は新規なBacillus種から単離されたセルラーゼを記載している。適切なセルラーゼはGB-A-2,075,028、GB-A-2,095,275、DE-OS-2,247,832およびWO95/26398でも開示されている。

10

【0136】

このようなセルラーゼの例は、Humicola insolensの株(Humicola grisea var.thermoid ea)、特にHumicola株DSM1800により産生されるセルラーゼである。他の適切なセルラーゼは、約50kDaの分子量、5.5の等電点を有して、415のアミノ酸を含んだ、Humicola insolens由来のセルラーゼ；セルラーゼ活性を示す、Humicola insolens、DSM1800に由来した～43kDaエンドグルカナナーゼであり、好ましいエンドグルカナナーゼ成分は、PCT特許出願WO91/17243で開示されたアミノ酸配列を有している。1994年9月29日付で公開されたGenencorのWO94/21801で記載されたTrichoderma longibrachiatum由来のEGIIIセルラーゼも適切なセルラーゼである。特に適切なセルラーゼはカラーケア効果を有するセルラーゼである。このようなセルラーゼの例は、1991年11月6日付で出願された欧州特許出願第91202879.2号(Novo)明細書で記載されたセルラーゼである。CarezymeおよびCelluzyme(Novo Nordisk A/S)が特に有用である。WO91/17244およびWO91/21801も参照。布帛ケアおよび／またはクリーニング性に適した他のセルラーゼは、WO96/34092、WO96/17994およびWO95/24471で記載されている。上記のセルラーゼは、洗剤組成物の0.0001～2重量%の純粋酵素レベルで、洗剤組成物中に通常配合される。

20

30

【0137】

ペルオキシダーゼ酵素は、酸素源、例えばペルカーボネート、ペルボレート、ペルサルフェート、過酸化水素など、およびブリーチ増強分子としてフェノール性基質と組合せて用いられる。それらは、“溶液漂白”のために、即ち洗浄操作中に基材から落ちた染料または顔料が洗浄液中で他の基材に移動することを防ぐために用いられる。ペルオキシダーゼ酵素は当業界で知られており、それには例えばセイヨウワサビペルオキシダーゼ、リグニナーゼ、クロロおよびプロモペルオキシダーゼのようなハロペルオキシダーゼがある。ペルオキシダーゼ含有洗剤組成物は、例えばPCT国際出願WO89/099813、WO89/09813、および1991年11月6日付で出願された欧州特許出願EP91202882.6および1996年2月20日付で出願されたEP96870013.8で開示されている。ラッカーゼ酵素も適切である。

40

【0138】

エンハンサーは全組成物の0.1～5重量%のレベルで通常含まれる。好ましいエンハンサーは置換フェノチアジンおよびフェノキサジン類の10-フェノチアジンプロピオン酸(PPT)、10-エチルフェノチアジン-4-カルボン酸(EPIC)、10-フェノキサジンプロピオン酸(POP)および10-メチルフェノキサジン(WO94/1262

50

1で記載)、および置換シリリングート類(C3 - C5置換アルキルシリリングート類)およびフェノール類である。ナトリウムペルカーボネートまたはペルボレートが好ましい過酸化水素源である。

上記ペルオキシダーゼは、洗剤組成物の0.0001~2重量%の純粋酵素レベルで洗剤組成物に通常配合される。

【0139】

本発明の洗剤組成物中に含有させうる他の好ましい酵素にはリパーゼがある。洗剤用に適したリパーゼ酵素には、英国特許第1,372,034号明細書で開示された *Pseudomonas stutzeri* ATCC 19,154のような *Pseudomonas* 属の微生物により産生されるものがある。適切なリパーゼには、リパーゼの抗体と陽性の免疫交差反応を示して、微生物 *Pseudomonas fluorescent* IAM 1057により産生されるものがある。このリパーゼは商品名 Lipase P "Amano"として日本、名古屋のAmano Pharmaceutical Co.Ltd.から市販されており、以下"Amano-P"と称される。他の適切な市販リパーゼには、Amano-CES、*Chromobacter viscosum*、例えば日本、田方の東洋醸造社からの *Chromobacter viscosum* var. *lipolyticum* NRRLB 3673由来のリパーゼ；USAのU.S.Biochemical Corp. およびオランダのDisoynth Co.からの *Chromobacter viscosum* リパーゼ；*Pseudomonas gladioli*由来のリパーゼがある。特に適切なリパーゼはM1 Lipase^R および Lipomax^R (Gist-Brocades) 並びにLipolase^R およびLipolase Ultra^R (Novo) のようなリパーゼであり、これらは本発明の組成物と併用されたとき非常に有効であることがわかった。Novo NordiskのEP 258068、WO 92/05249およびWO 95/22615、UnileverのWO 94/03578、WO 95/35381およびWO 96/00292で記載された脂肪分解酵素も適切である。

【0140】

特別種のリパーゼ、即ち界面活性を要しないリパーゼと考えられるクチナーゼ〔EC 3.1.1.50〕も適切である。洗剤組成物へのクチナーゼの添加は、例えばWO - A - 88/09367 (Genencor)、WO 90/09446 (Plant Genetic System)、WO 94/14963およびWO 94/14964 (Unilever) で記載されている。

リパーゼおよび/またはクチナーゼは、洗剤組成物の0.0001~2重量%の純粋酵素レベルで、洗剤組成物中に通常配合される。

【0141】

アミラーゼ(αおよび/またはβ)は、炭水化物ベース汚れの除去のために含有させることができる。1994年2月3日付で公開されたNovo Nordisk A/SのWO 94/02597では、変異アミラーゼを配合した洗剤組成物について記載している。1995年4月20日付で公開されたNovo Nordisk A/SのWO 95/10603も参照。洗剤組成物向けに知られた他のアミラーゼには、α-およびβ-アミラーゼの双方がある。α-アミラーゼは当業界で公知であり、US特許5,003,257、EP 252,666、WO 91/00353、FR 2,676,456、EP 285,123、EP 525,610、EP 368,341および英国特許明細書第1,296,839号(Novo)で開示されたものがある。他の適切なアミラーゼは、1994年8月18日付で公開されたWO 94/18314、1996年2月22日付で公開されたGenencorのWO 96/05295で記載された安定性向上アミラーゼ、および95年4月に公開されたWO 95/10603で開示された、Novo Nordisk A/S市販の直親に追加修飾を有したアミラーゼ変種である。EP 277216、WO 95/26397およびWO 96/23873(すべてNovo Nordisk)で記載されたアミラーゼも適切である。

【0142】

市販α-アミラーゼ製品の例は、GenencorのPurafect Ox Am^R、すべてNovo Nordisk A/S Denmarkから市販されているTermamyl^R、Ban^R、Fungamyl^R および Duramyl^R である。WO 95/26397は、他の適切なアミラーゼ:Phadebas^R α-アミラーゼ活性アッセイで測定すると、25~55℃の温度範囲および8~10範囲のpH値で、Termamyl^R の比活性より少くとも25%高い比活性を有することで特徴づけられるα-アミラーゼにつ

いて記載している。WO 96 / 23873 (Novo Nordisk) で記載された上記酵素の変種が適切である。活性レベルと、熱安定性および高い活性レベルの組合せとの面で、改善された性質を有する他のデンプン分解酵素は、WO 95 / 35382 で記載されている。

【0143】

デンプン分解酵素は、組成物の 0.0001 ~ 2 重量%、好ましくは 0.00018 ~ 0.06%、更に好ましくは 0.00024 ~ 0.048% の純粋酵素レベルで、本発明の洗剤組成物中に配合される。

【0144】

上記酵素は、植物、動物、細菌、真菌および酵母起源のように、いかなる適切な起源であってもよい。起源は更に中温性でもまたは好極限性（好冷性、好栄養性、好熱性、好圧性、好アルカリ性、好酸性、好塩性など）でもよい。精製または非精製形のこれら酵素も用いてよい。現在では、本発明の洗剤組成物で性能効力を最大にさせるため、タンパク質／遺伝子工学技術により野生型酵素を修飾することが慣例的である。例えば、変種はこのような組成物の常用成分に対する酵素の適合性が増すようにデザインされる。一方、酵素変種の至適 pH、ブリーチまたはキラント安定性、触媒活性などが特定のクリーニング用途と合うように調整されるよう、変種をデザインしてもよい。

【0145】

特に、ブリーチ安定性の面では酸化されやすいアミノ酸について、および界面活性剤適合性の面では表面電荷について、注意が払われるべきである。このような酵素の等電点の一部の荷電アミノ酸の置換により修正してもよく、例えば等電点の増加はアニオン性界面活性剤との適合性を改善する上で役立つ。酵素の安定性は、例えば追加の塩橋を形成させ、カルシウム結合部位を補強してキラント安定性を増すことにより、更に高められる。ほとんどのセルラーゼは別々な結合ドメイン (CBD) を有していることから、特別な注意がセルラーゼに払われるべきである。このような酵素の性質は、これらドメインの修飾により変えることができる。

【0146】

上記酵素は、洗剤組成物の 0.0001 ~ 2 重量% の純粋酵素レベルで、洗剤組成物中に通常配合される。酵素は、別々な単独成分（1 種の酵素を含有した小球、顆粒、安定化液体など）として、または 2 種以上の酵素の混合物（例えば、共顆粒）として加えることができる。

【0147】

添加できる他の適切な洗剤成分は酵素酸化スカベンジャーであって、これは 1992 年 1 月 31 日付で出願された同時係属欧州特許出願第 92870018.6 号明細書で記載されている。このような酵素酸化スカベンジャーの例は、エトキシ化テトラエチレンポリアミンである。

【0148】

様々な酵素物質および合成洗剤組成物中へのそれらの配合手段も、Genencor International の WO 9307263A および WO 9307260A、Novo の WO 8908694A、および 1971 年 1 月 5 日付 McCarty らの US 3,553,139 で開示されている。酵素は、1978 年 7 月 18 日付 Place らの US 4,101,457 および 1985 年 3 月 26 日付 Hughes の US 4,507,219 でも更に開示されている。液体洗剤処方物で有用な酵素物質およびこのような処方物中へのそれらの配合は、1981 年 4 月 14 日付 Hora らの US 4,261,868 で開示されている。洗剤で有用な酵素は様々な技術で安定化させることができる。酵素安定化技術は、1971 年 8 月 17 日付 Gedge らの US 3,600,319、1986 年 10 月 29 日付 Venegas の EP 199,405 および EP 200,586 で開示および例示されている。酵素安定化系も、例えば US 3,519,570 で記載されている。プロテアーゼ、キシラーゼおよびセルラーゼを与える有用な *Bacillus* sp. AC13 は、Novo の WO 9401532A で記載されている。

【0149】

カラーケアおよび布帛ケア効果

10

20

30

40

50

カラーケア効果のタイプを発揮するテクノロジーも含めることができる。これらテクノロジーの例は、カラー維持のための金属触媒である。このような金属触媒は、同時係属欧州特許出願第92870181、2号明細書で記載されている。染料定着剤、シワ防止および水吸収性改善用のポリオレフィン分散剤、香料、カラーケア処理および香料持続用のアミノ官能基ポリマー（PCT/US97/16546）は、カラーケア/布帛ケアテクノロジーの別な例であり、1996年11月7日付で出願された同時係属特許出願第96870140、9号明細書で記載されている。

【0150】

布帛柔軟剤も本発明による洗剤組成物中に配合できる。これらの剤はタイプが無機でもまたは有機でもよい。無機柔軟剤はGB-A-1,400,898およびUSP5,019,292で開示されたスメクタイトクレーにより例示される。有機布帛柔軟剤には、GB-A1,514,276およびEP-B0,011,340で開示されたような非水溶性三級アミン、EP-B-0,026,527およびEP-B-0,026,528で開示されたモノC₁₂-C₁₄四級アンモニウム塩とそれらとの組合せ、およびEP-B-0,242,919で開示されたようなジ長鎖アミドがある。布帛柔軟化系の他の有用な有機成分には、EP-A-0,299,575および0,313,146で開示されたような高分子量ポリエチレンオキシド物質がある。

10

【0151】

スメクタイトクレーのレベルは通常2~20重量%、更に好ましくは5~15%の範囲であり、その物質は処方物の残部にドライミックス成分として加えられる。非水溶性三級アミンまたはジ長鎖アミド物質のような有機布帛柔軟剤は0.5~5重量%、通常1~3重量%のレベルで配合され、高分子量ポリエチレンオキシド物質および水溶性カチオン性物質は0.1~2重量%、通常0.15~1.5%のレベルで加えられる。これらの物質は組成物のスプレードライ部分に通常加えられるが、一部の場合には、それらをドライミックス粒子として加えるか、または組成物の他の固形成分上にそれらを熔融液体としてスプレーした方が便利である。

20

【0152】

漂白剤

ペルカーボネートに加えて、本発明の組成物は、他の漂白剤、例えばブリーチアクチベーター、光活性化ブリーチ、ブリーチ種を発生する酵素およびブリーチ触媒を場合により含んでもよい。

30

【0153】

有効酸素の別な供給源には、ポリカルボン酸漂白剤およびその塩を含む。このクラスの剤の適切な例には、マグネシウムモノペルオキシフタレート六水和物、m-クロロ過安息香酸のマグネシウム塩、4-ノニルアミノ-4-オキソペルオキシ酪酸およびジペルオキシドデカン二酸がある。このような漂白剤は、US特許第4,483,781号、US特許出願第740,446号、欧州特許出願第0,133,354号およびUS特許第4,412,934号明細書で開示されている。高度に好ましい漂白剤には、US特許第4,634,551号明細書で記載されたような6-ノニルアミノ-6-オキソペルオキシカプロン酸もある。

40

【0154】

使える漂白剤のもう1つのカテゴリーにはハロゲン漂白剤がある。次亜ハロゲン酸漂白剤の例には、例えばトリクロロイソシアヌル酸、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムおよびカリウム、N-クロロおよびN-ブロモアルカンスルホンアミドがある。このような物質は、通常最終製品の0.5~10重量%、好ましくは1~5重量%で加えられる。

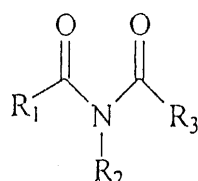
【0155】

過酸化水素放出剤は、ペルヒドロライズ(perhydrolyze)されて過酸を活性漂白種として形成して、改善された漂白効果を発揮する、テトラアセチルエチレンジアミン(TAED)、ノナノイルオキシベンゼンスルホネート(NOBS、US4,412,934に記載)、3,5-トリメチルヘキサノールオキシベンゼンスルホネート(ISONOBS、EP

50

120, 591に記載)、ペンタアセチルグルコース(PAG)またはN-ノナノイル-6-アミノカプロン酸のフェノールスルホネートエステル(NACA-OBS、WO94/28106に記載)のようなブリーチアクチベーターと組合せて使える。同時係属欧州特許出願第91870207、7号明細書で開示されたようなアシル化シトレートエステル、並びにProcter & Gambleの同時係属特許出願US S N第60/022, 786号(1996年7月30日付で出願)および第60/028, 122号(1996年10月15日付で出願)明細書で開示されたような下記式の非対称非環式イミドブリーチアクチベーターも適切なアクチベーターである:

【化11】



上記式中R₁はC₇-C₁₃直鎖または分岐鎖飽和または不飽和アルキル基であり、R₂はC₁-C₈直鎖または分岐鎖飽和または不飽和アルキル基であり、R₃はC₁-C₄直鎖または分岐鎖飽和または不飽和アルキル基である。

【0156】

本発明による洗剤組成物で使用向けの、ブリーチアクチベーターおよびペルオキシゲン漂白化合物からなる漂白系、およびペルオキシ酸を含めた、有用な漂白剤は、我々の同時係属出願US S N 08/136, 626、PCT/US 95/07823、WO95/27772、WO95/27773、WO95/27774およびWO95/27775で記載されている。

【0157】

過酸化水素も、洗浄および/またはすすぎプロセスの始めにまたは最中に過酸化水素を発生しうる酵素系(即ち、酵素およびその基質)を加えることで、存在させてもよい。このような酵素系は、1991年10月9日付で出願されたEP特許出願91202655.6で開示されている。

【0158】

ブリーチ組成物で使用する含金属触媒には、含コバルト触媒、例えばペンタアミン酢酸コバルト(III)塩、および含マンガン触媒、例えばEPA549271、EPA549272、EPA458397、US5,246,621、EPA458398、US5,194,416およびUS5,114,611に記載されたものがある。ペルオキシ化合物、含マンガンブリーチ触媒およびキレート化剤を含めた漂白組成物は、特許出願第94870206、3号明細書で記載されている。

【0159】

酸素漂白剤以外の漂白剤も当業界で知られており、本発明で利用しうる。特に興味ある非酸素漂白剤の1タイプには、スルホン化亜鉛および/またはアルミニウムフタロシアニンのような光活性化漂白剤がある。これらの物質は洗浄プロセス中に基材に付着することができる。日光下に衣類を架けて乾燥させるような、酸素の存在下における光照射時で、スルホン化亜鉛フタロシアニンは活性化され、その結果基材が漂白される。好ましい亜鉛フタロシアニンおよび光活性化漂白プロセスは、US特許第4,033,718号明細書で記載されている。典型的には、洗剤組成物は約0.025~約1.25重量%のスルホン化亜鉛フタロシアニンを含有する。

【0160】

ビルダー系

本発明による組成物はビルダー系を更にも含む。アルミノシリケート物質、シリケート、ポリカルボキシレート、アルキルまたはアルケニルコハク酸、および脂肪酸、エチレンジアミン四酢酸、ジエチレントリアミンペンタメチレン酢酸のような物質、金属イオ

10

20

30

40

50

ン封鎖剤、例えばアミノポリホスホネート、特にエチレンジアミンテトラメチレンホスホン酸およびジエチレントリアミンペンタメチレンホスホン酸を含めて、いかなる慣用的なビルダー系も本発明で使用に適している。リン酸ビルダーも本発明に用いてよい。

【0161】

適切なビルダーには、無機イオン交換物質、通常無機の水和したアルミノシリケート物質、更に具体的には水和合成ゼオライト、例えば水和ゼオライトA、X、B、HSまたはMAPがある。

もう1つの適切な無機ビルダー物質は、積層シリケート、例えばSKS-6 (Hoechst) である。SKS-6はケイ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$) からなる結晶積層シリケートである。

10

【0162】

1つのカルボキシ基を有する適切なポリカルボキシレートには、ベルギー特許第831, 368号、第821, 369号および第821, 370号明細書で開示されたような、乳酸、グリコール酸およびそれらのエーテル誘導体がある。2つのカルボキシ基を有するポリカルボキシレートには、コハク酸、マロン酸、(エチレンジオキシ)二酢酸、マレイン酸、ジグリコール酸、酒石酸、タルトロン酸およびフマル酸の水溶性塩、並びにドイツ特許公開第2, 446, 686号、第2, 446, 687号およびUS特許第3, 935, 257号明細書で記載されたエーテルカルボキシレート、およびベルギー特許第840, 623号明細書で記載されたスルフィニルカルボキシレートがある。3つのカルボキシ基を有するポリカルボキシレートには、特に水溶性シトレート、アコニトレートおよびシトラコネート、並びに英国特許第1, 379, 241号明細書で記載されたカルボキシメチルオキシサクシネート、オランダ出願第7205873号明細書で記載されたラクトキシサクシネートのようなサクシネート誘導体、および英国特許第1, 387, 447号明細書で記載された2-オキサ-1, 1, 3-プロパントリカルボキシレートのようなオキシポリカルボキシレート物質がある。

20

【0163】

4つのカルボキシ基を有するポリカルボキシレートには、英国特許第1, 261, 829号明細書で開示されたオキシジサクシネート、1, 1, 2, 2-エタンテトラカルボキシレート、1, 1, 3, 3-プロパンテトラカルボキシレートおよび1, 1, 2, 3-プロパンテトラカルボキシレートがある。スルホ置換基を有するポリカルボキシレートには、英国特許第1, 398, 421号、第1, 398, 422号およびUS特許第3, 936, 448号明細書で開示されたスルホサクシネート誘導体、および英国特許第1, 082, 179号明細書で記載されたスルホン化熱分解シトレートがあり、ホスホン置換基を有するポリカルボキシレートは英国特許第1, 439, 000号明細書で開示されている。

30

【0164】

脂環式およびヘテロ環式ポリカルボキシレートには、シクロペンタン-シス, シス, シス-テトラカルボキシレート、シクロペンタジエニドペンタカルボキシレート、2, 3, 4, 5-テトラヒドロフラン-シス, シス, シス-テトラカルボキシレート、2, 5-テトラヒドロフラン-シス-ジカルボキシレート、2, 2, 5, 5-テトラヒドロフラン-テトラカルボキシレート、1, 2, 3, 4, 5, 6-ヘキサン-ヘキサカルボキシレート、並びにソルビトール、マンニトールおよびキシリトールのような多価アルコールのカルボキシメチル誘導体がある。芳香族ポリカルボキシレートには、メリット酸、ピロメリット酸、および英国特許第1, 425, 343号明細書で開示されたフタル酸誘導体がある。上記の中で好ましいポリカルボキシレートは、1分子当たり3以内のカルボキシ基を有したヒドロキシカルボキシレート、更に詳しくはシトレートである。

40

【0165】

本組成物で使用上好ましいビルダー系には、ゼオライトAのような非水溶性アルミノシリケートビルダーまたは積層シリケート (SKS-6) と、クエン酸のような水溶性カルボキシレートキレート化剤との混合物がある。他の好ましいビルダー系には、ゼオライトAのような非水溶性アルミノシリケートビルダーと、クエン酸のような水溶性カルボキシレ

50

ートキレート化剤との混合物がある。本発明の液体洗剤組成物で使用上好ましいビルダー系は、石鹼およびポリカルボキシレートである。

【0166】

顆粒組成物で使用上ビルダー系の一部を形成できる他のビルダー物質には、炭酸、重炭酸、ケイ酸アルカリ金属のような無機物質、並びに有機ホスホネート、アミノポリアルキレンホスホネートおよびアミノポリカルボキシレートのような有機物質がある。

他の適切な水溶性有機塩はホモもしくはコポリマー酸またはそれらの塩であり、その場合にポリカルボン酸は2以下の炭素原子で互いに離された少なくとも2つのカルボキシル基を有している。このタイプのポリマーはGB-A-1,596,756で開示されている。このような塩の例は、MW2000～5000のポリアクリレート、およびそれらと無水マレイン酸とのコポリマーであり、このようなコポリマーは20,000～70,000、特に約40,000の分子量を有する。

10

【0167】

洗浄ビルダー塩は、通常組成物の5～80重量%、好ましくは10～70重量%、最も一般的には30～60重量%の量で含有される。

【0168】

キレート化剤

本発明の洗剤組成物は、1種以上の鉄および／またはマンガンキレート化剤も場合により含有してよい。このようなキレート化剤は、すべて以下で記載されているようなアミノカルボキシレート、アミノホスホネート、多官能性置換芳香族キレート化剤およびそれらの混合物からなる群より選択できる。理論に拘束されることなく、これら物質の効果は、可溶性キレートの形成により洗浄液から鉄およびマンガンイオンを除去しうる、それらの例外的な能力に一部起因していると考えられる。

20

【0169】

任意のキレート化剤として有用なアミノカルボキシレートには、エチレンジアミン四酢酸、N-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、ニトリロ三酢酸、エチレンジアミン四プロピオン酸、トリエチレンテトラアミン六酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸およびエタノールジグリシン、それらのアルカリ金属、アンモニウムおよび置換アンモニウム塩、およびそれらの混合物がある。

アミノホスホネートも、少なくとも低レベルの全リンが洗剤組成物で許容されるときに本発明の組成物でキレート化剤として使用に適しており、それにはDEQUESTのようなエチレンジアミンテトラキス(メチレンホスホネート)がある。好ましくは、これらのアミノホスホネートは炭素原子約7以上のアルキルまたはアルケニル基を含まない。

30

多官能性置換芳香族キレート化剤も本組成物で有用である。1974年5月21日付で発行されたConnorらのUS特許第3,812,044号明細書参照。このタイプの好ましい化合物は、酸形の場合、1,2-ジヒドロキシ-3,5-ジスルホベンゼンのようなジヒドロキシジスルホベンゼンである。

【0170】

本発明で使用上好ましい生分解性キレーターは、1987年11月3日付HartmanおよびPerkinsのUS特許第4,704,233号明細書で記載されたようなエチレンジアミンニコハク酸(“EDDS”)、特に〔S,S〕異性体である。

40

本組成物は、例えばゼオライト、積層シリケートなどのような不溶性ビルダーと一緒にすると有用なコビルダー、またはキラントとして、水溶性メチルグリシン二酢酸(MGDA)塩(または酸形)も含有してよい。

【0171】

利用されるならば、これらのキレート化剤は本洗剤組成物の通常約0.1～約15重量%である。更に好ましくは、利用されるならば、キレート化剤はこのような組成物の約0.1～約3.0重量%である。

【0172】

起泡抑制剤

50

もう1つの任意成分は、シリコーンおよびシリカ-シリコーン混合物により例示される起泡抑制剤である。シリコーンはアルキル化ポリシロキサン物質で通常代表され、シリカはシリカエーロゲル、キセロゲルおよび様々なタイプの疎水性シリカにより例示される微細形態で通常用いられる。これらの物質は粒子として配合することができ、起泡抑制剤は水溶性または水分散性で実質上非界面活性の洗剤不透過性キャリア中で放出しうるように配合されることが有利である。一方、起泡抑制剤は液体キャリアに溶解または分散させて、1種以上の他成分にスプレーすることで適用してもよい。

【0173】

好ましいシリコーン起泡抑制剤は、BartollotaらのUS特許第3,933,672号明細書で開示されている。他の特に有用な起泡抑制剤は自己乳化シリコーン起泡抑制剤であり、1977年4月28日付で公開されたドイツ特許出願DTS第2,646,126号明細書で記載されている。このような化合物の例はDow Corning から市販されているDC-544であって、これはシロキサン-グリコールコポリマーである。特に好ましい起泡抑制剤は、シリコーン油および2-アルキル-アルカノールの混合物からなる起泡抑制剤系である。適切な2-アルキル-アルカノールは、商品名Isofol 12Rで市販されている2-ブチルオクタノールである。

このような起泡抑制剤系は、1992年11月10日付で出願された同時係属欧州特許出願第N92870174.7号明細書で記載されている。

特に好ましいシリコーン起泡抑制剤は、同時係属欧州特許出願第N°92201649.8号明細書で記載されている。上記組成物はAerosil^Rのような溶融無孔質シリカと組み合わせたシリコーン/シリカ混合物を含むことができる。

【0174】

上記された起泡抑制剤は、組成物の0.001~2重量%、好ましくは0.01~1重量%のレベルで通常用いられる。

【0175】

その他

洗剤組成物で用いられる他の成分、例えば汚れ懸濁剤、汚れ放出剤、蛍光増白剤、研磨剤、殺菌剤、曇り抑制剤、着色剤および/または封入または非封入香料も用いてよい。

【0176】

特に適切な封入物質は、GB1,464,616で記載されたような多糖およびポリヒドロキシ化合物のマトリックスからなる水溶性カプセルである。他の適切な水溶性封入物質は、US3,455,838で記載されたような、置換ジカルボン酸の非ゼラチン化デンプン酸エステルから誘導されたデキストリンからなる。これらの酸エステルデキストリンは、好ましくは、ワキシーマイズ、ワキシモロコシ、サゴ、タピオカおよびポテトのようなデンプンから製造される。上記封入物質の適切な例には、National Starch 製のN-Lokがある。N-Lok封入物質は改質メイズスターチおよびグルコースからなる。デンプンは無水オクテニルコハク酸のような一官能性置換基を加えることにより改質される。

【0177】

本発明に適した再付着防止および汚れ懸濁剤には、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースおよびヒドロキシエチルセルロースのようなセルロース誘導体、および好ましくはコポリマーポリカルボン酸またはそれらの塩がある。このタイプのポリマーには、ビルダーとして既に記載されたポリアクリレートおよび無水マレイン酸-アクリル酸コポリマー、並びに無水マレイン酸とエチレン、メチルビニルエーテルまたはメタクリル酸とのコポリマーがあり、無水マレイン酸はコポリマーの少なくとも20モル%を占めている。これらの物質は、通常組成物の0.5~10重量%、更に好ましくは0.75~8重量%、最も好ましくは1~6重量%のレベルで用いられる。

【0178】

好ましい蛍光増白剤は性質上アニオン性であり、その例は4,4'-ビス(2-ジエタノールアミノ-4-アニリノ-s-トリアジン-6-イルアミノ)スチルベン-2,2'-

ジスルホン酸二ナトリウム、4, 4' - ビス (2 - モルホリノ - 4 - アニリノ - s - トリアジン - 6 - イルアミノ) スチルベン - 2, 2' - ジスルホン酸二ナトリウム、4, 4' - ビス (2, 4 - ジアニリノ - s - トリアジン - 6 - イルアミノ) スチルベン - 2, 2' - ジスルホン酸二ナトリウム、4', 4'' - ビス (2, 4 - ジアニリノ - s - トリアジン - 6 - イルアミノ) スチルベン - 2 - スルホン酸一ナトリウム、4, 4' - ビス [2 - アニリノ - 4 - (N - メチル - N - 2 - ヒドロキシエチルアミノ) - s - トリアジン - 6 - イルアミノ] スチルベン - 2, 2' - ジスルホン酸二ナトリウム、4, 4' - ビス (4 - フェニル - 2, 1, 3 - トリアゾール - 2 - イル) スチルベン - 2, 2' - ジスルホン酸二ナトリウム、4, 4' - ビス [2 - アニリノ - 4 - (1 - メチル - 2 - ヒドロキシエチルアミノ) - s - トリアジン - 6 - イルアミノ] スチルベン - 2, 2' - ジスルホン酸二ナトリウム、2 - スチルビル - 4'' - (ナフト - 1', 2', 4, 5) - 1, 2, 3 - トリアゾール - 2'' - スルホン酸ナトリウムおよび 4, 4' - ビス (2 - スルホスチリル) ピフェニルである。高度に好ましい増白剤は、EP 7 535 67 で開示された特定の増白剤である。

10

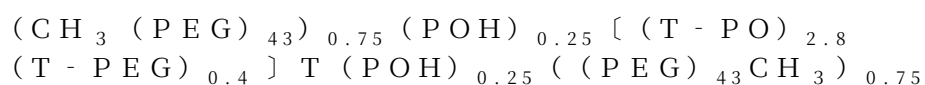
【0179】

他の有用なポリマー物質はポリエチレングリコール、特に分子量 1000 ~ 10000、更に具体的には 2000 ~ 8000、最も好ましくは約 4000 のものである。これらは 0.20 ~ 5 重量%、更に好ましくは 0.25 ~ 2.5 % のレベルで用いられる。これらのポリマー、および既に記載されたホモまたはコポリマーポリカルボキシレート塩は、白さ維持、布帛アッシュ付着性 (fabric ash deposition)、および遷移金属不純物の存在下で土、タンパク質および酸化性汚れに対するクリーニング性能を改善する上で有益である。

20

【0180】

本発明の組成物で有用な汚れ放出剤は、慣用的に、様々な配置をとるテレフタル酸とエチレングリコールおよび／またはプロピレングリコール単位とのコポリマーまたはターポリマーである。このようなポリマーの例は、一般譲渡された US 特許第 4116885 号および第 4711730 号、および欧州公開特許出願第 0, 272, 033 号明細書で開示されている。EP - A - 0, 272, 033 による特に好ましいポリマーは下記式を有している：



30

上記式中 PEG は $-(\text{OC}_2\text{H}_4)_n-$ 、PO は $(\text{OC}_3\text{H}_6\text{O})$ 、および T は $(\text{p} \text{ c } \text{OC}_6\text{H}_4\text{CO})$ である。

【0181】

ジメチルテレフタレート、ジメチルスルホイソフタレート、エチレングリコールおよび 1, 2 - プロパンジオールのランダムコポリマーとして修飾ポリエステルも非常に有用であり、末端基は主にスルホベンゾエート、および二次的にエチレングリコールおよび／またはプロパンジオールのモノエステルからなる。目的はスルホベンゾエート基により両末端でキャップ化されたポリマーを得ることであり、本関係においては“主に”上記コポリマーのほとんどがスルホベンゾエート基で末端キャップ化されている。しかしながら、一部の

40

コポリマーは完全にはキャップ化されておらず、したがってそれらの末端基はエチレングリコールおよび／またはプロパン - 1, 2 - ジオールのモノエステルからなってもよく、“二次的に”このような種からなる。本発明で選択されるポリエステルは約 46 重量% のジメチルテレフタル酸、約 16 重量% のプロパン - 1, 2 - ジオール、約 10 重量% のエチレングリコール、約 13 重量% のジメチルスルホ安息香酸および約 15 重量% のスルホイソフタル酸を含んでおり、約 3000 の分子量を有する。ポリエステルおよびそれらの製造方法は、EPA 311, 342 で詳細に記載されている。

【0182】

水道水中の遊離塩素が洗剤組成物中に含まれた酵素を急速に不活化することは、当業界で

50

周知である。したがって、処方物中に全組成物の0.1重量%以上のレベルでペルボレート、硫酸アンモニウム、亜硫酸ナトリウムまたはポリエチレンイミンのような塩素スカベンジャーを用いたときには、洗剤酵素の改善されたスルー・ザ・ウォッシュ（through the wash）安定性を発揮する。塩素スカベンジャーを含む組成物は、1992年1月31日付で出願された欧州特許出願第92870018.6号明細書で記載されている。

【0183】

ポリアクリレートから製造されたようなアルコキシル化ポリカルボキシレートは、追加の脂肪除去性能を発揮させるために本発明では有用である。このような物質は、参考のため本明細書に組み込まれるWO91/08281およびPCT90/01815の第4頁以降に記載されている。化学的に、これらの物質は7～8つのアクリレート単位毎に1つのエトキシ側鎖を有したポリアクリレートからなる。側鎖は式 $-(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_3$ からなり、ここでmは2～3、nは6～12である。側鎖はポリアクリレート“主鎖”にエステル結合されて、“コム”(comb)ポリマータイプ構造を形成している。分子量は様々であるが、典型的には約2000～約50,000の範囲内である。このようなアルコキシル化ポリカルボキシレートは、本組成物の約0.05～約10重量%である。

10

【0184】

分散剤

本発明の洗剤組成物は分散剤も含有することができる。適切な水溶性有機塩はホモまたはコポリマー酸、またはそれらの塩であり、そのポリカルボン酸は2以下の炭素原子で互いに離された少くとも2つのカルボキシル基を有している。このタイプのポリマーはGB-A-1,596,756で開示されている。このような塩の例はMW2000～5000のポリアクリレート、およびそれらと無水マレイン酸とのコポリマーであり、このようなコポリマーは1000～100,000の分子量を有している。

20

特に、4000の分子量を有する480Nのようなアクリレートおよびメチルアクリレートのコポリマーは、組成物の0.5～20重量%のレベルで、本発明の洗剤組成物に加えることができる。

【0185】

本発明の組成物はライムソープペプタイザー化合物を含有してもよく、これは8以下、好ましくは7以下、最も好ましくは6以下の下記のようなライムソープ分散力(LSDP)を有していることが好ましい。ライムソープペプタイザー化合物は、好ましくは0～20重量%のレベルで存在する。

30

【0186】

ライムソープペプタイザーの有効性の数値尺度はライムソープ分散力(LSDP)により示され、H.C.Borghetty and C.A.Bergman, J. Am. Oil. Chem. Soc., volume 27, pages 88-90 (1950) の論文で記載されたようなライムソープ分散試験を用いて測定される。このライムソープ分散試験法は当業者に広く用いられており、例えば下記レビュー文献: W.N. Linfield, Surfactant Science Series, Volume 7, p.3; W.N. Linfield, Tenside Surf. det., volume 27, pages 159-161 (1990); M.K. Nagarajan, W.F. Masler, Cosmetics and Toiletries, volume 104, pages 71-73 (1989) で記載されている。LSDPとは、333 ppm $CaCO_3$ ($Ca:Mg=3:2$) 相当硬度の水30ml中でオレイン酸ナトリウム0.025gにより形成されたライムソープ沈降物を分散させる上で必要な、分散剤対オレイン酸ナトリウムの%重量比のことである。

40

【0187】

良好なライムソープペプタイザー能力を有する界面活性剤には、あるアミノオキシド、ベタイン、スルホベタイン、アルキルエトキシサルフェートおよびエトキシル化アルコールがある。

本発明による使用向けに8以下のLSDPを有する例示の界面活性剤には、 $C_{16}-C_{18}$ ジメチルアミノオキシド、平均エトキシル化度1～5の $C_{12}-C_{18}$ アルキルエトキシサルフェート、特にエトキシル化度3の $C_{12}-C_{15}$ アルキルエトキシサルフェート界面活性剤(

50

LSDP = 4)、および BASF GmbH から商品名 Lutensol A012 および Lutensol A030 で各々販売されている、平均エトキシ化度 12 (LSDP = 6) または 30 の $C_{14} - C_{15}$ エトキシ化アルコールがある。

【0188】

本発明で使用に適したポリマーライムソープペプタイザーは、Cosmetics and Toiletries, volume 104, pages 71-73 (1989) でみられる、M.K.Nagarajan, W.F.Masler による論文で記載されている。

4 - (N - オクタノイル - 6 - アミノヘキサノイル) ベンゼンスルホネート、4 - (N - ノナノイル - 6 - アミノヘキサノイル) ベンゼンスルホネート、4 - (N - デカノイル - 6 - アミノヘキサノイル) ベンゼンスルホネートおよびそれらの混合物のような疎水性ブリーチ；親水性／疎水性ブリーチ処方物と一緒にしたノナノイルオキシベンゼンスルホネートも、ライムソープペプタイザー化合物として使用できる。

10

【0189】

転染阻止

本発明の洗剤組成物は、着色布帛を伴った布帛洗濯操作中に会う、溶解および懸濁された染料のある布帛から他への転染を阻止するための化合物も含有することができる。

【0190】

ポリマー転染阻止剤

本発明による洗剤組成物は、0.001～10重量%、好ましくは0.01～2%、更に好ましくは0.05～1%のポリマー転染阻止剤も含む。上記ポリマー転染阻止剤は、着色布帛から洗浄された布帛上への染料の移動を阻止するために、洗剤組成物中に通常配合される。これらのポリマーは、染料が洗浄液中で他の物体と付着するようになる機会をもつ前に、着色布帛から洗い落ちた遊離染料と複合化するかまたはそれを吸着する能力を有している。

20

特に適切なポリマー転染阻止剤は、ポリアミンN - オキシドポリマー、N - ビニルピロリドンおよびN - ビニルイミダゾールのコポリマー、ポリビニルピロリドンポリマー、ポリビニルオキサゾリドンおよびポリビニルイミダゾール、またはそれらの混合物である。

このようなポリマーの添加は、本発明による酵素の性能も高める。

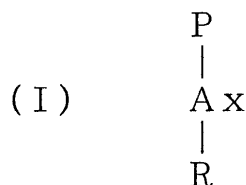
【0191】

a) ポリアミンN - オキシドポリマー

30

使用に適したポリアミンN - オキシドポリマーは、下記構造式を有する単位を含んでいる：

【化12】



上記式中Pは重合性単位であり、それにはR - N - O基が結合できるか、またはR - N - O基は重合性単位の一部を形成しているか、または双方の組合せである；

40

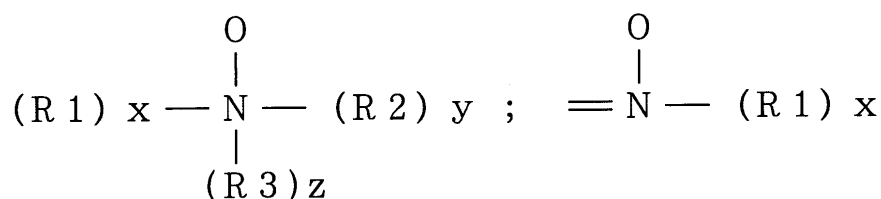
AはNC(=O)、C(=O)O、C=O、-O-、-S-、-N-であり、xは0または1である；

Rは脂肪族、エトキシ化脂肪族、芳香族、ヘテロ環式、脂環式基またはそれらの組合せであり、それにはN - O基の窒素が結合できるか、またはN - O基の窒素はこれらの基の一部である。

【0192】

N - O基は下記一般構造で表すことができる：

【化13】



上記式中R1、R2およびR3は脂肪族基、芳香族、ヘテロ環式、脂環式基またはそれらの組合せであり、xまたは／およびyまたは／およびzは0または1であり、そこではN - O基の窒素が結合しているか、またはN - O基の窒素がこれらの基の一部を形成している。

10

【0193】

N - O基は重合性単位(P)の一部でも、ポリマー主鎖に結合しても、または双方の組合せであってもよい。

N - O基が重合性単位の一部を形成している適切なポリアミンN - オキシドには、Rが脂肪族、芳香族、脂環式またはヘテロ環式基から選択されるポリアミンN - オキシドがある。

上記ポリアミンN - オキシドの1クラスは、N - O基の窒素がR基の一部を形成しているポリアミンN - オキシドのグループからなる。好ましいポリアミンN - オキシドは、Rがピリジン、ピロール、イミダゾール、ピロリジン、ピペリジン、キノリン、アクリジンおよびそれらの誘導体のようなヘテロ環式基である場合である。

20

上記ポリアミンN - オキシドのもう1つのクラスは、N - O基の窒素がR基に結合されたポリアミンN - オキシドのグループからなる。

【0194】

他の適切なポリアミンN - オキシドは、N - O基が重合性単位に結合されたポリアミンオキシドである。これらポリアミンN - オキシドの好ましいクラスは、Rが芳香族、ヘテロ環式または脂環式基であって、N - O官能基の窒素が上記R基の一部である、一般式(I)を有したポリアミンN - オキシドである。これらクラスの例は、Rがピリジン、ピロール、イミダゾールおよびそれらの誘導体のようなヘテロ環式化合物である、ポリアミンオキシドである。ポリアミンN - オキシドのもう1つの好ましいクラスは、Rが芳香族、ヘテロ環式または脂環式基であって、N - O官能基の窒素が上記R基に結合されている、一般式(I)を有したポリアミンオキシドである。これらクラスの例は、R基がフェニルのような芳香族である、ポリアミンオキシドである。

30

【0195】

いかなるポリマー主鎖も、形成されるアミンオキシドポリマーが水溶性であって、転染阻止性を有しているかぎり、用いてよい。適切なポリマー主鎖の例は、ポリビニル、ポリアルキレン、ポリエステル、ポリエーテル、ポリアミド、ポリイミド、ポリアクリレートおよびそれらの混合物である。

【0196】

本発明のアミンN - オキシドポリマーは、典型的には10:1~1:10000000のアミン対アミンN - オキシドの比率を有している。しかしながら、ポリアミンオキシドポリマー中に存在するアミンオキシド基の量は、適切な共重合によるか、または適度のN - オキシド化によって変えることができる。好ましくは、アミン対アミンN - オキシドの比率は2:3~1:10000000、更に好ましくは1:4~1:10000000、最も好ましくは1:7~1:10000000である。本発明のポリマーには、1つのモノマータイプがアミンN - オキシドであって、他のモノマータイプがアミンN - オキシドであるかまたはそうでない、ランダムまたはブロックコポリマーを現実には含んでいる。ポリアミンN - オキシドのアミンオキシド単位はpKa<10、好ましくはpKa<7、更に好ましくはpKa<6を有する。

40

ポリアミンオキシドはほぼあらゆる重合度で得ることができる。重合度は、物質が望まし

50

い水溶性および染料懸濁力を有していれば、重要でない。

典型的には、平均分子量は500～1,000,000、好ましくは1000～50,000、更に好ましくは2000～30,000、最も好ましくは3000～20,000の範囲内である。

【0197】

b) N - ビニルピロリドンおよびN - ビニルイミダゾールのコポリマー

本発明で用いられるN - ビニルイミダゾール N - ビニルピロリドンポリマーは、5000～1,000,000、好ましくは5000～200,000の平均分子量範囲を有する。

本発明による洗剤組成物で使用上高度に好ましいポリマーは、N - ビニルイミダゾール N - ビニルピロリドンコポリマーから選択されるポリマーであり、そのポリマーは5000～50,000、更に好ましくは8000～30,000、最も好ましくは10,000～20,000の平均分子量範囲を有する。平均分子量範囲は、Barth H.G.and Mays J.W.,Chemical Analysis,Vol.113,"Modern Methods of Polymer Characterization"で記載されているような光散乱により調べた。高度に好ましいN - ビニルイミダゾール N - ビニルピロリドンコポリマーは5000～50,000、更に好ましくは8000～30,000、最も好ましくは10,000～20,000の平均分子量範囲を有する。

【0198】

上記の平均分子量範囲を有することで特徴づけられるN - ビニルイミダゾール N - ビニルピロリドンコポリマーは優れた転染阻止性を発揮しながら、それで処方された洗剤組成物のクリーニング性能に悪影響を与えない。

本発明のN - ビニルイミダゾール N - ビニルピロリドンコポリマーは、1：0.2、更に好ましくは0.8：0.3、最も好ましくは0.6：0.4のN - ビニルイミダゾール対N - ビニルピロリドンのモル比を有している。

【0199】

c) ポリビニルピロリドン

本発明の洗剤組成物では、約2500～約400,000、好ましくは約5000～約200,000、更に好ましくは約5000～約50,000、最も好ましくは約5000～約15,000の平均分子量を有するポリビニルピロリドン（“PVP”）も利用してよい。適切なポリビニルピロリドンは、製品名PVP K - 15（10,000の粘度分子重）、PVP K - 30（40,000の平均分子量）、PVP K - 60（160,000の平均分子量）およびPVP K - 90（360,000の平均分子量）として、ISP Corporation,New York,NY and Montreal,Canadaから市販されている。BASFOperationから市販されている他の適切なポリビニルピロリドンには、Sokalan HP165およびSokalan HP12；洗剤業者に知られているポリビニルピロリドン（例えばEP - A - 262,897およびEP - A - 256,696参照）がある。

【0200】

d) ポリビニルオキサゾリドン

本発明の洗剤組成物では、ポリマー転染阻止剤としてポリビニルオキサゾリドンも利用してよい。上記のポリビニルオキサゾリドンは、約2500～約400,000、好ましくは約5000～約200,000、更に好ましくは約5000～約50,000、最も好ましくは約5000～約15,000の平均分子量を有している。

【0201】

e) ポリビニルイミダゾール

本発明の洗剤組成物では、ポリマー転染阻止剤としてポリビニルイミダゾールも利用してよい。上記のポリビニルイミダゾールは、約2500～約400,000、好ましくは約5000～約200,000、更に好ましくは約5000～約50,000、最も好ましくは約5000～約15,000の平均分子量を有している。

【0202】

f) 架橋ポリマー

架橋ポリマーは主鎖がある程度まで連結されたポリマーであり、これらのリンクは化学的でもまたは物理的性質であってもよく、可能性として活性基は主鎖上でもまたは側鎖上でもよく、架橋ポリマーはJournal of Polymer Science, volume 22, pages 1035-1039で記載されている。一態様において、架橋ポリマーは三次元硬質構造を形成するように作られ、三次元構造により形成された孔に染料を捕捉しうる。もう1つの態様では、架橋ポリマーは膨潤により染料を捕捉する。このような架橋ポリマーは同時係属特許出願第94870213.9号明細書で記載されている。

【0203】

洗浄方法

本発明の組成物は、浸漬法、前処理法、別のすすぎ補助組成物を加えてもよいすすぎステップを伴う方法を含めて、本質的にいかなる洗浄またはクリーニング方法で用いてもよい。

10

本明細書で記載されたプロセスは常法で布帛または食器をクリーニング液と接触させることからなり、以下で例示されている。

本発明のプロセスは、便宜上クリーニングプロセスの過程で行われる。クリーニングの方法は、好ましくは5～95℃、特に10～60℃で行われる。処理溶液のpHは、好ましくは7～12である。

【0204】

好ましい機械皿洗い法は、有効量の機械皿洗いまたはすすぎ組成物を溶解または分散させた水性液体で、汚れた物体を処理することからなる。機械皿洗い組成物の慣用的な有効量とは、3～10Lの洗浄容量中に溶解または分散される製品8～60gを意味する。手による皿洗い法によると、汚れた皿は典型的には0.5～20g（皿25枚の処理当たり）の有効量の皿洗い組成物と接触させる。好ましい手による皿洗い法には、皿の表面への濃縮液の適用、または洗剤組成物の多量の希釈液への浸漬がある。

20

【0205】

下記例は本発明の組成物を例示するための意味であり、必ずしも本発明の範囲を制限したりまたは限定するような意味ではない。

【0206】

洗剤組成物において、酵素のレベルは全組成物の重量により純粋酵素で表示されており、別記されないかぎり、洗剤成分は全組成物の重量で表示されている。

30

略記された成分表示は下記意味を有している：

LAS : ナトリウム直鎖C₁₁₋₁₃ アルキルベンゼンスルホネート
 TAS : ナトリウムタローアルキルサルフェート
 C_xyAS : ナトリウムC_{1X} - C_{1Y}アルキルサルフェート
 C_xySAS : ナトリウムC_{1X} - C_{1Y}二級 (2, 3) アルキルサルフェート
 C_xyEz : 平均zモルのエチレンオキシドと縮合された
 C_{1X} - C_{1Y}で主に直鎖の一級アルコール
 C_xyEzS : 平均zモルのエチレンオキシドと縮合された
 C_{1X} - C_{1Y}ナトリウムアルキルサルフェート
 QAS : R₂N⁺ (CH₃)₂ (C₂H₄OH) (R₂=C₁₂ - C₁₄)
 QAS1 : R₂N⁺ (CH₃)₂ (C₂H₄OH) (R₂=C₈ - C₁₁)
 APA : C₈₋₁₀アミドプロピルジメチルアミン
 石鹼 : 獣脂およびココナツ脂肪酸の80/20混合物から誘導される
 ナトリウム直鎖アルキルカルボキシレート
 ノニオン系 : 平均エトキシ化度3.8および平均プロポキシ化度4.5の
 C₁₃ - C₁₅混合エトキシ化/プロポキシ化脂肪アルコール
 Neodol 45-13 : Shell Chemical CO. 販売のC₁₄ - C₁₅直鎖一級アルコール
 エトキシレート
 STS : ナトリウムトルエンスルホネート
 CFAA : C₁₂ - C₁₄アルキルN - メチルグルカミド
 TFAA : C₁₆ - C₁₈アルキルN - メチルグルカミド
 TPKFA : C₁₂ - C₁₄トップドホールカット (topped whole cut) 脂肪酸
 シリケート : 非晶質ケイ酸ナトリウム
 (SiO₂ : Na₂O比 = 1.6 - 3.2)
 メタシリケート : メタケイ酸ナトリウム (SiO₂ : Na₂O比 = 1.0)
 ゼオライトA : 0.1 ~ 10 μm範囲の主粒径を有する
 式Na₁₂ (AlO₂ SiO₂)₁₂ · 27H₂O
 の水和ナトリウムアルミノシリケート (無水ベースで重量表示)
 Na - SKS - 6 : 式δ - Na₂ Si₂ O₅の結晶積層シリケート
 シトレート : 425 ~ 850 μmの粒径分布を有する、活性86.4%の

10

20

クエン酸三ナトリウム二水和物		
クエン酸	: 無水クエン酸	
ボレート	: ホウ酸ナトリウム	
炭酸塩	: 粒径 $200 \sim 900 \mu\text{m}$ の無水炭酸ナトリウム	
重炭酸塩	: 粒径分布 $400 \sim 1200 \mu\text{m}$ の無水炭酸水素ナトリウム	
サルフェート	: 無水硫酸ナトリウム	
硫酸Mg	: 無水硫酸マグネシウム	
STPP	: トリポリリン酸ナトリウム	
TSP	: ピロリン酸四ナトリウム	
MA/AA	: 4 : 1 アクリレート/マレエートのランダムコポリマー 平均分子量約 $70,000 \sim 80,000$	10
MA/AA1	: 6 : 4 アクリレート/マレエートのランダムコポリマー 平均分子量約 $10,000$	
AA	: 平均分子量 4500 のポリアクリル酸ナトリウムポリマー	
PA30	: 平均分子量約 $4500 \sim 8000$ のポリアクリル酸	
480N	: 7 : 3 アクリレート/メタクリレートのランダムコポリマー 平均分子量約 3500	
ポリゲル/カルボボール: 高分子量架橋ポリアクリレート		
PB1	: 実験式 $\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ の無水過ホウ酸ナトリウム一水和物	
PB4	: 実験式 $\text{NaBO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ の 過ホウ酸ナトリウム四水和物	20
ベルカーボネート: 実験式 $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$ の無水過炭酸ナトリウム		
NaDCC	: ナトリウムジクロロイソシアヌレート	
TAED	: テトラアセチルエチレンジアミン	
NOBS	: ナトリウム塩形のノナノイルオキシベンゼンスルホネート	
NACA-OBS	: (6-ノナミドカプロイル) オキシベンゼンスルホネート	
DTPA	: ジエチレントリアミン五酢酸	
HEDP	: 1, 1-ヒドロキシエタンジホスホン酸	
DETPMP	Monsanto から商品名 Dequest 2060 で販売されている	

ジエチルトリアミンペンタ（メチレン）ホスホネート
 EDDS : エチレンジアミン - N, N' - ニコハク酸
 そのナトリウム塩形の (S, S) 異性体
 MnTACN : マンガン 1, 4, 7 - トリメチル - 1, 4, 7 - トリアザシクロ
 ノナン
 光活性化ブリーチ : デキストリン可溶性ポリマー中に封入された
 スルホン化亜鉛フタロシアニン
 光活性化ブリーチ 1 : デキストリン可溶性ポリマー中に封入された
 スルホン化アルミノフタロシアニン
 PAAC : ペンタアミン酢酸コバルト (III) 塩
 パラフィン : Wintershall から商品名 Winog 70 で販売されている
 パラフィン油
 NaBz : 安息香酸ナトリウム
 BzP : 過酸化ベンゾイル
 マンナナーゼ : *Bacillus agardherens*, NCIMB 40482 由来のマンナナーゼ
 プロテアーゼ : Novo Nordisk A/S から商品名 Savinase, Alcalase, Durazym で
 販売されているタンパク質分解酵素 ; Gist-Brocades から
 販売されている Maxacal, Maxapem ; および特許 WO 91 /
 0 6 6 3 7 および / または WO 9 5 / 1 0 5 9 1 および /
 または EP 2 5 1 4 4 6 で記載されたプロテアーゼ
 アミラーゼ : Genencor から商品名 Purafact Ox Am^R で販売されている
 WO 9 4 / 1 8 3 1 4, WO 9 6 / 0 5 2 9 5 で記載された
 デンプン分解酵素 ; すべて Novo Nordisk A/S から市販されている
 Termamyl^R, Fungamyl^R および Duramyl^R ; および WO 9 5 /
 2 6 3 9 7 で記載されたもの
 リパーゼ : Novo Nordisk A/S から商品名 Lipolase, Lipolase Ultra で販売
 されている脂肪分解酵素, および Gist-Brocades による Lipomax
 セルラーゼ : Novo Nordisk A/S から商品名 Carezyme, Celluzyme
 および / または Endolase で販売されているセルロース分解酵素

10

20

CMC	: ナトリウムカルボキシメチルセルロース	
PVP	: 平均分子量60,000のポリビニルポリマー	
PVNO	: 平均分子量50,000のポリビニルピリジン-N-オキシド	
PVPVI	: 平均分子量20,000のビニルイミダゾールおよび ビニルピロリドンのコポリマー	
増白剤1	: ニナトリウム4,4'-ビス(2-スルホステリル)ビフェニル	
増白剤2	: 4,4'-ビス(4-アニリノ-6-ホルキノ-1,3,5- トリアジン-2-イル)スチルベン-2,2'-ジスルホン酸 ニナトリウム	
シリコーン消泡剤	: 10:1~100:1のフォーム調整剤対分散剤の比率で、 分散剤としてシロキサンオキシアルキレンコポリマーを 配合した、ポリジメチルシロキサンフォーム調整剤	10
起泡抑制剤	: 顆粒形の、12%シリコーン/シリカ、18%ステアリル アルコール、70%デンプン	
不透明剤	: BASF Aktiengesellschaft から商品名Lytron 621で 販売されている水ベースモノスチレンラテックス混合物	
SRP1	: アニオン性末端キャップ化ポリエステル	
SRP2	: ジエトキシル化ポリ(1,2-プロピレンテレフタレート) 短ブロックポリマー	
QEA	: ビス[(C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n](CH ₃)-N ⁺ - C ₆ H ₁₂ -N ⁺ -(CH ₃) ビス[(C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O)] _n (n=20~30)	20
PEI	: 平均分子量1800および窒素当たり7エチレンオキシ残基の 平均エトキシル化度を有したポリエチレンイミン	
SCS	: ナトリウムクメンスルホネート	
HMWPEO	: 高分子量ポリエチレンオキシド	
PEGx	: 分子量xのポリエチレングリコール	
PEO	: 平均分子量5000のポリエチレンオキシド	
TEPAE	: テトラエチレンペンタアミンエトキシレート	
BTA	: ベンゾトリアゾール	30
pH	: 20℃で蒸留水中1%溶液として測定 【0.207】	

例1

下記の高密度洗濯洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>	
LAS	8.0	8.0	8.0	2.0	6.0	6.0	
TAS	-	0.5	-	0.5	1.0	0.1	
C46(S)AS	2.0	2.5	-	-	-	-	
C25AS	-	-	-	7.0	4.5	5.5	
C68AS	2.0	5.0	7.0	-	-	-	
C25E5	-	-	3.4	10.0	4.6	4.6	
C25E7	3.4	3.4	1.0	-	-	-	10
C25E3S	-	-	-	2.0	5.0	4.5	
QAS	-	0.8	-	-	-	-	
QAS1	-	-	-	0.8	0.5	1.0	
ゼオライトA	18.1	18.0	14.1	18.1	20.0	18.1	
クエン酸	-	-	-	2.5	-	2.5	
炭酸塩	13.0	13.0	27.0	5.0	10.0	13.0	
Na-SKS-6	-	-	-	10.0	-	10.0	
シリケート	1.4	1.4	3.0	0.3	0.5	0.3	
シトレート	-	1.0	-	3.0	-	-	
サルフェート	26.1	26.1	26.1	6.0	-	-	20
硫酸Mg	0.3	-	-	0.2	-	0.2	
MA/AA	0.3	0.3	0.3	4.0	1.0	1.0	
CMC	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	
マンナナーゼ	0.001	0.002	0.05	0.001	0.002	0.003	
ベルカーボネート	9.0	9.0	5.0	5.0	18.0	18.0	
TAED	1.5	0.4	1.5	-	3.9	4.2	
NACA-OBS	-	2.0	1.0	-	-	-	
DETPMP	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-	
SRP1	-	-	-	0.2	-	0.2	
EDDS	-	0.25	0.4	-	0.5	0.5	30
CFAA	-	1.0	-	2.0	-	-	
HEDP	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	
QEA	-	-	-	0.2	-	0.5	
プロテアーゼ	0.009	0.009	0.01	0.04	0.05	0.03	
アミラーゼ	0.002	0.002	0.002	0.006	0.008	0.008	
セルラーゼ	0.0007	-	-	0.0007	0.0007	0.0007	
リパーゼ	0.006	-	-	0.01	0.01	0.01	
光活性化ブリーチ(ppm)	15	15	15	-	20	20	
PVNO/PVPVI	-	-	-	0.1	-	-	
増白剤1	0.09	0.09	0.09	-	0.09	0.09	40
香料	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	
シリコーン消泡剤	0.5	0.5	0.5	-	0.3	0.3	
密度g/L	850	850	850	850	850	850	
その他			100%まで				

【0208】

例2

ヨーロッパ式機械洗浄条件下で特に有用な下記の顆粒洗濯洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>	
L A S	5.5	7.5	5.0	5.0	6.0	7.0	
T A S	1.25	1.9	-	0.8	0.4	0.3	
C 2 4 A S / C 2 5 A S	-	2.2	5.0	5.0	5.0	2.2	
C 2 5 E 3 S	-	0.8	1.0	1.5	3.0	1.0	
C 4 5 E 7	3.25	-	-	-	-	3.0	
T F A A	-	-	2.0	-	-	-	10
C 2 5 E 5	-	5.5	-	-	-	-	
Q A S	0.8	-	-	-	-	-	
Q A S 1	-	0.7	1.0	0.5	1.0	0.7	
S T P P	19.7	-	-	-	-	-	
ゼオライトA	-	19.5	20.0	14.5	20.0	17.0	
NaSKS-6/クエン酸(79:21)	-	10.6	-	10.6	-	-	
N a - S K S - 6	-	-	9.0	-	10.0	10.0	
炭酸塩	6.1	21.4	9.0	10.0	10.0	18.0	
重炭酸塩	-	2.0	7.0	5.0	-	2.0	
シリケート	6.8	-	-	0.3	0.5	-	20
シトレート	-	-	4.0	4.0	-	-	
サルフェート	39.8	-	-	5.0	-	12.0	
硫酸Mg	-	-	0.1	0.2	0.2	-	
MA/AA	0.5	1.6	3.0	4.0	1.0	1.0	
CMC	0.2	0.4	1.0	1.0	0.4	0.4	
マンナナーゼ	0.001	0.002	0.02	0.001	0.002	0.02	
ベルカーボネート	5.0	12.7	5.0	5.0	18.0	15.0	
T A E D	0.5	3.1	-	-	5.0	-	
N A C A - O B S	1.0	3.5	-	-	-	2.5	
DET P M P	0.25	0.2	0.3	0.4	-	0.2	30
H E D P	-	0.3	-	0.3	0.3	0.3	
Q E A	-	-	1.0	1.0	1.0	-	
プロテアーゼ	0.009	0.03	0.03	0.05	0.05	0.02	
リパーゼ	0.003	0.003	0.006	0.006	0.006	0.004	
セルラーゼ	0.0006	0.0006	0.0005	0.0005	0.0007	0.0007	
アミラーゼ	0.002	0.002	0.006	0.006	0.01	0.003	
P V N O / P V P V I	-	-	0.2	0.2	-	-	
P V P	0.9	1.3	-	-	-	0.9	
S R P 1	-	-	0.2	0.2	0.2	-	
光活性化ブリーチ(ppm)	1 5	2 7	-	-	2 0	2 0	40
光活性化ブリーチ(1)(ppm)	1 5	-	-	-	-	-	
増白剤1	0.08	0.2	-	-	0.09	0.15	
増白剤2	-	0.04	-	-	-	-	
香料	0.3	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3	
シリコーン消泡剤	0.5	2.4	0.3	0.5	0.3	2.0	
密度g/L	750	750	750	750	750	750	
その他			1 0 0 %まで				

【 0 2 0 9 】

例3

ヨーロッパ式機械洗浄条件下で特に有用な下記の洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	
ブローンパウダー(Blown Powder) :					
LAS	6. 0	5. 0	1 1. 0	6. 0	
TAS	2. 0	-	-	2. 0	
ゼオライトA	2 4. 0	-	-	2 0. 0	
STPP	-	2 7. 0	2 4. 0	-	
サルフェート	4. 0	6. 0	1 3. 0	-	10
MA／AA	1. 0	4. 0	6. 0	2. 0	
シリケート	1. 0	7. 0	3. 0	3. 0	
CMC	1. 0	1. 0	0. 5	0. 6	
増白剤1	0. 2	0. 2	0. 2	0. 2	
シリコーン消泡剤	1. 0	1. 0	1. 0	0. 3	
DETPMP	0. 4	0. 4	0. 2	0. 4	
スプレーオン :					
増白剤	0. 0 2	-	-	0. 0 2	
C 4 5 E 7	-	-	-	5. 0	
C 4 5 E 2	2. 5	2. 5	2. 0	-	20
C 4 5 E 3	2. 6	2. 5	2. 0	-	
香料	0. 5	0. 3	0. 5	0. 2	
シリコーン消泡剤	0. 3	0. 3	0. 3	-	
乾燥添加物 :					
QEA	-	-	-	1. 0	
EDDS	0. 3	-	-	-	
サルフェート	2. 0	3. 0	5. 0	1 0. 0	
炭酸塩	6. 0	1 3. 0	1 5. 0	1 4. 0	
クエン酸	2. 5	-	-	2. 0	
QAS 1	0. 5	-	-	0. 5	30
Na - SKS - 6	1 0. 0	-	-	-	
ペルカーボネート	1 8. 5	1 8. 0	1 0. 0	2 1. 5	
マンナナーゼ	0.001	0.002	0. 0 2	0. 0 2	
TAED	2. 0	2. 0	-	2. 0	
NACA - OBS	3. 0	2. 0	4. 0	-	
プロテアーゼ	0. 0 3	0. 0 3	0. 0 3	0. 0 3	
リパーゼ	0.008	0.008	0.008	0.004	
アミラーゼ	0.003	0.003	0.003	0.006	
増白剤1	0. 0 5	-	-	0. 0 5	
その他	1 0 0 %まで				40
【 0 2 1 0 】					

例 4

下記の顆粒洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>
ブローンパウダー：						
L A S	23.0	8.0	7.0	9.0	7.0	7.0
T A S	-	-	-	-	1.0	-
C 4 5 A S	6.0	6.0	5.0	8.0	-	-
C 4 5 A E S	-	1.0	1.0	1.0	-	-
C 4 5 E 3 5	-	-	-	-	2.0	4.0
ゼオライトA	10.0	18.0	14.0	12.0	10.0	10.0
MA/AA	-	0.5	-	-	-	2.0
MA/AA 1	7.0	-	-	-	-	-
AA	-	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0
サルフェート	5.0	6.3	14.3	11.0	15.0	19.3
シリケート	10.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
炭酸塩	15.0	20.0	10.0	20.7	8.0	6.0
P E G 4000	0.4	1.5	1.5	1.0	1.0	1.0
D T P A	-	0.9	0.5	-	-	0.5
増白剤 2	0.3	0.2	0.3	-	0.1	0.3
スプレーオン：						
C 4 5 E 7	-	2.0	-	-	2.0	2.0
C 2 5 E 9	3.0	-	-	-	-	-
C 2 3 E 9	-	-	1.5	2.0	-	2.0
香料	0.3	0.3	0.3	2.0	0.3	0.3
凝集物：						
C 4 5 A S	-	5.0	5.0	2.0	-	5.0
L A S	-	2.0	2.0	-	-	2.0
ゼオライトA	-	7.5	7.5	8.0	-	7.5
炭酸塩	-	4.0	4.0	5.0	-	4.0

10

20

PEG4000	-	0.5	0.5	-	-	0.5
その他（水など）	-	2.0	2.0	2.0	-	2.0
乾燥添加物：						
QAS	-	-	-	-	1.0	-
クエン酸	-	-	-	-	2.0	-
マンナナーゼ	0.001	0.02	0.001	0.02	0.001	0.01
ペルカーボネート	4.0	1.0	3.0	2.0	14.0	11.0
炭酸塩	-	5.3	1.8	-	4.0	4.0
NOBS	4.0	-	6.0	-	-	0.6
メチルセルロース	0.2	-	-	-	-	-
Na-SKS-6	8.0	-	-	-	-	-
STS	-	-	2.0	-	1.0	-
クメンスルホン酸	-	1.0	-	-	-	2.0
プロテアーゼ	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02
リパーゼ	0.004	-	0.004	-	0.004	0.008
アミラーゼ	0.003	-	0.002	-	0.003	-
セルラーゼ	0.0005	0.0005	0.0005	0.0007	0.0005	0.0005
PVPVI	-	-	-	-	0.5	0.1
PVP	-	-	-	-	0.5	-
PVNO	-	-	0.5	0.3	-	-
QEA	-	-	-	-	1.0	-
SRP1	0.2	0.5	0.3	-	0.2	-
シリコーン消泡剤	0.2	0.4	0.2	0.4	0.1	-
硫酸Mg	-	-	0.2	-	0.2	-
その他	100%まで					

【0211】

10

20

例5

下記の洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	
ベース顆粒：					
ゼオライトA	30.0	22.0	24.0	10.0	
サルフェート	10.0	5.0	10.0	7.0	
MA/AA	3.0	-	-	-	
AA	-	1.6	2.0	-	
MA/AA 1	-	12.0	-	6.0	
LAS	14.0	10.0	9.0	20.0	10
C45AS	8.0	7.0	9.0	7.0	
C45AES	-	1.0	1.0	-	
シリケート	-	1.0	0.5	10.0	
石鹼	-	2.0	-	-	
増白剤1	0.2	0.2	0.2	0.2	
炭酸塩	6.0	9.0	10.0	10.0	
PEG4000	-	1.0	1.5	-	
DTPA	-	0.4	-	-	
スプレーオン：					
C25E9	-	-	-	5.0	20
C45E7	1.0	1.0	-	-	
C23E9	-	1.0	2.5	-	
香料	0.2	0.3	0.3	-	
乾燥添加物：					
炭酸塩	5.0	10.0	18.0	8.0	
PVPVI/PVNO	0.5	-	0.3	-	
マンナナーゼ	0.001	0.001	0.02	0.02	
プロテアーゼ	0.03	0.03	0.03	0.02	
リパーゼ	0.008	-	-	0.008	
アミラーゼ	0.002	-	-	0.002	30
セルラーゼ	0.0002	0.0005	0.0005	0.0002	
NOBS	-	4.0	-	4.5	
ベルカーボネート	1.0	5.0	1.5	6.0	
サルフェート	4.0	5.0	-	5.0	
SRP1	-	0.4	-	-	
起泡抑制剤	-	0.5	0.5	-	
その他		100%まで			
【0212】					

例6

下記の顆粒洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	
ブローンパウダー：				
ゼオライトA	20.0	-	15.0	
STPP	-	20.0	-	
サルフェート	-	-	5.0	
炭酸塩	-	-	5.0	
TAS	-	-	1.0	
LAS	6.0	6.0	6.0	10
C68AS	2.0	2.0	-	
シリケート	3.0	8.0	-	
MA/AA	4.0	2.0	2.0	
CMC	0.6	0.6	0.2	
増白剤1	0.2	0.2	0.1	
DETPMP	0.4	0.4	0.1	
STS	-	-	1.0	
スプレーオン：				
C45E7	5.0	5.0	4.0	
シリコーン消泡剤	0.3	0.3	0.1	20
香料	0.2	0.2	0.3	
乾燥添加物：				
QEA	-	-	1.0	
炭酸塩	14.0	9.0	10.0	
ペルカーボネート	20.0	15.0	13.0	
TAED	2.0	2.0	2.0	
QAS	-	-	1.0	
光活性化ブリーチ	15 ppm	15 ppm	15 ppm	
Na-SKS-6	-	-	3.0	
マンナナーゼ	0.001	0.002	0.0015	30
プロテアーゼ	0.003	0.003	0.007	
リパーゼ	0.004	0.004	0.004	
アミラーゼ	0.006	0.006	0.003	
セルラーゼ	0.0002	0.0002	0.0005	
サルフェート	10.0	20.0	5.0	
密度 (g/L)	700	700	700	
その他	100%まで			
【0213】				

例7

下記の洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	
ブローンパウダー：				
ゼオライトA	15.0	15.0	15.0	
サルフェート	-	5.0	-	
LAS	3.0	3.0	3.0	
QAS	-	1.5	1.5	
DETPMP	0.4	0.2	0.4	
EDDS	-	0.4	0.2	10
CMC	0.4	0.4	0.4	
MA/AA	4.0	2.0	2.0	
凝集物：				
LAS	5.0	5.0	5.0	
TAS	2.0	2.0	1.0	
シリケート	3.0	3.0	4.0	
ゼオライトA	8.0	8.0	8.0	
炭酸塩	8.0	8.0	4.0	
スプレーオン：				
香料	0.3	0.3	0.3	20
C45E7	2.0	2.0	2.0	
C25E3	2.0	-	-	
乾燥添加物：				
シトレート	5.0	-	2.0	
重炭酸塩	-	3.0	-	
炭酸塩	8.0	15.0	10.0	
TAED	6.0	2.0	5.0	
ベルカーボネート	14.0	7.0	10.0	
PEO	-	-	0.2	
ベントナイト粘土	-	-	10.0	30
マンナナーゼ	0.001	0.02	0.01	
プロテアーゼ	0.03	0.03	0.03	
リパーゼ	0.008	0.008	0.008	
セルラーゼ	0.001	0.001	0.001	
アミラーゼ	0.01	0.01	0.01	
シリコーン消泡剤	5.0	5.0	5.0	
サルフェート	-	3.0	-	
密度 (g/L)	850	850	850	
その他		100%まで		
【0214】				40

例8

下記の洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>
LAS	18.0	14.0	24.0	20.0
QAS	0.7	1.0	-	0.7
TFAA	-	1.0	-	-
C23E56.5	-	-	1.0	-
C45E7	-	1.0	-	-
C45E3S	1.0	2.5	1.0	-
STPP	32.0	18.0	28.0	20.0
シリケート	9.0	5.0	9.0	8.0
炭酸塩	11.0	7.5	10.0	5.0
重炭酸塩	-	7.5	-	-
ベルカーボネート	3.0	2.0	2.0	2.0
NOBS	2.0	1.0	-	-
DETPMP	-	1.0	-	-
DTPA	0.5	-	0.2	0.3
SRP1	0.3	0.2	-	0.1
MA/AA	1.0	1.5	2.0	0.5
CMC	0.8	0.4	0.4	0.2
PEI	-	-	0.4	-
サルフェート	20.0	10.0	20.0	30.0
硫酸Mg	0.2	-	0.4	0.9
マンナナーゼ	0.001	0.001	0.02	0.03
プロテアーゼ	0.03	0.03	0.02	0.02
アミラーゼ	0.008	0.007	-	0.004
リパーゼ	0.004	-	0.002	-
セルラーゼ	0.0003	-	-	0.0001
光活性化ブリーチ	30 ppm	20 ppm	-	10 ppm
香料	0.3	0.3	0.1	0.2
増白剤1/2	0.05	0.02	0.08	0.1
その他	100%まで			
【0215】				

10

20

30

例9

“洗浄による柔軟化”能力を発揮する下記の顆粒布帛洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	
C 4 5 A S	-	1 0 . 0	
L A S	7 . 6	-	
C 6 8 A S	1 . 3	-	
C 4 5 E 7	4 . 0	-	
C 2 5 E 3	-	5 . 0	
ココアルキルジメチルヒドロキシ エチルアンモニウムクロリド	1 . 4	1 . 0	10
シトレート	5 . 0	3 . 0	
Na - SKS - 6	-	1 1 . 0	
ゼオライトA	1 5 . 0	1 5 . 0	
MA／AA	4 . 0	4 . 0	
DETPMP	0 . 4	0 . 4	
ベルカーボネート	1 5 . 0	1 5 . 0	
TAED	5 . 0	5 . 0	
スメクタイト粘土	1 0 . 0	1 0 . 0	
HMWPEO	-	0 . 1	
マンナナーゼ	0 . 0 0 1	0 . 0 2	20
プロテアーゼ	0 . 0 2	0 . 0 1	
リパーゼ	0 . 0 2	0 . 0 1	
アミラーゼ	0 . 0 3	0 . 0 0 5	
セルラーゼ	0 . 0 0 1	-	
シリケート	3 . 0	5 . 0	
炭酸塩	1 0 . 0	1 0 . 0	
起泡抑制剤	1 . 0	4 . 0	
CMC	0 . 2	0 . 1	
水およびその他	1 0 0 %まで		30
【 0 2 1 6 】			

例10

下記の洗剤添加組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	
L A S	-	5 . 0	
S T P P	3 0 . 0	-	
ゼオライトA	-	3 5 . 0	
ベルカーボネート	2 0 . 0	1 5 . 0	
T A E D	1 0 . 0	8 . 0	
マンナナーゼ	0 . 0 0 1	0 . 0 2	40
プロテアーゼ	-	0 . 3	
アミラーゼ	-	0 . 0 6	
水およびその他	1 0 0 %まで		
【 0 2 1 7 】			

例 1 1

下記のコンパクト高密度（0.96Kg/L）皿洗い洗剤組成物を本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>	<u>VII</u>	<u>VIII</u>
STPP	-	-	54.3	51.4	51.4	-	-	50.9
シトレート	35.0	17.0	-	-	-	46.1	40.2	-
炭酸塩	-	17.5	14.0	14.0	14.0	-	8.0	32.1
重炭酸塩	-	-	-	-	-	25.4	-	-
シリケート	32.0	14.8	14.8	10.0	10.0	1.0	25.0	3.1
メタシリケート	-	2.5	-	9.0	9.0	-	-	-
ベルカーボネート	10.5	9.7	7.8	7.8	7.8	6.7	11.8	4.8
ノニオン系	1.5	2.0	1.5	1.7	1.5	2.6	1.9	5.3
TAED	5.2	2.4	-	-	-	2.2	-	1.4
HEDP	-	1.0	-	-	-	-	-	-
DETPMP	-	0.6	-	-	-	-	-	-
MnTACN	-	-	-	-	-	-	0.008	-
PAAC	-	-	0.008	0.01	0.007	-	-	-
BzP	-	-	-	-	1.4	-	-	-
パラフィン	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	-	-
マンナナーゼ	0.001	0.02	0.015	0.02	0.001	0.001	0.02	0.02
プロテアーゼ	0.072	0.072	0.029	0.053	0.046	0.026	0.059	0.06
アミラーゼ	0.012	0.012	0.006	0.012	0.013	0.009	0.017	0.03
リパーゼ	-	0.001	-	0.005	-	-	-	-
BTA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	-	0.3	0.3
MA/AA	-	-	-	-	-	-	4.2	-
480N	3.3	6.0	-	-	-	-	-	0.9
香料	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
サルフェート	7.0	20.0	5.0	2.2	0.8	12.0	4.6	-
pH	10.8	11.0	10.8	11.3	11.3	9.6	10.8	10.9

水およびその他

100%まで

【0218】

10

20

30

例 12

嵩密度 1.02 Kg/L の下記顆粒皿洗い洗剤組成物を本発明に従い調製した

:

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>
STPP	30.0	30.0	33.0	34.2	31.1
炭酸塩	30.5	30.5	31.0	30.0	39.4
シリケート	7.4	7.4	7.5	7.2	3.4
メタシリケート	-	-	4.5	5.1	-
ベルカーボネート	4.4	4.2	4.5	4.5	4.0
NADCC	-	-	-	-	-
ノニオン系	1.2	1.0	0.7	0.8	0.7
TAED	1.0	-	-	-	0.8
PAAC	-	0.004	0.004	0.004	-
BzP	-	-	-	1.4	-
パラフィン	0.25	0.25	0.25	0.25	-
マンナナーゼ	0.01	0.001	0.02	0.001	0.001
プロテアーゼ	0.036	0.015	0.03	0.028	0.03
アミラーゼ	0.003	0.003	0.01	0.006	0.01
リパーゼ	0.005	-	0.001	-	-
BTA	0.15	0.15	0.15	0.15	-
香料	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
サルフェート	23.4	25.0	22.0	18.5	19.3
pH	10.8	10.8	11.3	11.3	11.5
水およびその他	100%まで				

【0219】

10

20

例 13

下記の銼剤洗剤組成物は、標準 12 ヘッドロータリープレスを用いて、13 KN/cm² の圧力下で顆粒皿洗い洗剤組成物の圧縮により、本発明に従い調製した：

	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>
STPP	-	48.8	49.2	38.0	-	46.8
シトレート	26.4	-	-	-	31.1	-
炭酸塩	-	5.0	14.0	15.4	14.4	23.0
シリケート	26.4	14.8	15.0	12.6	17.7	2.4
マンナナーゼ	0.001	0.02	0.001	0.002	0.03	0.002
プロテアーゼ	0.058	0.072	0.041	0.033	0.052	0.013
アミラーゼ	0.01	0.03	0.012	0.007	0.016	0.002
リパーゼ	0.005	-	-	-	-	-
ベルカーボネート	8.5	7.7	12.2	10.6	15.7	14.4
ノニオン系	1.5	2.0	1.5	1.65	0.8	6.3
PAAC	-	-	0.02	0.009	-	-
MnTACN	-	-	-	-	0.007	-
TAED	4.3	2.5	-	-	1.3	1.8
HEDP	0.7	-	-	0.7	-	0.4
DETPMP	0.65	-	-	-	-	-
パラフィン	0.4	0.5	0.5	0.55	-	-
BTA	0.2	0.3	0.3	0.3	-	-
PA30	3.2	-	-	-	-	-
MA/AA	-	-	-	-	4.5	0.55
香料	-	-	0.05	0.05	0.2	0.2
サルフェート	24.0	13.0	2.3	-	10.7	3.4
銼剤の重量	25 g	25 g	20 g	30 g	18 g	20 g
pH	10.6	10.6	10.7	10.7	10.9	11.2
水およびその他			100%まで			

10

20

【配列表】

SEQ ID NO: 1

配列の特徴:

長さ: 1407塩基対

タイプ: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

分子タイプ: ゲノムDNA

原型

特徴:

名称/キー: CDS

位置: 1 - 1482

配列の記載: SEQ ID NO: 1

ATGAAAAAAAGTTATCACAGATTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGATTACAACGTCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAATGGGCAGCCATTGTTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTTCGTATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTTCGTGAAGTCATTG
AGCTTGCGGAGCAAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAGAAGATACGGTTATTATTAAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG
ATGCAGCAGGATGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT
GAGTATGCTGGTGGTATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA

10

20

GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA
TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCTGAACCGCCAACTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GGCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGTGCTTCAGGTAAGTACTCTTTAAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCTTCACATGAAGTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACCTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATAGTCATCATGTTAG
GGAAATAGGCGTGCAATTTTCAGCGGCAGATAATAGCAGTGGTCAAACCTGC
TCTATACGTTGATAACGTTACTTTAAGATAG

10

SEQ ID NO : 2

配列の特徴 :

長さ : 493 アミノ酸

タイプ : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

分子タイプ : タンパク質

配列の記載 : SEQ ID NO : 2

20

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNK
VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHLMVDAAGWGQYQSIHDYQGDVFNADPLENTM
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVLDQDLALVIGFGRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP
STVFTDDNGGHPPEPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLYV

KTGSDYTWHSGPFTRINSSNSGTTLSFDLNNIENSHHVREIGVQFSAADNSSGQ
TALYVDNVTLR

SEQ ID NO: 3

配列の特徴:

長さ: 1407塩基対

タイプ: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

分子タイプ: ゲノムDNA

配列の記載: SEQ ID NO: 3

ATGAAAAAAAGTTATCACAGATTATCATTTAATTATTGACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCTCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAATGGGCAGCCATTTGTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCTGATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTCTGGAAGTCATTG
AGCTTGCGGAGCAAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACCTTAATGGTTG
ATGCAGCAGGATGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT
GAGTATGCTGGTGGTGATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA
GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA

10

20

TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCTGAACGCCAACTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACACTCTTTAAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACCTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATATCATCATGTTAGG
GAAATAG

10

SEQ ID NO : 4

配列の特徴 :

長さ : 468 アミノ酸

タイプ : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

分子タイプ : タンパク質

配列の記載 : SEQ ID NO : 4

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNK
VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKL RDAGLTHLMVDAAGWGQYPQSIHDYQDVFNADPLENTM
FSIHMEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGFGRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWYLDLSEDWAGQLTDWGNRIVHGADGLQETSKP
STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLYV
KTGSDYTWHS GPFTRINSSNSGTTLSFDLNNIENIIMLGK

20

SEQ ID NO : 5

配列の特徴：

長さ：1029塩基対

タイプ：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

分子タイプ：ゲノムDNA

配列の記載：SEQ ID NO：5

5' AAT TGG CGC ATA CTG TGT CGC CTG TGA ATC CTA ATG CCC AGC
AGA CAA CAA AAA CAG TGA TGA ACT GGC TTG CGC ACC TGC CGA ACC
GAA CGG AAA ACA GAG TCC TTT CCG GAG CGT TCG GAG GTT ACA GCC
ATG ACA CAT TTT CTA TGG CTG AGG CTG ATA GAA TCC GAA GCG CCA
CCG GGC AAT CGC CTG CTA TTT ATG GCT GCG ATT ATG CCA GAG GAT
GGC TTG AAA CAG CAA ATA TTG AAG ATT CAA TAG ATG TAA GCT GCA
ACG GCG ATT TAA TGT CGT ATT GGA AAA ATG GCG GAA TTC CGC AAA
TCA GTT TGC ACC TGG CGA ACC CTG CTT TTC AGT CAG GGC ATT TTA
AAA CAC CGA TTA CAA ATG ATC AGT ATA AAA ACA TAT TAG ATT CAG
CAA CAG CGG AAG GGA AGC GGC TAA ATG CCA TGC TCA GCA AAA TTG
CTG ACG GAC TTC AAG AGT TGG AGA ACC AAG GTG TGC CTG TTC TGT
TCA GGC CGC TGC ATG AAA TGA ACG GCG AAT GGT TTT GGT GGG GAC
TCA CAT CAT ATA ACC AAA AGG ATA ATG AAA GAA TCT CTC TAT ATA
AAC AGC TCT ACA AGA AAA TCT ATC ATT ATA TGA CCG ACA CAA GAG
GAC TTG ATC ATT TGA TTT GGG TTT ACT CTC CCG ACG CCA ACC GAG
ATT TTA AAA CTG ATT TTT ACC CGG GCG CGT CTT ACG TGG ATA TTG
TCG GAT TAG ATG CGT ATT TTC AAG ATG CCT ACT CGA TCA ATG GAT
ACG ATC AGC TAA CAG CGC TTA ATA AAC CAT TTG CTT TTA CAG AAG
TCG GCC CGC AAA CAG CAA ACG GCA GCT TCG ATT ACA GCC TGT TCA
TCA ATG CAA TAA AAC AAA AAT ATC CTA AAA CCA TTT ACT TTC TGG
CAT GGA ATG ATG AAT GGA GCG CAG CAG TAA ACA AGG GTG CTT CAG
CTT TAT ATC ATG ACA GCT GGA CAC TCA ACA AGG GAG AAA TAT GGA

10

20

ATG GTG ATT CTT TAA CGC CAA TCG TTG AGT GAA TCC GGG ATC 3'

SEQ ID NO: 6

配列の特徴:

長さ: 363 アミノ酸

タイプ: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

分子タイプ: タンパク質

配列の記載: SEQ ID NO: 6

ydhT	1	
LFKKHTISLLIIFLLASAVLAKPIEAHTVSPVNPNAQQTTKTVMNWLAHL	50	
ydhT	51	
PNRTENRVLSGAFGGYSHDTFSMAEADRI RSATGQSPA IYGCDYARGWLE	100	
ydhT	101	
TANIEDSIDVSCNGDLMSYWKNGGIPQISLHLANPAFQSGHFKEPTITNDQ	150	
ydhT	151	
YKNILDSATAEGKRLNAML SKIADGLQELNQGVPLFRPLHEMNGEWWF	200	
ydhT	201	
WGLTSYNQKDNERISLYKQLYKKIYHYMTDTRGLDHLI WVYSPDANRDFK	250	
ydhT	251	
TDFYPGASYVDIVGLDAYFQDAYSINGYDQLTALNKPFAFTEVGPQTANG	300	
ydhT	301	
SFDYSLFINAIKQKYPKTIYFLAWNDEWSAAVNKGASALYHDSWTLNKGE	350	
ydhT	351	
IWNGDSLTPIVE*.	363	

10

20

フロントページの続き

(72)発明者 ジャン・リュク、フィリップ、ブティオール
ベルギー国バー - 1200、ブリュッセル、アブニュ、スレジェ、93

審査官 中島 庸子

(56)参考文献 特表平09-503130 (JP, A)
特表平11-500465 (JP, A)
特表平10-508057 (JP, A)
特表平10-509203 (JP, A)
特表平11-509884 (JP, A)
特表平10-509474 (JP, A)
特表平10-502114 (JP, A)
特開昭62-030196 (JP, A)
国際公開第95/035362 (WO, A1)
国際公開第96/013568 (WO, A1)
国際公開第96/016154 (WO, A1)
国際公開第97/004066 (WO, A1)
国際公開第96/016153 (WO, A1)
国際公開第96/000773 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C11D