



(21) 申请号 201680068816.5

(22) 申请日 2016.12.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108431220 A

(43) 申请公布日 2018.08.21

(30) 优先权数据
15198277.4 2015.12.07 EP
15198282.4 2015.12.07 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.05.24

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/080157 2016.12.07

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/097866 EN 2017.06.15

(73) 专利权人 诺维信公司
地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 I.达马杰 M.杰尔曼森 C.安德森
T.韦伯 I.K.沃肯罗思 C.梅西
A.斯皮茨 L-M.许茨 C.奥托
D.赫布斯特 C.林德纳

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105
专利代理师 张文辉

(51) Int.Cl.
C12N 9/42 (2006.01)
C11D 3/386 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/52 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 103717724 A, 2014.04.09
CN 103443278 A, 2013.12.11
CN 105073971 A, 2015.11.18
CN 101528766 A, 2009.09.09
WO 2004053039 A2, 2004.06.24
无.UniProtKB :Q9K7X6.《UniProt》.2000,
无.GenBank: ADU30622.1.《GenBank》
.2014,
无.NCBI Reference Sequence: WP_
010334360.1.《GenBank》.2013,
无.GenBank: GAE36131.1.《GenBank》
.2015,

审查员 于淼

权利要求书4页 说明书142页
序列表59页

(54) 发明名称

具有 β -葡聚糖酶活性的多肽、编码其的多核苷酸及其在清洁和洗涤剂组合物中的用途

(57) 摘要

本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽、催化结构域、 β -葡聚糖结合结构域,以及编码这些多肽、催化结构域或 β -葡聚糖结合结构域的多核苷酸。本发明还涉及包括这些多核苷酸的核酸构建体、载体和宿主细胞,以及产生和使用这些多肽、催化结构域或 β -葡聚糖结合结构域的方法。本发明进一步涉及包括展现出 β -葡聚糖酶活性的多肽和一种或多种淀粉酶和/或一种或多种蛋白酶的清洁或洗涤剂组合物及其在清洁

或洗涤剂应用和过程,例如清洁硬表面、餐具洗涤和洗衣,中的用途。

1. 一种具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:
 - (a) 与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少99%序列一致性的多肽;
 - (b) 由与SEQ ID NO:6的成熟多肽编码序列具有至少99%序列一致性的多核苷酸编码的多肽;其中该多肽源自粘琼脂芽孢杆菌 (*Bacillus agaradhaerens*)。
2. 如权利要求1所述的多肽,该多肽与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有100%序列一致性。
3. 如权利要求1-2中任一项所述的多肽,其中该成熟多肽是SEQ ID NO:7的氨基酸1至222。
4. 如权利要求1-2中任一项所述的多肽,其中所述 β -葡聚糖酶活性是地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。
5. 一种组合物,该组合物包含如权利要求1-4中任一项所述的多肽,其中所述组合物不是餐具洗涤组合物。
6. 如权利要求5所述的组合物,该组合物进一步包含:
 - i) 一种或多种洗涤剂组分;和/或
 - ii) 一种或多种另外的酶。
7. 如权利要求5-6中任一项所述的组合物,其中所述组合物具有7.5或更高的pH。
8. 如权利要求7所述的组合物,其中所述组合物包含漂白剂。
9. 如权利要求5-6中任一项所述的组合物,其中所述pH在从7.5至12.5的范围内。
10. 如权利要求5-6中任一项所述的组合物,其中所述组合物是洗涤剂组合物,其中所述洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。
11. 如权利要求1-4中任一项所述的多肽或如权利要求5-10中任一项所述的组合物在清洁过程中的用途,其中所述清洁过程不是餐具洗涤清洁过程。
12. 如权利要求11所述的用途,其中所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。
13. 如权利要求11的用途,其中所述清洁过程是洗衣过程。
14. 一种多核苷酸,该多核苷酸编码如权利要求1-4中任一项所述的多肽。
15. 一种核酸构建体,该核酸构建体能够表达如权利要求14所述的多核苷酸,其中所述核酸构建体包含如权利要求14所述的多核苷酸,该多核苷酸可操作地连接至指导多肽在表达宿主内产生的一个或多个控制序列。
16. 一种重组宿主细胞,该重组宿主细胞包含如权利要求14所述的多核苷酸,其中所述多核苷酸可操作地连接至指导多肽的产生的一个或多个控制序列。
17. 一种洗涤剂组合物,其中所述洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物,所述洗涤剂组合物包含具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:
 - (a) 与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有至少99%序列一致性的多肽;
 - (b) 由与SEQ ID NO:6的成熟多肽编码序列具有至少99%序列一致性的多核苷酸编码的多肽;其中该多肽源自粘琼脂芽孢杆菌 (*Bacillus agaradhaerens*);
其中所述洗涤剂组合物进一步包含:
 - (i) 一种或多种淀粉酶;和/或
 - (ii) 一种或多种蛋白酶。

18. 如权利要求17所述的洗涤剂组合物,其中所述多肽与SEQ ID NO:7的成熟多肽具有100%序列一致性。

19. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该成熟多肽是SEQ ID NO:7的氨基酸1至222。

20. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,其中所述 β -葡聚糖酶活性是地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。

21. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,其中所述淀粉酶是 α -淀粉酶。

22. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物进一步包含:

i) 一种或多种洗涤剂组分;和/或

ii) 一种或多种另外的酶。

23. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,其中所述淀粉酶是选自下组的 α -淀粉酶,该组由以下组成:

(a) 与SEQ ID NO:13具有至少90%序列一致性的多肽;

(b) 与SEQ ID NO:13具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包括取代:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408和/或444;

(c) 与SEQ ID NO:14具有至少90%序列一致性的多肽;

(d) 与SEQ ID NO:15的杂合多肽具有至少90%序列一致性的多肽;

(e) 与SEQ ID NO:15的杂合多肽具有至少90%序列一致性的多肽,其中该杂合多肽在以下位置的一个或多个中包括取代、缺失或插入:48、49、107、156、181、190、197、201、209和/或264;

(f) 与SEQ ID NO:16具有至少90%序列一致性的多肽;

(g) 与SEQ ID NO:16具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包括取代、缺失或插入:181、182、183、184、195、206、212、216和/或269;

(h) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的多肽;

(i) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包括取代、缺失或插入:140、183、184、195、206、243、260、304和/或476;

(j) 与SEQ ID NO:20具有至少90%序列一致性的多肽;

(k) 与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的多肽;

(l) 与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包括取代、缺失或插入:176、177、178、179、190、201、207、211和/或264;

(m) 与SEQ ID NO:22具有至少90%序列一致性的多肽;

(n) 与SEQ ID NO:22具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包括取代、缺失或插入:87、98、125、128、131、165、178、180、181、182、183、201、202、225、243、272、282、305、309、319、320、359、444和/或475;

(o) 与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:28、118、174;181、182、183、184、186、189、195、202、298、299、302、303、306、310、314;320、324、345、396、400、439、444、445、446、449、458、471和/或

484;以及

- (p) 与SEQ ID NO:12具有至少90%序列一致性的多肽;
- (q) SEQ ID NO:23的、具有改变G182*+D183*的变体;
- (r) SEQ ID NO:24的、具有改变H183*+G184*+I405L+A421H+A422P+A428T的变体;
- (s) SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体;
- (t) SEQ ID NO:24的、具有改变R178*+G179*+E187P+I203Y+R458N+T459S+D460T+G476K的变体;
- (u) SEQ ID NO:27的、具有改变M202L的变体;
- (v) SEQ ID NO:28的、具有改变R180*+S181*+S243Q+G475K的变体;
- (w) SEQ ID NO:29的、具有改变D183*+G184*+W140Y+N195F+I206Y+Y243F+E260G+G304R+G476K的变体;
- (x) SEQ ID NO:30的、具有改变H1*+N54S+V56T+K72R+G109A+F113Q+R116Q+W167F+Q172G+A174S+G184T+N195F+V206L+K391A+P473R+G476K的变体;
- (y) SEQ ID NO:31的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+T246V+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体。

24. 如权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物,其中所述蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

- a) 与SEQ ID NO:34具有至少60%序列一致性的多肽,其中所述多肽具有蛋白酶活性;
 - b) 与SEQ ID NO:35具有至少60%序列一致性的多肽,其中所述多肽具有蛋白酶活性;
- 以及
- c) 与SEQ ID NO:36具有至少60%序列一致性的多肽,其中所述多肽具有蛋白酶活性。

25. 如权利要求1-2中任一项所述的多肽或权利要求5-6中任一项所述的组合物或权利要求17-18中任一项所述洗涤剂组合物,其中所述多肽或组合物或洗涤剂组合物在碱性条件下具有改进的稳定性和/或洗涤性能。

26. 如权利要求17-24中任一项所述的洗涤剂组合物在清洁过程中的用途,其中所述清洁过程不是餐具洗涤清洁过程。

27. 权利要求26的用途,其中所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

28. 一种降解 β -葡聚糖的方法,该方法包括将如前述权利要求17-18中任一项所述的洗涤剂组合物或如权利要求1-2中任一项所述的多肽用于所述 β -葡聚糖,其中所述过程不是餐具洗涤过程。

29. 权利要求28的方法,所述过程在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

30. 权利要求28或29的方法,其中所述 β -葡聚糖选自包括下述的组: β -D-葡聚糖, β -1,3-1,4葡聚糖,混合键 β -葡聚糖,大麦 β -葡聚糖和燕麦粥 β -葡聚糖。

31. 一种用于减少或防止污垢再沉积的方法,该方法使用如权利要求中1-4中任一项的多肽或权利要求5-10中任一项的组合物或权利要求17-24中任一项的洗涤剂组合物,其中所述方法不是餐具洗涤方法。

32. 如权利要求1-4中任一项所述的多肽或权利要求5-10中任一项所述组合物或权利要求17-24中任一项所述的洗涤剂组合物用于下列中的一种或多种的用途:

- a) 减少或防止污垢再沉积,其中所述用途不是在餐具洗涤中的用途;
- b) 去除含谷物的污垢,其中所述用途不是在餐具洗涤中的用途;
- c) 在一种或多种淀粉酶存在下促进去除含淀粉的污垢和/或用于增强淀粉酶相关的清洁性能,其中所述用途不是在餐具洗涤中的用途;
- d) 在一种或多种蛋白酶存在下促进去除含蛋白质的污垢和/或用于增强蛋白酶相关的清洁性能,其中所述用途不是在餐具洗涤中的用途。

33. 权利要求32的用途,其中所述含谷物的污垢是含干燥谷物的污垢,其选自包含下述的组:含干燥的燕麦片的污垢、含煮熟的燕麦的污垢、含煮熟且烧糊的燕麦的污垢、含未煮熟的燕麦的污垢和其混合物。

具有 β -葡聚糖酶活性的多肽、编码其的多核苷酸及其在清洁和洗涤剂组合物中的用途

[0001] 对序列表的引用

[0002] 本申请包含处于计算机可读形式的序列表,将其通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

技术领域

[0004] 本发明涉及包括展现出 β -葡聚糖酶活性的多肽和一种或多种淀粉酶和/或一种或多种蛋白酶的清洁或洗涤剂组合物及其在清洁或洗涤剂应用和过程(例如清洁硬表面、餐具洗涤和洗衣)中的用途。本发明进一步涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和编码所述多肽的多核苷酸。本发明还涉及包含这些多核苷酸的核酸构建体、载体以及宿主细胞,连同产生这些多肽和在例如清洁或洗涤剂应用和过程(例如清洁硬表面、餐具洗涤和洗衣)中使用这些多肽的方法。

背景技术

[0005] β -葡聚糖是由 β -糖苷键连接的葡萄糖单元组成的多糖。纤维素是一种类型的 β -葡聚糖,其中所有的葡萄糖单元都由 β -1,4-糖苷键连接。该特征导致不溶性纤维素微原纤维的形成。将纤维素酶解为葡萄糖需要使用内切 β -葡聚糖酶(例如,EC 3.2.1.4)、纤维二糖水解酶(例如,EC 3.2.1.91)和 β -葡萄糖苷酶(例如,EC 3.2.1.21)。

[0006] β -葡聚糖也可以由 β -1,3-糖苷键(例如,于面包酵母(酿酒酵母)的细胞壁中所发现)、 β -1,6-糖苷键以及 β -1,3-糖苷键、 β -1,4-糖苷键和 β -1,6-糖苷键的组合连接。 β -1,3-糖苷键和 β -1,4-糖苷键的组合可见于例如来自谷物如燕麦和大麦的可溶性纤维中。 β -葡聚糖酶的亚组(也称为地衣多糖酶(或地衣酶)(EC 3.2.1.73)可用于催化 β -1,4-糖苷键的水解以产生 β -葡聚糖。地衣多糖酶(或地衣酶)(例如EC 3.2.1.73)水解含有(1,3)-和(1,4)-键的 β -D-葡聚糖中的(1,4)- β -D-糖苷键并且可以作用于地衣淀粉和谷类 β -D-葡聚糖,但不作用于仅含有1,3-键或1,4-键的 β -D-葡聚糖。其他 β -葡聚糖酶(例如EC 3.2.1.4)可以例如在纤维素、地衣淀粉和谷类 β -D-葡聚糖中进行(1,4)- β -D-糖苷键的内水解,并且还将水解在含有1,3-键的 β -D-葡聚糖中的1,4-键。

[0007] 在餐具洗涤和衣物洗涤中去除谷物污渍如含有燕麦和大麦的污渍是公认的难题,因此对找到能够降解其中发现的 β -葡聚糖的酶有相当大的兴趣。各种芽孢杆菌属物种,例如像解淀粉芽孢杆菌表达 β -葡聚糖酶,但这些酶通常不是非常适用于碱性应用,例如在pH 7.5或以上应用。

[0008] 本发明提供了具有 β -葡聚糖酶活性(例如包含或由地衣多糖酶(EC3.2.1.73)活性组成)的糖苷水解酶家族16(GH16)的多肽和编码所述多肽的多核苷酸,其在降解不同类型的 β -葡聚糖(例如, β -D-葡聚糖、 β -1,3-1,4葡聚糖、混合键 β -葡聚糖、大麦 β -葡聚糖和燕麦粥 β -葡聚糖)例如在碱性条件(例如,在pH 7.5或以上)时有高度活性并且因此可以用于前述应用,例如在清洁或洗涤剂应用和过程例如清洁硬表面、餐具洗涤和洗衣中使用。包含 β -

葡聚糖酶的现有产品对这种类型的 β -葡聚糖具有非常低的影响,因为它们的主要酶底物是纤维素。因此,本发明提供了具有改进性质的新型 β -葡聚糖酶(例如在碱性条件下性能和/或稳定性具有显著的改进);没有纤维素酶活性(例如对D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性)的 β -葡聚糖酶(例如EC 3.2.1.73)。在洗衣中在纺织品上使用纤维素酶和地衣多糖酶的区别在于地衣多糖酶不会降解纺织品的纤维。

[0009] 此外,一些特定的固体洗涤剂的pH值高于10。已知的 β -葡聚糖酶不适用于这些非常高pH值的洗涤剂。因此,例如,来自解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的已知 β -葡聚糖酶在碱性条件下迅速丧失活性,如本文实例8所证实的。本发明提供了具有改进性质的新型 β -葡聚糖酶(例如在碱性条件下性能和/或稳定性具有显著的改进)。

[0010] 来自耐盐芽孢杆菌(*Bacillus halodurans*)的未表征蛋白(uniprot:Q9K7X6)与SEQ ID NO:7中所示的 β -葡聚糖酶具有88.4%的同一性。

[0011] 来自解纤维芽孢杆菌(*Bacillus cellulosilyticus*) (uniprot:E6TRB0)的未表征的蛋白质与SEQ ID NO:3中所示的 β -葡聚糖酶具有80.7%的同一性。

[0012] 来自秋叶氏芽孢杆菌(*Bacillus akibai*) (uniprot:W4QVK7)的未表征的蛋白质与SEQ ID NO:5中所示的 β -葡聚糖酶具有98.2%的同一性。

[0013] 来自枯草芽孢杆菌亚种黑色芽孢杆菌(*Bacillus subtilis subsp.niger.*) (uniprot:A0A080UVP7)的未表征的蛋白质与SEQ ID NO:9中所示的 β -葡聚糖酶具有97.9%的同一性。

发明内容

[0014] 在一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0015] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0016] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0017] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0018] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0019] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段,

[0020] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0021] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0022] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0023] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12) (和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40°C约30分钟大于6.5,进

一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0024] 在另一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0025] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0026] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0027] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少81%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0028] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0029] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段,

[0030] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0031] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0032] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0033] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12)(和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0034] 在另一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0035] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少99%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0036] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0037] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少99%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0038] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0039] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段;

[0040] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0041] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0042] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0043] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12)(和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0044] 在另一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0045] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0046] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0047] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少89%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0048] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0049] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段,

[0050] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0051] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0052] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0053] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12)(和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0054] 在另一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0055] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少98%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0056] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0057] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少98%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0058] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0059] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段;

[0060] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0061] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0062] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0063] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12)(和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0064] 在另一个方面中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0065] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有100%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0066] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0067] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有100%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0068] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0069] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段;

[0070] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:

[0071] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0072] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0073] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶(例如SEQ ID NO:12)(和/或所述一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0074] 在另一个方面,本发明涉及包含本发明的 β -葡聚糖酶以及一种或多种 α -淀粉酶(和/或所述一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。在另一个方面,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物包括 β -葡聚糖酶连同一种或多种淀粉酶以及一种或多种选自下组的另外的酶,该组包括:蛋白酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖

酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧酶、过氧化氢酶、甘露聚糖酶或其任何混合物。在另一个方面,本发明涉及在清洁或洗涤剂应用中具有酶洗涤益处或改进的洗涤性能的本发明的一种清洁或洗涤剂组合物。

[0075] 在另一个方面,本发明涉及本发明的 β -葡聚糖酶连同一种或多种蛋白酶以及任选地一种或多种另外的酶用于餐具洗涤或洗衣的用途,这一种或多种另外的酶是例如蛋白酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧酶、过氧化氢酶、甘露聚糖酶或其任何混合物。

[0076] 在另一个方面,本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽和编码所述多肽的多核苷酸。在另一个方面,本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,其具有在碱性条件(例如在pH 7.5或更高)下改进的洗涤性能和/或改进的稳定性。在另一个方面,本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:

[0077] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0078] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0079] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0080] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0081] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段。

[0082] 在另一个方面,本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:

[0083] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0084] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0085] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少81%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0086] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;和

[0087] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段。

[0088] 在另一个方面,本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:

[0089] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少99%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0090] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽: (i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8, 或 (ii) (i) 的全长互补体;

[0091] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少99%序列一致性的多核苷酸编码的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0092] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9, 其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入; 和

[0093] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的 (a)、(b)、(c) 或 (d) 的多肽的片段。

[0094] 本发明进一步涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽, 该多肽选自下组, 该组由以下组成:

[0095] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%序列一致性的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0096] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽: (i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8, 或 (ii) (i) 的全长互补体;

[0097] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少89%序列一致性的多核苷酸编码的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0098] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9, 其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入; 和

[0099] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的 (a)、(b)、(c) 或 (d) 的多肽的片段。

[0100] 在另一个方面, 本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽, 该多肽选自下组, 该组由以下组成:

[0101] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少98%序列一致性的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0102] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽: (i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8, 或 (ii) (i) 的全长互补体;

[0103] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少98%序列一致性的多核苷酸编码的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0104] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9, 其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入; 和

[0105] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的 (a)、(b)、(c) 或 (d) 的多肽的片段。

[0106] 在另一个方面, 本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的多肽, 该多肽选自下组, 该组由以下组成:

[0107] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少100%序列一致性的多肽, 该组由以下组成: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0108] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽：(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8，或(ii) (i) 的全长互补体；

[0109] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少100%序列一致性的多核苷酸编码的多肽，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8；

[0110] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9，其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入；和

[0111] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段。

[0112] 在另一个方面，本发明涉及包含本发明多肽的组合物和本发明多肽在降解 β -葡聚糖(例如 β -D-葡聚糖、 β -1,3-1,4葡聚糖、混合键 β -葡聚糖、大麦 β -葡聚糖、燕麦粥 β -葡聚糖)、控制流体(例如钻井液)的粘度、用于清洗或清洁纺织品和/或硬表面的用途；用于降解 β -葡聚糖的方法，这些方法包括将包含本发明的多肽的组合物施加至 β -葡聚糖。

[0113] 在另一个方面，本发明涉及本发明的纤维素酶和地衣多糖酶在洗衣中对纺织品的用途之间的区别，即本发明的地衣多糖酶不降解纺织品的纤维。

[0114] 在另一个方面，本发明涉及使用本发明的一种或多种多肽或组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)洗涤织物或纺织品或硬表面清洁(包括自动化餐具洗涤(ADW)或手动餐具洗涤(HDW))的方法。在另一个方面，本发明涉及洗涤剂组合物，其包含本发明的一种或多种多肽。在另一个方面，本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物，其包含本发明的所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或所述一种或多种蛋白酶)。

[0115] 在另一个方面，本发明涉及编码本发明的多肽的多核苷酸；核酸构建体；重组表达载体；包含这些多核苷酸的重组宿主细胞；以及产生所述多肽的方法。

[0116] 在另一个方面，本发明涉及发酵液配制品或细胞培养组合物，其包含本发明的多肽。

[0117] 在另一个方面，本发明涉及本发明的一种或多种多肽用于防止、减少或去除物品的生物膜的用途。

[0118] 在另一个方面，本发明涉及本发明的一种或多种多肽或洗涤剂组合物用于减少或防止污垢再沉积的用途。

[0119] 序列表概述

[0120] SEQ ID NO:1是从芽孢杆菌属物种的菌株分离的 β -葡聚糖酶的DNA序列。

[0121] SEQ ID NO:2是从SEQ ID NO:1自动推导的 β -葡聚糖酶的氨基酸序列。

[0122] SEQ ID NO:3是从SEQ ID NO:1推导的 β -葡聚糖酶的氨基酸序列，考虑到了SEQ ID NO:2所示和SEQ ID NO:1中所示的多核苷酸编码的多肽中的第一个氨基酸(位置-28)应该是Met，而不是Val。当第一个密码子是gtg时，即使gtg正常编码V，也会插入Met。

[0123] SEQ ID NO:4是从秋叶氏芽孢杆菌的菌株分离的 β -葡聚糖酶的DNA序列。

[0124] SEQ ID NO:5是从SEQ ID NO:4推导的 β -葡聚糖酶的氨基酸序列。

[0125] SEQ ID NO:6是从粘琼脂芽孢杆菌(*Bacillus agaradhaerens*)的菌株分离的 β -葡聚糖酶的DNA序列。

- [0126] SEQ ID NO:7是从SEQ ID NO:6推导的 β -葡聚糖酶的氨基酸序列。
- [0127] SEQ ID NO:8是从莫哈韦芽孢杆菌 (*Bacillus mojavensis*) 的菌株分离的 β -葡聚糖酶的DNA序列。
- [0128] SEQ ID NO:9是从SEQ ID NO:8推导的 β -葡聚糖酶的氨基酸序列。
- [0129] SEQ ID NO:10是多肽分泌信号克劳氏芽孢杆菌。
- [0130] SEQ ID NO:11是人造N-末端聚组氨酸亲和纯化标签序列。
- [0131] SEQ ID NO:12是来自芽孢杆菌属物种 (*Stainzyme*) 的 α -淀粉酶蛋白序列。
- [0132] SEQ ID NO:13是与WO 95/10603的SEQ ID NO:2相对应的多肽。
- [0133] SEQ ID NO:14是与WO 02/010355的SEQ ID NO:6相对应的多肽。
- [0134] SEQ ID NO:15是与杂合多肽相对应的多肽,该杂合多肽包含WO 2006/066594的SEQ ID NO:6的残基1-33和WO 2006/066594的SEQ ID NO:4的残基36-483。
- [0135] SEQ ID NO:16是与WO 02/019467的SEQ ID NO:6相对应的多肽。
- [0136] SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19是分别与WO96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7相对应的多肽。
- [0137] SEQ ID NO:20是与WO 08/153815的SEQ ID NO:2相对应的多肽。
- [0138] SEQ ID NO:21是与WO 01/66712的SEQ ID NO:10相对应的多肽。
- [0139] SEQ ID NO:22是与WO 09/061380的SEQ ID NO:2相对应的多肽。
- [0140] SEQ ID NO:23是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0141] SEQ ID NO:24是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0142] SEQ ID NO:25是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0143] SEQ ID NO:26是来自噬细胞菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0144] SEQ ID NO:27是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0145] SEQ ID NO:28是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0146] SEQ ID NO:29是来自盐敏芽孢杆菌 (*Bacillus halmapalus*) 的淀粉酶蛋白序列。
- [0147] SEQ ID NO:30是人造淀粉酶蛋白序列。
- [0148] SEQ ID NO:31是来自芽孢杆菌属物种的淀粉酶蛋白序列。
- [0149] SEQ ID NO:32是来自解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶蛋白序列。
- [0150] SEQ ID NO:33是来自枯草芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶蛋白序列。
- [0151] SEQ ID NO:34是来自迟缓芽孢杆菌 (*Bacillus Lentus*) 的蛋白酶蛋白序列。
- [0152] SEQ ID NO:35是人造蛋白酶蛋白序列。
- [0153] SEQ ID NO:36是人造蛋白酶蛋白序列。
- [0154] SEQ ID NO:37是来自芽孢杆菌属物种-62449的His-标记的重组成熟 β -葡聚糖酶蛋白。
- [0155] SEQ ID NO:38是来自秋叶氏芽孢杆菌的His标记的重组成熟 β -葡聚糖酶蛋白。
- [0156] SEQ ID NO:39是来自粘琼脂芽孢杆菌 (*Bacillus agaradhaerens*) 的His-标记的重组成熟 β -葡聚糖酶蛋白。
- [0157] SEQ ID NO:40是来自莫哈韦芽孢杆菌的His-标记的重组成熟 β -葡聚糖酶蛋白。
- [0158] 定义
- [0159] 抗再沉积:术语“抗再沉积”或“抗再沉积效果”意指减少或防止污垢沉积回纺织

品、织物或硬表面上。可以使用如在此的实例中所描述的Mini-LOM或Mini-TOM洗涤测定确定抗再沉积效果(例如,如在实例14中)。

[0160] 协同效应:术语“协同效应”意指多肽的协作作用,使得所述多肽的总组合效果大于所述多肽的单独酶促作用的总和。协同效应的非限制性实例包括本发明的 β -葡聚糖酶多肽与一种或多种 α -淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的REM协同效应。

[0161] REM协同效应:本文使用的多肽的REM协同效应可以基于通过使用任何合适的洗涤性能方法(例如Wascator瓶洗涤方法)进行的去污分析来测量。确定REM协同效应的优选方法披露于本文披露的实施例中,例如实例7中。

[0162] β -葡聚糖酶:如本文所用的术语“ β -葡聚糖酶”是指催化在 β -葡聚糖中连接两个葡萄糖基残基的 β -1,4-键的水解的内切 β -1,4-葡聚糖酶活性(例如,内切-1,4- β -D-葡聚糖酶)。如本文所定义的 β -葡聚糖酶的非限制性实例包括例如在D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键上具有内切纤维素酶活性的纤维素酶(例如EC 3.2.1.4)和水解在含有(1,3)-和(1,4)-键的 β -D-葡聚糖中的(1,4)- β -D-糖苷键的地衣多糖酶(或地衣酶)(例如EC 3.2.1.73)。 β -葡聚糖酶(例如EC3.2.1.4)可以例如在纤维素、地衣淀粉和谷类 β -D-葡聚糖中进行(1,4)- β -D-糖苷键的内水解,并且还将水解在含有1,3-键的 β -D-葡聚糖中的1,4-键。出于本发明的目的,根据实例中所述的程序确定 β -葡聚糖酶活性。在本发明的一个方面,本发明的多肽具有至少20%,例如至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少100%的具有选自下组的序列的多肽的 β -葡聚糖酶活性,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9。 β -葡聚糖酶活性可以使用大麦 β -葡聚糖作为底物来适当地测量。用于确定 β -葡聚糖酶活性的优选测定披露于实例1(AZCL-大麦 β -葡聚糖测定)中。如本文所定义的 β -葡聚糖酶的进一步的亚组(也称为地衣多糖酶(或地衣酶)(例如,EC3.2.1.73)也可用于催化 β -1,4-糖苷键的水解以产生 β -葡聚糖。地衣多糖酶(或地衣酶)(例如EC 3.2.1.73)水解含有(1,3)-和(1,4)-键的 β -D-葡聚糖中的(1,4)- β -D-糖苷键并且可以作用于地衣淀粉和谷类 β -D-葡聚糖,但不作用于仅含有1,3-键或1,4-键的 β -D-葡聚糖。如本文所用,术语“ β -葡聚糖酶活性”包括地衣多糖酶(或地衣酶)(例如EC 3.2.1.73)活性。

[0163] β -葡聚糖:如本文所用的术语“ β -葡聚糖”是指仅含有葡萄糖作为结构成分并且其中葡萄糖单元通过 β -糖苷键连接的多糖。 β -葡聚糖的非限制性实例包括 β -D-葡聚糖、 β -1,3-1,4葡聚糖、混合键 β -葡聚糖、大麦 β -葡聚糖、燕麦粥 β -葡聚糖。

[0164] 等位基因变体:术语“等位基因变体”意指占用同一染色体基因座的基因的两个或更多个替代形式中的任一者。等位基因变异通过突变天然产生,并且可能导致群体内的多态性。基因突变可以是沉默的(在所编码的多肽中没有改变)或可编码具有改变的氨基酸序列的多肽。多肽的等位基因变体是由基因的等位基因变体编码的多肽。

[0165] 生物膜:术语“生物膜”意指在表面上,例如纺织品、餐具或硬表面上,细胞彼此粘附在一起的任何群组的微生物。这些粘附细胞经常包埋在胞外高聚物(EPS)的自身产生的基质内。生物膜EPS是一般由细胞外的DNA、蛋白质、和多糖组成的聚合物团块。生物膜可以形成在活的或非活的表面上。在生物膜中生长的微生物细胞与同一有机体的浮游细胞(相比之下,浮游细胞是可以在液体培养基中漂浮或浮游的单个细胞)在生理上是不同的。

[0166] 生活在生物膜中的细菌通常具有与同一物种的自由漂浮细菌显著不同的特性,因

为膜的密集并且受保护的环境允许它们以不同方式协作和相互作用。这一环境的一个作用是增加对洗涤剂和抗生素的抗性,因为,密集的细胞外基质和细胞的外层保护群落的内部。

[0167] 在衣物上,会发现产生生物膜的细菌是在以下物种中:不动杆菌属物种、气微菌属物种、短波单胞菌属物种、微杆菌属物种、膝黄微球菌、假单胞菌属物种、表皮葡萄球菌、和寡养单胞菌属物种。

[0168] 碳水化合物结合模块:术语“碳水化合物结合模块”意指提供碳水化合物结合活性的碳水化合物活性酶内的区域(布拉斯顿(Boraston)等人,2004,生物化学杂志(Biochem.J.) 383:769-781)。大多数已知的碳水化合物结合模块(CBM)是具有离散折叠的连续氨基酸序列。碳水化合物结合模块(CBM)典型地发现于酶的N-末端处或C-末端的端点处。已知一些CBM具有针对纤维素的特异性。

[0169] 催化结构域:术语“催化结构域”意指酶的包含该酶的催化机器的区域。

[0170] cDNA:术语“cDNA”意指可以通过从获得自真核或原核细胞的成熟的剪接的mRNA分子进行反转录而制备的DNA分子。cDNA缺乏可存在于对应基因组DNA中的内含子序列。最初的初级RNA转录物是mRNA的前体,其在呈现为成熟的剪接的mRNA之前要通过一系列的步骤(包括剪接)进行加工。

[0171] 纤维素分解酶或纤维素酶:术语“纤维素分解酶”或“纤维素酶”是指一种或多种(例如若干种)水解纤维素材料的酶。此类酶包括一种或多种内切葡聚糖酶(例如,EC 3.2.1.4)、一种或多种纤维二糖水解酶、一种或多种 β -葡萄糖苷酶、或其组合。用于测量纤维素分解酶活性的两种基本方法包括:(1)测定总纤维素分解酶活性,并且(2)测定单独的纤维素分解酶活性(内切葡聚糖酶、纤维二糖水解酶和 β -葡萄糖苷酶),如在Zhang等人,2006, *Biotechnology Advances* [生物技术进展] 24:452-481中所述的。可使用不溶性底物,包括沃特曼(Whatman) No.1滤纸、微晶纤维素、细菌纤维素、藻类纤维素、棉花、预处理的木质纤维素等,测量总纤维素分解酶活性。最常见的总纤维素分解活性测定是将沃特曼No.1滤纸用作底物的滤纸测定。该测定是由国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)建立的(Ghose,1987, *Pure Appl. Chem.* [纯粹与应用化学] 59:257-68)。

[0172] 可以通过测量在以下条件下与未添加纤维素分解酶蛋白的对照水解相比,在一种或多种纤维素分解酶对纤维素材料的水解过程中产生/释放的糖的增加来测定纤维素分解酶活性:1mg至50mg的纤维素分解酶蛋白/g于预处理的玉米秸秆(PCS)中的纤维素(或其他预处理的纤维素材料),在适合的温度(如40℃-80℃,例如50℃、55℃、60℃、65℃或70℃)和适合的pH(如4至9,例如,5.0、5.5、6.0、6.5或7.0)持续3天至7天。典型条件为:1ml反应,洗涤或未洗涤的PCS,5%不溶性固形物(干重),50mM乙酸钠(pH 5),1mM $MnSO_4$,50℃、55℃、或60℃,72小时,通过 AMINEX® HPX-87H柱(伯乐实验室有限公司,美国加州赫拉克勒斯)进行的糖分析。

[0173] 纤维素材料:术语“纤维素材料”意指含有纤维素的任何材料。生物质的初生细胞壁中的主要多糖是纤维素,第二丰富的是半纤维素,而第三丰富的是果胶。细胞停止生长后产生的次生细胞壁也含有多糖,并且它通过与半纤维素共价交联的聚合木质素得到强化。纤维素是脱水纤维二糖的均聚物,因此是线性 β -(1-4)-D-葡聚糖,而半纤维素包括多种化合物,如具有一系列取代基以复杂支链结构存在的木聚糖、木葡聚糖、阿拉伯糖基木聚糖、以及甘露聚糖。尽管纤维素一般为多形态的,但发现其在植物组织中主要作为平行葡聚糖

链的不溶性晶体基质存在。半纤维素通常氢键结合至纤维素以及其他半纤维素,这有助于稳定细胞壁基质。

[0174] 纤维素通常见于例如植物的茎、叶、壳、皮和穗轴或树的叶、枝和木材(wood)中。纤维素材料可为,但不限于:农业残余物、草本材料(包括能量作物)、城市固体废物、纸浆与造纸厂残余物、废纸和木材(包括林业残余物)(参见,例如,Wiselogel等人,1995,于Handbook on Bioethanol[生物乙醇手册](Charles E.Wyman编辑),第105-118页,Taylor和Francis,华盛顿;Wyman,1994,Bioresource Technology[生物资源技术]50:3-16;Lynd,1990,Applied Biochemistry and Biotechnology[应用生物化学与生物技术]24/25:695-719;Mosier等人,1999,Recent Progress in Bioconversion of Lignocellulosics[木质纤维素的生物转化的最近进展],Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology[生物化学工程/生物技术的进展],T.Scheper主编,第65卷,第23-40页,纽约斯普林格出版社(Springer-Verlag),纽约。在本申请中应理解的是,纤维素可为任何形式的木质纤维素,在混合基质中含有木质素、纤维素和半纤维素的植物细胞壁材料。在一方面,该纤维素材料是任何生物质材料。在另一方面,该纤维素材料是木质纤维素,该木质纤维素包含纤维素、半纤维素、以及木质素。

[0175] 在一个实施例中,该纤维素材料是农业废弃物、草本材料(包括能源作物)、城市固体废物、纸浆和造纸厂废弃物、废纸、或木材(包括林业废弃物)。

[0176] 在另一实施例中,该纤维素材料是芦竹、甘蔗渣、竹子、玉米芯、玉米纤维、玉米秸秆、芒属、稻秸、柳枝稷或麦秸。

[0177] 在另一实施例中,该纤维素材料是山杨、桉树、冷杉、松树、白杨、云杉或柳树。

[0178] 在另一实施例中,该纤维素材料是海藻纤维素、细菌纤维素、棉短绒、滤纸、微晶纤维素(例如,AVICEL®)、或经磷酸处理的纤维素。

[0179] 在另一个实施例中,该纤维素材料是水生生物质。如在此使用的,“水生生物质”意指在水生环境中由光合作用过程产生的生物质。水生生物质可为藻类、挺水植物(emergent plant)、浮叶植物(floating-leaf plant)或沉水植物(submerged plant)。

[0180] 纤维素材料可以按原样使用或可以使用本领域已知的常规方法进行预处理,如在此所描述。在一个优选方面,对该纤维素材料进行预处理。

[0181] 编码序列:术语“编码序列”意指直接指定多肽的氨基酸序列的多核苷酸。编码序列的边界一般由开放阅读框决定,该开放阅读框架从起始密码子(如ATG、GTG或TTG)开始并且以终止密码子(如TAA、TAG或TGA)结束。编码序列可为基因组DNA、cDNA、合成DNA或其组合。

[0182] 控制序列:术语“控制序列”意指对于表达编码本发明的成熟多肽的多核苷酸所必需的核酸序列。每个控制序列对于编码该多肽的多核苷酸来说可以是天然的(即来自相同基因)或外源的(即来自不同基因),或相对于彼此是天然的或外源的。此类控制序列包括但不限于前导序列、聚腺苷酸化序列、前肽序列、启动子、信号肽序列和转录终止子。最少,控制序列包括启动子、以及转录和翻译终止信号。出于引入有利于将这些控制序列与编码多肽的多核苷酸的编码区连接的特异性限制性酶切位点的目的,这些控制序列可以提供有多个接头。

[0183] 洗涤剂组分:在此将术语“洗涤剂组分”定义为意指可以用于洗涤剂组合物中的化

学品的类型。洗涤剂组分的实例是表面活性剂、助水溶剂、助洗剂、共助洗剂、螯合剂(chelator)或螯合试剂(chelating agent)、漂白系统或漂白组分、聚合物、织物调色剂、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂、香料、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、污垢释放聚合物、抗再沉积剂、酶抑制剂或稳定剂、酶激活剂、抗氧化剂以及增溶剂。该洗涤剂组合物可以包括一种或多种任何类型的洗涤剂组分。

[0184] 洗涤剂组合物:术语“洗涤剂组合物”是指用于从有待清洁的物品(例如纺织品、餐具和硬表面)去除不希望的化合物的组合物。该洗涤剂组合物可以用于例如清洁纺织品、餐具以及硬表面,用于家用清洁剂和工业清洁二者。这些术语涵盖选择用于希望的具体类型的清洁组合物和产品的形式(例如、液体、凝胶、粉末、颗粒、糊状、或喷雾组合物)的任何材料/化合物,并且包括但不限于洗涤剂组合物(例如,液体和/或固体衣物洗涤剂和精细织物洗涤剂;硬表面清洁配制品,例如用于玻璃、木材、塑料、陶瓷以及金属台面和窗户;地毯清洁剂;炉灶清洁剂;织物清新剂;织物柔软剂;和纺织品和衣物预洗涤剂,连同餐具洗涤剂)。除了包含本发明的GH16 β -葡聚糖酶,该洗涤剂配制品还含有一种或多种另外的酶(例如淀粉酶、蛋白酶、过氧化物酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶、木葡聚糖酶、半纤维素酶、黄原胶酶、黄原胶裂解酶、脂肪酶、酰基转移酶、磷脂酶、酯酶、漆酶、过氧化氢酶、芳基酯酶、淀粉酶、 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木质酶、角叉菜胶酶、普鲁兰酶、鞣酸酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、木葡聚糖酶、木聚糖酶、果胶乙酰酯酶、多半乳糖醛酸酶、鼠李半乳糖醛酸酶、其他的内切- β -甘露聚糖酶、外切- β -甘露聚糖酶、果胶甲基酯酶、纤维二糖水解酶、转谷氨酰胺酶及其组合物,或其任何混合物)、和/或组分例如,表面活性剂、助洗剂、螯合剂(chelator)或螯合试剂(chelating agent)、漂白系统或漂白组分、聚合物、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、染料、香料、酶抑制剂、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、防蚀剂、酶抑制剂或稳定剂、酶激活剂、一种或多种转移酶、水解酶、氧化还原酶、上蓝剂和荧光染料、抗氧化剂以及增溶剂。

[0185] 餐具洗涤:术语“餐具洗涤”是指所有形式的洗涤餐具,例如手动餐具洗涤(HDW)或自动餐具洗涤(ADW)。洗涤餐具包括但不限于,清洁所有形式的餐用器皿,例如盘子、杯子、玻璃杯、碗、所有形式的刀具(例如匙、刀、叉)、以及服务用具连同陶瓷、塑料、金属、瓷器、玻璃及丙烯酸酯。

[0186] 餐具洗涤组合物:术语“餐具洗涤组合物”是指用于清洁硬表面的所有形式的组合物。本发明不局限于任何具体类型的餐具洗涤组合物或任何具体洗涤剂。

[0187] 表达:术语“表达”包括涉及多肽产生的任何步骤,包括但不限于:转录、转录后修饰、翻译、翻译后修饰、和分泌。

[0188] 表达载体:术语“表达载体”意指线状或环状DNA分子,该分子包含编码多肽的多核苷酸并且该多核苷酸可操作地连接至供用于其表达的控制序列。

[0189] 片段:术语“片段”意指从成熟多肽或结构域的氨基和/或羧基末端缺失一个或多个(例如,若干个)氨基酸的一种多肽或一个催化或碳水化合物结合模块;其中所述片段具有 β -葡聚糖酶或碳水化合物结合活性。在一个方面,一个片段包含至少340个氨基酸残基,或至少230个氨基酸残基、或至少210个氨基酸残基或至少200个氨基酸残基或至少180个氨基酸残基,其中该片段具有 β -葡聚糖酶活性。

[0190] 硬表面清洁：在此将术语“硬表面清洁”定义为清洁硬表面，其中硬表面可以包括地板、桌子、墙壁、屋顶等，连同硬物体的表面，例如汽车（汽车洗涤）和餐具（餐具洗涤）。餐具洗涤包括但不限于，清洁盘子、杯子、玻璃杯、碗、及刀具（例如匙、刀、叉）、上菜用具、陶瓷、塑料、金属、瓷器、玻璃及丙烯酸酯。

[0191] 半纤维素分解酶或半纤维素酶：术语“半纤维素分解酶”或“半纤维素酶”意指一种或多种（例如，若干种）水解半纤维素材料的酶。参见例如，Shallom和Shoham, *Current Opinion In Microbiology* [微生物学当前观点], 2003, 6 (3) : 219-228)。半纤维素酶是在植物生物物质的降解中的关键组分。半纤维素酶的实例包括但不限于，乙酰甘露聚糖酯酶、乙酰木聚糖酯酶、阿拉伯聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、香豆酸酯酶、阿魏酸酯酶、半乳糖苷酶、葡糖醛酸糖苷酶、葡糖醛酸酯酶、甘露聚糖酶、甘露糖苷酶、木聚糖酶、以及木糖苷酶。这些酶的底物半纤维素是支链和直链多糖的异质性组，其可通过氢键与植物细胞壁中的纤维素微纤维相结合，交联成坚固的网络。半纤维素还共价附接至木质素，从而与纤维素一起形成高度复杂的结构。半纤维素的可变结构和组织要求许多酶的协同作用以使其完全降解。半纤维素酶的催化模块是水解糖苷键的糖苷水解酶 (GH)，或是水解乙酸或阿魏酸侧基团的酯键的碳水化合物酯酶 (CE)。这些催化模块，基于其一级序列的同源性，可分配到GH和CE家族。一些家族，具有总体上类似的折叠，可进一步归类为宗族 (clan)，以字母标记（例如，GH-A）。在碳水化合物活性酶 (CAZy) 数据库中可得到这些以及其他碳水化合物活性酶的最翔实和更新的分类。可以根据Ghose和Bisaria, 1987, *Pure&AppI. Chem.* [纯粹与应用化学] 59: 1739-1752, 在适合的温度（如40℃至80℃，例如50℃、55℃、60℃、65℃或70℃）以及适合的pH（如4至9，例如5.0、5.5、6.0、6.5、或7.0）测量半纤维素分解酶活性。

[0192] 宿主细胞：术语“宿主细胞”意指易于用包含本发明的多核苷酸的核酸构建体或表达载体转化、转染、转导等的任何细胞类型。术语“宿主细胞”包括由于复制过程中发生的突变而与亲本细胞不同的亲本细胞的任何后代、以及重组宿主细胞、分离的宿主细胞（例如分离的重组宿主细胞）、一种不是人类胚胎干细胞的分离宿主细胞。在本发明优选的实施例中，重组宿主细胞是异源重组宿主细胞（例如，不是粘琼脂芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞，或不是芽孢杆菌属物种-62449宿主细胞的宿主细胞，或不是秋叶氏芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞，或不是莫哈韦芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞）。

[0193] 分离的：术语“分离的”意指处于自然界中不存在的形式或环境中的物质。分离的物质的非限制性实例包括 (1) 任何非天然存在的物质；(2) 包括但不限于任何酶、变体、核酸、蛋白质、肽或辅因子的任何物质，该物质至少部分地从与其本质相关的一个或多个或所有天然存在的成分中去除；(3) 相对于在自然界中发现的物质通过人工修饰的任何物质；或 (4) 通过相对于与其天然相关的其他组分增加物质的量而修饰的任何物质（例如，宿主细胞中的重组产生；编码该物质的基因的多个拷贝；以及使用比与编码该物质的基因天然相关的启动子更强的启动子）。通过培养表达本发明的多核苷酸的重组宿主细胞产生的发酵液将包含处于分离形式的本发明的多肽。

[0194] 洗衣：术语“洗衣”涉及家用洗衣和工业洗衣两者并且意指用包含本发明的清洁或洗涤剂组合物的溶液处理纺织品的过程。洗衣过程可以例如使用例如家用或工业洗涤机进行或可以手动进行。

[0195] 地衣多糖酶活性：术语“地衣多糖酶活性”是指水解 β -1,3- β -1,4-葡聚糖（例如EC

3.2.1.73)的酶。

[0196] 成熟多肽:术语“成熟多肽”意指在翻译和任何翻译后修饰如N-末端加工、C-末端截短、糖基化作用、磷酸化作用等之后处于其最终形式的多肽。在一个方面,所述成熟多肽选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的氨基酸1至222、SEQ ID NO:2的氨基酸1至351、SEQ ID NO:3的氨基酸1至351、SEQ ID NO:5的氨基酸1至245、SEQ ID NO:9的氨基酸1至214。SEQ ID NO:2的氨基酸-28至-1是信号肽。SEQ ID NO:3的氨基酸-28至-1是信号肽。SEQ ID NO:5的氨基酸-31至-1是信号肽。SEQ ID NO:7的氨基酸-15至-1是信号肽。SEQ ID NO:9的氨基酸-29至-1是信号肽。

[0197] 本领域已知,宿主细胞可产生由相同多核苷酸表达的两种或更多种不同成熟多肽(即,具有不同C-末端和/或N-末端氨基酸)的混合物。本领域还已知,不同的宿主细胞不同地加工多肽,且因此一个表达多核苷酸的宿主细胞当与另一个表达相同多核苷酸的宿主细胞相比时可产生不同的成熟多肽(例如,具有不同的C-末端和/或N-末端氨基酸)。

[0198] 成熟多肽编码序列:术语“成熟多肽编码序列”是指编码具有 β -葡聚糖酶活性的成熟多肽的多核苷酸。在一个方面,所述成熟多肽编码序列选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO:1的核苷酸85至1137、SEQ ID NO:4的核苷酸94至828、SEQ ID NO:6的核苷酸46至711、SEQ ID NO:8的核苷酸88至729。SEQ ID NO:1的核苷酸1至84编码信号肽。SEQ ID NO:4的核苷酸1至93编码信号肽。SEQ ID NO:6的核苷酸1至45编码信号肽。SEQ ID NO:8的核苷酸1至87编码信号肽。

[0199] 恶臭:术语“恶臭”意指在清洁物品上不希望的气味。清洁的物品应气味清新并且干净,而没有附着在该物品上的恶臭。恶臭的一个实例是具有使人不愉快的气味的化合物,这些化合物可以是微生物产生的。另一实例是附着至已经与人类或动物接触的物品的汗水或体味。恶臭的另一实例可以是来自多种香料的气味,例如附着至物品(例如一件纺织品)的咖喱或其他外来香料。测量物品附着恶臭的能力的一个方式是通过使用恶臭测定。

[0200] 核酸构建体:术语“核酸构建体”意指单链-或双链的核酸分子,该核酸分子是从天然存在的基因中分离的,或以本来不存在于自然界中的方式被修饰成包含核酸的区段,或是合成的,该核酸分子包含一个或多个控制序列。

[0201] 可操作地连接:术语“可操作地连接”意指将控制序列相对于多核苷酸的编码序列安置在适当位置这样使得该控制序列指导该编码序列的表达的构型。

[0202] 预处理的玉米秸秆:术语“预处理的玉米秸秆”或“PCS”意指通过热和稀硫酸处理、碱预处理、中性预处理、或本领域已知的任何预处理从玉米秸秆得到的纤维素材料。

[0203] 序列一致性:用参数“序列一致性”来描述两个氨基酸序列之间或两个核苷酸序列之间的相关性。出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(EMBOSS:The European Molecular Biology Open Software Suite[欧洲分子生物学开放软件套件]),Rice等人,2000,Trends Genet.[遗传学趋势]16:276-277)(优选5.0.0版本或更新版本)的Needle程序中所实施的Needleman-Wunsch算法(Needleman和Wunsch,1970,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:443-453)来确定两个氨基酸序列之间的序列一致性。使用的参数是缺口开放罚分10、缺口扩展罚分0.5以及EBL0SUM62(BL0SUM62的EMBOSS版本)取代矩阵。将标记为“最长一致性”的Needle输出(使用-非简化(-nobrief)选项获得)用作百分比一致性并且计算如下:

[0204] (一致的残基X 100)/(比对长度-比对中的空位总数)

[0205] 出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件,Rice等人,2000,同上)(优选5.0.0版或更新版本)的Needle程序中所实施的Needleman-Wunsch算法(Needleman和Wunsch,1970,同上)来确定两个脱氧核糖核苷酸序列之间的序列一致性。所使用的参数是空位开放罚分10,空位延伸罚分0.5和EDNAFULL(NCBI NUC4.4的EMBOSS版本)取代矩阵。将标记为“最长一致性”的Needle输出(使用-非简化(-nobrief)选项获得)用作百分比一致性并且计算如下:

[0206] $(\text{一致的脱氧核糖核苷酸X } 100) / (\text{比对长度}-\text{比对中的空位总数})$

[0207] 严格条件:不同的严格条件定义如下。

[0208] 术语“非常低严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃、在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和25%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用1.6X SSC、0.2%SDS,在60℃洗涤三次,每次15分钟。

[0209] 术语“低严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃、在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和25%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用0.8X SSC、0.2%SDS,在60℃洗涤三次,每次15分钟。

[0210] 术语“中严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃、在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和35%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用0.8X SSC、0.2%SDS,在65℃洗涤三次,每次15分钟。

[0211] 术语“中-高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃、在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和35%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用0.4X SSC、0.2%SDS,在65℃洗涤三次,每次15分钟。

[0212] 术语“高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃处在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和50%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用0.2X SSC、0.2%SDS,在65℃洗涤三次,每次15分钟。

[0213] 术语“非常高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃、在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑鱼精子DNA和50%甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。载体材料最终使用0.2X SSC、0.2%SDS,在70℃洗涤三次,每次15分钟。

[0214] 子序列:术语“子序列”意指从成熟多肽编码序列的5'端和/或3'端缺失一个或多个(例如,若干个)核苷酸的多核苷酸;其中该子序列编码具有 β -葡聚糖酶活性的片段。在一个方面,亚序列含有SEQ ID NO:1的至少1052个核苷酸或其cDNA序列,SEQ ID NO:1的至少1037个核苷酸或其cDNA序列,或SEQ ID NO:1的1022个核苷酸或其cDNA序列。

[0215] 纺织品:术语“纺织品”意指包括纱线、纱线中间体、纤维、非机织物材料、天然材料、合成材料、以及任何其他纺织品材料的任何纺织品材料,这些材料制造的织物和由这些织物制成的产品(例如服装和其他物品)。该纺织品或织物可以处于针织品、机织物、牛仔

布、非机织物、毡、纱线、以及毛巾布的形式。这些纺织品可以是纤维素基的,如天然纤维素,包括棉布、亚麻/亚麻布、黄麻、苧麻、剑麻或椰壳纤维或者人造纤维素(例如,来源于木浆),包括纤维胶/人造丝、苧麻、醋酸纤维素纤维(三胞)、莱赛尔纤维(lyocell)或其共混物。纺织品或织物也可以不基于纤维素,如天然聚酰胺,包括羊毛、驼毛、羊绒、马海毛、兔毛和蚕丝或合成聚合物如尼龙、芳族聚酰胺、聚酯、丙烯酸、聚丙烯和氨纶/弹性纤维(spandex/elastane)、或其共混物其以及基于纤维素和不基于纤维素的纤维的共混物。共混物的例子是棉和/或人造丝/纤维胶与一种或多种伴随材料的共混物,该伴随材料例如是羊毛、合成纤维(例如聚酰胺纤维、丙烯酸纤维、聚酯纤维、聚乙烯醇纤维、聚氯乙烯纤维、聚亚胺酯纤维、聚脲纤维、芳族聚酰胺纤维)以及含纤维素的纤维(例如人造丝/纤维胶、苧麻、亚麻/亚麻布、黄麻、醋酸纤维素纤维、莱赛尔纤维)。织物可以是常规的可洗涤衣物,例如染污的家居衣物。当使用术语织物或衣服时,旨在还包括广义术语纺织品。

[0216] 变体:术语“变体”意指在一个或多个(若干个)位置包含改变(即,一个或多个(若干个)氨基酸残基的取代、插入和/或缺失)的具有 β -葡聚糖酶活性的多肽。取代意指将占据一个位置的氨基酸用不同的氨基酸置换;缺失意指去除占据一个位置的氨基酸;并且插入意指邻近占据一个位置的氨基酸添加1-3个氨基酸。本发明的变体具有至少20%,例如至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、或至少100%的选自下组的序列的多肽的 β -葡聚糖酶活性,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9或选自下组的序列的成熟多肽的 β -葡聚糖酶活性,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9。

[0217] 野生型 β -葡聚糖酶:术语“野生型” β -葡聚糖酶意指由天然存在的微生物(如在自然界中发现的细菌、酵母或丝状真菌)表达的 β -葡聚糖酶。

[0218] 洗涤性能:在此将术语“洗涤性能”定义为相对于不存在一种或多种酶的情况下的洗涤性能,酶或酶的共混物在例如洗涤或硬表面清洁过程中去除存在于有待清洁的物体上的污渍的能力。

[0219] 发明详细说明

[0220] 具有 β -葡聚糖酶活性的多肽

[0221] 本发明提供了新颖的 β -葡聚糖酶以及一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)用于清洁或洗涤剂组合物的用途,这些清洁或洗涤剂组合物在去除污渍中具有益处并且可以用于清洁或洗涤剂应用中或用于例如清洁硬表面、餐具洗涤和洗衣的过程。本发明还提供了洗涤稳定的 β -葡聚糖酶在淀粉酶的存在下在洗涤剂配制品中的用途。本发明的 β -葡聚糖酶可以与一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)(例如,其中确定REM协同效应的优选方法披露于本文披露的实施例中,例如实例7中)显示出协同效应。

[0222] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,其中所述多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其具有 β -葡聚糖酶活性,其还包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶),优选地所述多肽

具有 β -葡聚糖酶活性并且所述一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0223] 在一个实施例中,本发明涉及与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其具有 β -葡聚糖酶活性。本发明的一个实施例是包含所述一种或多种 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0224] 在一个方面,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有多达10个氨基酸,例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸的差异,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0225] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0226] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0227] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少82%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0228] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少82%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0229] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少83%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0230] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序

列的成熟多肽具有至少83%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0231] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少84%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0232] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少84%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0233] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少85%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0234] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少85%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0235] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少86%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0236] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少86%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0237] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少87%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0238] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少87%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0239] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少88%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0240] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少88%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0241] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0242] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0243] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少90%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0244] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少90%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0245] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少91%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0246] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少91%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0247] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少92%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0248] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少92%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0249] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少93%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0250] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少93%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0251] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少94%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0252] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少94%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0253] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少95%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0254] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少95%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0255] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少96%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0256] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少96%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0257] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少97%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0258] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少97%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0259] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少98%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:

9.本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0260] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少98%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0261] 在一个实施例中,这些多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少99%的一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0262] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有至少99%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0263] 在一个实施例中,所述多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有100%一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0264] 在一个实施例中,本发明涉及一种清洁或洗涤剂组合物,其包含与选自下组的序列的成熟多肽具有100%一致性的 β -葡聚糖酶,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,并包含一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)。

[0265] 在另一个实施例中,具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)具有协同效应,优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性。

[0266] 在另一个实施例中,REM协同效应在约40℃(或35℃、45℃、50℃、55℃、60℃)约30分钟(或15min、20min、25min、35min、40min)在pH为约7.0(或7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5)是大于1.4(例如1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9或9.0),例如在Wascator瓶洗涤在标准洗涤剂A1中,在40℃,30min(pH 7.7)或Wascator瓶洗涤在标准洗涤剂X1中在40℃,30min(pH 10.1)或Wascator瓶洗涤在ADW标准洗涤剂A1中在40℃,30min(pH 10.2)(例如,参见实例7)。

[0267] 在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH选自约6至约9的范围。在

另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH选自下组,该组由以下组成:6、6.5、7、7.5、8、8.5、9。在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH是至少6(或至少6.5、或至少7、或至少7.5、或至少8、或至少8.5、或至少9)。在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH是高于6(或高于6.5、或高于7、或高于7.5、或高于8、或高于8.5或高于9)。

[0268] 在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH选自约6至约9的范围,其中与来自枯草芽孢杆菌或解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶相比,所述多肽在pH 10具有显著更高的相对活性范围为23%至90%。在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH选自下组,该组由以下组成:6、6.5、7、7.5、8、8.5、9,其中与来自枯草芽孢杆菌或解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶相比,所述多肽在pH 10具有显著更高的相对活性范围为23%至90%。在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH是至少6(或至少6.5、或至少7、或至少7.5、或至少8、或至少8.5、或至少9),其中与来自枯草芽孢杆菌或解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶相比,所述多肽在pH 10具有显著更高的相对活性范围为23%至90%。在另一个实施例中,本发明的一种或多种多肽的最适pH是高于6(或高于6.5、或高于7、或高于7.5、或高于8、或高于8.5、或高于9),其中与来自枯草芽孢杆菌或解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶相比,所述多肽在pH 10具有显著更高的相对活性范围为23%至90%。

[0269] 在一个方面,所述多肽与选自下组的序列的多肽相差不多于三十个氨基酸,例如相差二十五个氨基酸、相差二十个氨基酸、相差十五个氨基酸、相差十二个氨基酸、相差十个氨基酸、相差九个氨基酸、相差八个氨基酸、相差七个氨基酸、相差六个氨基酸、相差五个氨基酸、相差四个氨基酸、相差三个氨基酸、相差两个氨基酸和相差一个氨基酸,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0270] 在一个实施例中,该多肽已经被分离。本发明的多肽优选地包含选自下组的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。在另一个方面,所述多肽包含选自下组的序列的成熟多肽或由其组成,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0271] 在另一个方面,所述多肽包含SEQ ID NO:2的氨基酸1至351、SEQ ID NO:3的氨基酸1至351、SEQ ID NO:5的氨基酸1至245、SEQ ID NO:7的氨基酸1至222、SEQ ID NO:9的氨基酸1至214或由其组成。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0272] 在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶不是在纤维素的D-葡聚糖单元之间的 β -1,4键上具有活性的内切纤维素酶。在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶具有对 β -1,3- β -1,4葡聚糖具有活性的地衣多糖酶(EC 3.2.1.73)的酶活性。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0273] 在另一个实施例,本发明的 β -葡聚糖酶包含碱性 β -葡聚糖酶活性(例如,在pH 7.5

或更高,在水溶液中的 β -葡聚糖酶活性,例如在选自下组的pH的 β -葡聚糖酶活性,该组由以下组成:7.5、8、9、10、11、12、13、13.5,例如在pH为约7.5至约13.5的范围的 β -葡聚糖酶活性,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述pH选自约7.5至约12.5的范围,进一步优选地,所述pH选自约8.5至约11.5的范围,最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围)。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0274] 在另一个实施例,本发明的 β -葡聚糖酶能够:

[0275] i) 在具有选自约7.5至约13.5的范围的pH的水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性持续至少15分钟,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述pH选自约7.5至约12.5的范围,进一步优选地所述pH选自约8.5至约11.5的范围,最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围;和/或

[0276] ii) 在选自范围为约20℃至约75℃的温度在水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性持续15分钟,其中所述水溶液任选地包含漂白剂。

[0277] 本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0278] 在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶能够在选自约20℃至约75℃的范围的温度在水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述温度选自约40℃至约60℃的范围。在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶能够在选自下组的温度在水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性,该组由以下组成:20℃、21℃、22℃、23℃、24℃、25℃、26℃、27℃、28℃、29℃、30℃、31℃、32℃、33℃、34℃、35℃、36℃、37℃、38℃、39℃、40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、90℃。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0279] 在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶能够具有 β -葡聚糖酶活性持续至少15分钟,优选地至少30分钟。在另一个实施例中,本发明的 β -葡聚糖酶能够具有 β -葡聚糖酶活性持续选自下组的时间段,该组由以下组成:至少1分钟、至少2分钟、至少3分钟、至少4分钟、至少5分钟、至少6分钟、至少7分钟、至少8分钟、至少9分钟、至少10分钟、至少11分钟、至少12分钟、至少13分钟、至少14分钟、至少15分钟、至少16分钟、至少17分钟、至少18分钟、至少19分钟、至少20分钟、至少21分钟、至少22分钟、至少23分钟、至少24分钟、至少25分钟、至少26分钟、至少27分钟、至少28分钟、至少29分钟、至少30分钟,例如与本文披露的任何单个或多个实施例组合。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0280] 在另一个实施例中,清洁或洗涤剂组合物包含 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶,其中所述淀粉酶是 α -淀粉酶。

[0281] 在另一个实施例中,本发明的一种清洁或洗涤剂组合物包含一种 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶,其中所述 α -淀粉酶选自下组,该组由以下组成:

[0282] (a) 与SEQ ID NO:13(对应于W0 95/10603的SEQ ID NO:2)具有至少90%序列一致

性的多肽；

[0283] (b) 与SEQ ID NO:13 (对应于WO 95/10603中的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408、和/或444;

[0284] (c) 与SEQ ID NO:14 (对应于WO 02/010355中的SEQ ID NO:6) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0285] (d) 与SEQ ID NO:15的杂合多肽 (包含WO 2006/066594的SEQ ID NO:6的残基1-33和的WO 2006/066594的SEQ ID NO:4的残基36-483) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0286] (e) 与SEQ ID NO:15的杂合多肽 (包含WO 2006/066594的SEQ ID NO:6的残基1-33和WO 2006/066594的SEQ ID NO:4的残基36-483) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述杂合多肽在以下一个或多个位置上包含取代、缺失或插入:48、49、107、156、181、190、197、201、209和/或264;

[0287] (f) 与SEQ ID NO:16 (对应于WO 02/019467的SEQ ID NO:6) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0288] (g) 与SEQ ID NO:16 (对应于WO 02/019467的SEQ ID NO:6) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:181、182、183、184、195、206、212、216和/或269;

[0289] (h) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19 (对应于WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0290] (i) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19 (对应于WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:140、183、184、195、206、243、260、304和/或476;

[0291] (j) 与SEQ ID NO:20 (对应于WO 08/153815的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0292] (k) 与SEQ ID NO:21 (对应于WO 01/66712的SEQ ID NO:10) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0293] (l) 与SEQ ID NO:21 (对应于WO 01/66712的SEQ ID NO:10) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:176、177、178、179、190、201、207、211和/或264;

[0294] (m) 与SEQ ID NO:22 (对应于WO 09/061380的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽;

[0295] (n) 与SEQ ID NO:22 (对应于WO 09/061380的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:87、98、125、128、131、165、178、180、181、182、183、201、202、225、243、272、282、305、309、319、320、359、444和/或475;

[0296] (o) 与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:28、118、174;181、182、183、184、186、189、195、202、

298、299、302、303、306、310、314；320、324、345、396、400、439、444、445、446、449、458、471和/或484；

[0297] (p) 与SEQ ID NO:12具有至少90%序列一致性的多肽；

[0298] (q) 与SEQ ID NO:23的、具有改变G182*+D183*的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0299] (r) 与SEQ ID NO:24的、具有改变H183*+G184*+I405L+A421H+A422P+A428T的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0300] (s) 与SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0301] (t) 与SEQ ID NO:24的、具有改变R178*+G179*+E187P+I203Y+R458N+T459S+D460T+G476K的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0302] (u) 与SEQ ID NO:27的、具有改变M202L的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0303] (v) 与SEQ ID NO:28的、具有改变R180*+S181*+S243Q+G475K的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0304] (w) 与SEQ ID NO:29的、具有改变D183*+G184*+W140Y+N195F+I206Y+Y243F+E260G+G304R+G476K的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0305] (x) 与SEQ ID NO:30的、具有改变H1*+N54S+V56T+K72R+G109A+F113Q+R116Q+W167F+Q172G+A174S+G184T+N195F+V206L+K391A+P473R+G476K的变体具有至少90%的序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽；

[0306] (y) 与SEQ ID NO:31的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+T246V+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体具有至少90%序列一致性(例如,至少95%或100%序列一致性)的多肽。

[0307] 在另一个实施例中,本发明的一种清洁或洗涤剂组合物包含一种 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种蛋白酶,其中所述蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0308] a) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:34具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性)；

[0309] b) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:35具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性)；

[0310] c) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:36具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性)。

[0311] 在另一个实施例中,本发明涉及由以下多核苷酸编码的具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多核苷酸在非常低严格条件、低严格条件、中严格条件、中-高严格条件、高严格条件、或非常高严格条件下与以下杂交:(i)选自下组的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,(ii)其cDNA序列,或(iii)(i)或(ii)的全长互补体(Sambrook等人,1989,Molecular Cloning,A Laboratory Manual[分子克隆实验指南],第二版,冷泉港(Cold Spring Harbor),纽约)。在一个实施例中,该多肽已经被分离。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0312] 可以使用选自下组的序列的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8或其子序列,以及选自下组的序列的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9或其片段来设计核酸探针以便根据本领域熟知的方法鉴定和克隆编码来自不同属或物种的菌株的具有 β -葡聚糖酶活性的多肽的DNA。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。具体地,可以遵循标准DNA印迹程序,使用此类探针来与感兴趣的细胞的基因组DNA或cDNA杂交,以便鉴定和分离其中的对应基因。此类探针可以明显短于完整序列,但是长度应为至少15,例如至少25、至少35、或至少70个核苷酸。优选地,该核酸探针的长度为至少100个核苷酸,例如长度为至少200个核苷酸、至少300个核苷酸、至少400个核苷酸、至少500个核苷酸、至少600个核苷酸、至少700个核苷酸、至少800个核苷酸、或至少900个核苷酸。可以使用DNA和RNA探针两者。典型地将探针进行标记(例如,用 ^{32}P 、 ^3H 、 ^{35}S 、生物素、或抗生物素蛋白),以检测相应的基因。本发明涵盖此类探针。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0313] 可以针对与以上描述的探针杂交并且编码具有 β -葡聚糖酶活性的多肽的DNA,对从这类其他菌株制备的基因组DNA或cDNA库进行筛选。来自此类其他菌株的基因组DNA或其他DNA可通过琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他分离技术来分离。可将来自文库的DNA或分离的DNA转移到并固定在硝化纤维素或其他适合的载体材料上。为了鉴定与选自下组的序列(该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8或其子序列)杂交的克隆或DNA,将载体材料用于DNA印迹中。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0314] 出于本发明的目的,杂交指示该多核苷酸在非常低到非常高严格条件下与对应于以下的经过标记的核酸探针杂交:(i)选自下组的序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;(ii)选自下组的成熟多肽编码序列,该组由以下组

成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8; (iii) 其cDNA序列, (iv) 其全长互补体;或(v) 其子序列。杂交是在非常低的至非常高的严格条件下进行。可以使用例如X-射线胶片或本领域已知的任何其他检测手段来检测在这些条件下核酸探针杂交的分子。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0315] 在一个方面中,该核酸探针是SEQ ID NO:1的核苷酸85至1137或核苷酸1至1137。在一个方面中,该核酸探针是SEQ ID NO:4的核苷酸1至828或核苷酸94至828。在一个方面中,该核酸探针是SEQ ID NO:6的核苷酸1至711或核苷酸46至711。在一个方面中,该核酸探针是SEQ ID NO:8的核苷酸1至729或核苷酸88至729。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0316] 在另一个方面,该核酸探针是编码选自下组的序列的多肽的多核苷酸,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;其成熟多肽;或其片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0317] 在另一个方面,该核酸探针是选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0318] 在另一个实施例中,本发明涉及多核苷酸编码的具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,该多核苷酸与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一个另外的实施例中,该多肽已经被分离。

[0319] 在另一个实施例中,本发明涉及选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其在一个或多个(例如若干个)位置处包含取代、缺失和/或插入。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一个实施例中,引入选自下组的序列的成熟多肽的氨基酸取代、缺失和/或插入的数量是高达10,例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。这些氨基酸改变可以具有微小性质,即,不会显著地影响蛋白的折叠和/或活性的保守氨基酸取代或插入;典型为1至30个氨基酸的小缺失;小的氨基-末端或羧基末端延伸,例如氨基末端的甲硫氨酸残基;多至20至25个残基的小接头肽;或小的延伸,其通过改变净电荷或另一功能(如聚组氨酸段、抗原表位或结合结构域)来促进纯化。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如

清洁或洗涤剂组合物)。

[0320] 保守取代的实例是在下组之内:碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸及组氨酸)、酸性氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸)、极性氨基酸(谷氨酰胺和天冬酰胺)、疏水性氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸)、芳香族氨基酸(苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸)及小氨基酸(甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸和甲硫氨酸)。一般不会改变比活性的氨基酸取代是本领域已知的并且例如由H.Neurath和R.L.Hill,1979,于The Proteins[蛋白质],Academic Press[学术出版社],New York[纽约]中描述。常见取代为Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Tyr/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu和Asp/Gly。

[0321] 可替代地,这些氨基酸变化具有这样的性质:改变多肽的物理化学特性。例如,氨基酸变化可改进多肽的热稳定性、改变底物特异性、改变最适pH等。

[0322] 可以根据本领域中已知的程序,如定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham和Wells,1989,Science[科学]244:1081-1085)来鉴定多肽中的必需氨基酸。在后一项技术中,在该分子中的每个残基处引入单个丙氨酸突变,并且对所得分子的 β -葡聚糖酶活性进行测试以鉴定对于该分子的活性至关重要的氨基酸残基。还参见,Hilton等人,1996,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]271:4699-4708。酶或其他生物学相互作用的活性位点还可以通过对结构的物理分析来确定,如通过这样的技术确定:如核磁共振、晶体学、电子衍射或光亲和标记,连同对推定的接触位点氨基酸进行突变。参见,例如de Vos等人,1992,Science[科学]255:306-312;Smith等人,1992,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]224:899-904;Wlodaver等人,1992,FEBS Lett.[欧洲生物化学学会联盟通讯]309:59-64。还可以从与相关多肽的比对来推断必需氨基酸的一致性。

[0323] 使用已知的诱变、重组和/或改组方法、随后进行一个相关的筛选程序可以做出单一或多种氨基酸取代、缺失和/或插入并对其进行测试,这些相关的筛选程序例如由Reidhaar-Olson和Sauer,1988,Science[科学]241:53-57;Bowie和Sauer,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]86:2152-2156;WO 95/17413;或WO 95/22625。其他可以使用的方法包括易错PCR、噬菌体展示(例如Lowman等人,1991,Biochemistry[生物化学]30:10832-10837;美国专利号5,223,409;WO 92/06204)以及区域定向诱变(Derbyshire等人,1986,Gene[基因]46:145;Ner等人,1988,DNA 7:127)。

[0324] 诱变/改组方法可以与高通量自动化筛选方法组合以检测由宿主细胞表达的克隆的诱变多肽的活性(Ness等人,1999,Nature Biotechnology[自然生物技术]17:893-896)。可从宿主细胞回收编码活性多肽的诱变的DNA分子,并使用本领域的标准方法快速测序。这些方法允许迅速确定多肽中个体氨基酸残基的重要性。

[0325] 该多肽可为杂合多肽,其中一个多肽的区域在另一个多肽的区域的N-末端或C-末端处融合。

[0326] 该多肽可为融合多肽或可切割的融合多肽,其中另一个多肽在本发明多肽的N-末端或C-末端处融合。通过将编码另一个多肽的多核苷酸与本发明多核苷酸融合而产生融合多肽。用于产生融合多肽的技术是本领域已知的,且包括连接编码多肽的编码序列使得它们符合读框,而且融合多肽的表达处于相同的启动子和终止子的控制之下。还可使用内含肽技术构建融合多肽,其中在翻译后产生融合多肽(Cooper等人,1993,EMBO J.[欧洲分子

生物学学会杂志]12:2575-2583;Dawson等人,1994,Science[科学]266:776-779)。

[0327] 融合多肽可进一步包含两个多肽之间的切割位点。在融合蛋白分泌之时,该位点被切割而释放所述两个多肽。切割位点的实例包括但不限于在以下文献中公开的位点:Martin等,2003,J.Ind.Microbiol.Biotechnol.[工业微生物与生物技术杂志]3:568-576;Svetina等人,2000,J.Biotechnol.[生物技术杂志]76:245-251;Rasmussen-Wilson等人,1997,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]63:3488-3493;Ward等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:498-503;以及Contreras等人,1991,Biotechnology[生物技术]9:378-381;Eaton等人,1986,Biochemistry[生物化学]25:505-512;Collins-Racie等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:982-987;Carter等人,1989,Proteins:Structure,Function,and Genetics[蛋白质:结构、功能与遗传学]6:240-248;以及Stevens,2003,Drug Discovery World[世界药物发现]4:35-48。

[0328] 具有 β -葡聚糖酶活性的多肽的来源

[0329] 本发明的具有 β -葡聚糖酶活性的多肽可以获得自任何属(例如芽孢杆菌属)的微生物。出于本发明的目的,如在此结合给定来源使用的术语“从……获得”应当意指由多核苷酸编码的多肽是由该来源或由已经插入了来自该来源的多核苷酸的一种菌株产生的。在一方面,从给定来源获得的多肽被分泌至细胞外。

[0330] 该多肽可以是细菌多肽。例如,该多肽可以是革兰氏阳性细菌多肽,如芽孢杆菌属(*Bacillus*)、梭菌属(*Clostridium*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、土芽孢杆菌属(*Geobacillus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、海洋芽孢杆菌属(*Oceanobacillus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、或具有 β -葡聚糖酶活性的链霉菌属(*Streptomyces*)多肽;或革兰氏阴性细菌多肽,如弯曲杆菌属(*Campylobacter*)、大肠杆菌(*E.coli*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)、螺杆菌属(*Helicobacter*)、泥杆菌属(*Ilyobacter*)、奈瑟氏菌属(*Neisseria*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、沙门菌属(*Salmonella*)、或脲原体属(*Ureaplasma*)多肽。

[0331] 在一个方面,该多肽是嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alkalophilus*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、短芽孢杆菌(*Bacillus brevis*)、环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)、克劳氏芽孢杆菌(*Bacillus clausii*)、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)、坚强芽孢杆菌(*Bacillus firmus*)、灿烂芽孢杆菌(*Bacillus lautus*)、迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、芽孢杆菌属的物种(*Bacillus spp.*)、秋叶氏芽孢杆菌(*Bacillus akibai*)、粘琼脂芽孢杆菌(*Bacillus agaradhaerens*)、莫哈韦芽孢杆菌(*Bacillus mojaviensis*)或苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)多肽。

[0332] 在另一个方面,所述多肽不是真菌多肽(例如,本发明的多肽不包括真菌多肽)。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0333] 应理解的是对于前述的种,本发明涵盖完全和不完全阶段(perfect and

imperfect states), 和其他分类学的等同物 (equivalent), 例如无性型 (anamorph), 而与它们已知的种名无关。本领域的技术人员将容易地识别适当等效物的身份。

[0334] 这些物种的菌株可容易地在许多培养物保藏中心为公众所获得, 如美国典型培养物保藏中心 (ATCC)、德国微生物和细胞培养物保藏中心 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, DSMZ)、荷兰菌种保藏中心 (Centraalbureau Voor Schimmelcultures, CBS) 以及美国农业研究服务专利培养物保藏中心北方地区研究中心 (Agricultural Research Service Patent Culture Collection, Northern Regional Research Center, NRRL)。

[0335] 可使用以上提到的探针从其他来源, 包括从自然界 (例如, 土壤、堆肥、水等) 分离的微生物或直接从天然材料 (例如, 土壤、堆肥、水等) 获得的DNA样品鉴定和获得该多肽。用于从天然生境中直接分离微生物和DNA的技术是本领域已知的。然后可通过类似地筛选另一微生物的基因组DNA或cDNA文库或混合的DNA样品来获得编码该多肽的多核苷酸。一旦已经用一种或多种探针检测到编码多肽的多核苷酸, 则可通过利用本领域普通技术人员所知的技术 (参见, 例如Sambrook等人, 1989, 见上文) 分离或克隆多核苷酸。

[0336] 在优选的实施例中, 本发明的多肽是细菌多肽 (优选地来自芽孢杆菌属的一种或多种细菌中分离)。在进一步优选的实施例中, 本发明的多肽属于糖苷水解酶家族16 (GH16) (例如具有糖苷水解酶 (EC 3.2.1.-) 活性)。例如, 所述多肽可以是具有来自芽孢杆菌属的 β -葡聚糖酶活性的多肽, 例如, 来自芽孢杆菌属物种-62449、秋叶氏芽孢杆菌、粘琼脂芽孢杆菌、莫哈韦芽孢杆菌。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶 (和/或一种或多种蛋白酶) 的组合物 (例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0337] 催化结构域

[0338] 在一个实施例中, 本发明还涉及与SEQ ID NO:2的氨基酸33至249具有至少60%, 例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面, 这些催化结构域氨基酸序列与SEQ ID NO:2的氨基酸33至249具有多达10个 (例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个) 氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:2的氨基酸33到249或其等位基因变体; 或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶 (和/或一种或多种蛋白酶) 的组合物 (例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0339] 在一个实施例中, 本发明还涉及与SEQ ID NO:2的氨基酸62至245具有至少60%, 例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面, 这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的氨基酸62至245具有多达10个 (例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个) 氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:2的氨基酸62到245或其等位基因变体; 或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶 (和/或一种或多种蛋白酶) 的组合物 (例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0340] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:3的氨基酸33至249具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的氨基酸33至249具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:3的氨基酸33到249或其等位基因变体;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0341] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:3的氨基酸62至245具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的氨基酸62至245具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:3的氨基酸62到245或其等位基因变体;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0342] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:5的氨基酸32至254具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的氨基酸32至254具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:5的氨基酸32到254或其等位基因变体;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0343] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:5的氨基酸60至249具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。在一方面,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的氨基酸60至249具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包括或其组成为SEQ ID NO:5的氨基酸60到249或其等位基因变体;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0344] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:7的氨基酸20至236具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少

93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一方面,这些催化结构域包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:7的氨基酸20至236相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。该催化结构域优选地包含SEQ ID NO:7的氨基酸20到236或其等位基因变体或由其组成;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0345] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:7的氨基酸49至230具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一方面,这些催化结构域包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:7的氨基酸49至230相差多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸。该催化结构域优选地包含SEQ ID NO:7的氨基酸49到230或其等位基因变体或由其组成;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0346] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:9的氨基酸30至243具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一个方面中,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:9的氨基酸30至243具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包含SEQ ID NO:9的氨基酸30到243或其等位基因变体或由其组成;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0347] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:9的氨基酸55至239具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的催化结构域。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一个方面中,这些催化结构域包括的氨基酸序列与SEQ ID NO:9的氨基酸55至239具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。该催化结构域优选地包含SEQ ID NO:9的氨基酸55到239或其等位基因变体或由其组成;或是其具有 β -葡聚糖酶活性的片段。本发明

的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0348] 结合结构域

[0349] 本发明的GH16 β -葡聚糖酶可以包含碳水化合物结合模块(或CBM)。在一个实施例中,CBM处于SEQ ID NO:2的氨基酸264-377。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在另一个实施例,CBM处于SEQ ID NO:3的氨基酸264-377。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0350] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:2的氨基酸264至377具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的碳水化合物结合模块。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一方面,所述碳水化合物结合模块包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的氨基酸264到377具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0351] 在一个实施例中,本发明还涉及与SEQ ID NO:3的氨基酸264至377具有至少60%,例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的碳水化合物结合模块。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。在一方面,所述碳水化合物结合模块包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的氨基酸264至377具有多达10个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个)氨基酸的差异。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0352] 该碳水化合物结合模块优选包含SEQ ID NO:2的氨基酸264至377或其等位基因变体或由其组成;或者是其具有碳水化合物结合活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。该碳水化合物结合模块优选包含SEQ ID NO:3的氨基酸264至377或其等位基因变体或由其组成;或者是其具有碳水化合物结合活性的片段。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0353] 在另一个实施例中,本发明还涉及SEQ ID NO:2(或SEQ ID NO:3)的氨基酸264到377的碳水化合物结合模块变体,这些变体在一个或多个(例如,若干个)位置处包含取代、缺失和/或插入。在一个方面中,引入SEQ ID NO:2(或SEQ ID NO:3)的氨基酸264至377的序

列中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、8个、9个、或10个。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0354] 本发明的碳水化合物结合模块可应用于包含可操作地连接至催化结构域的至少一个碳水化合物结合模块的融合蛋白。该催化结构域可以来自一种水解酶、异构酶、连接酶、裂解酶、氧化还原酶或转移酶、氨肽酶、淀粉酶、糖酶、羧肽酶、过氧化氢酶、纤维二糖水解酶、纤维素酶、壳多糖酶、角质酶、环糊精糖基转移酶、脱氧核糖核酸酶、内切葡聚糖酶、酯酶、 α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、 α -葡糖苷酶、 β -葡糖苷酶、转化酶、漆酶、脂酶、甘露糖苷酶、变聚糖酶(mutanase)、氧化酶、果胶分解酶、过氧化物酶、植酸酶、多酚氧化酶、蛋白水解酶、核糖核酸酶、转谷氨酰胺酶、木聚糖酶或 β -木糖苷酶。编码催化结构域的多核苷酸可以从任何原核、真核或其他来源获得。

[0355] 多核苷酸

[0356] 本发明还涉及编码如在此所述的本发明的多肽、催化结构域或碳水化合物结合模块的多核苷酸。在一个实施例中,编码本发明的多肽、催化结构域、或碳水化合物结合模块的多核苷酸已经被分离。

[0357] 用于分离或克隆多核苷酸的技术在本领域中是已知的,并包括从基因组DNA或cDNA,或其组合分离。可以例如通过使用熟知的聚合酶链反应(PCR)或表达文库的抗体筛选来检测具有共有结构特征的克隆DNA片段,实现从基因组DNA克隆多核苷酸。参见例如,Innis等人,1990,PCR:A Guide to Methods and Application[PCR:方法和应用指南],学术出版社(Academic Press),纽约。可以使用其他核酸扩增程序如连接酶链式反应(LCR)、连接激活转录(LAT)和基于多核苷酸的扩增(NASBA)。这些多核苷酸可以克隆自芽孢杆菌属的菌株或相关有机体,并且因此,例如可以是该多核苷酸多肽编码区的等位基因变体或物种变体。

[0358] 编码本发明多肽的多核苷酸的修饰对于合成实质上类似于该多肽的多肽可以是必需的。术语“实质上类似”于该多肽是指多肽的非天然存在的形式。这些多肽可以因某种工程化方式而与从其天然来源分离的多肽不同,例如在比活性、热稳定性、最适pH等方面不同的变体。这些变体可以基于以选自下组(该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8)的序列的成熟多肽编码序列、或其cDNA序列(例如其子序列)形式呈现的多核苷酸,和/或通过引入不会改变该多肽的氨基酸序列,但对应于预定用于产生该酶的宿主有机体的密码子用法的核苷酸取代,或通过引入可以产生不同氨基酸序列的核苷酸取代来构建。对于核苷酸取代的一般描述,参见例如Ford等人,1991,Protein Expression and Purification[蛋白质表达与纯化]2:95-107。

[0359] 核酸构建体

[0360] 本发明还涉及核酸构建体,这些核酸构建体包含可操作地连接至一个或多个控制序列的本发明的多核苷酸,在与控制序列相容的条件下,这个或这些控制序列指导编码序列在适合的宿主细胞中的表达。

[0361] 可用许多方式操作所述多核苷酸以提供多肽的表达。取决于表达载体,在多核苷酸插入载体之前对其进行操作可为合意的或必需的。用于利用重组DNA方法修饰多核苷酸的技术是本领域已知的。

[0362] 该控制序列可为启动子,即,被宿主细胞识别用于表达编码本发明多肽的多核苷酸的多核苷酸。该启动子包含转录控制序列,其介导该多肽的表达。该启动子可以是在宿主细胞中显示出转录活性的任何多核苷酸,包括变体、截短型及杂合型启动子,并且可以从编码与该宿主细胞同源或异源的细胞外或细胞内多肽的基因获得。

[0363] 用于在细菌宿主细胞中指导本发明的核酸构建体的转录的适合的启动子的实例是从以下获得的启动子:解淀粉芽孢杆菌 α -淀粉酶基因(amyQ)、地衣芽孢杆菌 α -淀粉酶基因(amyL)、地衣芽孢杆菌青霉素酶基因(penP)、嗜热芽孢杆菌麦芽糖淀粉酶基因(amyM)、枯草芽孢杆菌果聚糖蔗糖酶基因(sacB)、枯草芽孢杆菌xylA和xylB基因、苏云金芽孢杆菌cryIIIA基因(Agaisse和Lereclus,1994,Molecular Microbiology[分子微生物学]13:97-107)、大肠杆菌乳糖操纵子、大肠杆菌trc启动子(Egon等人,1988,Gene[基因]69:301-315)、天蓝链霉菌琼脂水解酶基因(dagA)、和原核 β -内酰胺酶基因(Villa-Kamaroff等人,1978,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]75:3727-3731);以及tac启动子(DeBoer等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]80:21-25)。其他启动子描述在Gilbert等人,1980,Scientific American[科学美国人]242:74-94的“Useful proteins from recombinant bacteria[来自重组细菌的有用蛋白质]”;以及在Sambrook等人,1989(见上文)。串联启动子的实例披露于WO 99/43835中。

[0364] 在丝状真菌宿主细胞中,用于指导本发明的核酸构建体的转录的合适启动子的实例是获得自以下酶的基因的启动子:构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)乙酰胺酶、黑曲霉(*Aspergillus niger*)中性 α -淀粉酶、黑曲霉酸稳定性 α -淀粉酶、黑曲霉或泡盛曲霉(*Aspergillus awamori*)葡萄糖淀粉酶(glaA)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)TAKA淀粉酶、米曲霉碱性蛋白酶、米曲霉丙糖磷酸异构酶、尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)胰蛋白酶-样蛋白酶(WO 96/00787)、镰片镰孢(*Fusarium venenatum*)淀粉葡萄糖苷酶(WO 00/56900)、镰片镰孢Daria(WO 00/56900)、镰片镰孢菌Quinn(WO 00/56900)、米黑根毛霉(*Rhizomucor miehei*)脂肪酶、米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶、里氏木霉(*Trichoderma reesei*) β -葡萄糖苷酶、里氏木霉纤维二糖水解酶I、里氏木霉纤维二糖水解酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶I、里氏木霉内切葡聚糖酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶III、里氏木霉内切葡聚糖酶V、里氏木霉木聚糖酶I、里氏木霉木聚糖酶II、里氏木霉木聚糖酶III、里氏木霉 β -木糖苷酶,以及里氏木霉翻译延长因子,以及NA2-tpi启动子(来自曲霉属中性 α -淀粉酶基因的经修饰的启动子,其中未翻译的前导序列已经用来自曲霉属丙糖磷酸异构酶基因的未翻译的前导序列替换;非限制性实例包括来自黑曲霉中性 α -淀粉酶的基因的经修饰的启动子,其中未翻译的前导序列已经用来自构巢曲霉或米曲霉丙糖磷酸异构酶基因的未翻译的前导序列替换);及其变体、截短的及杂合的启动子。其他启动子在美国专利号6,011,147中描述。

[0365] 在酵母宿主中,从以下酶的基因获得有用的启动子:酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)烯醇化酶(ENO-1)、酿酒酵母半乳糖激酶(GAL1)、酿酒酵母乙醇脱氢酶/甘油醛-3-磷酸脱氢酶(ADH1,ADH2/GAP)、酿酒酵母磷酸丙糖异构酶(TPI)、酿酒酵母金属硫蛋白(CUP1)、和酿酒酵母3-磷酸甘油酸激酶。Romanos等人,1992,Yeast[酵母]8:423-488描述了酵母宿主细胞的其他有用的启动子。

[0366] 控制序列还可以是由宿主细胞识别以终止转录的转录终止子。终止子与编码该多肽的多核苷酸的3'-末端可操作地连接。在宿主细胞中有功能的任何终止子可用于本发明

中。

[0367] 细菌宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得：克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*) 碱性蛋白酶 (aprH)、地衣芽孢杆菌 α -淀粉酶 (amyL)、和大肠杆菌核糖体RNA (rrnB)。

[0368] 用于丝状真菌宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得：构巢曲霉乙酰胺酶、构巢曲霉邻氨基苯甲酸合酶、黑曲霉葡萄糖淀粉酶、黑曲霉 α -葡萄糖苷酶、米曲霉TAKA淀粉酶、尖孢镰孢胰蛋白酶-样蛋白酶、里氏木霉 β -葡萄糖苷酶、里氏木霉纤维二糖水解酶I、里氏木霉纤维二糖水解酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶I、里氏木霉内切葡聚糖酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶III、里氏木霉内切葡聚糖酶V、里氏木霉木聚糖酶I、里氏木霉木聚糖酶II、里氏木霉木聚糖酶III、里氏木霉 β -木糖苷酶以及里氏木霉翻译延长因子。

[0369] 用于酵母宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得：酿酒酵母烯醇化酶、酿酒酵母细胞色素C (CYC1)、以及酿酒酵母甘油醛-3-磷酸脱氢酶。酵母宿主细胞的其他有用终止子在Romanos等人, 1992, 见上文描述。

[0370] 控制序列还可为启动子下游和基因的编码序列上游的mRNA稳定子区域, 其增加该基因的表达。

[0371] 合适的mRNA稳定子区域的实例是从以下获得的：苏云金芽孢杆菌cryIIIA基因 (WO 94/25612) 和枯草芽孢杆菌SP82基因 (Hue等人, 1995, *Journal of Bacteriology* [细菌学杂志] 177:3465-3471)。

[0372] 该控制序列也可以是前导序列, 一种对宿主细胞翻译很重要的非翻译mRNA区域。该前导序列可操作地连接到编码该多肽的多核苷酸的5'-末端。可使用在宿主细胞中有功能的任何前导序列。

[0373] 用于丝状真菌宿主细胞的优选前导序列是从米曲霉TAKA淀粉酶和构巢曲霉丙糖磷酸异构酶的基因获得的。

[0374] 对于酵母宿主细胞适合的前导序列从以下酶的基因获得：酿酒酵母烯醇化酶 (ENO-1)、酿酒酵母3-磷酸甘油酸激酶、酿酒酵母 α 因子、和酿酒酵母醇脱氢酶/甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (ADH2/GAP)。

[0375] 控制序列也可以是多聚腺苷化序列, 一种与多核苷酸3'-末端可操作地连接并在转录时由宿主细胞识别为向转录的mRNA添加聚腺苷酸残基的信号序列。可以使用在宿主细胞中起作用的任何聚腺苷酸化序列。

[0376] 用于丝状真菌宿主细胞的优选聚腺苷酸化序列是从以下的基因获得：构巢曲霉邻氨基苯甲酸合酶、黑曲霉葡萄糖淀粉酶、黑曲霉 α -葡萄糖苷酶、米曲霉TAKA淀粉酶以及尖孢镰孢菌胰蛋白酶样蛋白酶。

[0377] 对于酵母宿主细胞有用的聚腺苷酸化序列在Guo和Sherman, 1995, *Mol. Cellular Biol.* [分子细胞生物学] 15:5983-5990中得以描述。

[0378] 控制序列也可为编码与多肽的N-末端连接的信号肽并指导多肽进入细胞的分泌途径的信号肽编码区。多核苷酸的编码序列的5'-端可固有地含有在翻译阅读框中与编码多肽的编码序列的区段天然地连接的信号肽编码序列。可替代地, 编码序列的5'-末端可含有对于编码序列为外来的信号肽编码序列。在编码序列天然地不含有信号肽编码序列的情况下, 可能需要外源信号肽编码序列。可替代地, 外源信号肽编码序列可以单纯地替代天然

信号肽编码序列以便增强多肽的分泌。然而,可以使用指导已表达多肽进入宿主细胞的分泌途径的任何信号肽编码序列。

[0379] 用于细菌宿主细胞的有效信号肽编码序列是从芽孢杆菌NCIB 11837生麦芽糖淀粉酶、地衣芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶、地衣芽孢杆菌 β -内酰胺酶、嗜热脂肪芽孢杆菌 α -淀粉酶、嗜热脂肪芽孢杆菌中性蛋白酶(nprT、nprS、nprM)和枯草杆菌prSA的基因获得的信号肽编码序列。另外的信号肽由Simonen和Palva,1993,Microbiological Reviews[微生物评论]57:109-137描述。

[0380] 用于丝状真菌宿主细胞的有效信号肽编码序列是从以下酶的基因获得的信号肽编码序列:黑曲霉中性淀粉酶、黑曲霉葡萄糖淀粉酶、米曲霉TAKA淀粉酶、特异腐质霉(*Humicola insolens*)纤维素酶、特异腐质霉内切葡聚糖酶V、疏棉状腐质霉(*Humicola lanuginosa*)脂肪酶和米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶。

[0381] 用于酵母宿主细胞的有用的信号肽从酿酒酵母 α -因子和酿酒酵母转化酶的基因获得。其他的有用的信号肽编码序列由Romanos等人,1992,见上文描述。

[0382] 控制序列也可编码处于多肽的N-末端的前肽的前肽编码序列。所得的多肽被称为前体酶(proenzyme)或多肽原(或在一些情况下被称为酶原(zymogen))。多肽原通常是无活性的并且可通过催化切割或自身催化切割来自多肽原的前肽而转化为活性多肽。可以从枯草芽孢杆菌碱性蛋白酶(aprE)、枯草芽孢杆菌中性蛋白酶(nprT)、嗜热毁丝霉漆酶(WO 95/33836)、米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶和酿酒酵母 α -因子的基因获得前肽编码序列。

[0383] 在信号肽序列和前肽序列二者都存在的情况下,该前肽序列位于紧邻多肽的N-末端且该信号肽序列位于紧邻该前肽序列的N-末端。

[0384] 也可合意的是添加调节序列,所述调节序列调节相对于宿主细胞的生长的多肽的表达。调节序列的实例是引起基因的表达响应于化学或物理刺激(包括调节化合物的存在)而开启或关闭的那些。原核系统中的调节序列包括lac、tac以及trp操纵基因系统。在酵母中,可使用ADH2系统或GAL1系统。在丝状真菌中,可使用黑曲霉葡萄糖淀粉酶启动子、米曲霉TAKA α -淀粉酶启动子和米曲霉葡萄糖淀粉酶启动子、里氏木霉纤维二糖水解酶I启动子以及里氏木霉纤维二糖水解酶II启动子。调节序列的其他实例是允许基因扩增的那些。在真核系统中,这些调节序列包括在甲氨蝶呤存在下扩增的二氢叶酸还原酶基因以及用重金属扩增的金属硫蛋白基因。在这些情况中,编码多肽的多核苷酸将与调控序列可操作地连接。

[0385] 表达载体

[0386] 本发明还涉及包含本发明的多核苷酸、启动子、以及转录和翻译终止信号的重组表达载体。多个核苷酸和控制序列可连接在一起以产生重组表达载体,其可包括一个或多个便利的限制位点以允许编码该多肽的多核苷酸在这些位点处的插入或取代。可替代地,多核苷酸可通过将该多核苷酸或包含该多核苷酸的核酸构建体插入用于表达的适当载体中来表达。在产生该表达载体时,该编码序列位于该载体中使得该编码序列与该用于表达的适当控制序列可操作地连接。

[0387] 重组表达载体可以是可方便地经受重组DNA程序并且可引起多核苷酸表达的任何载体(例如,质粒或病毒)。载体的选择将典型地取决于该载体与有待引入该载体的宿主细胞的相容性。载体可以是线状或闭合的环状质粒。

[0388] 载体可以是自主复制载体,即作为染色体外实体存在的载体,其复制独立于染色

体复制,例如质粒、染色体外元件、微染色体或人工染色体。该载体可含有用于确保自我复制的任何装置。可替代地,该载体可以是这样一种载体,当它被引入该宿主细胞中时,被整合到基因组中并且与其中已整合了它的一个或多个染色体一起复制。此外,可使用单一载体或质粒或两个或更多个载体或质粒(这些载体或质粒一起含有待引入到宿主细胞的基因组中的总DNA)或转座子。

[0389] 载体优选地包含一个或多个选择性标记,所述标记容许容易地选择转化细胞、转染细胞、转导细胞等。选择性标志物是一种基因,其产物提供了杀生物剂抗性或病毒抗性、对重金属抗性、对营养缺陷型的原养性等。

[0390] 细菌选择性标志物的实例是地衣芽孢杆菌或枯草芽孢杆菌 dal 基因、或赋予抗生素抗性(如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素、新霉素、大观霉素、或四环素抗性)的标志物。用于酵母宿主细胞的适合的标志物包括但不限于: $ADE2$ 、 $HIS3$ 、 $LEU2$ 、 $LYS2$ 、 $MET3$ 、 $TRP1$ 和 $URA3$ 。用于丝状真菌宿主细胞中的选择性标记包括但不限于: $adeA$ (磷酸核糖酰氨基咪唑-琥珀酸甲酰胺合酶)、 $adeB$ (磷酸核糖酰-氨基咪唑合酶)、 $amdS$ (乙酰胺酶)、 $argB$ (鸟氨酸氨甲酰基转移酶)、 bar (草丁膦乙酰转移酶)、 hph (潮霉素磷酸转移酶)、 $niaD$ (硝酸还原酶)、 $pyrG$ (乳清酸核苷-5'-磷酸脱羧酶)、 sC (硫酸腺苷酰基转移酶)、以及 $trpC$ (邻氨基苯甲酸合酶)、以及其等效物。优选用于曲霉属细胞中的是构巢曲霉或米曲霉 $amdS$ 和 $pyrG$ 基因和吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*) bar 基因。优选用于木霉属细胞中的是 $adeA$ 、 $adeB$ 、 $amdS$ 、 hph 和 $pyrG$ 基因。

[0391] 选择性标记可为双选择性标记系统,如WO 2010/039889中描述的。在一方面,双选择性标记是 hph - tk 双选择性标记系统。

[0392] 载体优选含有允许载体整合到宿主细胞的基因组中或载体在细胞中独立于基因组自主复制的元件。

[0393] 对于整合到该宿主细胞基因组中,该载体可以依靠编码该多肽的多核苷酸序列或用于通过同源或非同源重组整合到该基因组中的该载体的任何其他元件。可替代地,该载体可含有用于指导通过同源重组而整合入宿主细胞基因组中的一个或多个染色体中的一个或多个精确位置处的另外的多核苷酸。为了增加在精确位置整合的可能性,整合的元件应含有足够数量的核酸,如100至10,000个碱基对、400至10,000个碱基对、以及800至10,000个碱基对,其与相应的靶序列具有高度的序列一致性以增强同源重组的可能性。这些整合元件可为与宿主细胞基因组中的靶序列同源的任何序列。此外,这些整合元件可为非编码多核苷酸或编码多核苷酸。另一方面,载体可通过非同源重组整合入宿主细胞的基因组中。

[0394] 对于自主复制,载体可以进一步包含使该载体能够在所讨论的宿主细胞中自主地进行复制的复制起点。复制起点可为在细胞中有功能的介导自主复制的任何质粒复制子。术语“复制起点”或“质粒复制子”意指使质粒或载体能够在体内复制的多核苷酸。

[0395] 细菌复制起点的实例是容许在大肠杆菌中复制的质粒 $pBR322$ 、 $pUC19$ 、 $pACYC177$ 和 $pACYC184$ 的复制起点,以及容许在芽孢杆菌属中复制的质粒 $pUB110$ 、 $pE194$ 、 $pTA1060$ 和 $pAMB1$ 。

[0396] 用于酵母宿主细胞中的复制起点的实例是2微米复制起点、 $ARS1$ 、 $ARS4$ 、 $ARS1$ 与 $CEN3$ 的组合、及 $ARS4$ 与 $CEN6$ 的组合。

[0397] 用于丝状真菌细胞中的复制起点的实例是AMA1和ANS1 (Gems等人, 1991, Gene [基因] 98:61-67; Cullen等人, 1987, Nucleic Acids Res. [核酸研究] 15:9163-9175; WO 00/24883)。可根据WO 00/24883中公开的方法完成AMA1基因的分离和包含该基因的质粒或载体的构建。

[0398] 可将本发明多核苷酸的多于一个拷贝插入宿主细胞以增加多肽的产生。通过将序列的至少一个另外的拷贝整合到宿主细胞基因组中或者通过包括与该多核苷酸一起的可扩增的选择性标志基因可以获得多核苷酸的增加的拷贝数目, 其中通过在适当的选择性试剂的存在下培养细胞可以选择含有选择性标志基因的经扩增的拷贝的细胞、以及由此该多核苷酸的另外的拷贝。

[0399] 用于连接以上所描述的元件以构建本发明的重组表达载体的方法是本领域的技术人员熟知的(参见, 例如, Sambrook等人, 1989, 见上文)。

[0400] 宿主细胞

[0401] 本发明还涉及重组宿主细胞, 这些宿主细胞包含可操作地连接到一个或多个控制序列的本发明的多核苷酸, 这个或这些控制序列指导本发明的多肽的产生。将包含多核苷酸的构建体或载体引入宿主细胞中, 这样使得该构建体或载体作为染色体整合体或作为自主复制的染色体外载体维持, 如较早前所述。术语“宿主细胞”涵盖由于复制过程中发生的突变而与亲本细胞不同的亲本细胞的任何后代。宿主细胞的选择会在很大程度上取决于编码该多肽的基因及其来源。

[0402] 宿主细胞可为在本发明的多肽的重组产生中有用的任何细胞, 例如原核细胞或真核细胞。

[0403] 原核宿主细胞可为任何革兰氏阳性或革兰氏阴性细菌。革兰氏阳性细菌包括但不限于: 芽孢杆菌属、梭菌属、肠球菌属、土芽孢杆菌属、乳杆菌属、乳球菌属、海洋芽孢杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、和链霉菌属。革兰氏阴性细菌包括但不限于弯曲杆菌属、大肠杆菌、黄杆菌属、梭杆菌属、螺杆菌属、泥杆菌属、奈瑟氏菌属、假单胞菌属、沙门氏菌属和豚原体属。

[0404] 细菌宿主细胞可以是任何芽孢杆菌细胞, 包括但不限于: 嗜碱芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、克劳氏芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、坚硬芽孢杆菌、灿烂芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62449、秋叶氏芽孢杆菌、粘琼脂芽孢杆菌、莫哈韦芽孢杆菌以及苏云金芽孢杆菌细胞。

[0405] 细菌宿主细胞还可以是任何链球菌属细胞, 包括但不限于: 类马链球菌、化脓性链球菌、乳房链球菌以及马链球菌兽疫亚种细胞。

[0406] 细菌宿主细胞还可为任何链霉菌属细胞, 包括但不限于: 不产色链霉菌、除虫链霉菌、天蓝链霉菌、灰色链霉菌以及浅青紫链霉菌细胞。

[0407] 将DNA引入芽孢杆菌属细胞中可以通过以下来实现: 原生质体转化(参见例如, Chang和Cohen, 1979, Mol. Gen. Genet. [分子遗传学与基因组学] 168:111-115)、感受态细胞转化(参见例如, Young和Spizizen, 1961, J. Bacteriol. [细菌学杂志] 81:823-829, 或Dubnau和Davidoff-Abelson, 1971, J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 56:209-221)、电穿孔(参见例如, Shigekawa和Dower, 1988, Biotechniques [生物技术] 6:742-751)或接合(参见

例如,Koehler和Thorne,1987,J.Bacteriol.[细菌学杂志]169:5271-5278)。将DNA引入大肠杆菌细胞中可以通过以下来实现:原生质体转化(参见例如,Hanahan,1983,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]166:557-580)或电穿孔(参见例如,Dower等人,1988,Nucleic Acids Res.[核酸研究]16:6127-6145)。将DNA引入链霉菌属细胞中可通过以下来实现:原生质体转化、电穿孔(参见,例如,Gong等人,2004,Folia Microbiol.[叶线形微生物学](布拉格(Praha))49:399-405)、接合(参见例如,Mazodier等人,1989,J.Bacteriol.[细菌学杂志]171:3583-3585)、或转导(参见例如,Burke等人,2001,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]98:6289-6294)。将DNA引入假单孢菌属细胞中可以通过以下来实现:电穿孔(参见例如,Choi等人,2006,J.Microbiol.Methods[微生物学方法杂志]64:391-397)或接合(参见例如,Pinedo和Smets,2005,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]71:51-57)。将DNA引入链球菌属细胞中可以通过以下来实现:天然感受态(参见例如,Perry和Kuramitsu,1981,Infect.Immun.[感染与免疫]32:1295-1297)、原生质体转化(参见例如,Catt和Jollick,1991,Microbios[微生物学]68:189-207)、电穿孔(参见例如,Buckley等人,1999,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]65:3800-3804)或接合(参见例如,Clewell,1981,Microbiol.Rev.[微生物学评论]45:409-436)。然而,可使用本领域已知的将DNA引入宿主细胞的任何方法。

[0408] 宿主细胞还可为真核生物,如哺乳动物、昆虫、植物或真菌细胞。

[0409] 宿主细胞可为真菌细胞。如在此使用的“真菌”包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、和接合菌门(Zygomycota)以及卵菌门(Oomycota)和所有有丝分裂孢子真菌(如由Hawksworth等人所定义的,在:Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi[Ainsworth和Bisby的真菌大词典],第8版,1995,国际CAB,University Press[大学出版社],剑桥,英国)。

[0410] 真菌宿主细胞可以是酵母细胞。如本申请中使用的“酵母”包括产子囊酵母(内孢霉目)、产担子酵母和属于半知菌类(芽孢纲)的酵母。由于酵母的分类可能在将来变化,出于本发明的目的,酵母应当如酵母的生物学与活性(Skinner、Passmore和Davenport编辑,Soc.App.Bacteriol.Symposium Series No.9[应用细菌学学会专题论文集系列9],1980)所描述那样定义。

[0411] 酵母宿主细胞可为假丝酵母属、汉逊酵母属、克鲁维酵母属、毕赤酵母属、酵母属、裂殖酵母属、或耶氏酵母属细胞,如乳酸克鲁弗酵母(*Kluyveromyces lactis*)、卡尔酵母、酿酒酵母、糖化酵母、道格拉氏酵母、克鲁弗酵母、诺地酵母、卵形酵母或解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)细胞。

[0412] 真菌宿主细胞可为丝状真菌细胞。“丝状真菌”包括真菌门(Eumycota)和卵菌门(Oomycota)的亚门的所有丝状形式(如由Hawksworth等人,1995,见上文)。丝状真菌通常的特征在于由几丁质、纤维素、葡聚糖、壳多糖、甘露聚糖、以及其他复杂多糖构成的菌丝体壁。营养生长是通过菌丝延伸,而碳分解代谢是专性需氧的。相反,酵母(如酿酒酵母)的营养生长是通过单细胞菌体的出芽(budding),而碳分解代谢可以是发酵性的。

[0413] 丝状真菌宿主细胞可以是枝顶孢霉属、曲霉属、短梗霉属、烟管霉属(*Bjerkandera*)、拟腊菌属、金孢子菌属、鬼伞属、革盖菌属(*Coriolus*)、隐球菌属、线黑粉菌科(*Filibasidium*)、镰孢菌属、腐质霉属、梨孢菌属、毛霉属、毁丝霉属、新美鞭菌属、链孢菌

属、拟青霉属、青霉属、平革菌属、射脉菌属(*Phlebia*)、梨囊鞭菌属、侧耳属(*Pleurotus*)、裂褶菌属、篮状菌属、嗜热子囊菌属、梭孢壳属、弯颈霉属、栓菌属(*Trametes*)或木霉属细胞。

[0414] 例如,丝状真菌宿主细胞可以是泡盛曲霉、臭曲霉、烟曲霉、日本曲霉、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、黑刺烟管菌(*Bjerkandera adusta*)、干拟蜡菌(*Ceriporiopsis aneirina*)、卡内基拟蜡菌(*Ceriporiopsis caregiea*)、浅黄拟蜡孔菌(*Ceriporiopsis gilvescens*)、潘诺希塔拟蜡菌(*Ceriporiopsis pannocinta*)、环带拟蜡菌(*Ceriporiopsis rivulosa*)、微红拟蜡菌(*Ceriporiopsis subrufa*)、虫拟蜡菌(*Ceriporiopsis subvermispora*)、狭边金孢子菌(*Chrysosporium inops*)、嗜角质金孢子菌、卢克诺文思金孢子菌(*Chrysosporium lucknowense*)、粪状金孢子菌(*Chrysosporium merdarium*)、租金孢子菌、女王杜香金孢子菌(*Chrysosporium queenslandicum*)、热带金孢子菌、褐薄金孢子菌(*Chrysosporium zonatum*)、灰盖鬼伞(*Coprinus cinereus*)、毛革盖菌(*Coriolus hirsutus*)、杆孢状镰孢菌、谷类镰孢菌、库威镰孢菌、大刀镰孢菌、禾谷镰孢菌、禾赤镰孢菌、异孢镰孢菌、合欢木镰孢菌、尖孢镰孢菌、多枝镰孢菌、粉红镰孢菌、接骨木镰孢菌、肤色镰孢菌、拟分枝孢镰孢菌、硫色镰孢菌、圆镰孢菌、拟丝孢镰孢菌、镶片镰孢菌、特异腐质霉、柔毛腐质霉、米黑毛霉、嗜热毁丝霉、粗糙脉孢菌、产紫青霉、黄孢原毛平革菌、射脉菌(*Phlebia radiata*)、刺芹侧耳(*Pleurotus eryngii*)、土生梭孢壳霉、长域毛栓菌(*Trametes villosa*)、变色栓菌(*Trametes versicolor*)、哈茨木霉、康宁木霉、长枝木霉、里氏木霉、或绿色木霉细胞。

[0415] 真菌细胞可以通过下述过程转化,该过程涉及原生质体形成、原生质体的转化、以及以本身已知的方式的细胞壁的再生。用于转化曲霉属和木霉属宿主细胞的适合程序描述于以下文献中:EP 238023,Yelton等人,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]81:1470-1474以及Christensen等人,1988,Bio/Technology[生物/技术]6:1419-1422。用于转化镰孢属菌种的合适方法在Malardier等人,1989,Gene[基因]78:147-156和WO 96/00787中描述。可以使用由如以下文献描述的程序转化酵母:Becker和Guarente,在Abelson,J.N.和Simon,M.I.编,Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology[酵母遗传学与分子生物学指南],Methods in Enzymology[酶学方法],第194卷,第182至187页,学术出版社有限公司(Academic Press,Inc.),纽约;Ito等人,1983,J.Bacteriol.[细菌学杂志]153:163;以及Hinnen等人,1978,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院报]75:1920。

[0416] 产生方法

[0417] 本发明还涉及产生本发明多肽的方法(例如,在体外或离体的产生方法),该方法包括:(a)培养细胞,该细胞处于其野生型形式,在有益于产生该多肽的条件下产生该多肽;和任选地(b)回收该多肽。在一个方面,该细胞是芽孢杆菌属细胞。在另一个方面,该细胞是芽孢杆菌属物种-62449或秋叶氏芽孢杆菌、或粘琼脂芽孢杆菌或莫哈韦芽孢杆菌细胞。

[0418] 本发明还涉及产生本发明的多肽的方法(例如,体外或离体的产生方法),包括(a)在有益于产生该多肽的条件下培养本发明的重组宿主细胞;和任选地(b)回收该多肽。

[0419] 这些宿主细胞是在适合于使用本领域中已知的方法产生这些多肽的营养介质中培养的。例如,可通过摇瓶培养、或在实验室或工业发酵器中小规模或大规模发酵(包括连续、分批、补料分批或固态发酵)培养细胞,所述培养在适合的介质中并且在允许表达和/或

分离多肽的条件下进行。使用本领域中已知的程序,培养发生在包含碳和氮来源及无机盐的适合的营养介质中。适合的培养基可从商业供应商获得或可以根据公开的组成(例如,在美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)的目录中)制备。如果多肽被分泌到营养培养基中,那么可直接从培养基中回收多肽。如果多肽不分泌,那么其可从细胞裂解液中进行回收。

[0420] 可以使用针对该多肽具有特异性的本领域已知的方法检测该多肽。这些检测方法包括但不限于:特异性抗体的使用、酶产物的形成或酶底物的消失。例如,可以使用酶测定法来确定多肽的活性。

[0421] 可使用本领域已知的方法来回收多肽。例如,可通过常规方法,包括但不限于,收集、离心、过滤、提取、喷雾干燥、蒸发或沉淀,从营养介质回收多肽。在一方面,回收包含多肽的发酵液。

[0422] 可通过本领域已知的多种方法纯化多肽以获得基本上纯的多肽,所述方法包括但不限于层析(例如,离子交换、亲和、疏水、层析聚焦和大小排阻)、电泳方法(例如,制备型等电聚焦)、差示溶解度(例如,硫酸铵沉淀)、SDS-PAGE或提取(参见,例如,Protein Purification[蛋白质纯化],Janson和Ryden编辑,VCH出版公司(VCH Publishers),纽约,1989)。

[0423] 在一个替代的方面,不回收多肽,而是将表达该多肽的本发明的宿主细胞用作多肽的来源。

[0424] 植物中的产生

[0425] 本发明还涉及分离的植物,例如转基因植物、植物部分或植物细胞,其包括本发明的多肽,从而以可回收的量表达和产生多肽或结构域。可从植物或植物部分回收多肽或结构域。可替代地,含有该多肽或结构域的植物或植物部分可以按原样用于改进食品或饲料的质量,例如改进营养价值、可口性及流变学特性,或破坏抗营养因素。

[0426] 转基因植物可为双子叶的(双子叶植物)或单子叶的(单子叶植物)。单子叶植物的实例是草,如草地早熟禾(蓝草,早熟禾属);饲用草,如羊茅属(*Festuca*)、黑麦草属(*Lolium*);温带草,如翦股颖属(*Agrostis*);和谷类,例如小麦、燕麦、黑麦、大麦、稻、高粱、以及玉蜀黍(玉米)。

[0427] 双子叶植物的实例是烟草、豆类(如羽扇豆(*lupins*)、马铃薯、糖甜菜(sugar beet)、豌豆、豆(bean)和大豆(soybean))、以及十字花科植物(十字花科(family Brassicaceae)) (如花椰菜、油菜籽、以及紧密相关的模式生物拟南芥)。

[0428] 植物部分的实例是茎、愈伤组织、叶、根、果实、种子和块茎、以及包括这些部分的独立组织,例如,表皮、叶肉、薄壁组织(parenchyme)、维管组织、分生组织。

[0429] 植物细胞和具体的植物细胞区室(如叶绿体、质外体、线粒体、液泡、过氧化物酶体和细胞质)也被认为是植物部分。

[0430] 同样包括于本发明范围内的是这些植物、植物部分以及植物细胞的后代。

[0431] 可根据本领域已知的方法构建表达该多肽或结构域的转基因植物或植物细胞。简而言之,通过将编码该多肽或结构域的一个或多个表达构建体结合到植物宿主基因组或叶绿体基因组中并且将所得修饰的植物或植物细胞繁殖成转基因的植物或植物细胞来构建植物或植物细胞。

[0432] 本发明还涉及产生本发明的一种或多种多肽或结构域的方法,其包括(a)在有益于产生该多肽或结构域的条件下培养转基因植物或植物细胞,该转基因植物或植物细胞包含编码该多肽或结构域的多核苷酸;和(b)回收该多肽或结构域。

[0433] 发酵液配制品

[0434] 本发明还涉及包括本发明的多肽的发酵液配制品。发酵液产物进一步包含在发酵过程中使用的另外的成分,例如像细胞(包括含有编码本发明的多肽的基因的宿主细胞,所述宿主细胞被用于产生感兴趣的多肽)、细胞碎片、生物质、发酵介质和/或发酵产物。在一些实施例中,组合物是含有有机酸、杀灭的细胞和/或细胞碎片以及培养基的细胞杀灭的发酵液。

[0435] 如在本申请中使用的术语“发酵液”是指由细胞发酵产生的、不经历或经历最少的回收和/或纯化的制剂。例如,当微生物培养物在允许蛋白质合成(例如,由宿主细胞表达酶)并且将蛋白质分泌到细胞培养基中的碳限制条件下温育生长到饱和时,产生发酵液。发酵液可以含有在发酵结束时得到的发酵材料的未分级的或分级的内容物。典型地,发酵液是未分级的并且包含用过的培养基以及例如通过离心去除微生物细胞(例如,丝状真菌细胞)之后存在的细胞碎片。在一些实施例中,发酵液含有用过的细胞培养基、胞外酶以及有活力的和/或无活力的微生物细胞。

[0436] 在实施例中,发酵液配制品和细胞组合物包含第一有机酸组分(包含至少一种1-5碳的有机酸和/或其盐)以及第二有机酸组分(包含至少一种6碳或更多碳的有机酸和/或其盐)。在具体实施例中,第一有机酸组分是乙酸、甲酸、丙酸、其盐或前述中的两种或更多种的混合物,并且第二有机酸组分是苯甲酸、环己烷羧酸、4-甲基戊酸、苯乙酸、其盐或前述中的两种或更多种的混合物。

[0437] 在一个方面,组合物包含有机酸,并且任选地进一步包含杀灭的细胞和/或细胞碎片。在一个实施例中,从细胞杀灭的发酵液中去除杀灭的细胞和/或细胞碎片,以提供不含这些组分的组合物。

[0438] 这些发酵液配制品或细胞组合物可以进一步包含防腐剂和/或抗微生物(例如,抑菌)剂,包括但不限于:山梨醇、氯化钠、山梨酸钾、以及本领域已知的其他试剂。

[0439] 细胞杀灭的发酵液或组合物可以含有在发酵结束时得到的发酵材料的未分级的内容物。典型地,该细胞杀灭的发酵液或组合物包含用过的培养基以及在微生物细胞(例如丝状真菌细胞)生长至饱和、在碳限制条件下孵育以允许蛋白合成之后存在的细胞碎片。在一些实施例中,细胞杀灭的发酵液或组合物含有用过的细胞培养基、胞外酶和杀灭的丝状真菌细胞。在一些实施例中,可使用本领域已知的方法来使细胞杀灭的发酵液或组合物中存在的微生物细胞透性化和/或裂解。

[0440] 如本申请中描述的,发酵液典型地是液体,但是可以含有不溶性组分,例如杀灭的细胞、细胞碎片、培养基组分和/或一种或多种不溶性酶。在一些实施例中,可去除不溶性组分以提供澄清的液体组合物。

[0441] 本发明的发酵液配制品和细胞组合物可以通过WO 90/15861或WO 2010/096673中所述的方法来产生。

[0442] 酶组合物

[0443] 本发明还涉及包括本发明所述的一种或多种多肽的组合物。一个实施例是包含本

发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。优选地,所述组合物富含这种多肽。术语“富集”是指组合物的 β -葡聚糖酶活性已经提高,例如富集因子为至少1.1。

[0444] 这些组合物可包含本发明的一种或多种多肽作为主要酶组分,例如单组分组合物。可替代地,这些组合物可以包含多种酶活性,如选自下组的一种或多种(例如,若干种)酶,该组由以下组成:水解酶、异构酶、连接酶、裂解酶、氧化还原酶、或转移酶,例如, α -半乳糖苷酶、 α -葡糖苷酶、氨肽酶、淀粉酶、 β -半乳糖苷酶、 β -葡糖苷酶、 β -木糖苷酶、糖酶、羧肽酶、过氧化氢酶、纤维二糖水解酶、纤维素酶、壳多糖酶、角质酶、环糊精葡萄糖基转移酶、脱氧核糖核酸酶、内切葡聚糖酶、酯酶、葡糖淀粉酶、转化酶、漆酶、脂肪酶、甘露糖苷酶、变聚糖酶、氧化酶、果胶分解酶、过氧化物酶、植酸酶、多酚氧化酶、蛋白水解酶、核糖核酸酶、转谷氨酰胺酶、或木聚糖酶。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0445] 组合物可以根据本领域已知的方法制备,并且可以是液体或干燥组合物的形式。可以根据本领域已知的方法稳定组合物。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0446] 下面给出了本发明的组合物的优选用途的实例。可以基于本领域已知的方法来确定组合物的剂量和使用该组合物的其他条件。

[0447] 用途

[0448] 本发明的 β -葡聚糖酶可用于 β -葡聚糖(例如 β -D-葡聚糖、 β -1,3-1,4葡聚糖、混合键 β -葡聚糖、大麦 β -葡聚糖、燕麦粥 β -葡聚糖)需要降解(例如在碱性条件下)的应用。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。其中可以使用 β -葡聚糖酶的例子包括洗涤剂应用、纸和纸浆产生。在一个方面,本发明的 β -葡聚糖酶可以用于洗涤或清洁纺织品和/或硬表面,例如餐具洗涤,包括自动餐具洗涤(ADW)、手动餐具洗涤(HDW),和/或用在清洁过程中,例如洗衣或硬表面清洁,包括餐具洗涤,包括自动餐具洗涤(ADW)和工业清洗,和/或用于洗衣和/或硬表面清洗,包括餐具洗涤,包括自动餐具洗涤(ADW),和/或用于以下中的至少一个:预防、减少或去除物品上的生物膜和/或恶臭,和/或用于抗再沉积。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0449] 此类的 β -葡聚糖酶优选地与选自下组的序列的成熟多肽具有至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9。本发明的一个实施例是包含所述 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物(例如清洁或洗涤剂组合物)。

[0450] 当物品上存在微生物并且在物品上粘在一起时,在纺织品上会形成生物膜。一些微生物倾向于粘附至物品(如纺织品)的表面上。一些微生物粘附在此类表面上并且在表面上形成生物膜。生物膜可以是粘性的并且粘附的微生物和/或生物膜会是难以去除的。此外,由于生物膜的粘性性质,生物膜粘附污垢。市场上可获得的商业衣物洗涤剂组合物并不

去除此类粘附的微生物或生物膜。

[0451] 本发明涉及具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽用于从物品上防止、减少或去除生物膜的用途,其中该多肽获得自细菌来源并且其中该物品是纺织品。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。在本发明的一个实施例中,具有 β -葡聚糖酶活性的多肽用于防止、减少或去除物品的粘性。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0452] 组合物

[0453] 本发明还涉及包括本发明的 β -葡聚糖酶(例如,本发明的一种或多种多肽)的组合物。本发明还涉及包含本发明的 β -葡聚糖酶(例如本发明的一种或多种多肽)和一种或多种另外的酶的组合物。本发明还涉及包含本发明的 β -葡聚糖酶(例如本发明的一种或多种多肽)和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的组合物,优选地所述一种或多种淀粉酶是一种或多种 α -淀粉酶。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0454] 在一个实施例中,本发明涉及包括本发明的 β -葡聚糖酶以及一种适合的表面活性剂的组合物,特别是清洁组合物和/或洗涤剂组合物。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0455] 本发明还涉及包含具有 β -葡聚糖酶活性的选自下组的分离的多肽的组合物,该组由以下组成:a)与选自下组的序列的成熟多肽具有至少75%序列一致性、至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或甚至100%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;b)由在中等严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i)选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补链;c)由多核苷酸编码的多肽,该多核苷酸与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少75%序列一致性、至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或甚至100%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;e)包含选自下组的序列的成熟多肽的一个或多个(例如,若干个)氨基酸的取代、缺失和/或插入的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;以及f)具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0456] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0457] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少75%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0458] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0459] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少82%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0460] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少83%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0461] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少84%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0462] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少85%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0463] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少86%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0464] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少87%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0465] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少88%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡

聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0466] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0467] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少90%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0468] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少91%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0469] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少92%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0470] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少93%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0471] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少94%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0472] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少95%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0473] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少96%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0474] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少97%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0475] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少98%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、

SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0476] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少99%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0477] 在一个实施例中,本发明的组合物包含分离的多肽,其具有 β -葡聚糖酶活性并且与选自下组的序列的成熟多肽具有至少100%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0478] 在一个实施例中,该洗涤剂组合物可以适于具体用途,例如衣物洗涤(特别是家用衣物洗涤)、餐具洗涤或硬表面清洁。

[0479] 在另一个实施例中,本发明的组合物是清洁剂或洗涤剂组合物。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0480] 具有高pH的碱性液体洗涤剂广泛用于清洁,如衣物洗涤和餐具洗涤清洁。尤其在北美,消费者尤其常用具有升高的pH的液体洗涤剂。高pH清洁组合物还用于工业清洁过程。碱性洗涤剂包括具有洗涤剂特性的液体。此类洗涤剂的pH通常在pH为9至12.5的范围内。高pH洗涤剂典型地包括组分如表面活性剂、助洗剂和漂白组分,并且此外,它们还可以包含大量的水和碱,如NaOH、TSP(磷酸三钠)、氨、碳酸钠、氢氧化钾(KOH),这些碱通常以对应于0.1至30%重量(wt)的量添加。向洗涤剂中添加酶是非常有利的,因为这些酶的比活性有效地从表面如织物和餐具中去除了特定的污渍。然而,在高pH液体洗涤剂中维持可接受的酶稳定性的困难已多年来阻止将酶包含在这些洗涤剂中。在另一个实施例中,本发明涉及包括适用于此类组合物的本发明的碱性稳定 β -葡聚糖酶的高pH液体清洁组合物。

[0481] 在另一个实施例中,本发明的组合物优选地包含碱性缓冲液系统以提供pH为至少约7.5、至少约8、至少约9,优选pH为10或更高。优选地,pH为从约9至约13。为了达到高pH,有必要根据产品所需的pH,使存在碱金属氢氧化物、尤其是氢氧化钠或氢氧化钾,通常以按重量计组合物的0.1%至约30%(重量百分比,缩写wt%),并且优选1.0%至2.5%的量,或更高量的适合的碱金属硅酸盐,如金属硅酸盐。

[0482] 在另一个实施例中,本发明的组合物具有pH 6.5或更高,优选地pH 7.0或更高,更优选地pH 7.5或更高,并且任选地包含漂白剂;优选地,所述pH选自约7.5至约13.5的范围,进一步优选地,所述pH选自约7.5至约12.5的范围,最优选地,所述pH选自约8.5至约11.5的范围,进一步最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围。在一个优选的实施例中,具有这种优选pH范围的洗涤剂组合物是固体。

[0483] 在另一个实施例中,本发明涉及液体清洁组合物,其具有pH 6.5或更高,优选地具有pH 7.5或更高,其包含至少0.001(例如,至少0.01)wt% β -葡聚糖酶,其中所述 β -葡聚糖酶具有氨基酸序列,所述氨基酸序列与选自下组的序列的成熟多肽具有至少81%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。在进一步描述的实施例中, β -葡聚糖酶具有氨基酸序列,所述氨基酸序列与选自下组的

序列的成熟多肽具有至少82% (或至少83%、或84%、或85%、或86%、或87%、或88%、或89%、或90%、或91%、或92%、或93%、或94%、或95%、或96%、或97%、或98%或99%或100%) 的序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0484] 本发明的洗涤剂组合物可以配制为(例如)手洗或机洗衣物洗涤剂组合物,包括适用于预处理有污迹的织物的洗衣添加剂组合物,和漂洗添加的织物软化剂组合物,或配制为用于一般家用硬表面清洁操作的洗涤剂组合物,或配制用于手洗或机洗餐具洗涤操作。本发明的洗涤剂组合物可以应用于硬表面清洁、自动餐具洗涤应用、连同化妆品应用,例如义齿、牙齿、头发及皮肤中。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。它也可用于在清洁过程中清洗餐具洗涤机或洗衣机内部的部件,尤其是隐藏部件,如机器内部的水管,尤其是旋转臂中的水管,以及筛网/过滤器。

[0485] 本发明的洗涤剂组合物可以是任何方便的形式,例如棒状、片状、粉末、颗粒、糊或液体。液体洗涤剂可以是水性的,典型地包含至多70%的水和0-30%的有机溶剂,或可以是非水性的。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0486] 除非另外指出,在此提供的所有组分或组合物水平参照该组分或组合物的活性水平给出,并且不包括可能存在于可商购来源中的杂质,例如残余溶剂或副产品。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0487] 本发明的 β -葡聚糖酶正常地以按该组合物的重量计从0.000001%至2%酶蛋白的水平,优选以按该组合物的重量计从0.00001%至1%酶蛋白的水平,更优选以按该组合物的重量计从0.0001%至0.75%酶蛋白的水平,甚至更优选以按该组合物的重量计从0.001%至0.5%酶蛋白的水平掺入进该洗涤剂组合物中。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0488] 此外,本发明的 β -葡聚糖酶正常地以这样的量掺入进该洗涤剂组合物中,使得其在洗涤水中的浓度处于从0.0000001%至1%酶蛋白的水平,优选处于从0.000005%至0.01%酶蛋白的水平,更优选处于从0.000001%至0.005%酶蛋白的水平,甚至更优选在洗涤水中处于从0.00001%至0.001%酶蛋白的水平。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0489] 如众所周知的,酶量还将根据具体应用和/或作为被包括在这些组合物中的其他组分的结果而变化。

[0490] 用于在自动洗碗机(ADW)中使用的组合物例如可以包括按该组合物的重量计0.0001%-50%,例如0.001%-25%,例如0.002%-20%,例如0.01%-15%的酶蛋白。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0491] 用于在自动洗碗机(ADW)中使用的组合物例如可以包含按该组合物的重量计0.001%-50%,如0.01%-25%,如0.02%-20%,如0.1%-15%的酶蛋白。一个实施例是包

含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0492] 用于在洗衣造粒(laundry granulation)中使用的组合物例如可以包括按该组合物的重量计0.0001%-50%，例如0.001%-20%、例如0.01%-15%、例如0.05%-10%的酶蛋白。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0493] 用于在洗衣液中使用的组合物例如可以包括按该组合物的重量计0.0001%-10%，例如0.001%-7%、例如0.1%-5%的酶蛋白。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0494] 优选的洗涤剂组合物包含浓度为0.00001mg酶蛋白/g组合物至100mg酶蛋白/g组合物的本发明的多肽，优选的是0.0001mg酶蛋白/g组合物至50mg酶蛋白/g组合物，更优选的是0.001mg酶蛋白/g组合物至20mg酶蛋白/g组合物，尤其优选的是0.01mg酶蛋白/g组合物至10mg酶蛋白/g组合物。

[0495] 优选的洗涤剂组合物，尤其是作为单位剂量产品配制的组合物，包含本发明的多肽的量为从0.01mg/作业至100mg酶蛋白/作业，优选的是0.1mg酶蛋白/作业至20mg/作业，更优选的是0.2mg至10mg酶蛋白/作业，尤其优选的是0.3mg至5mg酶蛋白/作业。例如，可以使用0.5mg、1mg、1.5mg、2mg或2.5mg酶蛋白/作业的量。表述mg每次作业(mg/作业)或mg/应用是指相对于用于完整清洁周期的组合物的总重量所使用的活性物质的量(就洗涤剂而言，在完整的洗涤清洁周期中使用的清洁剂的总量)。在预分配清洁剂的情况下，该信息是基于预分类清洁组合物总重量的活性物质的量(以mg计)。

[0496] 所述量也适用于本发明餐具洗涤组合物中使用的每种其他单个酶蛋白(例如淀粉酶或蛋白酶)。

[0497] 在一些优选实施例中，在此提供的这些洗涤剂组合物典型地被这样配制，使得用于水性清洁操作过程中，洗涤水具有以下pH：从约5.0至约13.5，或在替代实施例中，甚至从约6.0至约10.5，例如从约5至约11、从约5至约10、从约5至约9、从约5至约8、从约5至约7、从约6至约11、从约6至约10、从约6至约9、从约6至约8、从约6至约7、从约7至约11、从约7至约10、从约7至约9或从约7至约8。优选地，在本文提供的洗涤剂组合物典型地配制以使得在水性清洁操作中使用，所述洗涤水具有选自约7.5至约13.5的范围的pH，进一步优选地，所述pH选自约8.5至约11.5的范围，最优选地，所述pH选自约9.5至约10.5的范围；进一步最优选地，pH 7.5或更高。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0498] 在一个实施例中，本发明的所述 β -葡聚糖酶相比于已知的 β -葡聚糖酶，在高pH液体清洁组合物中具有改进的稳定性，尤其是改进的储存稳定性。在一个优选实施例中，本发明的 β -葡聚糖酶相比于已知的 β -葡聚糖酶具有改进的稳定性，特别是改进的储存稳定性，和同等或改进的洗涤性能。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0499] 在一些优选实施例中，颗粒或液体洗衣产品被这样配制，使得洗涤水具有从约5.5至约8的pH。在其他优选的实施例中，配制了颗粒或液体洗衣产品使得洗涤水具有的pH选自范围为约7.5至约13.5，进一步优选地，所述pH选自的范围为约8.5至约11.5，最优选地，所

述的pH选自的范围为约9.5至约10.5;进一步最优选地,pH 7.5或更高。用于将pH控制在推荐的使用水平的技术包括使用缓冲剂、碱、酸等,并且是本领域的普通技术人员熟知的。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0500] 酶组分重量基于总蛋白。除非另外指明,所有百分比和比率都是按重量计计算。除非另外指明,所有百分比和比率都是基于总组合物计算。在例示洗涤剂组合物中,通过按总组合物的重量计的纯酶表示酶水平并且除非另外说明,按总组合物的重量计表示洗涤剂成分。

[0501] 本发明的酶还应用于洗涤剂添加剂产品中。当例如,温度较低,例如温度为约40℃或更低,pH在6与8之间并且洗涤时间较短,例如低于30min时,包括本发明的 β -葡聚糖酶的洗涤剂添加剂产品适于包括在洗涤过程中。包含本发明的 β -葡聚糖酶的洗涤剂添加剂产品进一步理想地适合于包含在碱性洗涤过程中,例如当选择的pH在约7.5至约13.5的范围内时,选择的温度为约20℃至约75℃的范围,并且洗涤时间短,例如低于30min,例如至少15分钟。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。可替代地,包含本发明的 β -葡聚糖酶的洗涤剂添加剂产品适用于家用餐具洗涤机的清洁,例如清洁过滤器上和机器的贮槽中的积聚残留物,优选清洁含有含 β -葡聚糖的纤维的残留物。这种机器清洁添加剂产品可能适合同时清洁其他残余物如脂肪或水垢。

[0502] 该洗涤剂添加剂产品可以是本发明的 β -葡聚糖酶并且优选是一种另外的酶。在一个实施例中,该添加剂被包装于剂型中用于添加至清洁过程中。单一剂量可以包括丸、片剂、囊形片(gelcap)或包括粉和/或液体的其他单一剂量单位。在一些实施例中,包括填充物和/或一种或多种载体材料,适合的填充物或载体材料包括但不限于,硫酸盐、碳酸盐和硅酸盐的各种盐以及滑石、粘土等。在一些实施例中,用于液体组合物的填充物和/或载体材料包括水和/或低分子量伯醇和仲醇(包括多元醇和二元醇)。此类醇的实例包括但不限于,甲醇、乙醇、丙醇以及异丙醇。

[0503] 在一个特别优选的实施例中,根据本发明的 β -葡聚糖酶被用于颗粒组合物或液体中,该 β -葡聚糖酶可以呈胶囊化粒子的形式。在一个实施例中,该胶囊化材料选自下组,该组由以下组成:碳水化合物、天然或合成胶、甲壳素和壳聚糖、纤维素和纤维素衍生物、硅酸盐、磷酸盐、硼酸盐、聚乙烯醇、聚乙二醇、石蜡及其组合。

[0504] 根据本发明的组合物典型地包括一种或多种洗涤剂成分。术语洗涤剂组合物包括物品和清洁及处理组合物。除非另外指明,术语清洁组合物包括片剂,颗粒状或粉状的全效或“重垢”洗涤剂,尤其是衣物洗涤剂;液体、凝胶或糊状的全效洗涤剂,尤其是所谓的重垢液类型;液体精细织物洗涤剂;手动餐具洗涤剂或轻垢餐具洗涤剂,尤其是高起泡类型的那些;机器餐具洗涤剂,包括用于供家庭和公共机构使用的不同的片剂、颗粒、凝胶形式、液体和漂洗助剂类型;该组合物还可以处于单位剂量包装中,包括本领域已知的那些以及水可溶、水不可溶和/或水可渗透的那些。这些可能涵盖单室袋和多室袋。

[0505] 在清洁和/或洗涤剂组分可能与本发明的 β -葡聚糖酶不相容的实施例中,可以使用适合方法来分离清洁和/或洗涤剂组分与该 β -葡聚糖酶(即,彼此不互相接触),直到组合两种组分适当时。此类分隔方法包括任何本领域中已知的适合方法(例如,软胶囊,包囊,片

剂,物理分隔,例如通过使用具有一个或多个隔室的水溶性小袋)。

[0506] 如上文当本发明的 β -葡聚糖酶用作去污剂组合物(例如洗衣洗涤去污剂组合物或洗碟去污剂组合物)的成分时所述的,其可例如以无尘颗粒、稳定化的液体或受保护的酶的形式包含于去污剂组合物。可以例如像披露于US4,106,991和4,661,452(两者都属于诺和工业公司(Novo Industri A/S))中,产生无尘颗粒并且可以通过本领域已知的方法任选地进行包衣。蜡状包衣材料的实例是平均分子量为1000至20000的聚乙二醇(PEG)产品;具有从16个到50个环氧乙烷单元的乙氧基化壬基酚;具有从12个至20个碳原子并且存在15个至80个环氧乙烷单元的乙氧基化脂肪族醇;脂肪醇;脂肪酸;以及脂肪酸的甘油单酯、甘油二酯、和甘油三酯。适用于通过流化床技术应用的成膜包衣材料的实例在GB 1483591中给出。

[0507] 在一些实施例中,在此利用的这些酶由存在于为这些酶提供此类离子的成品组合物中的锌(II)、钙(II)和/或镁(II)离子的水溶性来源,连同其他金属离子(例如,钡(II)、铈(II)、铁(II)、锰(II)、铝(III)、锡(II)、钴(II)、铜(II)、镍(II)以及氧钒(IV))稳定化。本发明的洗涤剂组合物的酶还可以使用常规稳定剂,如多元醇(例如,丙二醇或甘油)、糖或糖醇、乳酸来稳定化,并且可以如描述于例如WO 92/19709和WO 92/19708中配制该组合物。还可以通过添加可逆的酶抑制剂,例如,蛋白类型(如描述于EP 544 777中)或硼酸类型的可逆的酶抑制剂,来稳定本发明的酶。在优选的实施例中,该酶稳定剂是硼酸型,更优选地是4-甲酰基苯基硼酸。本发明的餐具洗涤组合物优选地不含硼酸和/或硼酸盐,其特别包含硼酸和硼酸盐,基于总组合物其量小于0.1wt.%,优选地小于0.01wt.%。

[0508] 其他酶稳定剂是本领域熟知的,例如肽醛和蛋白质水解物,例如可以使用肽醛或酮来稳定根据本发明的 β -葡聚糖酶,如描述于WO 2005/105826和WO 2009/118375中。

[0509] 如以上提及的,可以根据披露于EP 238 216中的方法制备包含在本发明的洗涤剂组合物中的受保护的酶。

[0510] 可以用一种或多种试剂来扩充该组合物,用于预防生物膜的形成或去除形成的生物膜。这些试剂可以包括但不限于,分散剂、表面活性剂、洗涤剂、其他酶、抗微生物剂以及杀生物剂。

[0511] 本发明的组合物可以被应用于待用于自动定量装置中的定量元件中。包含本发明的组合物的定量元件可以放入在WO 2007/052004和WO 2007/0833141或WO 2011/051420、WO 2011/051415、WO 2011/051416、WO 2011/051417、WO 2011/051418、WO 2011/120546和WO 2011/131260中所描述的递送筒。定量元件可以有长形的形状,并且排成形成递送筒的阵列,该递送筒是如在案例WO 2007/051989所述的自动定量分配装置的替换物。递送筒被放置在自动定量递送装置中,例如WO 2008/053191中所述的装置。

[0512] 关于自动定量装置的适合的披露内容可以见于WO 2007/083139、WO 2007/051989、WO 2007/083141、WO 2007/083142和EP 2361964。

[0513] 其他酶

[0514] 在一个实施例中,将本发明的 β -葡聚糖酶与一种或多种酶,例如至少两种酶,更优选是至少三种、四种或五种酶组合。优选地,这些酶具有不同的底物特异性,例如蛋白质分解活性、淀粉分解活性、脂质分解活性、溶半纤维活性或溶果胶活性。一个实施例是包含本发明的 β -葡聚糖酶多肽和一种或多种淀粉酶(和/或一种或多种蛋白酶)的清洁或洗涤剂组合物。

[0515] 洗涤剂添加剂和洗涤剂组合物可以包括一种或多种酶,如蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、糖酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木聚糖酶、氧化酶(例如,漆酶)和/或过氧化物酶。

[0516] 一般而言,一种或多种所选酶的特性应与选定的洗涤剂相容(即,最适pH,与其他酶和非酶成分的相容性,等等),并且该一种或多种酶应以有效量存在。

[0517] 纤维素酶:适合的纤维素酶包括动物、植物或微生物来源的那些。特别适合的纤维素酶包括细菌或真菌来源的那些。包括经化学修饰的或蛋白质工程化的变体。适合的纤维素酶包括来自芽孢杆菌属、假单胞菌属、腐质霉属、镰孢属、梭孢壳菌属、支顶孢属的纤维素酶,例如披露于US 4,435,307、US 5,648,263、US 5,691,178、US 5,776,757以及WO 89/09259中的由特异腐质霉、嗜热毁丝霉和尖孢镰孢属产生的真菌纤维素酶。

[0518] 尤其适合的纤维素酶是具有颜色护理益处的碱性或中性纤维素酶。这类纤维素酶的实例是在EP 0 495 257、EP 0 531 372、WO 96/11262、WO 96/29397、WO 98/08940中描述的纤维素酶。其他实例是例如描述于WO 94/07998、EP 0 531 315、US 5,457,046、US 5,686,593、US 5,763,254、WO 95/24471、WO 98/12307以及WO 1999/001544中的那些纤维素酶变体。

[0519] 可商购的纤维素酶包括 **Celluzyme®**、和 **Carezyme®** (诺维信公司 (Novozymes A/S))、**Clazinase®**、和 **Puradax HA®** (杰能科国际有限公司 (Genencor International Inc.))、以及 **KAC-500(B)®** (花王株式会社 (Kao Corporation))。

[0520] 蛋白酶:适合的蛋白酶包括细菌、真菌、植物、病毒或动物起源的那些,例如微生物或植物起源。优选微生物起源。包括经化学修饰的或蛋白质工程化的变体。它可以是碱性蛋白酶,例如丝氨酸蛋白酶或金属蛋白酶。丝氨酸蛋白酶可以例如是S1家族(如胰蛋白酶)或S8家族(如枯草杆菌蛋白酶)。金属蛋白酶可以例如是来自例如家族M4的嗜热菌蛋白酶或其他金属蛋白酶,如来自M5、M7或M8家族的那些。

[0521] 术语“枯草杆菌蛋白酶”是指根据Siezen等人,Protein Engng.[蛋白质工程]4(1991)719-737和Siezen等人,Protein Science[蛋白质科学]6(1997)501-523的丝氨酸蛋白酶亚组。丝氨酸蛋白酶是通过在活性位点具有与底物形成共价加合物的丝氨酸来表征的蛋白酶的一个亚组。枯草杆菌蛋白酶(subtilase)可以划分为6个亚部,即,枯草杆菌蛋白酶家族、嗜热蛋白酶(Thermitase)家族、蛋白酶K家族、羊毛硫氨酸抗生素肽酶(Lantibiotic peptidase)家族、Kexin家族和Pyrolysin家族。

[0522] 枯草杆菌酶的实例是来源于芽孢杆菌属的那些,例如描述于US 7262042和WO 09/021867中的迟缓芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌;和描述于WO 89/06279中的枯草杆菌蛋白酶lentus、枯草杆菌蛋白酶Novo、枯草杆菌蛋白酶Carlsberg、地衣芽孢杆菌、枯草杆菌蛋白酶BPN'、枯草杆菌蛋白酶309、枯草杆菌蛋白酶147和枯草杆菌蛋白酶168以及描述于(WO 93/18140)中的蛋白酶PD138。其他有用的蛋白酶可以是描述于WO 92/175177、WO 01/016285、WO 02/026024以及WO 02/016547中的那些。胰蛋白酶样蛋白酶的实例是胰蛋白酶(例如猪或牛来源的)和镰孢属蛋白酶(描述于WO 89/06270、WO 94/25583和WO 05/040372中)、以及来源于纤维单胞菌属(Cellulomonas)的糜蛋白酶(描述于WO 05/052161和WO 05/052146中)。

[0523] 进一步优选的蛋白酶是来自迟缓芽孢杆菌DSM 5483的碱性蛋白酶(如描述于例如WO 95/23221中)、及其变体(描述于WO 92/21760、WO 95/23221、EP 1921147以及EP 1921148中)。

[0524] 金属蛋白酶的实例是如描述于WO 07/044993(杰能科国际公司(Genencor Int.))中的中性金属蛋白酶,如来源于解淀粉芽孢杆菌的那些。

[0525] 有用的蛋白酶的实例是于以下中描述的变体:WO 92/19729、WO 96/034946、WO 98/20115、WO 98/20116、WO 99/011768、WO 01/44452、WO 03/006602、WO 04/03186、WO 04/041979、WO 07/006305、WO 11/036263、WO 11/036264,尤其是在以下位置中的一个或多个中具有取代的变体:3、4、9、15、27、36、57、68、76、87、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、106、118、120、123、128、129、130、160、167、170、194、195、199、205、206、217、218、222、224、232、235、236、245、248、252以及274,使用BPN^o进行编号。更优选地,这些蛋白酶变体可以包括以下突变:S3T、V4I、S9R、A15T、K27R、*36D、V68A、N76D、N87S、R、*97E、A98S、S99G、D、A、S99AD、S101G、M、R S103A、V104I、Y、N、S106A、G118V、R、H120D、N、N123S、S128L、P129Q、S130A、G160D、Y167A、R170S、A194P、G195E、V199M、V205I、L217D、N218D、M222S、A232V、K235L、Q236H、Q245R、N252K、T274A(使用BPN^o进行编号)。

[0526] 适合的可商购蛋白酶包括以下列商品名出售的那些: **Alcalase®**、**Duralase™**、**Durazym™**、**Relase®**、**Relase® Ultra**、**Savinase®**、**Savinase® Ultra**、**Primase®**、**Polarzyme®**、**Kannase®**、**Liquanase®**、**Liquanase® Ultra**、**Ovozyme®**、**Coronase®**、**Coronase® Ultra**、**Neutrase®**、**Everlase®**以及**Esperase®**(诺维信公司),以下列商品名出售的那些:**Maxatase®**、**Maxacal®**、**Maxapem®**、**Purafect®**、**Purafect Prime®**、**Preferenz™**、**Purafect MA®**、**Purafect Ox®**、**Purafect OxP®**、**Puramax®**、**Properase®**、**Effectenz™**、**FN2®**、**FN3®**、**FN4®**、**Excellase®**、**Opticlean®**以及**Optimase®**(丹尼斯克/杜邦公司(Danisco/DuPont))、**Axapem™**(吉斯特布罗卡德斯公司(Gist-Brocades N.V.))、**BLAP**(序列示于US 5352604的图29中)及其变体(汉高股份(Henkel AG))以及来自花王株式会社(Kao)的**KAP**(嗜碱芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶)。

[0527] **脂肪酶**:适合的脂肪酶包括动物、植物或微生物来源的那些。特别适合的脂肪酶包括细菌或真菌来源的那些。包括经化学修饰的或蛋白质工程化的变体。有用的脂肪酶的实例包括来自腐质霉属(与嗜热霉属同义),例如来自如EP 258068和EP 305216中描述的疏棉状腐质霉(细毛嗜热霉)或来自如WO 96/13580中描述的特异腐质霉的脂肪酶;假单胞菌属脂肪酶,例如来自产碱假单胞菌或类产碱假单胞菌(EP 218 272)、洋葱假单胞菌(EP 331 376)、施氏假单胞菌(GB 1,372,034)、萤光假单胞菌、假单胞菌属物种菌株SD 705(WO 95/06720和WO 96/27002)、威斯康星假单胞菌(WO 96/12012);芽孢杆菌属脂肪酶,例如来自枯草芽孢杆菌(Dartois等人,1993,Biochemica et Biophysica Acta[生物化学与生物物理学报],1131:253-360),嗜热脂肪芽孢杆菌(JP 64/744992)或短小芽孢杆菌(WO 91/16422)。

[0528] 脂肪酶变体的其他实例如在WO 92/05249、WO 94/01541、EP 407 225、EP 260

105、WO 95/35381、WO 96/00292、WO 95/30744、WO 94/25578、WO 95/14783、WO 95/22615、WO 97/04079以及WO 97/07202中描述的那些。

[0529] 优选的市场上可买到的脂肪酶包括LipolaseTM、Lipolase UltraTM和LipexTM (Novozymes A/S[诺维信公司])。

[0530] 淀粉酶:可以与本发明的 β -葡聚糖酶一起使用的适合的淀粉酶可以是 α -淀粉酶或葡糖淀粉酶并且可以具有细菌或真菌来源。包括经化学修饰的或蛋白质工程化的变体。淀粉酶包括例如获得自芽孢杆菌属的 α -淀粉酶,例如GB 1,296,839中更详细描述的地衣芽孢杆菌具体株系的 α -淀粉酶。适合的淀粉酶包括具有在WO 95/10603中的SEQ ID NO:3的淀粉酶或其与SEQ ID NO:3具有90%序列一致性的变体。优选的变体描述于WO 94/02597、WO 94/18314、WO 97/43424以及WO 99/019467的SEQ ID NO:4中,如在以下位置中的一个或多个处具有取代的变体:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408以及444。不同的适合的淀粉酶包括具有WO 02/010355中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90%序列一致性的变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在位置181和182中具有缺失并且在位置193中具有取代的那些。其他适合的淀粉酶是包括示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中的来源于解淀粉芽孢杆菌的 α -淀粉酶的残基1-33和示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:4中的地衣芽孢杆菌 α -淀粉酶的残基36-483的杂合 α -淀粉酶或其具有90%序列一致性的变体。这种杂合 α -淀粉酶的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:G48、T49、G107、H156、A181、N190、M197、I201、A209以及Q264。包括示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中的来源于解淀粉芽孢杆菌的 α -淀粉酶的残基1-33和SEQ ID NO:4的残基36-483的杂合 α -淀粉酶的最优选变体是具有以下取代的那些:

[0531] M197T;

[0532] H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S;或

[0533] G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S。

[0534] 另外的适合的淀粉酶是具有在WO 99/019467中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90%序列一致性的变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:R181、G182、H183、G184、N195、I206、E212、E216和K269。特别优选的淀粉酶是在位置R181和G182或位置H183和G184中具有缺失的那些。可以使用的另外的淀粉酶是具有WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的那些或与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:7具有90%序列一致性的其变体。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:7的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:140、181、182、183、184、195、206、212、243、260、269、304以及476。更优选的变体是在位置181和182或位置183和184中具有缺失的那些。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的最优选的淀粉酶变体是在位置183和184中具有缺失并且在位置140、195、206、243、260、304以及476中的一个或多个中具有取代的那些。可以使用的其他淀粉酶是具有WO 08/153815中的SEQ ID NO:2、WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的淀粉酶或其与WO 08/153815的SEQ ID NO:2具有90%序列一致性或与WO 01/66712中的SEQ ID NO:10具有90%序列一致性的变体。WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:176、

177、178、179、190、201、207、211以及264。另外的适合的淀粉酶是具有WO 09/061380的SEQ ID NO:2的淀粉酶或与其与SEQ ID NO:2具有90%序列一致性的变体。SEQ ID NO:2的优选变体是具有C末端截短和/或在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些: Q87、Q98、S125、N128、T131、T165、K178、R180、S181、T182、G183、M201、F202、N225、S243、N272、N282、Y305、R309、D319、Q320、Q359、K444和G475。SEQ ID NO:2的更优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代: Q87E, R, Q98R, S125A, N128C, T131I, T165I, K178L, T182G, M201L, F202Y, N225E, R, N272E, R, S243Q, A, E, D, Y305R, R309A, Q320R, Q359E, K444E以及G475K, 和/或在位置R180和/或S181或T182和/或G183中具有缺失的那些。SEQ ID NO:2的最优选的淀粉酶变体是具有以下取代的那些:

[0535] N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;

[0536] N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;

[0537] S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K; 或

[0538] S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K, 其中这些变体是C-末端截短的并且任选地进一步包含在位置243处的取代和/或在位置180和/或位置181处的缺失。其他合适的淀粉酶是具有在WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的淀粉酶或与SEQ ID NO:12具有90%序列一致性的变体。优选的淀粉酶变体是在WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些: R28、R118、N174; R181、G182、D183、G184、G186、W189、N195、M202、Y298、N299、K302、S303、N306、R310、N314; R320、H324、E345、Y396、R400、W439、R444、N445、K446、Q449、R458、N471、N484。特别优选的淀粉酶包括具有D183和G184的缺失并且具有取代R118K、N195F、R320K及R458K的变体, 以及在选自下组的一个或多个位置中另外具有取代的变体: M9、G149、G182、G186、M202、T257、Y295、N299、M323、E345和A339, 最优选的是在所有这些位置中另外具有取代的变体。其他实例是淀粉酶变体, 例如在WO 2011/098531、WO 2013/001078和WO 2013/001087中描述的那些。可商购的淀粉酶是Duramyl™、Termamyl™、Fungamyl™、Stainzyme™、Stainzyme Plus™、Natalase™、Liquozyme X及BANTM (来自诺维信公司), 以及Rapidase™、Purastar™/Effectenz™、Powerase及Preferenz S100 (来自杰能科国际公司/杜邦 (Genencor International Inc./DuPont))。

[0539] 过氧化物酶/氧化酶: 适合的过氧化物酶/氧化酶包括植物、细菌或真菌来源的那些。包括经化学修饰的或蛋白质工程化的变体。有用的过氧化物酶的实例包括来自鬼伞属, 例如来自灰盖鬼伞的过氧化物酶, 及其变体, 如在WO 93/24618、WO 95/10602、以及WO 98/15257中描述的那些。

[0540] 可商购获得的过氧化物酶包括Guardzyme® (诺维信公司)。

[0541] 可以通过添加含有一种或多种酶的单独添加剂、或通过添加包含所有这些酶的组合添加剂而将洗涤剂酶包括在洗涤剂组合物中。本发明的洗涤剂添加剂, 即单独的或组合的添加剂, 可以配制成例如颗粒、液体、浆液等, 优选的洗涤剂添加剂剂型为颗粒, 特别是如上所述的无粉尘颗粒; 液体, 特别是稳定化液体; 或者浆液。

[0542] 表面活性剂

[0543] 典型地, 该洗涤剂组合物包括 (按该组合物的重量计, 例如按组合物的重量计的表面活性剂的总量) 一种或多种在以下范围内的表面活性剂: 0%至50%, 优选从2%至40%,

更优选从5%至35%，更优选从7%至30%，最优选从10%至25%，甚至最优选从15%至20%。在一个优选实施例中，该洗涤剂是液体或粉状洗涤剂，包括按重量计小于40%，优选小于30%，更优选小于25%，甚至更优选小于20%的表面活性剂。该组合物可以包括从1%至15%，优选从2%至12%、3%至10%，最优选从4%至8%，甚至最优选从4%至6%的一种或多种表面活性剂。该组合物可以包括从0.1%至15%，优选从0.2%至12%、30.5%至10%，最优选从41.0%至8.0%，甚至最优选从4%至6%的一种或多种表面活性剂（按组合物的重量计的表面活性剂的总量）。优选的表面活性剂是阴离子型表面活性剂，非离子型表面活性剂，阳离子型表面活性剂，两性离子型表面活性剂，两性表面活性剂或其混合物。优选地，该表面活性剂的主要部分是阴离子的。适合的阴离子表面活性剂在本领域是熟知的并且可以包括脂肪酸羧酸酯（肥皂），支链、直链和随机链烷基硫酸酯或脂肪醇硫酸酯或伯醇硫酸酯或烷基苯磺酸酯（例如LAS和LAB）或苯基链烷磺酸酯（phenylalknesulfonate）或烯基磺酸酯或烯基苯磺酸酯或烷基乙氧基硫酸酯或脂肪醇醚硫酸酯或 α -烯基磺酸酯或十二烯基/十四烯基（tetradecnyl）琥珀酸。阴离子表面活性剂可以被烷氧基化。该洗涤剂组合物还可以包括从1wt%至10wt%的非离子表面活性剂，优选从2wt%至8wt%，更优选从3wt%至7wt%，甚至更优选少于5wt%的非离子表面活性剂。适合的非离子表面活性剂在本领域是熟知的并且可以包括醇乙氧基化物、和/或烷基乙氧基化物、和/或烷基酚乙氧基化物、和/或葡糖酰胺（例如脂肪酸N-葡糖基N-甲基酰胺）、和/或烷基多聚葡糖苷和/或单-或二乙醇酰胺或脂肪酸酰胺。该洗涤剂组合物还可以包括从0wt%至10wt%的阳离子表面活性剂，优选从0.1wt%至8wt%，更优选从0.5wt%至7wt%，甚至更优选少于5wt%的阳离子表面活性剂。适合的阳离子表面活性剂在本领域是熟知的并且可以包括烷基季铵化合物、和/或烷基吡啶鎓化合物和/或烷基季磷化合物和/或烷基三元硫鎓化合物。该组合物优选包括在洗涤过程中于洗涤液中提供从100ppm至5,000ppm表面活性剂的量的表面活性剂。所述组合物当与水接触后典型地形成洗涤液，该洗涤液包括0.5g/L至10g/L洗涤剂组合物。许多适合的表面活性化合物是可获得的并且于文献中充分描述，例如由Schwartz、Perry和Berch描述于“Surface-Active Agents and Detergents[表面活性剂与洗涤剂]”，第I卷和第11卷中。

[0544] 本领域技术人员已知的所有非离子表面活性剂可以用作非离子表面活性剂。合适的非离子表面活性剂例如通式为 $R_0(G)_x$ 的烷基糖苷，其中R对应于具有主要直链或甲基支链的，特别是在2-位置处具有甲基支链的脂肪族基团，其具有8个至22个，优选地12个至18个碳原子，并且G是表示具有5个或6个碳原子的葡萄糖单元的符号，优选是葡萄糖。表示单糖苷和寡糖苷分布的寡聚化度x是1和10之间的任何数值；x优选是1.2至1.4。

[0545] 可以优选使用的另一类非离子表面活性剂（其可以用作唯一的非离子表面活性剂或与其他非离子表面活性剂组合使用）是烷氧基化的，优选乙氧基化或乙氧基化和丙氧基化的脂肪酸烷基酯，优选在烷基链中具有1个至4个碳原子。

[0546] 氧化胺类型的非离子表面活性剂，例如N-椰油烷基-N,N-二甲基氧化胺和N-牛油烷基-N,N-二羟基乙基氧化胺以及脂肪酸烷醇酰胺类型也可以是合适的。这些非离子表面活性剂的量优选不超过乙氧基化脂肪醇的量，特别是不超过其一半。其他合适的表面活性剂是聚羟基脂肪酸酰胺，也称为PHFA。

[0547] 低发泡非离子表面活性剂可以用作优选的表面活性剂。特别优选的是，清洁剂，优

选洗碗剂,特别是机器洗碗剂含有来自烷氧基化醇类的非离子表面活性剂。烷氧基化的,有利地是乙氧基化的,特别是优选具有8个至18个碳原子和平均每摩尔醇1至12摩尔环氧乙烷(EO)的伯醇(其中醇残基可以是直链或优选在2-位置处甲基支链的,或者可以在混合物中含有直链和甲基支链残基,例如通常存在于羰基合成醇基团中的那些)优选用作非离子表面活性剂。然而,特别优选地是具有12个至18个碳原子的天然来源(例如椰子油、棕榈油、牛油脂肪醇或油醇的)醇的线性基团和平均2摩尔至8摩尔EO/摩尔醇的醇乙氧基化物。优选的乙氧基化醇包括例如,具有3EO或4EO的C12-14醇、具有7EO的C9-11醇、具有3EO、5EO、7EO或8EO的C13-15醇、具有3EO、5EO或7EO的C12-18醇及其混合物,例如具有3EO的C12-14醇和具有5EO的C12-18醇的混合物。所指示的乙氧基化程度表示可以对应于特定产品的整数或分数的统计平均值。优选的醇乙氧基化物示出了限制的同系物分布(窄范围乙氧基化物,NRE)。除了这些非离子表面活性剂之外,还可以使用具有多于12EO的脂肪醇。这些的实例是具有14EO、25EO、30EO或40EO的牛油脂肪醇。

[0548] 具有高于室温的熔点的非离子表面活性剂是特别优选的。特别优选的是具有高于20℃的熔点,优选高于25℃,尤其优选地在25℃和60℃之间和特别是在26.6℃和43.3℃之间的熔点的非离子表面活性剂。

[0549] 优选使用的表面活性剂来自烷氧基化非离子表面活性剂,特别是乙氧基化伯醇。已经发现,包含根据本发明的多肽与非离子表面活性剂组合的餐具洗涤组合物令人惊讶地能够减少餐具洗涤机器内部,特别是在筛网上积聚的污垢。

[0550] 助洗剂

[0551] 助洗剂的主要作用在于从洗涤溶液中螯合二价金属离子(例如钙离子和镁离子),该洗涤溶液否则将与表面活性剂系统消极地相互作用。助洗剂还可有效从织物表面去除金属离子和无机污物,从而改进地去除微粒和饮料污渍。助洗剂也是一种碱度来源并且可以将洗涤水的pH缓冲至7.5以上,例如9.5至11的水平。缓冲能力也叫做储备碱度,并且应该优选大于4,例如,用于固体洗涤剂组合物中。

[0552] 本发明的洗涤剂组合物可以包括一种或多种洗涤剂助洗剂或助洗剂系统。许多适合的助洗剂系统描述于文献中,例如描述于Powdered Detergents[粉状洗涤剂],Surfactant science series[表面活性剂科学系列],第71卷,马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc)中。按主题组合物的重量计,助洗剂可以包括从0%至60%,优选从5%至45%,更优选从10%至40%,最优选从15%至35%,甚至更优选从20%至30%助洗剂。按主题组合物的重量计,该组合物可以包括从0%至15%,优选从1%至12%、2%至10%,最优选从3%至8%,甚至最优选从4%至6%的助洗剂。

[0553] 助洗剂尤其包括硅酸盐、碳酸盐和有机共助洗剂,尤其是一种或多种聚羧酸盐和/或一种或多种氨基羧酸盐。

[0554] 结晶层状硅酸盐可用于本文所述的试剂中。这样的清洁剂,优选餐具洗涤剂,特别是机器餐具洗涤剂各自基于这些试剂的总重量,优选地含有为0.1wt%至20wt%、优选0.2wt%至15wt%,特别是0.4wt%至10wt%的结晶层状硅酸盐的重量分数。

[0555] 其他助剂是碱性载体。碱性载体的有效实例包括碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐、碱金属碳酸氢盐、碱金属倍半碳酸盐、所述碱金属硅酸盐、碱金属硅酸盐和上述物质的混合物,其中在本发明的含义内优选可以使用碱金属碳酸盐,特别是碳酸钠或碳酸钾、碳酸氢钠

或倍半碳酸钠。然而,相应的钾类似物也可以用作钠盐的补充或完全替代。由于相比于其他的助洗剂物质,任选的碱金属氢氧化物与清洁剂的剩余成分,特别是餐具洗涤剂,优选地机器餐具洗涤剂的低化学相容性,将它们优选地仅以少量使用或不使用。

[0556] 助洗剂包括但不限于,聚磷酸盐的碱金属、铵和链烷醇铵盐(例如,三聚磷酸盐 STPP),碱金属硅酸盐,碱土金属和碱金属碳酸盐,铝硅酸盐助洗剂(例如,沸石)以及聚羧酸化合物,醚羟基聚羧酸酯,马来酸酐与乙烯或乙烯基甲基醚的共聚物,1,3,5-三羟基苯-2,4,6-三磺酸,和羧基甲氧基琥珀酸,聚乙酸的各种碱金属、铵和取代的铵盐(如乙二胺四乙酸和次氨基三乙酸),连同聚羧酸酯,如苯六甲酸、琥珀酸、柠檬酸、氧代二琥珀酸(oxydisuccinic acid)、聚马来酸、苯1,3,5-三羧酸、羧基甲氧基琥珀酸及其可溶盐。乙醇胺(MEA、DEA和TEA)也可以有助于液体洗涤剂中的缓冲能力。

[0557] 本发明的优选的餐具洗涤剂组合物是“无磷酸盐”。如本文所用,“无磷酸盐”是指所述组合物基本不含磷酸盐,其特别地是基于总组合物包含磷酸盐,其量小于0.1wt.%,优选小于0.01wt.%.在本文中使用的表述“磷酸盐”不包括下文所述的磷酸盐。

[0558] 一种或多种碳酸盐和/或一种或多种碳酸氢盐,优选一种或多种碱金属碳酸盐,特别优选碳酸钠以2wt%至50wt%,优选5wt%至40wt%,以及特别是7.5wt%至30wt%的量的使用(在每种情况下基于试剂,优选机器餐具洗涤剂的重量),是特别优选的。基于机器餐具洗涤剂重量,包含小于20wt%,特别是小于17wt%,优选小于13wt%,以及特别是小于9wt%的一种或多种碳酸盐和/或一种或多种碳酸氢盐,优选一种或多种碱金属碳酸盐,特别优选碳酸钠或碳酸钾的试剂是特别优选的。

[0559] 特别地,作为有机共助洗剂,应提及聚羧酸盐/多元羧酸、聚合聚羧酸盐、天冬氨酸、聚缩醛、糊精、其他有机共助洗剂和磷酸盐。这些物质类别在下文中描述。

[0560] 可用的有机助洗剂物质例如是可以以游离酸和/或其钠盐形式使用的多元羧酸,其中多元羧酸应理解为意指携带多于一个酸官能团的那些羧酸。这些包括例如柠檬酸、己二酸、琥珀酸、戊二酸、苹果酸、酒石酸、马来酸、富马酸、糖二酸、氨三乙酸(NTA)(其条件是如此类的使用不因生态学原因而不受欢迎)和它们的混合物。除了助洗作用之外,游离酸通常还具有作为酸化组分的性质,并且因此也用作设定较低和较温和的pH值的试剂。特别地,这里应该提及柠檬酸、琥珀酸、戊二酸、己二酸、葡萄糖酸和这些的任意混合物。

[0561] 已经证明在这些试剂中使用柠檬酸和/或柠檬酸盐对本文所述试剂的清洁和冲洗能力特别有利。因此优选的是清洁剂,优选餐具洗涤剂,特别优选机器餐具洗涤剂,其特征在于所述试剂含有柠檬酸或柠檬酸盐,并且该柠檬酸或柠檬酸盐的重量分数尤其是大于10wt%,优选大于15wt%,并且特别是20wt%至40wt%。

[0562] 氨基酸和/或其盐是另一类重要的无磷酸盐助洗剂。这类特别优选的代表是甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)或其盐、和谷氨酰胺二乙酸(GLDA)或其盐或乙二胺二乙酸(EDDS)或其盐。这些氨基酸或其盐的含量可以为例如0.1wt%至15wt%,优选0.5wt%至10wt%,以及特别是0.5wt%至6wt%。氨基酸及其盐可以与上述助洗剂一起使用,特别是与无磷酸盐助洗剂一起使用。

[0563] 合适的助洗剂还包括聚合物类聚羧酸盐;例如这些是聚丙烯酸或聚甲基丙烯酸的碱金属盐,例如具有500g/mol至70,000g/mol的相对摩尔质量的那些。合适的聚合物特别是聚丙烯酸酯,其优选具有2000g/mol至20,000g/mol的摩尔质量。由于其优异的溶解度,从该

组中优选具有摩尔质量2000g/mol至10,000g/mol,特别优选3000g/mol至5000g/mol的短链聚丙烯酸酯。

[0564] 在一个优选的实施例中,如果根据使用餐具洗涤组合物的国家的管辖范围允许,本发明的餐具洗涤组合物可包含膦酸盐,优选1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(HEDP)、乙二胺四(亚甲基膦酸)(EDTMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTMPA或DTPMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTPMP)、氨基三(亚甲基膦酸)(ATMP)。

[0565] 在一个可替代的实施例中,本发明的餐具洗涤组合物是如上所述无磷酸盐的并且不含矿石,只含有少量的膦酸盐。在一个优选的实施例中,该餐具洗涤组合物含有小于15mg/作业的磷,更优选小于10mg/作业的磷,最优选小于1mg/作业的磷。

[0566] 漂白剂

[0567] 本发明的洗涤剂组合物可以包括一种或多种漂白剂。具体而言,粉状洗涤剂可以包括一种或多种漂白剂。适合的漂白剂包括其他光漂白剂、预成型过酸、过氧化氢源、漂白活化剂、过氧化氢、漂白催化剂及其混合物。通常,当使用一种漂白剂时,本发明的组合物可以包括按主题清洁组合物的重量计从约0.1%至约50%或甚至从约0.1%至约25%的漂白剂。适合的漂白剂的实例包括:

[0568] (1) 其他光漂白剂,例如维生素K3;

[0569] (2) 预成型过酸:适合的预成型过酸包括但不限于选自下组的化合物,该组由以下组成:过氧羧酸及盐,过碳酸及盐,过亚氨酸(perimidic acid)及盐,过氧单硫酸及盐(例如过硫酸氢钾(Oxone)及其混合物。适合的过氧羧酸包括具有式R-(C=O)O-O-M的疏水性和亲水性过酸,其中R是烷基(任选是支链的),当该过酸是疏水性的,具有从6至14个碳原子或从8至12个碳原子,并且当该过酸是亲水性的,具有少于6个碳原子或甚至少于4个碳原子;并且M是平衡离子,例如钠、钾或氢;

[0570] (3) 过氧化氢源,例如无机过氧化氢合物盐,包括碱金属盐,如过硼酸盐(通常是一水合物或四水合物),过碳酸盐,过硫酸盐,过磷酸盐,过硅酸盐的钠盐及其混合物。在本发明的一个方面中,无机过氧化氢合物盐选自下组,该组由以下组成:过硼酸盐、过碳酸盐的钠盐及其混合物。当使用时,无机过氧化氢合物盐典型地以整体组合物的从0.05wt%至40wt%或1wt%至30wt%的量存在并且典型地被掺入进此类组合物中作为可以被包衣的结晶固体。适合的包衣包括:无机盐,例如碱金属硅酸盐、碳酸盐或硼酸盐或其混合物,或有机材料,例如水溶性或水分散性聚合物、蜡、油或脂肪皂。有用的漂白组合物描述于美国专利号5,576,282和6,306,812中;

[0571] (4) 具有R-(C=O)-L的漂白活化剂,其中R是烷基(任选是支链的),当该漂白活化剂是疏水性的,具有从6至14个碳原子或从8至12个碳原子,并且当该漂白活化剂是亲水性的,具有少于6个碳原子或甚至少于4个碳原子;并且L是离去基团。适合的离去基团的实例是苯甲酸及其衍生物-尤其是苯磺酸盐。适合的漂白活性剂包括十二烷酰基羟苯磺酸盐(dodecanoyl oxybenzene sulphonate)、癸酰基羟苯磺酸盐、癸酰基羟苯甲酸或其盐、3,5,5-三甲基己酰基羟苯磺酸盐、四乙酰基乙二胺(TAED)和壬酰基羟苯磺酸盐(NOBS)。适合的漂白活性剂还公开于W0 98/17767中。尽管可采用任何适合的漂白活性剂,但在本发明的一个方面中,本主题清洁组合物可以包括NOBS、TAED或其混合物;以及

[0572] (5) 能够接受来自过氧酸的氧原子并且将该氧原子转移至可氧化底物的漂白催化

剂描述于WO 2008/007319中。适合的漂白催化剂包括但不限于：亚胺盐阳离子和聚离子；亚胺两性离子；改性的胺；改性的氧化胺；N-磺酰基亚胺；N-磷酰基亚胺；N-酰基亚胺；噻二唑二氧化物；全氟亚胺；环状糖酮及其混合物。该漂白催化剂将典型地以按重量计从0.0005%至0.2%、从0.001%至0.1%或甚至从0.005%至0.05%的水平被包括在该洗涤剂组合物中。

[0573] 当存在时，基于该组合物，该过酸和/或漂白活化剂通常以从约0.1wt%至约60wt%、从约0.5wt%至约40wt%或甚至从约0.6wt%至约10wt%的量存在于该组合物中。可以将一种或多种疏水性过酸或其前体与一种或多种亲水性过酸或其前体组合使用。

[0574] 可以对过氧化氢源和过酸或漂白活化剂的量进行选择，以使得可用氧(来自过氧化物源)与过酸的摩尔比是从1:1至35:1，或甚至2:1至10:1。

[0575] 辅料

[0576] 分散剂-本发明的洗涤剂组合物还可以包含分散剂。具体而言，粉状洗涤剂可以包含分散剂。适合的水溶性有机材料包括均聚合或共聚合的酸或其盐，其中聚羧酸包括被不多于两个碳原子彼此分开的至少两个羧基。

[0577] 染料转移抑制剂-本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种染料转移抑制剂。适合的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮与N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮以及聚乙烯咪唑或其混合物。当存在于主题组合物中时，染料转移抑制剂可以按组合物重量计的以下水平存在：从约0.0001%至约10%、从约0.01%至约5%或甚至从约0.1%至约3%。

[0578] 荧光增白剂-本发明的洗涤剂组合物还将优选地包含另外的组分，这些组分可以给正清洁的物品着色，例如荧光增白剂或光学增亮剂。在本发明的组合物中可以使用适合用于在衣物洗涤剂组合物中使用的任何荧光增白剂。最常用的荧光增白剂是属于以下类别的那些：二氨基-磺酸衍生物、二芳基吡唑啉衍生物和二苯基-联苯乙烯基衍生物。

[0579] 优选的荧光增白剂是可从汽巴-嘉基股份有限公司(Ciba-Geigy AG)(巴塞尔，瑞士)获得的天来宝(Tinopal)DMS和天来宝CBS。天来宝DMS是4,4'-双-(2-吗啉基-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪二磺酸盐的二钠盐。天来宝CBS是2,2'-双-(苯基-苯乙烯基)二磺酸盐的二钠盐。

[0580] 还优选荧光增白剂，是可商购的Parawhite KX，由派拉蒙矿物与化学品公司(Paramount Minerals and Chemicals)，孟买，印度供应。

[0581] 适合在本发明中使用的其他荧光剂包括1-3-二芳基吡唑啉和7-烷氨基香豆素。

[0582] 适合的荧光增白剂水平包括从约0.01wt%、从0.05wt%、从约0.1wt%或甚至从约0.2wt%的较低水平至0.5wt%或甚至0.75wt%的较高水平。

[0583] 织物调色剂-本发明的洗涤剂组合物还可以包括织物调色剂，例如当配制在洗涤剂组合物中时，可以在织物与包括所述洗涤剂组合物的洗涤液体接触时沉积在所述织物上从而通过可见光吸收来改变所述织物色彩的染料或色素。荧光增白剂发射至少一些可见光。相比之下，因为它们吸收至少一部分可见光光谱，所以织物调色剂改变表面的色彩。适合的织物调色剂包括染料和染料-粘土轭合物，并且还可以包括色素。适合的染料包括小分子染料和聚合物染料。适合的小分子染料包括选自下组的小分子染料，该组由落入颜色索引(Colour Index)(C.I.)分类的以下染料组成：直接蓝、直接红、直接紫、酸性蓝、酸性红、

酸性紫、碱性蓝、碱性紫和碱性红、或其混合物,例如描述于WO 2005/03274、WO 2005/03275、WO 2005/03276以及EP 1 876226中。洗涤剂组合物优选包括从约0.00003wt%至约0.2wt%、从约0.00008wt%至约0.05wt%、或甚至从约0.0001wt%至约0.04wt%的织物调色剂。该组合物可以包括从0.0001wt%至0.2wt%的织物调色剂,当该组合物处于单位剂量袋的形式时,这可以是特别优选的。

[0584] 污物释放聚合物-本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种污物释放聚合物,这些污物释放聚合物帮助从织物,例如棉布和聚酯基织物上去除污物,特别是从聚酯基织物上去除疏水污物。污垢释放聚合物可以例如是基于非离子型或阴离子型对苯二甲酸的聚合物、聚乙烯基己内酰胺和相关共聚物、乙烯基接枝共聚物、聚酯聚酰胺,参见例如Powdered Detergents[粉末洗涤剂],Surfactant science series[表面活性剂科学系列]第71卷第7章,马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc.)。另一种类型的污垢释放聚合物是包括核心结构和连接至该核心结构的多个烷氧基化基团的两亲性烷氧基化油污清洁聚合物。芯结构可以包括如WO 2009/087523中详细描述的一个聚烯属烃亚胺结构或一个聚烷醇胺结构。此外,任意接枝共聚物是适合的污物释放聚合物。适合的接枝共聚物更详细地描述于WO 2007/138054、WO 2006/108856以及WO 2006/113314中。其他污物释放聚合物是取代的多糖结构,尤其是取代的纤维素结构,例如改性纤维素衍生物,例如EP 1 867 808或WO 2003/040279中描述的那些。适合的纤维素聚合物包括纤维素、纤维素醚、纤维素酯、纤维素酰胺及其混合物。适合的纤维素聚合物包括阴离子修饰的纤维素、非离子修饰的纤维素、阳离子修饰的纤维素、两性离子修饰的纤维素及其混合物。适合的纤维素聚合物包括甲基纤维素、羧甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、酯羧甲基纤维素及其混合物。

[0585] 抗再沉积剂-本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种抗再沉积剂,例如羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚环氧乙烷和/或聚乙二醇(PEG)、丙烯酸的均聚物、丙烯酸与马来酸的共聚物以及乙氧基化聚乙亚胺。以上在污垢释放聚合物下描述的基于纤维素的聚合物还可以用作抗再沉积剂。

[0586] 其他适合的辅料包括但不限于防缩剂、防皱剂、杀菌剂、粘合剂、载体、染料、酶稳定剂、织物柔软剂、填充剂、泡沫调节剂、助水溶剂、香料、色素、抑泡剂、溶剂、用于液体洗涤剂的结构化剂(structurants)和/或结构弹力剂。

[0587] 在一个方面中,该洗涤剂是一种压缩液体衣物洗涤剂组合物,包括:a)按该组合物的重量计,至少约10%,优选从20%至80%的表面活性剂,选自阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂、肥皂及其混合物;b)按该组合物的重量计,从约1%至约30%,优选从5%至30%的水;c)按该组合物的重量计,从约1%至约15%,优选从3%至10%的非氨基官能溶剂;以及d)按该组合物的重量计,从约5%至约20%的性能添加剂,选自螯合剂、污物释放聚合物、酶及其混合物;其中该压缩液体衣物洗涤剂组合物包括以下中的至少一项:

[0588] (i) 该表面活性剂的阴离子表面活性剂与非离子表面活性剂的重量比为从约1.5:1至约5:1,该表面活性剂包括按该组合物的重量计从约15%至约40%的阴离子表面活性剂并且包括按该组合物的重量计从约5%至约40%的肥皂;(ii) 按该组合物的重量计从约0.1%至约10%的促泡剂(suds boosting agent),选自促泡聚合物、阳离子表面活性剂、两性离子表面活性剂、氧化胺表面活性剂、两性表面活性剂及其混合物;以及(ii) (i) 和(ii)

两者。所有成分都描述于WO 2007/130562中。可用于这些洗涤剂配制品中的另外的聚合物描述于WO 2007/149806中。

[0589] 在另一个方面中,该洗涤剂是一种压缩颗粒状(粉状)洗涤剂,包括a)按该组合物的重量计,至少约10%,优选从15%至60%的表面活性剂,选自阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂、肥皂及其混合物;b)按该组合物的重量计,从约10%至80%,优选从20%至60%的助洗剂,其中该助洗剂可以是一种选自以下的助洗剂的混合物,i)磷酸盐助洗剂,优选少于20%,更优选少于10%,甚至更优选少于5%的总助洗剂是磷酸盐助洗剂;ii)沸石助洗剂,优选少于20%,更优选少于10%,甚至更优选少于5%的总助洗剂是沸石助洗剂;iii)柠檬酸盐,优选0至5%的总助洗剂是柠檬酸盐助洗剂;iv)聚羧酸盐,优选0至5%的总助洗剂是聚羧酸盐助洗剂;v)碳酸盐,优选0至30%的总助洗剂是碳酸盐助洗剂以及vi)硅酸钠,优选0至20%的总助洗剂是硅酸钠助洗剂;c)按该组合物的重量计,从约0%至25%的填充物,例如硫酸盐,按该组合物的重量计,优选从1%至15%,更优选从2%至10%,更优选从3%至5%的填充物;以及d)按该组合物的重量计,从约0.1%至20%的酶,按该组合物的重量计,优选从1%至15%,更优选从2%至10%的酶。

[0590] 对于洗涤剂配制者而言重要的污物和污渍由许多不同物质构成,已经开发具有不同底物特异性的一系列不同的酶用于在涉及衣物和硬表面清洁(例如餐具洗涤)两者中使用。认为这些酶提供酶洗涤益处,因为与不具有酶的同一过程相比,它们在其应用至其中的清洁过程中特异性地改进污渍去除。本领域中已知的去污酶包括以下酶,例如糖酶、淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶、纤维素酶、半纤维素酶、木聚糖酶、角质酶以及果胶酶。

[0591] 在本发明的一个优选方面中,本发明的 β -葡聚糖酶可以与至少两种酶组合。这些另外的酶详细描述于“其他酶”部分中,更优选是至少三种、四种或五种酶。优选地,这些酶具有不同的底物特异性,例如碳水化合物分解活性(carbohydrate activity)、蛋白质分解活性、淀粉分解活性、脂质分解活性、溶半纤维活性或溶果胶活性。酶组合可以例如是本发明的 β -葡聚糖酶与另一种去污酶,例如本发明的 β -葡聚糖酶和蛋白酶、本发明的 β -葡聚糖酶和丝氨酸蛋白酶、本发明的 β -葡聚糖酶和淀粉酶、本发明的 β -葡聚糖酶和纤维素酶、本发明的 β -葡聚糖酶和脂肪酶、本发明的 β -葡聚糖酶和角质酶、本发明的 β -葡聚糖酶和果胶酶或本发明的 β -葡聚糖酶和抗再沉积酶。更优选地,本发明的 β -葡聚糖酶与至少两种其他去污酶组合,例如本发明的 β -葡聚糖酶、脂肪酶和淀粉酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和淀粉酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和脂肪酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和果胶酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和半纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶和角质酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶和果胶酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶和角质酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶和纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶和半纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、脂肪酶和果胶酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、脂肪酶和角质酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、脂肪酶和纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、脂肪酶和半纤维素酶。甚至更优选地,本发明的 β -葡聚糖酶可以与至少三种其他去污酶组合,例如本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶及淀粉酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、淀粉酶及果胶酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、淀粉酶及角质酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、淀粉酶及纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、淀粉酶及半纤维素酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶、脂肪酶及果胶酶;或本发明的 β -葡聚糖酶、淀

粉酶、脂肪酶及角质酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶、脂肪酶及纤维素酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、淀粉酶、脂肪酶及半纤维素酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶及果胶酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶及角质酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶及纤维素酶；或本发明的 β -葡聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶及半纤维素酶。根据本发明的 β -葡聚糖酶可以与任何选自非穷尽性列表的酶组合，该列表包括：糖酶（例如淀粉酶）、半纤维素酶、果胶酶、纤维素酶、黄原胶酶或支链淀粉酶、肽酶、蛋白酶或脂肪酶。

[0592] 在一个优选实施例中，本发明的 β -葡聚糖酶与丝氨酸蛋白酶组合，例如S8家族蛋白酶，如 **Savinase®**。

[0593] 在本发明的另一个实施例中，本发明的 β -葡聚糖酶可以与一种或多种金属蛋白酶组合，例如M4金属蛋白酶，包括 **Neutrase®**或嗜热菌蛋白酶。此类组合可以进一步包含如上概述的其他洗涤剂酶的组合物。

[0594] 清洁过程或纺织品护理过程可以例如是洗衣过程、餐具洗涤过程或硬表面（如浴室瓷砖、地板、桌面、排水管、水槽以及脸盆）清洁。衣物洗涤过程可以例如是家用衣物洗涤，但是它也可以是工业衣物洗涤。此外，本发明涉及用于洗涤织物和/或衣物的过程，其中该过程包括用含有洗涤剂组合物和至少一种本发明的 β -葡聚糖酶的洗涤溶液处理织物。例如，可以在机器洗涤过程中或者在手动洗涤过程中进行清洁过程或纺织品保养过程。洗涤溶液可以例如是包含洗涤剂组合物的水洗溶液。

[0595] 经过洗涤、清洁的织物和/或衣物或者本发明的纺织品保养过程可以是常规的可洗涤衣物洗涤，例如家用洗涤。优选地，衣物洗涤的主要部分是衣物和织物，包括针织品、编织物、斜纹粗棉布、非编织物、毛毡、纱线、以及毛布巾。这些织物可以是纤维素基的，如天然纤维素，包括棉布、亚麻、亚麻布、黄麻、苧麻、剑麻或椰壳纤维；或者人造纤维素（例如，来源于木浆），包括纤维胶/人造丝、苧麻、醋酸纤维素纤维（三胞）、莱赛尔纤维（lyocell）或其共混物。这些织物还可以是非纤维素基的，如天然聚酰胺，包括羊毛、骆驼毛、羊绒、马海毛、兔毛或丝；或者合成聚合物，如尼龙、芳族聚酰胺、聚酯、丙烯酸、聚丙烯以及斯潘德克斯弹性纤维（spandex）/弹性纤维；或其共混物以及纤维素基和非纤维素基纤维的共混物。共混物的例子是棉和/或人造丝/纤维胶与一种或几种伴随材料的共混物，该伴随材料如羊毛、合成纤维（例如聚酰胺纤维、丙烯酸纤维、聚酯纤维、聚乙烯醇纤维、聚氯乙烯纤维、聚亚胺酯纤维、聚脲纤维、芳族聚酰胺纤维）以及含纤维素的纤维（例如人造丝/纤维胶、苧麻、亚麻/亚麻布、黄麻、醋酸纤维素纤维、莱赛尔纤维）。

[0596] 最近几年，人们对替换洗涤剂中的组分的兴趣逐渐增加，这源于用可再生生物组分如酶和多肽替换石油化学品而不损害洗涤性能。当洗涤剂组合物的组分改变新酶活性或新酶相比于常用洗涤剂酶（如蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶）具有替代和/或改进的特性时，需要新酶来实现与传统洗涤剂组合物比较时类似或改进的洗涤性能。

[0597] 典型的洗涤剂组合物包括除酶之外的各种组分，这些组分具有不同的作用，一些组分像表面活性剂降低洗涤剂的表面张力，这允许正清洁的污渍被提起和分散并随后被洗涤出来，其他组分像漂白系统通常通过氧化去除颜色并且许多漂白剂还具有强杀菌特性，并且用于消毒和灭菌。再其他组分像助洗剂和螯合剂例如通过从液体中去除金属离子来软化洗涤水。

[0598] 在一个具体实施例中,本发明涉及包括本发明的 β -葡聚糖酶的一种组合物在衣物或餐具洗涤中的用途,其中所述酶组合物进一步包括以下中的至少一种或多种:表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统或漂白组分。

[0599] 在本发明的一个优选实施例中,表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统和/或漂白组分的量相比于在未添加本发明的 β -葡聚糖酶情况下使用的表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统和/或漂白组分的量有所减小。优选地,作为表面活性剂、增效剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统和/或漂白组分的该至少一种组分以以下量存在:比在不添加本发明的 β -葡聚糖酶的情况下组分在系统中的量(如,此组分的常规的量)少1%,如少2%、如少3%、如少4%、如少5%、如少6%、如少7%、如少8%、如少9%、如少10%、如少15%、如少20%、如少25%、如少30%、如少35%、如少40%、如少45%、如少50%。在一个方面中,将本发明的 β -葡聚糖酶用于洗涤剂组合物中,其中所述组合物不含至少一种组分,该组分是一种表面活性剂、助洗剂、螯合剂或螯合试剂、漂白系统或漂白组分和/或聚合物。

[0600] 洗涤剂组合物

[0601] 在一个实施例中,本发明涉及洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含结合一种或多种另外的清洁组合物组分的本发明的酶。另外的组分的选择在普通技术人员技术内并且包括常规成分,包括以下列出的示例性、非限制性组分。

[0602] 对于纺织品护理,组分的选择可以包括以下考虑:有待清洁的纺织品的类型、污物的类型和/或程度、进行清洁时的温度以及洗涤剂产品的配制。尽管根据具体的功能性对以下提及的组分由通用标题进行分类,但是这并不被解释为限制,因为如将被普通技术人员所理解,一种组分可以包含另外的功能性。

[0603] 在一个实施例中,本发明涉及ADW(自动餐具洗涤)组合物,该组合物包括与一种或多种另外的ADW组合物组分相结合的本发明的酶。另外的组分的选择在普通技术人员技术内并且包括常规成分,包括以下列出的示例性、非限制性组分。

[0604] 表面活性剂

[0605] 洗涤剂组合物可以包含一种或多种表面活性剂,它们可以是阴离子的和/或阳离子的和/或非离子的和/或半极性的和/或兼性离子的,或其混合物。在具体实施例中,该洗涤剂组合物包括一种或多种非离子型表面活性剂和一种或多种阴离子表面活性剂的混合物。这种或这些表面活性剂典型地以按重量计从约0.1%至60%的水平存在,如约1%至约40%、或约3%至约20%、或约3%至约10%。基于所希望的清洁应用来选择这种或这些表面活性剂,并且这种或这些表面活性剂包括本领域中已知的任何常规表面活性剂。

[0606] 当包括在其中时,该洗涤剂通常将会含有按重量计约1%至约40%的阴离子表面活性剂,如约5%至约30%,包括从约5%至约15%,或从约15%至约20%,或从约20%至约25%的阴离子型表面活性剂。阴离子表面活性剂的非限制性实例包括硫酸盐和磺酸盐,具体地,直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐(BABS)、苯基链烷磺酸盐、 α -烯炔磺酸盐(AOS)、烯炔磺酸盐、链烯炔磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐(AS)(如十二烷基硫酸钠(SDS))、脂肪醇硫酸盐(FAS)、伯醇硫酸盐(PAS)、醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也被称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐)、仲链烷磺酸盐(SAS)、石蜡炔磺酸盐(PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、 α -磺酸基脂

肪酸甲酯(α -SFMe或SES)(包括甲酯磺酸盐(MES))、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸(DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸盐琥珀酸或脂肪酸盐(皂)的二酯和单酯及其组合。

[0607] 当被包括在其中时,该洗涤剂将通常含有按重量计从约1%至约40%的阳离子表面活性剂,例如从约0.5%至约30%,特别是从约1%至约20%、从约3%至约10%,如从约3%至约5%、从约8%至约12%或从约10%至约12%。阳离子表面活性剂的非限制性实例包括烷基二甲基乙醇季胺(ADMEAQ)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、二甲基二硬脂酰氯化铵(DSDMAC)、以及烷基苄基二甲基铵、烷基季铵化合物、烷氧基化季铵(AQA)化合物、酯季铵及其组合。

[0608] 当被包括在其中时,该洗涤剂将通常含有按重量计从约0.2%至约40%的非离子表面活性剂,例如从约0.5%至约30%,特别是从约1%至约20%、从约3%至约10%,如从约3%至约5%、从约8%至约12%或从约10%至约12%。非离子型表面活性剂的非限制性实例包括醇乙氧基化物(AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇(PFA)、烷氧基化的脂肪酸烷基酯(例如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯)、烷基酚乙氧基化物(APE)、壬基酚乙氧基化物(NPE)、烷基多糖苷(APG)、烷氧基化胺、脂肪酸单乙醇酰胺(FAM)、脂肪酸二乙醇酰胺(FADA)、乙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(EFAM)、丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(PFAM)、多羟基烷基脂肪酸酰胺、或葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物(葡糖酰胺(GA)、或脂肪酸葡糖酰胺(FAGA))、连同在SPAN和TWEEN商品名下可获得的产品、及其组合。

[0609] 当被包括在其中时,洗涤剂将通常包括按重量计从约0%至约40%的半极性表面活性剂。半极化表面活性剂的非限制性实例包括氧化胺(AO),如烷基二甲胺氧化物、N-(椰油烷基)-N,N-二甲胺氧化物和N-(牛油-烷基)-N,N-双(2-羟乙基)胺氧化物,及其组合。

[0610] 当被包括在其中时,洗涤剂将通常含有按重量计从约0%至约40%的兼性离子表面活性剂。兼性离子表面活性剂的非限制性实例包括甜菜碱,如烷基二甲基甜菜碱、磺基甜菜碱及其组合。

[0611] 助水溶剂

[0612] 助水溶剂是以下化合物,该化合物在水性溶液中溶解疏水化合物(或相反地,在非极性环境中的极性物质)。典型地,助水溶物具有亲水和疏水两种特征(所谓的两亲特性,如由表面活性剂已知的);然而,助水溶剂的分子结构一般不利于自发性自聚集,参见例如通过Hodgdon和Kaler(2007),Current Opinion in Colloid&Interface Science[胶体和界面科学新见]12:121-128的综述。助水溶物并不显示临界浓度,高于该浓度就会发生如对表面活性剂而言所发现的自聚集以及脂质形成胶束、薄层或其他很好地定义的中间相。相反,许多助水溶剂显示连续类型的聚集过程,在该过程中聚集物的大小随着浓度增加而增长。然而,许多助水溶剂改变了含有极性和非极性特征的物质的系统(包括水、油、表面活性剂、和聚合物的混合物)的相行为、稳定性、和胶体特性。助水溶剂常规在从药学、个人护理、食品到技术应用的各个产业中应用。助水溶剂在洗涤剂组合物中的使用允许例如更浓的表面活性剂配制品(如在通过去除水而压缩液体洗涤剂的过程中)而不引起不希望的现象,如相分离或高粘度。

[0613] 该洗涤剂可以含有按重量计0-10%,例如按重量计0-5%,例如约0.5%至约5%、或约3%至约5%的助水溶剂。可以利用本领域中已知的用于在洗涤剂中使用的任何助水溶

剂。助水溶剂的非限制性实例包括苯磺酸钠、对甲苯磺酸钠(STS)、二甲苯磺酸钠(SXS)、枯烯磺酸钠(SCS)、伞花炔磺酸钠、氧化胺、醇和聚乙二醇醚、羟基萘甲酸钠、羟基萘磺酸钠、乙基己基磺酸钠及其组合。

[0614] 助洗剂和共助洗剂

[0615] 该洗涤剂组合物可以包含按重量计约0-65%，例如约5%至约50%的洗涤剂助洗剂或共助洗剂、或其混合物。在餐具清洗洗涤剂中，助洗剂的水平典型地是40%-65%，特别是50%-65%。助洗剂和/或共助洗剂可以具体是形成具有Ca和Mg的水溶性络合物的螯合试剂。可以利用本领域中已知的用于在衣物/ADW/硬表面清洁洗涤剂中使用的任何助洗剂和/或共助洗剂。助洗剂的非限制性实例包括沸石、二磷酸盐(焦磷酸盐)、三磷酸盐例如三磷酸钠(STP或STPP)、碳酸盐例如碳酸钠、可溶性硅酸盐例如硅酸钠、层状硅酸盐(例如，来自赫斯特公司(Hoechst)的SKS-6)、乙醇胺例如2-氨基乙-1-醇(MEA)、二乙醇胺(DEA，也称为2,2'-亚氨基二乙-1-醇)、三乙醇胺(TEA，也称为2,2',2''-次氨基三乙-1-醇)、以及羧甲基菊粉(CMI)、及其组合。

[0616] 该洗涤剂组合物还可以含有按重量计0-50%，如约5%至约30%的洗涤剂共助洗剂。洗涤剂组合物可以只包括共助洗剂，或结合助洗剂，例如沸石助洗剂。共助洗剂的非限制性实例包括聚丙烯酸酯的均聚物或其共聚物，如聚(丙烯酸)(PAA)或共聚(丙烯酸/马来酸)(PAA/PMA)。另外的非限制性实例包括柠檬酸盐、螯合剂(如氨基羧酸盐、氨基多羧酸盐和磷酸盐)、以及烷基琥珀酸或烯基琥珀酸。另外的具体实例包括2,2',2''-次氨基三乙酸(NTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、亚氨基二丁二酸(IDS)、乙二胺-N,N'-二丁二酸(EDDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、谷氨酸-N,N'-二乙酸(GLDA)、1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(HEDP)、乙二胺四(亚甲基膦酸)(EDTMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTPMA或DTPMPA)、N-(2-羟乙基)亚氨基二乙酸(EDG)、天冬氨酸-N-单乙酸(ASMA)、天冬氨酸-N,N'-二乙酸(ASDA)、天冬氨酸-N-单丙酸(ASMP)、亚氨基二丁二酸(iminodisuccinic acid)(IDA)、N-(2-磺甲基)-天冬氨酸(SMAS)、N-(2-磺乙基)-天冬氨酸(SEAS)、N-(2-磺甲基)-谷氨酸(SMGL)、N-(2-磺乙基)-谷氨酸(SEGL)、N-甲基亚氨基二乙酸(MIDA)、 α -丙氨酸-N,N'-二乙酸(α -ALDA)、丝氨酸-N,N'-二乙酸(SEDA)、异丝氨酸-N,N'-二乙酸(ISDA)、苯丙氨酸-N,N'-二乙酸(PHDA)、邻氨基苯甲酸-N,N'-二乙酸(ANDA)、磺胺酸-N,N'-二乙酸(SLDA)、牛磺酸-N,N'-二乙酸(TUDA)以及磺甲基-N,N'-二乙酸(SMDA)、N-(2-羟乙基)-亚乙基二胺-N,N',N'-三乙酸盐(HEDTA)、二乙醇甘氨酸(DEG)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTPMP)、氨基三(亚甲基膦酸)(ATMP)及其组合和盐。其他示例性助洗剂和/或共助洗剂描述于例如WO 09/102854、US 5977053中。

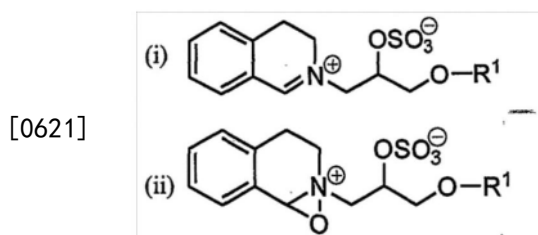
[0617] 漂白系统

[0618] 洗涤剂可以含有按重量计0-30%，如大约1%至大约20%的漂白系统。可以利用本领域中已知的用于在衣物/ADW/硬表面清洁洗涤剂中使用的任何漂白系统。适合的漂白系统组分包括漂白催化剂、光漂白剂、漂白活化剂、过氧化氢源如过碳酸钠、过硼酸钠和过氧化氢-尿素(1:1)、预成型过酸及其混合物。适合的预成型过酸包括但不限于过氧羧酸及盐、二过氧二羧酸、过亚氨酸(perimidic acid)及盐、过氧单硫酸及盐(例如过硫酸氢钾(Oxone(R))及其混合物。漂白系统的非限制性实例包括过氧化物基的漂白系统，这些系统可以包含例如与过酸形成漂白活化剂组合的无机盐，包括碱金属盐，如过硼酸盐(通常是单

水合物或四水合物)、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐、过硅酸盐的钠盐。术语漂白活化剂在此意指与过氧化氢反应以经由过水解反应形成过酸的化合物。以此方式形成的过酸构成活化的漂白剂。在此将使用的适合漂白活化剂包括属于酯酰胺、酰亚胺或酸酐类别的那些。适合的实例是四乙酰乙二胺(TAED)、4-[(3,5,5-三甲基己酰基)氧基]苯-1-磺酸钠(ISONOBS)、4-(十二酰基氧基)苯-1-磺酸盐(LOBS)、4-(癸酰基氧基)苯-1-磺酸盐、4-(癸酰基氧基)苯甲酸盐(DOBS或DOBA)、4-(壬酰基氧基)苯-1-磺酸盐(NOBS)和/或披露于WO 98/17767中的那些。

[0619] 也可以使用常规漂白活化剂的组合。这些漂白活化剂在各种情况下基于含漂白活化剂的试剂的总重量计优选以至多10wt%，特别是0.1wt%至8wt%，特别是2wt%至8wt%以及特别优选2wt%至6wt%的量使用。

[0620] 感兴趣的漂白活化剂的具体家族披露于EP 624154中并且该家族中特别优选的是乙酰柠檬酸三乙酯(ATC)。ATC或短链甘油三酸酯(像三醋汀)具有以下优点，它是环境友好的。此外，乙酰柠檬酸三乙酯和三醋汀在存储时在产品中具有良好的水解稳定性，并且是一种有效的漂白活化剂。最后，ATC是多功能的，因为在过水解反应中释放的柠檬酸盐可以作为助洗剂起作用。可替代地，漂白系统可以包含例如酰胺、酰亚胺或胍型的过氧酸。漂白系统还可以包含过酸，如6-(苯二甲酰亚氨基)过己酸(PAP)。该漂白系统还可以包括漂白催化剂。在一些实施例中，漂白组分可以是选自下组的有机催化剂，该组由以下组成：具有下式的有机催化剂：



[0622] (iii) 及其混合物；

[0623] 其中每个R¹独立地是含有从9至24个碳的支链烷基基团或含有从11至24个碳的直链烷基基团，优选地每个R¹独立地是含有从9至18个碳的支链烷基基团或含有从11至18个碳的直链烷基基团，更优选地每个R¹独立地选自下组，该组由以下组成：2-丙基庚基、2-丁基辛基、2-戊基壬基、2-己基癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、十八烷基、异壬基、异癸基、异十三烷基以及异十五烷基。其他示例性漂白系统描述于例如WO 2007/087258、WO 2007/087244、WO 2007/087259、EP 1867708 (维生素K) 以及WO 2007/087242中。适合的光漂白剂可以例如是磺化的酞菁锌或酞菁铝。

[0624] 优选地，除了漂白催化剂、特别是有机漂白催化剂以外，漂白组分还包含过酸源。

[0625] 在一个优选的实施例中，该餐具洗涤组合物，特别是机器餐具洗涤组合物，尤其是固体自动餐具洗涤组合物可以进一步含有漂白催化剂。可用的漂白催化剂包括但不限于漂白促进过渡金属盐和过渡金属络合物的组，优选Mn、Fe、Co、Ru或Mo络合物，特别优选地选自锰和/或钴盐和/或络合物的组，特别是钴(氨络物)络合物、钴(乙酸盐)络合物、钴(羧基)络合物、钴或锰的氯化物、硫酸锰以及锰与1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Mn3-TACN)或1,2,4,7-四甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Mn4-TACN)的络合物。

[0626] 一种清洁组合物，优选餐具洗涤组合物，特别是机器餐具洗涤组合物，其含有

0.001wt%至1wt%，优选0.01wt%至0.1wt%的漂白催化剂，优选Mn络合物，特别是锰与1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Mn3-TACN)或1,2,4,7-四甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Mn4-TACN)的络合物。

[0627] 过酸源可以选自(a)预成形的过酸；(b)过碳酸盐、过硼酸盐或过硫酸盐(过氧化氢源)，优选与一种漂白活化剂组合；和(c)过水解酶以及酯，用于在纺织品或硬表面处理步骤中在水的存在下原位形成过酸。

[0628] 聚合物

[0629] 洗涤剂可以含有按重量计0-10%，例如0.5%-5%、2%-5%、0.5%-2%或0.2%-1%的聚合物。可以利用本领域中已知的用于在洗涤剂中使用的任何聚合物。该聚合物可以作为如上文提到的共助洗剂起作用，或可以提供抗再沉积、纤维保护、污垢释放、染料转移抑制、油污清洁和/或抑泡特性。一些聚合物可以具有多于一种的上文提到的特性和/或多于一种的下文提到的基序(motif)。示例性聚合物包括(羧甲基)纤维素(CMC)、聚(乙烯醇)(PVA)、聚(乙烯吡咯烷酮)(PVP)、聚(乙二醇)或聚(环氧乙烷)(PEG)、乙氧基化的聚(亚乙基亚胺)、羧甲基菊粉(CMI)、和聚羧化物，例如PAA、PAA/PMA、聚-天冬氨酸、和甲基丙烯酸月桂酯/丙烯酸共聚物、疏水修饰CMC(HM-CMC)和硅酮、对苯二甲酸和低聚乙二醇的共聚物、聚(对苯二甲酸乙二醇酯)和聚(氧乙烯对苯二甲酸乙二醇酯)的共聚物(PET-POET)、PVP、聚(乙烯基咪唑)(PVI)、聚(乙烯吡啶-N-氧化物)(PVP0或PVPN0)以及聚乙烯吡咯烷酮-乙烯基咪唑(PVPVI)。另外的示例性聚合物包括磺化的聚羧酸酯、聚环氧乙烷和聚环氧丙烷(PEO-PP0)以及乙氧基硫酸二季铵盐。其他示例性聚合物披露于例如W0 2006/130575中。也考虑了以上提到的聚合物的盐。

[0630] 在一个优选的实施例中，本发明的组合物还包含一种或多种共聚合物类聚羧酸酯，特别是丙烯酸与甲基丙烯酸以及丙烯酸或甲基丙烯酸与马来酸的那些。

[0631] (共)聚合物类聚羧酸酯可以作为粉末或水溶液的使用。(共)聚合物类聚羧酸酯在清洁剂，优选餐具洗涤剂，特别是机器餐具洗涤剂中的含量优选为0.5wt%至20wt%，并且特别是3wt%至10wt%。

[0632] 为了提高溶解度，聚合物还可以含有烯丙基磺酸，如烯丙氧基苯磺酸和甲代烯丙基磺酸作为单体。进一步优选的共聚物是那些含有丙烯醛和丙烯酸/丙烯酸盐或丙烯醛和乙酸乙烯酯作为单体的共聚物。

[0633] 而且，能够与碱土离子形成络合物的所有化合物均可用作助洗剂。

[0634] 在本发明最优选的实施例中，本发明的餐具洗涤剂和清洁组合物另外包含含有至少一种含磺酸的单体即所谓的磺基聚合物的共聚物。

[0635] 在根据本发明产生的洗涤剂或清洁剂的总量中按重量计磺基聚合物的量优选地是按重量计0.1%至20%，特别是按重量计0.5%至18%，特别优选地是1.0%至15%，特别地按重量计4%至14%，尤其是按重量计6%至12%。

[0636] 该至少一种磺基聚合物的水溶液通常含有按重量计20%至70%，特别地按重量计30%至50%，特别是按重量计约35%至40%的一种或多种磺基聚合物。

[0637] 聚磺酸盐共聚物，任选疏水改性的聚磺酸盐共聚物，优选用作磺基聚合物。该共聚物可以含有2个、3个、4个或更多不同的单体单元。

[0638] 除了含磺酸基团的一种或多种单体之外，优选的聚磺酸盐共聚物还含有至少一种

来自不饱和羧酸基团的单体。

[0639] 该式 $R_1(R_2)C=C(R_3)COOH$ 的不饱和羧酸(其中 R_1 至 R_3 彼此独立地代表-H、-CH₃、具有2至12个碳原子的直链或支链饱和的烷基基团、具有2至12个碳原子的直链或支链单或多不饱和的烯基基团、-NH₂、-OH或-COOH-取代的烷基或烯基基团,如上所定义的,或代表-COOH或COOR₄,其中R₄是具有1至12个碳原子的饱和的或不饱和的直链或支链烷基)特别优选地用作一种或多种不饱和的羧酸。

[0640] 特别优选的不饱和羧酸包括丙烯酸、甲基丙烯酸、乙基丙烯酸、 α -氯丙烯酸、 α -氰基丙烯酸、巴豆酸、 α -苯基丙烯酸、马来酸、顺丁烯二酸酐、富马酸、衣康酸、柠康酸、亚甲基丙二酸、山梨酸、肉桂酸或其混合物。不饱和二羧酸当然也可以使用。

[0641] 含有磺酸基团的优选单体是具有下式的那些

[0642] $R_5(R_6)C=C(R_7)-X-SO_3H$,

[0643] 其中 R_5 至 R_7 彼此独立地代表-H、-CH₃、具有2至12个碳原子的直链或支链饱和的烷基基团、具有2至12个碳原子的直链或支链单或多不饱和的烯基基团、-NH₂、-OH或-COOH-取代的烷基或烯基基团或-COOH或-COOR₄,其中R₄是具有1至12个碳原子的饱和或不饱和的直链或支链烷基基团,并且X代表间隔基团,其是任选地存在的并且选自-(CH₂)_n- (其中n=0至4)、-COO-(CH₂)_k- (其中k=1至6)、-C(O)-NH-C(CH₃)₂-、-C(O)-NH-C(CH₃)₂-CH₂-和-C(O)-NH-CH(CH₃)-CH₂-。

[0644] 在这些单体中,优选的是具有下式的那些

[0645] $H_2C=CH-X-SO_3H$

[0646] $H_2C=C(CH_3)-X-SO_3H$

[0647] $HO_3S-X-(R_6)C=C(R_7)-X-SO_3H$,

[0648] 其中 R_6 和 R_7 彼此独立地选自H、CH₃、CH₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃和-CH(CH₃)₂,并且X代表间隔基团,其任选地存在并且选自-(CH₂)_n- (其中n=0至4)、COO-(CH₂)_k- (其中k=1至6)、-C(O)-NH-C(CH₃)₂-、-C(O)-NH-C(CH₃)₂-CH₂-和C(O)-NH-CH(CH₃)-CH₂-。

[0649] 特别优选的含有磺酸基团的单体包括1-丙烯酰胺基-1-丙磺酸、2-丙烯酰胺基-2-丙磺酸、2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸、2-甲基丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸、3-甲基丙烯酰胺基-2-羟基丙磺酸、烯丙基磺酸、甲代烯丙基磺酸、烯丙氧基苯磺酸、甲代烯丙氧基苯磺酸、2-羟基-3-(2-丙烯氧基)丙磺酸、2-甲基-2-丙烯-1-磺酸、苯乙烯磺酸、乙烯磺酸、丙烯酸-3-磺丙酯、3磺酸丙基甲基丙烯酸、磺甲基丙烯酰胺、磺甲基甲基丙烯酰胺以及上述酸或它们的水溶性盐的混合物。

[0650] 聚合物中的磺酸基团可全部或部分以中和形式存在,即在一些或全部磺酸基团中,磺酸基团中的酸性氢原子可被金属离子取代,优选碱金属离子和特别是钠离子。根据本发明优选使用含有部分或完全中和的磺酸基团的共聚物。

[0651] 根据本发明优选使用的共聚物中的单体分布是在共聚物中按重量计优选5%至95%,该共聚物仅含有包含羧酸基团的单体和包含磺酸基团的单体,尤其优选地包含磺酸基团的单体的量是按重量计50%至90%并且包含羧酸基团的单体的量是按重量计10%至50%并且此处的单体优选地选自上面列出的那些。

[0652] 根据本发明优选使用的磺基共聚物的分子量可以变化以将聚合物的性质调整至期望的预期目的。优选的清洁组合物的特征在于共聚物具有2000g/mol至200,000g/mol,

优选4000g/mol-1至25,000g/mol-1,以及特别是5000g/mol-1至15,000g/mol-1的分子量。

[0653] 在另一个优选的实施例中,除含有羧基基团的单体和含磺酸基团的单体外,该共聚物还包含至少一种非离子,优选疏水的单体。通过特别使用这些聚合物已经改进了根据本发明的自动餐具洗涤剂用洗涤剂的清洗漂洗性能。

[0654] 因此根据本发明优选包含含羧酸基团的单体、含磺酸基团的单体和非离子单体,特别是疏水单体的阴离子共聚物。

[0655] 优选地,具有通式 $R_1(R_2)C=C(R_3)-X-R_4$ 的单体(其中 R_1 至 R_3 彼此独立地代表-H、-CH₃或-C₂H₅,X代表间隔基团,其任选地存在并且选自-CH₂-、-C(O)O-和C(O)-NH-,并且 R_4 代表具有2至22个直链或支链饱和烷基基团或代表具有6至22个碳原子的不饱和的,优选芳香族的基团)被优选地用作非离子单体。

[0656] 尤其优选的非离子单体包括丁烯、异丁烯、戊烯、3-甲基丁烯、2-甲基丁烯、环戊烯、己烯、1-己烯、2-甲基-1-戊烯、3-甲基-1-戊烯、环己烯、甲基环戊烯、环庚烯、甲基环己烯、2,4,4-三甲基-1-戊烯、2,4,4-三甲基-2戊烯、2,3-二甲基-1-己烯、2,4-二甲基-1-己烯、2,5-二甲基-1-己烯、3,5-二甲基-1-己烯、4,4-二甲基-1-己烷、乙基环己炔、1-辛烯、具有10个或更多个碳原子的 α -烯烃,例如像1-癸烯、1-十二烯、1-十六烯、1-十八烯和C₂₂ α -烯烃、2-苯乙烯、 α -甲基苯乙烯、3-甲基苯乙烯、4-丙基苯乙烯、4-环己基苯乙烯、4-十二烷基苯乙烯、2-乙基-4-苄基苯乙烯、1-乙基萘、2-乙基萘、丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸丙酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸戊酯、丙烯酸己酯、甲代丙烯酸甲酯、N(甲基)丙烯酰胺、丙烯酸2-乙基己基酯、甲代丙烯酸2-乙基己基酯、N(2乙基己基)丙烯酰胺、丙烯酸辛酯、甲代丙烯酸辛酯、N(辛基)丙烯酰胺、丙烯酸月桂酯、甲代丙烯酸月桂酯、N(月桂基)丙烯酰胺、丙烯酸硬脂基酯、甲代丙烯酸硬脂基酯、N(硬脂基)丙烯酰胺、丙烯酸二十二酯、甲代丙烯酸二十二酯和N(二十二烷基)丙烯酰胺或其混合物。

[0657] 相对于含磺酸基团的单体,疏水性单体和含有羧酸基团的单体,根据本发明优选使用的疏水改性共聚物的单体分布优选为按重量计5%至80%;含磺酸基的单体和疏水性单体的量特别优选各自为按重量计5%至30%,并且包含羧酸基的单体的量为按重量计60%至80%;此处的单体优选地选自上面列出的那些。

[0658] 令人惊奇的是,已经发现本发明的多肽与包含含磺酸基团的单体(磺基聚合物)的共聚物在餐具洗涤组合物中的组合,优选自动餐具洗涤组合物具有几个优点。

[0659] 首先,所述组合物不但令人惊讶地更好地清洁盘子,在玻璃上示出较少的成膜,示出较少的石灰垢积累,在漂洗后示出优异的光泽并且在餐具上示出少的沉积物。这些组合物还减少了餐具洗涤剂内部尤其是筛网上的混合污垢的积聚。

[0660] 而且,该组合物含有特定的酶稳定剂。已经发现,包含本发明多肽的组合与包含含磺酸基团的单体(磺基聚合物)的共聚物组合示出对酶相关的污垢的更好的清洁性能。不拘于理论,这是由于组合物中的酶更好地稳定化。这尤其可以在液体或凝胶形式的餐具洗涤组合物中观察到。

[0661] 织物调色剂

[0662] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括织物调色剂,例如染料或色素,当配制在洗涤剂组合物中时,当所述织物与一种洗液接触时织物调色剂可以沉积在织物上,该洗液包含所述洗涤剂组合物,并且因此通过可见光的吸收/反射改变所述织物的色彩。荧光增白剂发

射至少一些可见光。相比之下,因为它们吸收至少一部分可见光光谱,所以织物调色剂改变表面的色彩。适合的织物调色剂包括染料和染料-粘土轭合物,并且还可以包括色素。适合的染料包括小分子染料和聚合物染料。适合的小分子染料包括选自下组的小分子染料,该组由落入颜色索引(Colour Index)(C.I.)分类的以下染料组成:直接蓝、直接红、直接紫、酸性蓝、酸性红、酸性紫、碱性蓝、碱性紫和碱性红或其混合物,例如如描述于W0 2005/03274、W0 2005/03275、W0 2005/03276和EP 1876226(通过引用并入本文)中。洗涤剂组合物优选包括从约0.00003wt%至约0.2wt%、从约0.00008wt%至约0.05wt%、或甚至从约0.0001wt%至约0.04wt%的织物调色剂。该组合物可以包括从0.0001wt%至0.2wt%的织物调色剂,当该组合物处于单位剂量袋的形式时,这可以是特别优选的。适合的调色剂还披露于例如W0 2007/087257和W0 2007/087243中。

[0663] 辅料

[0664] 还可以利用本领域中已知的用于在衣物/ADW/硬表面清洁洗涤剂中使用的任何洗涤剂组分。其他任选的洗涤剂组分包括防腐剂、防缩剂、抗污物再沉积剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、腐蚀抑制剂、崩解剂(disintegrant)/崩解试剂(disintegration agent)、染料、酶稳定剂(包括硼酸、硼酸盐、CMC和/或多元醇如丙二醇)、织物整理剂(包括粘土)、填充剂/加工助剂、荧光增白剂/光学增亮剂、增泡剂、泡沫(泡)调节剂、香料、污物助悬剂、软化剂、抑泡剂、晦暗抑制剂以及芯吸剂,单独或组合使用。可以利用本领域中已知的用于在衣物/ADW/硬表面清洁洗涤剂中使用的任何成分。此类成分的选择完全在普通技术人员的技术内。

[0665] 分散剂

[0666] 本发明的洗涤剂组合物还可以含有分散剂。具体而言,粉状洗涤剂可以包含分散剂。适合的水溶性有机材料包括均聚合或共聚合的酸或其盐,其中聚羧酸包括被不多于两个碳原子彼此分开的至少两个羧基。适合的分散剂例如描述于Powdered Detergents[粉状洗涤剂],Surfactant Science Series[表面活性剂科学系列],第71卷,马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc)。

[0667] 染料转移抑制剂

[0668] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种染料转移抑制剂。适合的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮与N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮以及聚乙烯咪唑或其混合物。当在主题组合物中存在时,染料转移抑制剂可以按该组合物的重量计以从约0.0001%至约10%、从约0.01%至约5%或甚至从约0.1%至约3%的水平存在。

[0669] 荧光增白剂

[0670] 本发明的洗涤剂组合物将优选地还含有另外的组分,这些组分可以给正在清洁的物品着色,如荧光增白剂或光学增亮剂。当存在时,该增亮剂优选以约0.01%至约0.5%的水平存在。在本发明的组合物中可以使用适合用于在衣物洗涤剂组合物中使用的任何荧光增白剂。最常用的荧光增白剂是属于以下类别的那些:二氨基芪-磺酸衍生物、二芳基吡啶衍生物和二苯基-联苯乙烯基衍生物。二氨基芪-磺酸衍生物类型的荧光增白剂的实例包括以下的钠盐:4,4'-双-(2-二乙醇氨基-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐、4,4'-双-(2,4-二苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐、4,4'-双-(2-苯胺基-4-

(N-甲基-N-2-羟基-乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐、4,4'-双-(4-苯基-1,2,3-三唑-2-基)芪-2,2'-二磺酸盐以及5-(2H-萘并[1,2-d][1,2,3]三唑-2-基)-2-[(E)-2-苯基乙烯基]苯磺酸钠。优选的荧光增白剂是可从汽巴-嘉基股份有限公司(Ciba-Geigy AG)(巴塞尔,瑞士)获得的天来宝(Tinopal)DMS和天来宝CBS。天来宝DMS是4,4'-双-(2-吗啉代-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐的二钠盐。天来宝CBS是2,2'-双-(苯基-苯乙烯基)-二磺酸盐的二钠盐。还优选荧光增白剂,是可商购的Parawhite KX,由派拉蒙矿物与化学品公司(Paramount Minerals and Chemicals),孟买,印度供应。适合在本发明中使用的其他荧光剂包括1-3-二芳基吡唑啉和7-烷氨基香豆素。

[0671] 适合的荧光增白剂水平包括从约0.01wt%、从0.05wt%、从约0.1wt%或甚至从约0.2wt%的较低水平至0.5wt%或甚至0.75wt%的较高水平。

[0672] 污垢释放聚合物

[0673] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种污垢释放聚合物,这些聚合物帮助从织物(如棉和基于聚酯的织物)去除污垢,特别是从基于聚酯的织物去除疏水性污垢。污垢释放聚合物可以例如是基于非离子型或阴离子型对苯二甲酸的聚合物、聚乙烯基己内酰胺和相关共聚物、乙烯基接枝共聚物、聚酯聚酰胺,参见例如Powdered Detergents[粉末洗涤剂],Surfactant science series[表面活性剂科学系列]第71卷第7章,马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc.)。另一种类型的污垢释放聚合物是包含核心结构和附接至该核心结构的多个烷氧基化基团的两亲性烷氧基化油污清洁聚合物。该核心结构可以包含聚烷基亚胺结构或聚烷醇胺结构,如WO 2009/087523中详细描述(将其通过引用而特此结合)。此外,随机接枝共聚物是适合的污垢释放聚合物。适合的接枝共聚物更详细地描述于WO 2007/138054、WO 2006/108856和WO 2006/113314中(将其通过引用结合在此)。其他污垢释放聚合物是取代的多糖结构,尤其是取代的纤维素结构,例如修饰的纤维素衍生物,例如EP 1867808或WO 2003/040279中描述的那些(将二者都通过引用而特此结合)。适合的纤维素聚合物包括纤维素、纤维素醚、纤维素酯、纤维素酰胺及其混合物。适合的纤维素聚合物包括阴离子修饰的纤维素、非离子修饰的纤维素、阳离子修饰的纤维素、两性离子修饰的纤维素及其混合物。适合的纤维素聚合物包括甲基纤维素、羧甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、酯羧甲基纤维素及其混合物。

[0674] 抗再沉积剂

[0675] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种抗再沉积剂,如羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚氧乙烯和/或聚乙二醇(PEG)、丙烯酸的均聚物、丙烯酸和马来酸的共聚物、和乙氧基化的聚乙亚胺。以上在污垢释放聚合物下描述的基于纤维素的聚合物还可以用作抗再沉积剂。

[0676] 流变改性剂

[0677] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种流变改性剂、结构剂或增稠剂,不同于降粘剂。流变改性剂选自下组,该组由以下组成:非聚合物结晶、羟基功能材料、聚合物流变改性剂,它们为液体洗涤剂组合物的水性液相基质赋予剪切稀化特征。可以通过本领域已知的方法修饰和调整洗涤剂的流变学和粘度,例如如在EP 2169040中所示。

[0678] 其他适合的辅料包括但不限于防缩剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、载体、染料、酶稳定剂、织物柔软剂、填充剂、泡沫调节剂、助水溶剂、香料、色素、抑泡剂、溶剂以及用于液

体洗涤剂的结构剂和/或结构弹性剂。

[0679] 洗涤方法

[0680] 本发明的洗涤剂组合物理想地适用于在洗衣应用中使用。因此，本发明包括一种洗涤织物的方法。该方法包括将有待洗涤的织物与包含根据本发明的洗涤剂组合物的清洁洗衣溶液接触的步骤。织物可以包括能够在常规消费者使用条件下被洗涤的任何织物。该溶液优选具有约5.5至约8的pH，进一步优选地选自约7.5至约13.5的范围、或约7.5至约12.5的范围、或约8.5至约11.5的范围、或者约9.5至约10.5、或者pH 7.5或以上的范围的pH。

[0681] 优选实施例涉及清洁方法，该方法包括以下步骤：在适合于清洁物体的条件下将该物体与包括本发明的 β -葡聚糖酶的高pH清洁组合物（例如，pH7.5或更高）接触。在优选实施例中，该清洁组合物用于衣物或餐具洗涤过程中。

[0682] 仍另一个实施例涉及用于从织物或餐具上去除污渍的方法，该方法包括在适合于清洁该物体的条件下将该织物或餐具与包括本发明的 β -葡聚糖酶的高pH清洁组合物（例如，pH 7.5或更高）接触。

[0683] 还考虑了使用本发明的清洁组合物处理织物（例如，使纺织品脱浆）的组合物和方法。可以在任何织物处理方法中使用高pH清洁组合物，这些方法在本领域是熟知的。

[0684] 在另一个实施例中，本发明的高pH清洁组合物适合用于在液体衣物洗涤和液体硬表面应用（包括餐具洗涤和汽车洗涤）中使用。因此，本发明包括用于洗涤织物或洗涤硬表面的方法。该方法包括使有待清洁的织物/餐具与包括根据本发明的高pH清洁组合物的溶液接触的步骤。织物可以包括能够在常规消费者使用条件下被洗涤的任何织物。硬表面可以包括任何餐具，如陶器、刀具、陶瓷、塑料（如三聚氰胺）、金属、瓷器、玻璃、丙烯酸树脂或其他硬表面（如汽车、地板等）。该溶液优选具有例如7.5或更高，例如从约9至约13.5的pH。

[0685] 可以在溶液中按以下浓度使用这些组合物：从约100ppm，优选500ppm至约15,000ppm。水温的范围典型地是从约5℃至约90℃，包括约10℃、约15℃、约20℃、约25℃、约30℃、约35℃、约40℃、约45℃、约50℃、约55℃、约60℃、约65℃、约70℃、约75℃、约80℃、约85℃以及约90℃。水与织物之比典型地是从约1:1至约30:1。

[0686] 在具体实施例中，在从约5.0至约11.5的pH进行该洗涤方法，或在替代性实施例中，甚至从约6至约10.5，例如约5至约11、约5至约10、约5至约9、约5至约8、约5至约7、约5.5至约11、约5.5至约10、约5.5至约9、约5.5至约8、约5.5至约7、约6至约11、约6至约10、约6至约9、约6至约8、约6至约7、约6.5至约11、约6.5至约10、约6.5至约9、约6.5至约8、约6.5至约7、约7至约11、约7至约10、约7至约9或约7至约8，优选约5.5至约9，并且更优选约6至约8。在优选的实施例中，该清洁方法在选自约7.5至约13.5的范围，或约7.5至约12.5的范围，或约8.5至约11.5的范围，或约9.5至约10.5的范围的pH，或pH 7.5或更高中进行。

[0687] 在一些优选实施例中，在此提供的这些高pH清洁组合物被典型地这样配制，使得用于水性清洁操作过程中，洗涤水具有以下pH：从约9至约13.5，或在替代性实施例中，或从约10至约13.5，甚至从约11至约13.5。在一些优选实施例中，液体衣物洗涤产品被配制成具有从约12至约13.5的pH。用于将pH控制在推荐的使用水平的技术包括使用缓冲剂、酸、碱等，并且是本领域的普通技术人员熟知的。在本发明的上下文中，使用碱将pH调节至约9至13.5，优选约10至13.5。

[0688] 在多个具体实施例中,在以下硬度下进行该洗涤方法:从约0°dH至约30°dH,例如约1°dH、约2°dH、约3°dH、约4°dH、约5°dH、约6°dH、约7°dH、约8°dH、约9°dH、约10°dH、约11°dH、约12°dH、约13°dH、约14°dH、约15°dH、约16°dH、约17°dH、约18°dH、约19°dH、约20°dH、约21°dH、约22°dH、约23°dH、约24°dH、约25°dH、约26°dH、约27°dH、约28°dH、约29°dH、约30°dH。在典型欧洲洗涤条件下,硬度是约15°dH,在典型美国洗涤条件下,是约6°dH,并且在典型亚洲洗涤条件下,是约3°dH。

[0689] 本发明涉及用包含本发明的 β -葡聚糖酶的洗涤剂组合物清洁织物、餐具或硬表面的方法。

[0690] 一个优选实施例涉及清洁方法,所述方法包括在适合于清洁物体的条件下将所述物体与包含本发明的 β -葡聚糖酶的清洁组合物接触的步骤。在一个优选实施例中,该清洁组合物是一种洗涤剂组合物并且该过程是一个洗衣或餐具洗涤过程。

[0691] 另一个实施例涉及一种用于从织物上去除污渍的方法,该方法包括在适合于清洁所述物体的条件下将所述织物与包含本发明的 β -葡聚糖酶的组合物接触。

[0692] 低温用途

[0693] 本发明的一个实施例涉及一种进行衣物洗涤、餐具洗涤或工业清洁的方法,该方法包括使有待清洁的表面与本发明的一种 β -葡聚糖酶接触,并且其中所述衣物洗涤、餐具洗涤、工业或机构清洁在约40°C或以下的温度进行。本发明的一个实施例涉及 β -葡聚糖酶在衣物洗涤、餐具洗涤或清洁过程中的用途,其中衣物洗涤、餐具洗涤、工业清洁中的温度是约40°C或以下。

[0694] 在另一个实施例中,本发明涉及根据本发明的 β -葡聚糖酶在去除 β -葡聚糖过程中的用途,其中除 β -葡聚糖过程中的温度是约40°C或以下。

[0695] 在以上确定的方法和用途的每一者中,洗涤温度是约40°C或以下,例如约39°C或以下、例如约38°C或以下、例如约37°C或以下、例如约36°C或以下、例如约35°C或以下、例如约34°C或以下、例如约33°C或以下、例如约32°C或以下、例如约31°C或以下、例如约30°C或以下、例如约29°C或以下、例如约28°C或以下、例如约27°C或以下、例如约26°C或以下、例如约25°C或以下、例如约24°C或以下、例如约23°C或以下、例如约22°C或以下、例如约21°C或以下、例如约20°C或以下、例如约19°C或以下、例如约18°C或以下、例如约17°C或以下、例如约16°C或以下、例如约15°C或以下、例如约14°C或以下、例如约13°C或以下、例如约12°C或以下、例如约11°C或以下、例如约10°C或以下、例如约9°C或以下、例如约8°C或以下、例如约7°C或以下、例如约6°C或以下、例如约5°C或以下、例如约4°C或以下、例如约3°C或以下、例如约2°C或以下、例如约1°C或以下。

[0696] 在另一个优选实施例中,洗涤温度在约5°C-40°C的范围内,例如约5°C-30°C、约5°C-20°C、约5°C-10°C、约10°C-40°C、约10°C-30°C、约10°C-20°C、约15°C-40°C、约15°C-30°C、约15°C-20°C、约20°C-40°C、约20°C-30°C、约25°C-40°C、约25°C-30°C或约30°C-40°C。在特别优选的实施例中,洗涤温度是约20°C、约30°C、或约40°C。

[0697] 高温用途

[0698] 本发明的一个实施例涉及一种进行衣物洗涤、餐具洗涤或工业清洁的方法,该方法包括使有待清洁的表面与本发明的一种 β -葡聚糖酶接触,并且其中所述衣物洗涤、餐具洗涤、工业或机构清洁在约75°C或以下的温度进行。本发明的一个实施例涉及 β -葡聚糖酶

在衣物洗涤、餐具洗涤或清洁过程中的用途,其中衣物洗涤、餐具洗涤、工业清洁中的温度是约70℃或以下。

[0699] 在另一个实施例中,本发明涉及根据本发明的 β -葡聚糖酶在除 β -葡聚糖过程中的用途,其中除 β -葡聚糖过程中的温度是约65℃或以下。

[0700] 在以上确定的方法和用途的每一者中,该洗涤温度是约60℃或以下,例如约59℃或以下,例如约58℃或以下,例如约57℃或以下,例如约56℃或以下,例如约55℃或以下,例如约54℃或以下,例如约53℃或以下,例如约52℃或以下,例如约51℃或以下,例如约50℃或以下,例如约49℃或以下,例如约48℃或以下,例如约47℃或以下,例如约46℃或以下,例如约45℃或以下,例如约44℃或以下,例如约43℃或以下,例如约42℃或以下,例如约41℃或以下。

[0701] 在另一个优选的实施例中,该洗涤温度是在约41℃-90℃的范围内,例如约41℃-80℃、约41℃-85℃、约41℃-80℃、约41℃-75℃、约41℃-70℃、约41℃-65℃、约41℃-60℃。

[0702] 使用一种或多种多肽或洗涤剂组合物减少或防止污垢再沉积的方法,该洗涤剂组合物包含本发明的一种或多种多肽

[0703] 本发明的一个实施例是一种使用洗涤剂组合物减少或防止污垢再沉积的方法,该洗涤剂组合物包含本发明的一种或多种多肽。

[0704] 在一个实施例中,该洗涤剂组合物进一步包括一种或多种选自下组的洗涤剂组分,该组包括表面活性剂、助洗剂、助水溶剂、漂白系统、聚合物、织物调色剂、辅料、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂以及污垢释放聚合物,或其任何混合物。该洗涤剂组合物可以处于以下形式:棒、均匀的片剂、具有两个或更多个层的片剂、具有一个或多个室的袋(该在一个或多个室含有一种或多种不同的相)、规则的或压缩的粉末、颗粒、膏、凝胶、或规则的、压缩的或浓缩的液体、在多室瓶中的两种或多种液体和/或凝胶且可以用于餐具洗涤或洗衣。

[0705] 在另一个实施例中,该洗涤剂组合物包括一种或多种选自下组的另外的酶,该组包括蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶以及甘露聚糖酶,或其任何混合物。

[0706] 在一个另外的实施例中,该洗涤剂组合物包括一种或多种选自下组的洗涤剂组分,该组包括表面活性剂、助洗剂、助水溶剂、漂白系统、聚合物、织物调色剂、辅料、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂以及污垢释放聚合物或其任何混合物,以及一种或多种选自下组的另外的酶,该组包括蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶以及甘露聚糖酶或其任何混合物。

[0707] 该方法可以包括以下步骤:

[0708] (a) 通过将该洗涤剂组合物溶解/混合于水中来提供洗涤液;

[0709] (b) 在该洗涤液中洗涤物品/织物/纺织品;

[0710] (c) 排掉该洗涤液并且任选地重复该洗涤循环;以及

[0711] (d) 冲洗并且任选地干燥物品/织物/纺织品。

[0712] 在优选的实施例中,该方法可以包括以下步骤:

- [0713] (1) 提供水并且冲洗物体
- [0714] (2) 任选地排出水并且提供新水
- [0715] (3) 将洗涤剂组合物投入水中以形成洗涤液
- [0716] (4) 搅动洗涤液,从而洗涤该物体,任选地加热液体
- [0717] (5) 排出该洗涤液
- [0718] (6) 任选地提供新水,冲洗该物体,并且排出该液体
- [0719] (7) 任选地提供新水,冲洗该物体,并且在该步骤期间,将任选的另外的试剂投入液体中,例如漂洗助剂,任选地加热液体,并且之后排出该液体。
- [0720] (8) 任选地让残余的液体从该物体上蒸发。
- [0721] 本发明的一个优选实施例是一种使用洗涤剂组合物减少污垢再沉积的方法,该洗涤剂组合物包括一种选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:
- [0722] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;
- [0723] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;
- [0724] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;
- [0725] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;以及
- [0726] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段。
- [0727] 本发明的一个优选实施例是一种使用洗涤剂组合物减少污垢再沉积的方法,该洗涤剂组合物包括一种选自下组的具有 β -葡聚糖酶活性的一种或多种多肽,该组由以下组成:
- [0728] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;
- [0729] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;
- [0730] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;
- [0731] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;以及
- [0732] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段;
- [0733] 其中所述清洁或洗涤剂组合物进一步包含:
- [0734] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0735] (ii) 一种或多种蛋白酶。

[0736] 本发明在下面各段中进行了进一步的定义：

[0737] 1. 一种具有 β -葡聚糖酶活性的多肽，该多肽选自下组，该组由以下组成：

[0738] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9；

[0739] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽：(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8，或(ii) (i)的全长互补体；

[0740] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8；

[0741] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9，其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入；以及

[0742] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段；

[0743] 优选地，所述 β -葡聚糖酶活性不是在纤维素的D-葡聚糖单元之间的 β -1,4键上的内切-纤维素活性。

[0744] 2. 如段落1所述的多肽，其与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。

[0745] 3. 如段落1或2中所述的多肽，其中多肽是由多核苷酸编码的，该多核苷酸在低严格条件下、低-中严格条件下、中严格条件下、中-高严格条件下、高严格条件下或非常高严格条件下与(i)选自下组的序列的成熟多肽编码序列，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、或(ii) (i)的全长互补体杂交。

[0746] 4. 如段落1-3中任一项所述的多肽，其被多核苷酸编码，该多核苷酸与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8。

[0747] 5. 如段落1-4中任一项所述的多肽，其包含或由以下组成：i) 选自下组的序列，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9；或ii) 选自下组的序列的成熟多肽，该组由以下组成：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。

[0748] 6.如段落5所述的多肽,其中该成熟多肽选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO:2的氨基酸1至351、SEQ ID NO:3的氨基酸1至351、SEQ ID NO:5的氨基酸1至245、SEQ ID NO:7的氨基酸1至222、SEQ ID NO:9的氨基酸1至214。

[0749] 7.如段落1-4中任一项所述的多肽,其是选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:i) SEQ ID NO:2;ii) SEQ ID NO:3;iii) SEQ ID NO:5;iv) SEQ ID NO:7;v) SEQ ID NO:9;其中所述变体在一个或多个位置处包含取代、缺失和/或插入。

[0750] 8.如段落1所述的多肽,其是选自下组的序列的片段,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中该片段具有 β -葡聚糖酶活性。

[0751] 9.如段落1-8中任一项所述的多肽,其中所述多肽能够在具有选自约7.5至约13.5的范围的pH的水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述pH选自约7.5至约12.5的范围,进一步优选地所述pH选自约8.5至约11.5的范围,最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围。

[0752] 10.如段落1-9中任一项所述的多肽,其中所述多肽能够在选自约20℃至约75℃的范围的温度在水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述温度选自约40℃至约60℃的范围。

[0753] 11.如段落9-10中任一项所述的多肽,其中所述多肽能够具有 β -葡聚糖酶活性持续至少15分钟,优选地持续30分钟。

[0754] 12.如段落1-11中任一项所述的多肽,其中所述 β -葡聚糖酶活性包含碱性 β -葡聚糖酶活性,其中所述碱性 β -葡聚糖酶活性是在pH 7.5或更高的 β -葡聚糖酶活性。

[0755] 13.如段落1-12中任一项所述的多肽,其中所述 β -葡聚糖酶活性包含地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性,优选地,所述 β -葡聚糖酶活性是地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。

[0756] 14.一种组合物,其包含一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽,优选地所述组合物不是餐具洗涤组合物。

[0757] 15.如段落14所述的组合物,其进一步包括一种或多种洗涤剂组分。

[0758] 16.如段落15所述的组合物,其中所述洗涤剂组合物选自下组,该组由以下组成:表面活性剂、助水溶剂、助洗剂、共助洗剂、螯合剂、漂白组分、聚合物、织物调色剂、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂、香料、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、污物释放聚合物、抗再沉积剂、酶抑制剂、酶稳定剂、酶激活剂、抗氧化剂、以及增溶剂。

[0759] 17.如段落14-16中任一项所述的组合物,其进一步包含一种或多种另外的酶,优选地所述一种或多种另外的酶是:

[0760] i) 一种或多种淀粉酶,进一步优选地,所述一种或多种淀粉酶是一种或多种 α -淀粉酶;或者

[0761] ii) 一种或多种蛋白酶;或者

[0762] iii) (i) 中的一种或多种淀粉酶和一种或多种蛋白酶。

[0763] 18.如段落14-17中任一项所述的组合物,其进一步包含选自下组的酶,该组由以下组成:DNA酶、过水解酶、淀粉酶、蛋白酶、过氧化物酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶、木葡聚糖酶、半纤维素酶、黄原胶酶、黄原胶裂解酶、脂肪酶、酰基转移酶、磷脂酶、酯酶、漆酶、过氧化

氢酶、芳基酯酶、淀粉酶、 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木质酶、角叉菜胶酶、普鲁兰酶、鞣酸酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、木葡聚糖酶、木聚糖酶、果胶乙酰酯酶、多半乳糖醛酸酶、鼠李半乳糖醛酸酶、其他内切- β -甘露聚糖酶、外切- β -甘露聚糖酶、果胶甲基酯酶、纤维二糖水解酶、转谷氨酰胺酶及其组合。

[0764] 19. 如段落14-18中任一项所述的组合物, 其中所述组合物具有7.5或更高的pH并且任选地包含漂白剂; 优选地, 所述pH选自约7.5至约13.5的范围, 进一步优选地, 所述pH选自约7.5至约12.5的范围, 最优选地, 所述pH选自约8.5至约11.5的范围, 进一步最优选地, 所述pH选自约9.5至约10.5的范围。

[0765] 20. 如段落14-19中任一项所述的组合物, 其中所述组合物在碱性条件下具有改进的稳定性和/或性能, 优选地所述碱性条件具有pH 7.5或更高。

[0766] 21. 如段落14-20中任一项所述的组合物, 其中所述组合物是清洁或洗涤剂组合物, 优选地, 所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0767] 22. 一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物用于降解 β -葡聚糖的用途, 优选地所述 β -葡聚糖是 β -D-葡聚糖, 进一步优选地, 所述 β -葡聚糖是 β -1,3-1,4葡聚糖, 最优选地, 所述 β -葡聚糖是混合键 β -葡聚糖, 进一步最优选地, 所述 β -葡聚糖是大麦 β -葡聚糖或燕麦粥(oatmeal) β -葡聚糖(例如, 来自煮熟的燕麦(oat)和/或来自煮熟且烧糊(burned-in)的燕麦和/或来自未煮熟的燕麦); 任选地, 所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0768] 23. 一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物用于洗涤或清洁纺织品和/或硬表面例如餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)的用途, 优选地所述洗涤或清洁是煮熟的燕麦和/或煮熟且烧糊的燕麦和/或未煮熟的燕麦的洗涤或清洁, 任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行, 优选地所述用途不是在餐具洗涤中的用途。

[0769] 24. 一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物在清洁过程例如洗衣或硬表面清洁包括餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)和工业清洁中的用途, 任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行, 优选地所述用途不是在餐具洗涤中的用途。

[0770] 25. 一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物用于洗衣和/或硬表面清洁包括餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)的用途, 其中所述多肽或所述组合物具有酶洗涤益处; 任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行, 优选地所述用途不是在餐具洗涤中的用途。

[0771] 26. 一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物用于如下中的至少一种的用途: 防止、减少或去除物品上的生物膜, 优选地从所述物品上减少或去除恶臭; 任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行, 优选地所述用途不是在餐具洗涤中的用途。

[0772] 27. 一种降解 β -葡聚糖的过程, 该过程包括将一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽或如段落14-21中任一项所述的组合物用于所述的 β -葡聚糖, 优选地所述 β -葡聚糖是 β -D-葡聚糖, 进一步优选地所述 β -葡聚糖是 β -1,3-1,4葡聚糖, 最优选地, 所述 β -葡聚糖

糖是混合键 β -葡聚糖,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖是大麦 β -葡聚糖或燕麦粥 β -葡聚糖(例如,来自煮熟的燕麦和/或来自煮熟的和烧糊的燕麦和/或未煮熟的燕麦);任选地,所述过程是在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行,优选地所述过程不是餐具洗涤过程。

[0773] 28.如段落27所述的过程,其中所述 β -葡聚糖不是在纺织品或硬表面的表面,例如餐具洗涤,优选地所述 β -葡聚糖来自煮熟的燕麦和/或煮熟的和烧糊的燕麦和/或来自未煮熟的燕麦。

[0774] 29.一种发酵液配制品或细胞培养组合物,其包含一种或多种如段落1-13中任一项所述的多肽。

[0775] 30.一种多核苷酸,其编码如段落1-13中任一项所述的多肽。

[0776] 31.一种核酸构建体或表达载体,其能够表达如段落30所述的多核苷酸,优选地所述核酸构建体或所述表达载体包含如段落30所述的多核苷酸,该多核苷酸可操作地连接至指导多肽在表达宿主内产生的一个或多个控制序列。

[0777] 32.一种重组宿主细胞,其包含如段落30所述的多核苷酸,优选地所述多核苷酸可操作地连接至指导多肽产生的一个或多个控制序列,进一步优选地,所述重组宿主细胞是分离的重组宿主细胞,进一步最优选地,所述重组宿主细胞是异源宿主细胞(例如,不是粘琼脂芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞,或不是芽孢杆菌属物种-62449宿主细胞的宿主细胞,或不是秋叶氏芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞,或不是莫哈韦芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞)。

[0778] 33.一种组合物,其包含以下中的至少一项:i)如段落30所述的多核苷酸;或ii)如段落31所述的核酸构建体;或iii)如段落31所述的表达载体。

[0779] 34.一种用于产生如段落1-13中任一项所述的多肽的方法,该方法包括:在有益于产生该多肽的条件下培养细胞,该细胞以其野生型形式产生该多肽。

[0780] 35.如段落34所述的方法,其进一步包括回收该多肽。

[0781] 36.一种用于产生具有 β -葡聚糖酶活性的多肽的方法,其包括:在有益于产生该多肽的条件下培养如段落32所述的宿主细胞。

[0782] 37.如段落36所述的方法,其进一步包括回收该多肽。

[0783] 38.一种转基因植物、植物部分或植物细胞,其用编码如段落1-13中任一项所述的多肽的多核苷酸转化。

[0784] 39.一种用于产生具有 β -葡聚糖酶活性的多肽的方法,其包括在有益于产生该多肽的条件下培养如段落38所述的转基因植物或植物细胞。

[0785] 40.如段落39所述的方法,其进一步包括回收该多肽。

[0786] 41.一种具有 β -葡聚糖酶活性的多肽,其中所述多肽选自下组,该组由以下组成:

[0787] (a)与选自下组的序列的成熟多肽具有至少89%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9;

[0788] (b)由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少89%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8。

[0789] 42.如段落41所述的多肽,其与选自下组的序列的成熟多肽具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID

NO:5、SEQ ID NO:9。

[0790] 43.如段落41-42中任一项所述的多肽,其中所述成熟多肽选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO:7的氨基酸1至222、SEQ ID NO:2的氨基酸1至351、SEQ ID NO:3的氨基酸1至351、SEQ ID NO:5的氨基酸1至245、SEQ ID NO:9的氨基酸1至214。

[0791] 44.如段落41-43中任一项所述的多肽,其中所述多肽能够:

[0792] i) 在具有选自约7.5至约13.5的范围的pH的水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性持续至少15分钟,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述pH选自约7.5至约12.5的范围,进一步优选地所述pH选自约8.5至约11.5的范围,最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围;和/或

[0793] ii) 在选自范围为约20℃至约75℃的温度在水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性持续15分钟,其中所述水溶液任选地包含漂白剂。

[0794] 45.如段落41-44中任一项所述的多肽,其中所述 β -葡聚糖酶活性包含地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。

[0795] 46.如段落45所述的多肽,其中所述 β -葡聚糖酶活性是地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。

[0796] 47.一种组合物,其包含一种或多种如段落41-46中任一项所述的多肽,优选地所述组合物不是餐具洗涤组合物。

[0797] 48.如段落47所述的组合物,其进一步包含:

[0798] i) 一种或多种洗涤剂组分;和/或

[0799] ii) 一种或多种另外的酶,优选地所述一种或多种另外的酶是:

[0800] a) 一种或多种淀粉酶,进一步优选地,所述一种或多种淀粉酶是一种或多种 α -淀粉酶;或者

[0801] b) 一种或多种蛋白酶;或者

[0802] c) (a)中的一种或多种淀粉酶和一种或多种蛋白酶。

[0803] 49.如段落47-48中任一项所述的组合物,其中所述组合物具有7.5或更高的pH并且任选地包含漂白剂;优选地,所述pH选自约7.5至约13.5的范围,进一步优选地,所述pH选自约7.5至约12.5的范围,最优选地,所述pH选自约8.5至约11.5的范围,进一步最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围。

[0804] 50.如段落47-49中任一项所述的组合物,其中所述组合物是清洁或洗涤剂组合物,优选地,所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0805] 51.一种或多种如段落41-46中任一项所述的多肽或如段落47-50中任一项所述的组合物在清洁过程例如洗衣或硬表面清洁包括餐具洗涤中的用途,任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0806] 52.一种发酵液配制品或细胞培养组合物,其包含一种或多种如段落41-46中任一项所述的多肽。

[0807] 53.一种多核苷酸,其编码一种或多种如段落41-46中任一项所述的多肽。

[0808] 54.一种核酸构建体或表达载体,其能够表达如段落53所述的多核苷酸,优选地所述核酸构建体或所述表达载体包含如段落53所述的多核苷酸,该多核苷酸可操作地连接至指导多肽在表达宿主内产生的一个或多个控制序列。

[0809] 55. 一种重组宿主细胞,其包含一种或多种如段落53所述的多核苷酸,优选地所述多核苷酸可操作地连接至指导多肽产生的一个或多个控制序列,进一步优选地,所述重组宿主细胞是分离的重组宿主细胞,进一步最优选地,所述重组宿主细胞是异源宿主细胞(例如,不是粘琼脂芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞,或不是芽孢杆菌属物种-62449宿主细胞的宿主细胞,或不是秋叶氏芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞,或不是莫哈韦芽孢杆菌宿主细胞的宿主细胞)。

[0810] 56. 一种清洁或洗涤剂组合物,其包含具有 β -葡聚糖酶活性的选自下组的一种或多种多肽,该组由以下组成:

[0811] (a) 与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;

[0812] (b) 由在低严格条件下与以下杂交的多核苷酸编码的多肽:(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8,或(ii) (i)的全长互补体;

[0813] (c) 由与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%序列一致性的多核苷酸编码的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8;

[0814] (d) 选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中所述变体在一个或多个位置处包括取代、缺失和/或插入;以及

[0815] (e) 具有 β -葡聚糖酶活性的(a)、(b)、(c)或(d)的多肽的片段;

[0816] 以及

[0817] (i) 一种或多种淀粉酶;和/或

[0818] (ii) 一种或多种蛋白酶,

[0819] 优选地所述具有 β -葡聚糖酶活性的多肽和所述一种或多种淀粉酶和/或一种或多种蛋白酶具有协同效应;进一步优选地,所述协同效应是REM协同效应,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约7.5时在约40℃约30分钟大于6.5,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.1,进一步最优选地,所述REM协同效应在pH约10时在约40℃约30分钟大于6.2,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖酶活性对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键没有内切纤维素酶活性;

[0820] 优选地,所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0821] 57. 如段落56所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽与选自下组的序列的成熟多肽具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。

[0822] 58. 如段落57或58所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽是由多核苷酸编码的,该多核苷酸在低严格条件下、低-中严格条件下、中严格条件下、中-高严格条件下、高严格条件下或非常高严格条件下与(i) 选自下组的序列的成熟多肽编码序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、或(ii) (i)的全长互补体杂交。

[0823] 59.如段落56-58中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽是由多核苷酸编码的,该多核苷酸与选自下组的序列的成熟多肽编码序列具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8。

[0824] 60.如段落56-59中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽包含以下或由其组成:i)选自下组的序列,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9;或ii)选自下组的序列的成熟多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9。

[0825] 61.如段落60所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述成熟多肽选自下组,该组由以下组成:i)SEQ ID NO:2的氨基酸1至351、ii)SEQ ID NO:3的氨基酸1至351、iii)SEQ ID NO:5的氨基酸1至245、iv)SEQ ID NO:7的氨基酸1至222、v)SEQ ID NO:9的氨基酸1至214。

[0826] 62.如段落56-59中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽是选自下组的序列的成熟多肽的变体,该组由以下组成:i)SEQ ID NO:2、ii)SEQ ID NO:3、iii)SEQ ID NO:5、iv)SEQ ID NO:7、v)SEQ ID NO:9;其中所述变体在一个或多个位置处包含取代、缺失和/或插入。

[0827] 63.如段落56所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽是选自下组的序列的片段,该组由以下组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9,其中该片段具有 β -葡聚糖酶活性。

[0828] 64.如段落56-63中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽能够在具有从约7.5至约13.5的范围内的pH的水溶液中具有 β -葡聚糖酶活性,其中所述水溶液任选地包含漂白剂,优选地所述pH在从约7.5至约12.5的范围内,进一步优选地所述pH在从约8.5至约11.5的范围内,最优选地,所述pH在从约9.5至约10.5的范围内。

[0829] 65.如段落56-64中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽能够在选自约20℃至约75℃的范围的温度、和/或在约40℃至约60℃的范围的温度在水性溶液中示出 β -葡聚糖酶活性,其中所述水性溶液任选地包含漂白剂。

[0830] 66.如段落64-65中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述多肽能够具有 β -葡聚糖酶活性持续至少15分钟,优选地持续至少30分钟。

[0831] 67.如段落56-66中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述 β -葡聚糖酶活性包含碱性 β -葡聚糖酶活性,其中所述碱性 β -葡聚糖酶活性是在pH 7.5或更高的 β -葡聚糖酶活性。

[0832] 68.如段落56-67中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述 β -葡聚糖酶活性包含地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性,优选地,所述 β -葡聚糖酶活性是地衣多糖酶EC 3.2.1.73活性。

[0833] 69.如段落56至68中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述淀粉酶是 α -淀粉酶。

[0834] 70.如段落56-69中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其进一步包含一种或多种洗涤剂组分。

[0835] 71.如段落70所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述洗涤剂组合物选自下组,该组由以下组成:表面活性剂、助水溶剂、助洗剂、共助洗剂、螯合剂、漂白组分、聚合物、织物调色剂、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂、香料、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、污物释放聚合物、抗再沉积剂、酶抑制剂、酶稳定剂、酶激活剂、抗氧化剂、以及增溶剂。

[0836] 72.如段落56-71中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其进一步包含一种或多种另外的酶。

[0837] 73.如段落56-72中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其进一步包含选自下组的酶,该组由以下组成:DNA酶、过水解酶、淀粉酶、蛋白酶、过氧化物酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶、木葡聚糖酶、半纤维素酶、黄原胶酶、黄原胶裂解酶、脂肪酶、酰基转移酶、磷脂酶、酯酶、漆酶、过氧化氢酶、芳基酯酶、淀粉酶、 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木质酶、角叉菜胶酶、普鲁兰酶、鞣酸酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、木葡聚糖酶、木聚糖酶、果胶乙酰酯酶、多乳糖醛酸酶、鼠李半乳糖醛酸酶、其他内切- β -甘露聚糖酶、外切- β -甘露聚糖酶、果胶甲基酯酶、纤维二糖水解酶、转谷氨酰胺酶及其组合。

[0838] 74.如段落56-73中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述组合物具有7.5或更高的pH并且任选地包含漂白剂;优选地,所述pH选自约7.5至约13.5的范围,进一步优选地,所述pH选自约7.5至约12.5的范围,最优选地,所述pH选自约8.5至约11.5的范围,进一步最优选地,所述pH选自约9.5至约10.5的范围。

[0839] 75.如段落69-74中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述 α -淀粉酶选自下组,该组由以下组成:

[0840] (a)与SEQ ID NO:13(对应于W0 95/10603的SEQ ID NO:2)具有至少90%序列一致性的多肽;

[0841] (b)与SEQ ID NO:13(对应于W0 95/10603中的SEQ ID NO:2)具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含一个取代:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408、和/或444;

[0842] (c)与SEQ ID NO:14(对应于W0 02/010355中的SEQ ID NO:6)具有至少90%序列一致性的多肽;

[0843] (d)与SEQ ID NO:15的杂合多肽(包含W0 2006/066594的SEQ ID NO:6的残基1-33和的W0 2006/066594的SEQ ID NO:4的残基36-483)具有至少90%序列一致性的多肽;

[0844] (e)与SEQ ID NO:15的杂合多肽(包含W0 2006/066594的SEQ ID NO:6的残基1-33和W0 2006/066594的SEQ ID NO:4的残基36-483)具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述杂合多肽在以下一个或多个位置上包含取代、缺失或插入:48、49、107、156、181、190、197、201、209和/或264;

[0845] (f)与SEQ ID NO:16(对应于W0 02/019467的SEQ ID NO:6)具有至少90%序列一致性的多肽;

[0846] (g)与SEQ ID NO:16(对应于W0 02/019467的SEQ ID NO:6)具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:181、182、183、

184、195、206、212、216和/或269；

[0847] (h) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19 (对应于WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7) 具有至少90%序列一致性的多肽

[0848] (i) 与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19 (对应于WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:140、183、184、195、206、243、260、304和/或476；

[0849] (j) 与SEQ ID NO:20 (对应于WO 08/153815的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽；

[0850] (k) 与SEQ ID NO:21 (对应于WO 01/66712的SEQ ID NO:10) 具有至少90%序列一致性的多肽；

[0851] (l) 与SEQ ID NO:21 (对应于WO 01/66712的SEQ ID NO:10) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中该多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:176、177、178、179、190、201、207、211和/或264；

[0852] (m) 与SEQ ID NO:22 (对应于WO 09/061380的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽；

[0853] (n) 与SEQ ID NO:22 (对应于WO 09/061380的SEQ ID NO:2) 具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:87、98、125、128、131、165、178、180、181、182、183、201、202、225、243、272、282、305、309、319、320、359、444和/或475；

[0854] (o) 与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的多肽,其中所述多肽在以下位置的一个或多个中包含取代、缺失或插入:28、118、174；181、182、183、184、186、189、195、202、298、299、302、303、306、310、314；320、324、345、396、400、439、444、445、446、449、458、471和/或484；以及

[0855] (p) 与SEQ ID NO:12具有至少90%序列一致性的多肽；

[0856] (q) SEQ ID NO:23的、具有改变G182*+D183*的变体；

[0857] (r) SEQ ID NO:24的、具有改变H183*+G184*+I405L+A421H+A422P+A428T的变体；

[0858] (s) SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体；

[0859] (t) SEQ ID NO:24的、具有改变R178*+G179*+E187P+I203Y+R458N+T459S+D460T+G476K的变体

[0860] (u) SEQ ID NO:27的、具有改变M202L的变体；

[0861] (v) SEQ ID NO:28的、具有改变R180*+S181*+S243Q+G475K的变体；

[0862] (w) SEQ ID NO:29的、具有改变D183*+G184*+W140Y+N195F+I206Y+Y243F+E260G+G304R+G476K的变体；

[0863] (x) SEQ ID NO:30的、具有改变H1*+N54S+V56T+K72R+G109A+F113Q+R116Q+W167F+Q172G+A174S+G184T+N195F+V206L+K391A+P473R+G476K的变体；

[0864] (y) SEQ ID NO:31的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+T246V+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体。

[0865] 76.如段落56-75中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述蛋白酶选自下组,该组由以下组成:

[0866] 1) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:34具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性);

[0867] 2) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:35具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性);

[0868] 3) 具有蛋白酶活性的多肽,其与SEQ ID NO:36具有至少60%序列一致性(例如,至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性)。

[0869] 77.如段落56-76中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述组合物在碱性条件下具有改进的稳定性和/或性能,优选地所述碱性条件具有pH 7.5或更高。

[0870] 78.如段落56-77中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述组合物处于选自下组的形式,该组由以下组成:棒、均匀的片剂、具有两个或更多个层的片剂、具有一个或多个室的袋、规则的或压缩的粉末、颗粒、膏、凝胶、或规则的、压缩的或浓缩的液体。

[0871] 79.如段落56至78中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,该清洁或洗涤剂组合物在清洁或洗涤剂应用中具有酶洗涤益处。

[0872] 80.如段落56-79中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其具有改进的稳定性和/或性能,优选地所述改进的稳定性和/或性能是在具有pH 7.5或更高的碱性条件中。

[0873] 81.一种用于从表面去除污渍的方法,该方法包括使该表面与根据段落56至80中任一项所述的组合物接触。

[0874] 82.如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物用于降解 β -葡聚糖的用途,优选地所述 β -葡聚糖是 β -D-葡聚糖,进一步优选地,所述 β -葡聚糖是 β -1,3-1,4葡聚糖,最优选地,所述 β -葡聚糖是混合键 β -葡聚糖,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖是大麦 β -葡聚糖或燕麦 β -葡聚糖(例如,来自煮熟的燕麦和/或来自煮熟且烧糊的燕麦和/或来自未煮熟的燕麦);任选地,所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0875] 83.如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物用于洗涤或清洁纺织品和/或硬表面例如餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)的用途,优选地所述洗涤或清洁是煮熟的燕麦和/或煮熟且烧糊的燕麦和/或未煮熟的燕麦的洗涤或清洁,任选地所述用途在具有pH

7.5或更高的碱性条件下进行。

[0876] 84.如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物在清洁过程例如洗衣或硬表面清洁包括餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)和工业清洁中的用途,任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0877] 85.如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物用于洗衣和/或硬表面清洁包括餐具洗涤包括自动餐具洗涤(ADW)的用途,其中所述组合物具有酶洗涤益处;任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0878] 86.如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物用于如下中的至少一种的用途:防止、减少或去除物品上的生物膜,优选地从所述物品上减少或去除恶臭;任选地所述用途在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0879] 87.一种降解 β -葡聚糖的过程,该过程包括将如段落56-80中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物用于所述 β -葡聚糖,优选地所述 β -葡聚糖是 β -D-葡聚糖,进一步优选地,所述 β -葡聚糖是 β -1,3-1,4葡聚糖,最优选地,所述 β -葡聚糖是混合键 β -葡聚糖,进一步最优选地,所述 β -葡聚糖是大麦 β -葡聚糖或燕麦粥 β -葡聚糖(例如,来自煮熟的燕麦和/或来自煮熟且烧糊的燕麦和/或来自未煮熟的燕麦);任选地,所述过程在具有pH 7.5或更高的碱性条件下进行。

[0880] 88.如段落87所述的过程,其中所述 β -葡聚糖是在纺织品或硬表面的表面,例如餐具洗涤。

[0881] 89.一种用于减少或防止污垢再沉积的方法,其使用一种或多种如前述段落中任一项所述的多肽或洗涤剂组合物,优选地所述洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0882] 90.如段落89所述的方法,其中该洗涤剂组合物还包括一种或多种另外的酶。

[0883] 91.如段落89-90中任一项所述的方法,其中这些另外的酶选自下组,该组包括蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶以及甘露聚糖酶,或其任何混合物。

[0884] 92.如段落89至91中任一项所述的方法,其中该洗涤剂组合物还包括一种或多种洗涤剂组分。

[0885] 93.如段落89-92中任一项所述的方法,其中这些洗涤剂组分选自下组,该组包括表面活性剂、助洗剂、助水溶剂、漂白系统、聚合物、织物调色剂、辅料、分散剂、染料转移抑制剂、荧光增白剂以及污垢释放聚合物,或其任何混合物。

[0886] 94.如段落89-93中任一项所述的方法,其中该洗涤剂组合物处于以下形式:棒,均匀的片剂,具有两个或更多个层的片剂,具有一个或多个室的袋,规则的或压缩的粉末,颗粒,膏,凝胶,或规则的、压缩的或浓缩的液体。

[0887] 95.如段落89至94中任一项所述的方法,用于餐具洗涤或洗衣。

[0888] 96.如前述段落中任一项所述的一种或多种多肽或清洁或洗涤剂组合物用于以下中的一种或多种的用途:

[0889] a) 减少或防止污垢再沉积,优选地所述用途在清洁过程中或在清洁过程期间,进一步优选地,所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物,更优选地所述清洁过程不是餐具洗涤过程;

[0890] b) 去除含谷物的污垢,尤其是含干燥谷物的污垢,优选地是含燕麦片(oatflake)

的污垢,尤其是含干燥的燕麦片的污垢和/或含煮熟的燕麦(oat)的污垢、和/或含煮熟且烧糊的燕麦的污垢、和/或含未煮熟的燕麦的污垢,进一步优选地,所述用途是在清洁过程中或在清洁过程期间,进一步最优选地,所述清洁过程不是餐具洗涤过程;

[0891] c) 在一种或多种淀粉酶的存在下(例如根据前述段落中的任一个)促进去除含淀粉污垢和/或用于增强淀粉酶相关的清洁性能,优选地,所述用途是在清洁过程中或在清洁过程期间,进一步优选地,所述清洁过程不是餐具洗涤过程;

[0892] d) 在一种或多种蛋白酶存在下(例如,根据前述段落中的任一个)促进去除含蛋白质的污垢和/或用于增强蛋白酶相关的清洁性能,优选地所述用途是在清洁过程中或在清洁过程期间,进一步优选地,所述清洁过程不是餐具洗涤过程。

[0893] 97. 如前述段落中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述组合物具有的pH为6.5或更高,优选地是7.0或更高,更优选地是7.5或更高,并且任选地包含漂白剂;优选地,所述pH在从约7.5至约13.5的范围内,进一步优选地,所述pH在从约7.5至约12.5的范围内,最优选地,所述pH在从约8.5至约11.5的范围内,进一步最优选地,所述pH在从约9.5至约10.5的范围内;优选地,所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0894] 98. 如前述段落中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其进一步包含共聚物,所述共聚物含有至少一种含单体的磺酸,优选地所述共聚物的含量为按重量计0.1%至20%,特别地按重量计0.5%至18%,特别优选地按重量计1.0%至15%,特别地按重量计4%至14%,特别地按重量计6%至12%,优选地所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0895] 99. 如前述段落中任一项所述的清洁或洗涤剂组合物,其中所述组合物包含浓度为0.00001mg酶蛋白/g组合物至100mg酶蛋白/g组合物的所述多肽,优选的是0.0001mg酶蛋白/g组合物至50mg酶蛋白/g组合物,更优选的是0.001mg酶蛋白/g组合物至20mg酶蛋白/g组合物,尤其优选的是0.01mg酶蛋白/g组合物至10mg酶蛋白/g组合物。优选地,所述清洁或洗涤剂组合物不是餐具洗涤组合物。

[0896] 通过以下实例进一步描述本发明,所述实例不应理解为对本发明的范围进行限制。

[0897] 实例

[0898] 如本文所述的实例部分中使用的洗涤剂组合物包括以下:

表 A: 标准洗涤剂 A:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分(% w/w)
LAS	12.0	97
AEOS, SLES	17.6	28
大豆脂肪酸	2.8	90
可可脂肪酸	2.8	99
AEO	11.0	100

[0899]

[0900]

氢氧化钠	1.8	99
乙醇/丙-2-醇	3.0	90/10
MPG	6.0	98
甘油	1.7	99.5
TEA	3.3	100
甲酸钠	1.0	95
柠檬酸钠	2.0	100
DTMPA (作为 Na7-盐)	0.5	42
PCA (作为 Na 盐)	0.5	40
苯氧基乙醇	0.5	99
离子交换水	33.6	---
通过将 CaCl_2 、 MgCl_2 、以及 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 4 : 1 : 7.5$) 添加至测试系统中将水硬度调节至 15°dH 。		

[0901]

表 B: 标准洗涤剂 X:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分(% w/w)
LAS	16.5	91
AEO*	2	99.5
碳酸钠	20	100
硅酸二钠	12	82.5
沸石 A	15	80
硫酸钠	33.5	100
PCA	1	100
*在没有 AEO 的情况下混合标准洗涤剂 X。在洗涤之前, 单独地添加 AEO。通过将 CaCl_2 、 MgCl_2 、以及 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 2 : 1 : 4.5$) 添加至测试系统中将水硬度调节至 12°dH 。		

[0902]

表 C: 无漂白剂的标准洗涤剂 Z:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分% (% w/w)
LAS	7.0	85.3
皂	1.1	93
AEO*	1.5	99.5
苏打灰	20.1	99.5
含水硅酸钠	10.0	80.1
沸石 A	5.0	80

[0903]

柠檬酸钠	2.0	100
HEDP-Na4	0.2	84
聚丙烯酸酯	1.1	92
硫酸钠	52.0	100
*在没有 AEO 的情况下混合不具有漂白剂的标准洗涤剂 Z。在洗涤之前,单独地添加 AEO。通过将 CaCl_2 、 MgCl_2 、以及 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 4 : 1 : 7.5$) 添加至测试系统中将水硬度调节至 15°dH。按原样使用 pH (10.6) 或用 4 M NaOH 将其调节至 11.3。		

表 D: 具有漂白剂的标准洗涤剂 Z:

[0904]	化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分% (% w/w)
	LAS	7.0	85.3
	皂	1.1	93
	AEO*	1.5	99.5
	苏打灰	20.1	99.5
	含水硅酸钠	10.0	80.1
	沸石 A	5.0	80
	柠檬酸钠	2.0	100
	HEDP-Na4	0.2	84
	聚丙烯酸酯	1.1	92
	过碳酸钠	9.3	86
	TEAD	1.1	91.8
	硫酸钠	41.6	100
	*在没有 AEO 的情况下混合具有漂白剂的标准洗涤剂 Z。在洗涤之前,单独地添加 AEO。通过将 CaCl_2 、 MgCl_2 、以及 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+}:\text{Mg}^{2+}:\text{HCO}_3^- = 4:1:7.5$) 添加至测试系统中将水硬度调节至 15°dH。按原样使用 pH (10.5) 或用 4M NaOH 将其调节至 11.1。		

表 E: ADW 标准洗涤剂 A:

[0905]	化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分(% w/w)
	MGDA (Trilon M 颗粒 SG)	20	59
	柠檬酸钠	20	100
	碳酸钠	20	100
[0906]	过碳酸钠	10	88
	硅酸钠	5	80
	硫酸钠	12	100
	Acusol 588G	5	92
	TAED	3	92
	Surfac 23-6.5 (液体)	5	100
	通过将 CaCl_2 、 MgCl_2 、以及 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+}:\text{Mg}^{2+}:\text{HCO}_3^- = 4:1:10$) 添加至测试系统中将水硬度调节至 21°dH。		

[0907] 实例1:β-葡聚糖酶(地衣多糖酶)活性的测定

[0908] 使用AZCL-大麦 β -葡聚糖(天青蓝染料共价交联的 β -葡聚糖)测定法来检测内切葡聚糖酶活性(地衣多糖酶活性)。

[0909] 将AZCL-大麦 β -葡聚糖(75mg)悬浮在15mL洗涤剂(标准洗涤剂A、X、Z,具有和不具有漂白剂和调节的pH,ADW标准A)中。向Eppendorf管中的1mL该溶液中添加10 μ L酶(0.33mg酶蛋白/升),在预热的热混合器中以1250rpm振荡的同时在40℃孵育15min,并以13200rpm旋转2min,用包含10 μ M CaCl_2 的5%的Triton-X-100稀释5倍,并将250 μ L溶液转移至微量滴定板,并在590nm测量样品吸光度。

[0910] 实例2:来自芽孢杆菌属的GH16内切- β -1,3-1,4-葡聚糖酶的克隆、表达和纯化:

[0911] 根据表1, β -葡聚糖酶源自从德国微生物和细胞培养物保藏中心(DSMZ)或通过经典微生物技术从环境样品中分离得到的细菌菌株。

表 1: 来自芽孢杆菌属的 GH16 内切- β -1,3-1,4-葡聚糖酶的来源和来源国家:		
菌株名称	来源	来源国家
[0912]	芽孢杆菌属物种-62449	环境样品
	秋叶氏芽孢杆菌	污垢
	粘琼脂芽孢杆菌	污垢
	莫哈韦芽孢杆菌	DSMZ (DSM9205)
		美国

[0913] 来自单个菌株的纯的培养物中的染色体DNA经过纯化并且使用Illumina技术进行全基因组测序。组装的基因组序列和16S核糖体亚基基因序列的随后分析证实菌株的身份。

[0914] 编码 β -1,3-1,4-葡聚糖酶的单个基因通过PCR扩增并且与调节元件和同源区域融合,用于重组进枯草芽孢杆菌基因组。

[0915] 线性整合构建体是SOE-PCR融合产物(Horton,R.M.,Hunt,H.D.,Ho,S.N.,Pullen,J.K.以及Pease,L.R.(1989),Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes,gene splicing by overlap extension[不使用限制酶,通过重叠延伸的基因剪接的工程化杂种基因]Gene[基因])77:61-68),该融合产物由两个枯草芽孢杆菌染色体区域之间的基因连同强启动子与氯霉素抗性标记的融合制备。SOE PCR方法也描述于专利申请W0 2003095658中。

[0916] 在三联启动子系统(如W0 99/43835中所述)的控制下表达该基因,该启动子系统由包含稳定化序列的地衣芽孢杆菌 α -淀粉酶基因(amyL)启动子、解淀粉芽孢杆菌 α -淀粉酶基因(amyQ)启动子和苏云金芽孢杆菌cryIIIA启动子组成。

[0917] 用克劳氏芽孢杆菌分泌信号(编码以下氨基酸序列:

MKKPLGKIVASTALLISVAFSSSIASA(SEQ ID NO:10))代替天然的分泌信号来表达该基因。此外,表达构建体导致向表达的成熟蛋白添加由序列HHHHHHP(SEQ ID NO:11)组成的N-末端聚组氨酸亲和纯化标签。

[0918] 该SOE-PCR产物被转化进枯草芽孢杆菌中并且在染色体上通过同源重组将其整合到果胶酸裂解酶位点中。随后将包含该整合表达构建体的重组枯草芽孢杆菌克隆在富液体培养基中进行生长。将培养液离心(20000xg,20min)并且将上清液小心地与沉淀物离心分开,并用于酶的纯化。

[0919] 通过镍亲和层析纯化重组酶

[0920] 将澄清上清液的pH调节至pH 8,通过0.2 μ M滤器进行过滤,并且将上清液施加于

5ml HisTrapTMexcel柱上。在加载之前,该柱已经在5个柱体积(CV)的50mM Tris/HCl (pH 8)中平衡好。为了去除未结合的材料,将该柱用8CV的50mM Tris/HCl (pH 8)进行洗涤,靶标的洗脱是用50mMHEPES (pH 7)+10mM咪唑获得。将洗脱的蛋白在HiPrepTM26/10脱盐柱上进行脱盐,将该脱盐柱使用3CV的50mM HEPES (pH 7)+100mM NaCl进行平衡。也将此缓冲液用于靶标的洗脱,并且流速是10ml/min。选择相关部分,并且基于色谱图和SDS-PAGE分析进行合并。

[0921] 实例3:使用 β -葡聚糖酶的AZCL测定:

[0922] 在这个实例中,在不同的pH值、温度和洗涤剂中,在AZCL-大麦 β -葡聚糖底物上测量酶活性,从而模拟各种洗衣条件。如实例1中所述进行酶活性的测量,但是没有用含10 μ M CaCl₂的5%Triton-X-100稀释5倍。对标准洗涤剂A、标准洗涤剂X、具有漂白剂的标准洗涤剂Z、不具有漂白剂的标准洗涤剂Z、具有调节pH的漂白剂的标准洗涤剂Z和不具有pH调节的漂白剂的标准Z洗涤剂组合物中的来自解淀粉芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶和来自枯草芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶进行比较。

表 2: 使用 AZCL-大麦 β -葡聚糖测定 (吸光度) 在不同 pH、温度和衣物洗涤剂下测量的 β -葡聚糖酶活性:

酶	pH 7.7 标准 A		pH 10.1 标准 X		pH 10.5 具有漂 白剂的 标准 Z		pH 10.6 不具有 漂白剂 的标准 Z		pH 11.1 具有调 节 pH 的 漂白剂 的标准 Z		pH 11.3 不具有调 节 pH 的 漂白剂 的标准 Z	
	40° C	60° C	40° C	60° C	40° C	60° C	40° C	60° C	40° C	60° C	40° C	60° C
解淀粉芽 孢杆菌 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	2.44	0.71	2.8 3	0.8 3	0.0 5	0.0 4	0.1 0	0.0 1	0.0 1	0.0 3	0.0 7	0.0 1
枯草芽孢 杆菌 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	2.45	0.62	3.4 1	0.3 0	0.0 5	0.0 1	0.0 8	0.0 1	0.0 0	0.0 4	0.0 7	0.0 2
秋叶氏芽 孢杆菌 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	0.18	0.10	3.4 1	1.5 5	0.0 3	0.3 7	0.0 5	0.2 7	0.0 3	0.1 5	0.0 4	0.0 5
粘琼脂芽 孢杆菌 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	0.36	0.70	3.4 1	2.5 0	0.5 8	0.1 6	0.4 7	0.0 4	0.1 7	0.0 3	0.0 1	0.0 2
芽孢杆菌 属物种 -62449 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	1.22	1.15	3.2 5	0.0 8	0.2 2	0.1 0	0.3 0	0.1 1	0.0 5	0.0 4	0.0 4	0.0 1
糖酶)												
莫哈韦芽 孢杆菌 β -葡聚糖 酶 (地衣多 糖酶)	1.65	0.20	3.4 1	2.3 6	0.1 7	0.1 1	0.1 8	0.0 1	0.0 3	0.0 3	0.0 1	0.0 2

有关标准洗涤剂组合物的细节, 参见上面的表 A-D。

[0925] 实例4: 自动餐具洗涤标准洗涤剂中AZCL- β -大麦底物上酶活性的AZCL-测定:

[0926] 酶活性测量如实例1中所述进行。在该实施例中,在自动餐具洗涤洗涤剂ADW标准A中将新型 β -葡聚糖酶的酶活性与来自解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶的酶活性比较。获得的数据示于下面的表3:

表 3: ADW 标准 A 洗涤剂使用 AZCL-大麦 β -葡聚糖测定 (吸光度) 在不同温度测得的 β -葡聚糖酶活性, ADW 标准洗涤剂 A 的 pH 为 10.2:			
酶	ADW 标准洗涤剂 A		
	40°C	60°C	
空白	0.07	0.11	
[0927] 解淀粉芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	0.46	0.34	
枯草芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	0.42	0.21	
秋叶氏芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	0.15	2.07	
粘琼脂芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	0.85	1.77	
莫哈韦芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	0.85	1.06	
芽孢杆菌属物种-62449 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	1.60	0.49	

[0928] 实例5:通过TSA测量的 β -葡聚糖酶稳定性:

[0929] 在该实施例中,将新型 β -葡聚糖酶的稳定性与来自解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶的稳定性相比较。用在测定缓冲液中稀释至0.3mg/ml的酶样品进行热转移测定 (TSA):0.1M琥珀酸、0.1M HEPES、0.1M CHES、0.1M CAPS、0.15M KCl、1mM CaCl₂、0.01% Triton X100、分别将pH调节至5、7.5和10。宝石橙 (SYPRO Orange) 染料 (Life Technologies (生命技术公司) S6650) 在mQ水中稀释101倍。将10 μ l稀释的酶样品+10 μ l测定缓冲液+10 μ l染料在TSA测定板 (LightCycler 480Multiwell plate96, white (Roche (罗氏))) 的孔中混合并用光学密封 (LightCycler 480密封膜, Roche (罗氏)) 覆盖。在运行 Roche LightCycler 480软件 (版本1.5.0SP4) 的Roche Lightcycler 480II机器中,在25°C-99°C以200°C/h进行蛋白质解链分析。一式两份分析所有样品。报告的读数是T_m,定义为蛋白质解链曲线的中点值。获得的数据示于下面的表4。

表 4: 通过 TSA 测量的稳定性:

酶	缓冲液 pH	TSA
秋叶氏芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	70.9
	7.5	71.8
	10	71.6
粘琼脂芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	58.2
	7.5	64.0
	10	58.6
莫哈韦芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	72.8
	7.5	71.2
	10	72.2
芽孢杆菌属物种-62449 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	43.2
	7.5	53.9
	10	49.4
解淀粉芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	72.8
	7.5	70.1
	10	73.2
枯草芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶)	5	64.2
	7.5	64.7
	10	64.8

[0930]

[0931] 实例6: β -葡聚糖酶底物特异性:

[0932] 使用来自Megazymes的各种AZCL-测定法(AZCL-大麦 β -葡聚糖、AZCL-HE-纤维素、AZCL-茯苓多糖和AZCL-凝胶多糖(天青蓝染料共价交联的 β -葡聚糖))进一步测试 β -葡聚糖酶的底物特异性。将AZCL-底物(75mg)悬浮在15mL标准洗涤剂X中。向Eppendorf管中的1mL该溶液中添加10 μ L酶(0.33mg酶蛋白/升),在预热的热混合器中以1250rpm振荡的同时在40 $^{\circ}$ C孵育15min,并以13200rpm旋转2min,用包含10 μ M CaCl_2 的5%的Triton-X-100稀释5倍,并将250 μ L溶液转移至微量滴定板,并在590nm测量样品吸光度。

[0933] 在该实施例中,在AZCL-大麦 β -葡聚糖、AZCL-HE-纤维素、AZCL-茯苓多糖和AZCL-凝胶多糖底物上测试了所有6种 β -葡聚糖酶(即秋叶氏芽孢杆菌、粘琼脂芽孢杆菌、莫哈韦芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62449、解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌)的底物特异性。所获得的结果进一步证实了所有6种测试的 β -葡聚糖酶仅对AZCL-大麦 β -葡聚糖底物具有活性(即对AZCL-大麦 β -葡聚糖作为底物的阳性反应以及对AZCL-HE-纤维素、AZCL-茯苓多糖和AZCL-凝胶多糖作为底物的阴性反应,下表5)。数据示出测试的 β -葡聚糖酶仅对含有 β -1,3键和 β -1,4键的 β -葡聚糖示出活性,而不对由单独的纯 β -1,4-葡聚糖或 β -1,3葡聚糖或 β -1,3-键和 β -1,6键的混合物组成的 β -葡聚糖示出活性。基于以上结果,本发明的 β -葡聚糖酶可以与本文所用的 β -葡聚糖酶定义内的内切纤维素酶进一步区分,所述内切纤维素酶对纤维素的D-葡萄糖单元之间的 β -1,4键具有活性。基于以上,可以得出结论,本发明的 β -葡聚糖酶具有地衣多糖酶(EC 3.2.1.73)酶活性。

表 5: 通过 AZCL-底物测量的 6 种 β -葡聚糖酶的底物特异性:

[0934]

底物	反应	底物用于测试:	聚合物描述
AZCL-大麦 β -葡聚糖	有	地衣多糖酶、内切- 葡聚糖酶和纤维素 酶	D-葡萄糖单元之间的 β -1,4; β -1,3 键
AZCL-HE-纤维 素	无	内切-纤维素酶	D-葡萄糖单元之间的 β -1,4 键
AZCL-凝胶多糖	无	内切-1,3- β -D-葡聚糖 酶	D-葡萄糖之间的 β -1,3 键
AZCL-茯苓多糖	无	内切-1,3- β -D-葡聚糖 酶	D-葡萄糖单元之间的 β -1,3 键 (平均每 4 个具 有支链 β -1,6 葡萄糖单 元)

[0935] 实例7:本发明的 β -葡聚糖酶(地衣多糖酶)与 α -淀粉酶组合时的协同效应:

[0936] I.Wascator瓶洗涤方法描述:

[0937] 使用Wascator瓶洗涤方法来检测酶的性能。在Wascator洗涤机(FOM 71实验室)中,添加具有包括一种或多种酶的25mL洗涤剂溶液的瓶(60mL,DSE PP 70X35 Aseptisk,材料编号:216-2620来自VWR)和四种污渍(来自尹奎斯特的035KC巧克力燕麦粥,直径2cm)。洗衣机中包括2kg压载物(茶巾,棉)。在40℃在液体和粉状标准洗涤剂中在25L水中洗涤持续30min用于洗衣(分别为标准洗涤剂A1和标准洗涤剂X1)并在ADW标准洗涤剂(ADW标准洗涤剂A1)中洗涤。洗涤后,用自来水冲洗污渍两次(3L)并在干燥箱(伊莱克斯,Intuition, EDD2400)中在室温干燥。在分光光度计(Macbeth Color-Eye 7000Remissions)上在460nm处测量反射。

[0938] II. 结果:

[0939] 在该实例中,研究了将单个地衣多糖酶与 α -淀粉酶(Stainzyme)(SEQ ID NO:12)组合的结果,以研究在使用Wascator瓶洗涤方法的各种pH的各种洗涤剂中两种酶之间潜在的协同效应。在标准洗涤剂A1、标准洗涤剂X1和ADW标准洗涤剂A1中在40℃使用0.01mg酶蛋白每升地衣多糖酶和0.05mg酶蛋白每升Stainzyme,进行与来自解淀粉芽孢杆菌的地衣多糖酶和来自枯草芽孢杆菌的地衣多糖酶的对比。本实例中使用的详细条件在表F-K中描述,并且结果示出在下表6-8中。

[0940]

表 F: 实验条件:	
洗涤剂	标准洗涤剂 A1 (参见如下的表 G)
洗涤剂剂量	3.33 g/L
测试溶液体积	25 mL
pH	按原样
洗涤时间	30 分钟
温度	40°C
水硬度	15°dH
测试中的淀粉酶浓度	0.05 mg/L
测试中的 β -葡聚糖酶(地衣多糖酶)浓度	0.01 mg/L
测试材料	O35 KC 巧克力燕麦粥

[0941]

表 G: 标准洗涤剂 A1:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分 (% w/w)
LAS	12.0	97
AEOS, SLES	17.6	28
大豆脂肪酸	2.8	90
可可脂肪酸	2.8	99
AEO	11.0	100
氢氧化钠	1.8	99
乙醇/丙-2-醇	3.0	90/10
MPG	6.0	98

[0942]

甘油	1.7	99.5
TEA	3.3	100
甲酸钠	1.0	95
柠檬酸钠	2.0	100
DTMPA (作为 Na ₇ 盐)	0.5	42
PCA (作为 Na 盐)	0.5	40
苯氧基乙醇	0.5	99
离子交换水	33.6	---
通过向测试系统添加 CaCl ₂ 、MgCl ₂ 和 NaHCO ₃ (Ca ²⁺ : Mg ²⁺ : HCO ₃ ⁻ = 4 : 1 : 7.5), 将水硬度调节至 15°dH。		

[0943]

表 H: 实验条件:	
洗涤剂	标准洗涤剂 X1 (参见如下的表 I)
洗涤剂剂量	1.75 g/L
测试溶液体积	25 mL
pH	按原样
洗涤时间	30 分钟
温度	40°C
水硬度	12°dH
测试中的淀粉酶浓度	0.05 mg/L
测试中的 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶) 浓度	0.01 mg/L
测试材料	O35 KC 巧克力燕麦粥

[0944]

表 I: 标准洗涤剂 X1:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分 (% w/w)
LAS	16.5	91
AEO*	2	99.5
碳酸钠	20	100
硅酸二钠	12	82.5
沸石 A	15	80
硫酸钠	33.5	100
PCA	1	100

[0945] *在没有AEO的情况下混合标准洗涤剂X1。在洗涤之前,单独地添加AEO。

[0946] 通过向测试系统添加CaCl₂、MgCl₂和NaHCO₃ (Ca²⁺:Mg²⁺:HCO₃⁻ = 2:1:4.5),将水硬度调节至12°dH。

[0947]

表 J: 实验条件:	
洗涤剂	ADW 标准洗涤剂 A1 (参见如下表 K)
洗涤剂剂量	3.77 g/L
测试溶液体积	25 mL
pH	按原样
洗涤时间	30 分钟
温度	40°C
水硬度	15°dH
测试中的淀粉酶浓度	0.05 mg/L
测试中的 β -葡聚糖酶 (地衣多糖酶) 浓度	0.01 mg/L
测试材料	O35 KC 巧克力燕麦粥

[0948]

表 K: ADW 标准洗涤剂 A1:		
化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分 (% w/w)
MGDA (Trilon M 颗粒 SG)	20	59
柠檬酸钠	20	100
碳酸钠	20	100
过碳酸钠	10	88
硅酸钠	5	80
硫酸钠	12	100
Acusol 588G	5	92
TAED	3	92
Surfac 23-6.5 (液体)	5	100
通过向测试系统添加 CaCl_2 、 MgCl_2 和 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 4 : 1 : 10$), 将水硬度调节至 21°dH。		

[0949] 本文所使用的缩写:

[0950] REM=测量值

[0951] $\Delta \text{REM} = \text{REM} - \text{空白}$

[0952] 组合的REM=测量值

[0953] 组合的 $\Delta \text{REM} = \text{组合的REM} - \text{空白}$ [0954] 理论 $\Delta \text{REM} = \Delta \text{REM}(\text{淀粉酶}) + \Delta \text{REM}(\text{地衣多糖酶})$ [0955] REM协同效应=组合的 $\Delta \text{REM} - \text{理论} \Delta \text{REM}$

[0956] 表6:在标准洗涤剂A1中的Wascator瓶洗涤, 40°C, 30min (pH 7.7):

[0957]

	单独使用酶		β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）与淀粉酶（Stainzyme）组合			
	REM	ΔREM	组合的REM	组合的ΔREM	理 论ΔREM	REM 协同效应
粘琼脂芽孢杆菌 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	66.0	0.4	80.1	14.5	6.7	7.8
秋叶氏芽孢杆菌 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	65.3	-0.2	79.1	13.6	6.1	7.5
莫哈韦芽孢杆菌 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	65.8	0.2	79.3	13.7	6.5	7.2
芽孢杆菌属物种-62449 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	64.9	-0.7	80.0	14.4	5.6	8.8
解淀粉芽孢杆菌 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	67.3	1.8	79.5	13.9	8.1	5.9
枯草芽孢杆菌 β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）	67.3	1.7	80.1	14.5	8.0	6.5
Stainzyme	71.8	6.3	---	---	---	---
空白	65.5	0.0	---	---	---	---

[0958] 表7:在标准洗涤剂X1中的Wascator瓶洗涤,40℃,30min (pH 10.1)：

[0959]

	单独使用酶	β- 葡聚糖酶（地衣多糖酶）与淀粉酶Stainzyme 组合
--	-------	--------------------------------

[0960]

	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理 论 Δ REM	REM 协 同效应
粘琼脂芽孢杆菌 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	61.4	-0.4	74.5	12.7	4.4	8.2
秋叶氏芽孢杆菌 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	62.2	0.3	74.9	13.1	5.2	7.9
莫哈韦芽孢杆菌 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	61.8	-0.1	74.3	12.4	4.8	7.6
芽孢杆菌属物 种-62449 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	61.9	0.1	73.0	11.1	5.0	6.1
解淀粉芽孢杆菌 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	59.9	-1.9	72.0	10.2	2.9	7.3
枯草芽孢杆菌 β -葡聚糖酶（地 衣多糖酶）	60.8	-1.0	71.8	10.0	3.8	6.1
Stainzyme	66.7	4.9	---	---	---	---
空白	61.8	0.0	---	---	---	---

[0961] 表8. 在ADW标准洗涤剂A1中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2):

[0962]

	单独使用酶		β -葡聚糖酶（地衣多糖酶）与淀粉酶 Stainzyme 组合			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理 论 Δ REM	REM 协 同效应
粘琼脂芽孢杆菌 β -葡聚糖酶 （地衣多糖	60.5	-2.1	75.1	12.5	6.1	6.4

[0963]	酶)						
	秋叶氏芽孢杆菌 β- 葡 聚 糖 酶 (地 衣 多 糖 酶)	60.7	-1.9	73.9	11.3	6.3	5.0
	莫哈韦芽孢杆菌 β- 葡 聚 糖 酶 (地 衣 多 糖 酶)	63.0	0.3	73.3	10.7	8.5	2.1
	芽孢杆菌属物种-62449 β- 葡 聚 糖 酶 (地 衣 多 糖 酶)	60.8	-1.8	74.5	11.9	6.4	5.5
	解淀粉芽孢杆菌 β- 葡 聚 糖 酶 (地 衣 多 糖 酶)	61.6	-1.0	71.3	8.6	7.2	1.4
	枯草芽孢杆菌 β- 葡 聚 糖 酶 (地 衣 多 糖 酶)	58.1	-4.5	72.5	9.9	3.7	6.2
	Stainzyme	70.8	8.2	---	---	---	---
	空白	62.6	0.0	---	---	---	---

[0964] 实例8:最适pH的测定

[0965] 随后,在0.4%w/v AZCL-葡聚糖(大麦)底物上在用NaOH调节pH至2-12的Britton Robinson缓冲液(100mM磷酸,100mM乙酸,100mM硼酸,0.01%Trinton X-100,100mM KCl, 2mM CaCl₂)中测定所有6种 β -葡聚糖酶的最适pH。针对正在研究的所有pH值,选择预期在线性测定范围的高端的酶稀释度。在pH 2至10范围内研究了最佳pH值,并且为少数样品包括了较低和较高pH值以正确地确定最适值。结果示于表9中。

[0966]	表 9. β-葡聚糖酶(地衣多糖酶)的最适 pH					
	生物体	Mw ,	pI	A595/mg	最适 pH	pH10/pHopt

	kDa				
解淀粉芽孢杆菌	24	5.2	765	6	0.01
枯草芽孢杆菌	24	6.1	242	6	0.11
[0967] 芽孢杆菌属物种-62449	40	4.4	763	8	0.73
秋叶氏芽孢杆菌	29	5.2	5	6-9	0.9
粘琼脂芽孢杆菌	27	4.5	106	9	0.68
莫哈韦芽孢杆菌	25	7.4	313	8	0.23

[0968] 基于以上,作出了一些观察:

[0969] 发现来自解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的 β -葡聚糖酶具有6.0的最适pH,并且相对于该活性,在pH 10.0仅有1%至11%之间的活性。发现新的细菌 β -葡聚糖酶具有从pH 6至9范围内的最适pH范围,但与来自枯草芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌的酶相比,在pH 10具有显著更高的相对活性范围为23%至90%。来自秋叶氏芽孢杆菌的GH16 β -葡聚糖酶具有很广泛的最适pH。

[0970] 实例9:与 α -淀粉酶组合的地衣多糖酶的协同效应:

[0971] I.Wascator瓶洗涤方法描述:

[0972] 使用Wascator瓶洗涤方法来检测酶的性能。在Wascator洗涤机(FOM 71实验室)中添加具有包括一种或多种酶的25mL洗涤剂溶液的瓶(60mL,DSE PP 70X35Aseptisk,材料#:216-2620,来自VWR)和四种污渍(来自沃里克伊奎斯特公司(Warwick Equest Ltd)的035KC巧克力燕麦粥,55单元,康塞特商业园(Consett Business Park),康塞特,达勒姆郡,DH8 6BN,英国,直径2cm)。洗衣机中包括2kg压载物(茶巾,棉)。在40℃在液体和粉状标准洗涤剂中在25L水中洗涤持续20min或30min用于洗衣(分别为标准洗涤剂A和标准洗涤剂X)并在ADW标准洗涤剂(ADW标准洗涤剂A)中洗涤。洗涤后,用自来水冲洗污渍两次(3L)并在干燥箱(伊莱克斯,Intuition,EDD2400)中在室温干燥过夜。在分光光度计(Macbeth Color-Eye 7000 Remissions)上在460nm处测量反射。

[0973] II.结果:

[0974] 在本实施例中,使用Wascator瓶洗涤方法,研究了将粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶(SEQ ID NO:39,His-标记的、重组的)、秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶(SEQ ID NO:38,His-标记的、重组的)、莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶(SEQ ID NO:40,His-标记的、重组的)、芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶(SEQ ID NO:37,His-标记的、重组的)、解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶(SEQ ID NO:32)和枯草杆菌地衣多糖酶(SEQ ID NO:33)的单独的成熟地衣多糖酶与以下所列出的不同的淀粉酶组合的结果以调查在具有各种pH的各种洗涤剂中的两种酶之间的潜在的协同效应。在标准洗涤剂A、标准洗涤剂X和ADW标准洗涤剂A中使用0.01mg酶蛋白每升的地衣多糖酶浓度和0.05mg酶蛋白每升的淀粉酶浓度在40℃进行与来自解淀粉芽孢杆菌的地衣多糖酶和来自枯草杆菌的地衣多糖酶的对比。详细条件如表10-15所述,并且结果如表16-47所示。

[0975] 表10:实验条件

[0976]	洗涤剂	标准洗涤剂A(参见表11)
	洗涤剂剂量	3.33g/L

测试溶液体积	25mL
pH	按原样
洗涤时间	20或30分钟
温度	40℃
水硬度	15° dH
测试中的淀粉酶浓度	0.05mg/L
测试中的地衣多糖酶浓度	0.01mg/L
测试材料	035KC巧克力燕麦粥

[0977] 表11:标准洗涤剂A

化合物	化合物的含量 (% w/w)	活性组分 (% w/w)
LAS	12.0	97
AEOS, SLES	17.6	28
大豆脂肪酸	2.8	90
可可脂肪酸	2.8	99
AEO	11.0	100
氢氧化钠	1.8	99
乙醇/丙-2-醇	3.0	90/10
MPG	6.0	98
甘油	1.7	99.5
TEA	3.3	100
甲酸钠	1.0	95
柠檬酸钠	2.0	100
DTMPA(作为 Na ₇ 盐)	0.5	42
PCA (作为 Na 盐)	0.5	40

苯氧基乙醇	0.5	99
离子交换水	33.6	---

[0980] 通过向测试系统添加CaCl₂、MgCl₂和NaHCO₃ (Ca²⁺:Mg²⁺:HCO₃⁻=4:1:7.5), 将水硬度调节至15dH。

[0981] 表12:实验条件

洗涤剂	标准洗涤剂X (参见表13)
洗涤剂剂量	1.75g/L
测试溶液体积	25mL
pH	按原样
洗涤时间	20分钟或30分钟
温度	40℃
水硬度	12° dH
测试中的淀粉酶浓度	0.05mg/L
测试中的地衣多糖酶浓度	0.01mg/L
测试材料	035KC巧克力燕麦粥

[0983] 表13:标准洗涤剂X

[0984]	化合物	化合物的含量(%w/w)	活性组分(%w/w)
	LAS	16.5	91
	AEO*	2	99.5
	碳酸钠	20	100
	硅酸二钠	12	82.5
	沸石A	15	80
	硫酸钠	33.5	100
	PCA	1	100

[0985] *在没有AEO的情况下混合标准洗涤剂X。在洗涤之前,单独地添加AEO。

[0986] 通过向测试系统添加CaCl₂、MgCl₂和NaHCO₃ (Ca²⁺:Mg²⁺:HCO₃⁻=2:1:4.5),将水硬度调节至12°dH。

[0987] 表14:实验条件

	洗涤剂	ADW 标准洗涤剂 A (参见表 15)
	洗涤剂剂量	3.77 g/L
[0988]	测试溶液体积	25 mL
	pH	按原样
	洗涤时间	20 或 30 分钟
	温度	40°C
	水硬度	21°dH
[0989]	测试中的淀粉酶浓度	0.05 mg/L
	测试中的地衣多糖酶浓度	0.01 mg/L
	测试材料	O35 KC 巧克力燕麦粥

[0990] 表15:ADW标准洗涤剂A

	化合物	化合物的含量(%w/w)	活性组分(%w/w)
	MGDA(Trilon M 颗粒 SG)	20	59
	柠檬酸钠	20	100
	碳酸钠	20	100
[0991]	过碳酸钠	10	88
	硅酸钠	5	80
	硫酸钠	12	100
	Acusol 588G	5	92
	TAED	3	92
	Surfac 23-6.5 (液体)	5	100

[0992] 通过向测试系统添加CaCl₂、MgCl₂和NaHCO₃ (Ca²⁺:Mg²⁺:HCO₃⁻=4:1:10),将水硬度调节至21°dH。

[0993] 缩写

- [0994] REM=测量值
 [0995] $\Delta \text{REM} = \text{REM} - \text{空白}$
 [0996] 组合的REM=测量值
 [0997] 组合的 $\Delta \text{REM} = \text{组合的REM} - \text{空白}$
 [0998] 理论 $\Delta \text{REM} = \Delta \text{REM}(\text{淀粉酶}) + \Delta \text{REM}(\text{地衣多糖酶})$
 [0999] REM协同作用=组合的 ΔREM -理论 ΔREM
 [1000] 表16. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1001]		单独使用酶		地衣多糖酶与具有 SEQ ID NO: 12 的淀粉酶组合			
		REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
[1002]	粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.1	-0.4	80.1	14.6	5.9	8.7
	秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.3	0.9	79.1	13.6	7.2	6.4
	莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.8	0.3	79.3	13.8	6.7	7.1
	芽孢杆菌属物种 -62449						
	地衣多糖酶	64.9	-0.6	78.7	13.2	5.8	7.5
	解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.1	0.7	79.5	14.0	7.0	7.0
	枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	67.3	1.8	80.1	14.6	8.2	6.4
	具有 SEQ ID NO: 12 的淀粉酶	71.8	6.3	---	---	---	---
	空白	65.5	0.0	---	---	---	---

- [1003] 表17. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1004]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 23 的、具有改变 G182* + D183* 的变体			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理论 Δ REM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	63.9	0.4	76.2	12.7	6.1	6.6
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	63.5	0.1	75.3	11.9	5.8	6.1
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	65.0	1.6	74.5	11.1	7.3	3.8
芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶	64.6	1.1	75.0	11.6	6.9	4.7
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	65.7	2.3	75.6	12.2	8.0	4.2
淀粉酶，其是 SEQ ID NO: 23 的、具有改变 G182* + D183* 的变体	69.2	5.7	---	---	---	---
[1005] 空白	63.4	0.0	---	---	---	---

[1006] 表18. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1007]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理论 Δ REM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	63.9	0.4	77.5	14.1	8.6	5.5
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	63.5	0.1	78.1	14.7	8.3	6.4
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	65.0	1.6	77.9	14.5	9.7	4.7
芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶	64.6	1.1	77.1	13.6	9.3	4.3
淀粉，其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体	71.6	8.1	---	---	---	---
空白	63.4	0.0	---	---	---	---

[1008] 表19. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤，40℃，30min (pH 7.7)

[1009]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理论 Δ REM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	65.1	-0.4	75.9	10.4	6.4	4.0

[1010]

秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.3	0.9	75.8	10.4	7.7	2.7
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.8	0.3	76.9	11.4	7.1	4.3
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	64.9	-0.6	75.9	10.4	6.2	4.2
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.1	0.7	76.7	11.2	7.5	3.7
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	67.3	1.8	76.9	11.4	8.6	2.8
淀粉酶，其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体	72.3	6.8	---	---	---	---
空白	65.5	0.0	---	---	---	---

[1011] 表20. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 7.7)

[1012]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	64.0	-0.8	77.7	13.0	10.6	2.3
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	64.7	-0.1	77.6	12.8	11.3	1.5
芽孢杆菌属物种 -62449	64.0	-0.8	77.4	12.6	10.6	2.0

[1013]

地衣多糖酶						
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体	76.2	11.4	---	---	---	---
空白	64.8	0.0	---	---	---	---

[1014] 表21. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1015]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 27 的、具有改变 M202L 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	65.1	-0.4	72.2	6.7	3.7	3.0
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	65.8	0.3	73.4	7.9	4.5	3.5
芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶	64.9	-0.6	71.5	6.1	3.6	2.5
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	66.1	0.7	72.1	6.6	4.8	1.8
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 27 的、具有改变 M202L 的变体	69.6	4.2	---	---	---	---
空白	65.5	0.0	---	---	---	---

[1016] 表22. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1017]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 28 的、具有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌	65.1	-0.4	79.2	13.7	6.0	7.7

[1018]	地衣多糖酶					
	秋叶氏芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	66.3	0.9	75.9	10.4	7.3
	莫哈韦芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	65.8	0.3	79.0	13.5	6.8
	芽孢杆菌属物种-62449					
	地衣多糖酶	64.9	-0.6	78.9	13.5	5.8
	解淀粉芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	66.1	0.7	77.9	12.5	7.1
	枯草芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	67.3	1.8	78.2	12.7	8.2
	淀粉酶，其是SEQ ID NO: 28的、具有改变R180* + S181* + S243Q + G475K的变体	71.9	6.4	---	---	---
	空白	65.5	0.0	---	---	---

[1019] 表23. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1020]		单独使用酶		地衣多糖酶与 SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶的组合			
		REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
	粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.1	-0.4	77.4	11.9	7.9	4.0
	秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.3	0.9	77.9	12.4	9.2	3.2
	莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.8	0.3	79.1	13.6	8.7	5.0
	芽孢杆菌属物种-62449 地衣多糖酶	64.9	-0.6	79.6	14.1	7.8	6.3
	解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.1	0.7	77.7	12.3	9.0	3.3
	枯草芽孢杆菌	67.3	1.8	77.2	11.8	10.2	1.6

[1021]

地衣多糖酶						
SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶	73.8	8.4	---	---	---	---
空白	65.5	0.0	---	---	---	---

[1022] 表24. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1023]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 30 的、具有改变 H1* + N54S + V56T + K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G + A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.1	-0.4	80.6	15.1	5.9	9.2
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.3	0.9	79.4	13.9	7.2	6.8
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.8	0.3	79.4	14.0	6.6	7.3
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	64.9	-0.6	80.2	14.7	5.7	9.0
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.1	0.7	79.5	14.1	7.0	7.1
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	67.3	1.8	80.2	14.7	8.1	6.6
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 30 的、具 有改变 H1* + N54S + V56T + K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G	71.8	6.3	---	---	---	---

[1024]

+ A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体						
空白	65.5	0.0	---	---	---	---

[1025]

表25. 在标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 7.7)

[1026]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.5	0.8	76.2	11.4	6.8	4.7
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	66.1	1.3	76.7	12.0	7.3	4.6
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	65.8	1.0	77.5	12.7	7.0	5.7
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	64.6	-0.2	76.6	11.8	5.8	6.0
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	67.4	2.7	76.1	11.4	8.7	2.7
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体	70.8	6.0	---	---	---	---
空白	64.8	0.0	---	---	---	---

[1027]

表26. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1028]

	单独使用酶		地衣多糖酶与具有 SEQ ID NO: 12 的淀粉酶组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.0	0.2	74.5	12.7	5.0	7.6
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.2	0.3	74.9	13.1	5.2	7.9
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.8	-0.1	74.3	12.4	4.8	7.6
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	61.9	0.1	73.0	11.1	5.0	6.1
淀粉酶 具有 SEQ ID NO: 12	66.7	4.9	---	---	---	---
空白	61.8	0.0	---	---	---	---

[1029] 表27. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1030]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 23 的、具有改变 G182* + D183* 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.4	-0.1	72.8	13.3	6.4	6.8
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.8	0.3	73.1	13.6	6.8	6.8
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.5	-0.1	73.2	13.6	6.5	7.2
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	60.9	1.3	72.1	12.6	7.9	4.7
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.9	0.4	69.6	10.0	6.9	3.1
淀粉酶, 其是 SEQ	66.1	6.5	---	---	---	---

[1031]

ID NO:23 的、具有改变 G182* + D183* 的变体						
空白	59.5	0.0	---	---	---	---

[1032] 表28. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1033]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	59.4	-0.1	70.4	10.9	5.0	5.8
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	59.8	0.3	70.1	10.5	5.4	5.1
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	59.5	-0.1	70.5	10.9	5.1	5.9
芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶	60.9	1.3	69.9	10.4	6.5	3.9
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	59.9	0.4	68.4	8.9	5.5	3.4
淀粉，其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体	64.7	5.1	---	---	---	---
空白	59.5	0.0	---	---	---	---

[1034]

表29. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1035]

	单独使用酶	地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的
--	-------	--

[1036]

			变体			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理论 Δ REM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.5	1.6	74.9	13.9	7.8	6.1
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.6	0.7	73.6	12.6	6.9	5.7
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.7	0.7	71.4	10.4	6.9	3.5
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	59.2	-1.8	73.1	12.1	4.5	7.6
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.2	0.2	68.9	7.9	6.4	1.5
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.8	-0.2	71.5	10.5	6.1	4.4
淀粉酶，其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体	67.2	6.2	---	---	---	---
空白	61.0	0.0	---	---	---	---

[1037]

表30. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1038]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体			
	REM	Δ REM	组合的 REM	组合的 Δ REM	理论 Δ REM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌	62.3	0.4	73.7	11.7	6.4	5.3

[1039]

地衣多糖酶						
秋叶氏芽孢杆菌						
地衣多糖酶	61.6	-0.4	72.4	10.4	5.7	4.7
莫哈韦芽孢杆菌						
地衣多糖酶	61.4	-0.6	73.0	11.1	5.5	5.6
芽孢杆菌属物种-62449						
地衣多糖酶	61.0	-1.0	72.0	10.0	5.1	4.9
解淀粉芽孢杆菌						
地衣多糖酶	62.1	0.1	71.5	9.5	6.2	3.3
枯草芽孢杆菌						
地衣多糖酶	62.2	0.2	72.8	10.8	6.3	4.6
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体	68.0	6.1	---	---	---	---
空白	62.0	0.0	---	---	---	---

[1040] 表31. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1041]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 27 的、具有改变 M202L 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌						
地衣多糖酶	62.3	0.4	72.0	10.1	5.4	4.7
秋叶氏芽孢杆菌						
地衣多糖酶	61.6	-0.4	71.3	9.3	4.6	4.7
莫哈韦芽孢杆菌						
地衣多糖酶	61.4	-0.6	71.6	9.6	4.4	5.2
芽孢杆菌属物种-62449						
地衣多糖酶	61.0	-1.0	70.6	8.6	4.0	4.6
解淀粉芽孢杆菌						
地衣多糖酶	62.1	0.1	68.5	6.6	5.1	1.4
枯草芽孢杆菌	62.2	0.2	71.2	9.2	5.2	4.0

[1042]

地衣多糖酶						
淀粉酶，其是 SEQ ID NO: 27 的、具有改变 M202L 的变体	67.0	5.0	---	---	---	---
空白	62.0	0.0	---	---	---	---

[1043] 表32. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 10.1)

[1044]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是 SEQ ID NO: 28 的、具有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.8	-0.4	63.3	1.1	-0.3	1.4
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.4	-1.8	65.9	3.7	-1.7	5.3
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	62.1	-0.1	64.2	2.0	0.0	2.0
淀粉酶，其是 SEQ ID NO: 28 的、具有 改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体	62.3	0.1	---	---	---	---
空白	62.2	0.0	---	---	---	---

[1045] 表33. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1046]

	单独使用酶		地衣多糖酶与 SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶的组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.0	0.2	66.4	4.5	2.1	2.4
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.2	0.3	66.4	4.6	2.3	2.3

[1047]

莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.8	-0.1	68.5	6.7	1.9	4.8
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	61.9	0.1	66.9	5.1	2.1	3.0
SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶	63.8	2.0	---	---	---	---
空白	61.8	0.0	---	---	---	---

[1048]

表34. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 10.1)

[1049]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 30 的、具有改变 H1* + N54S + V56T + K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G + A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.1	-0.3	65.8	5.5	3.1	2.4
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	58.9	-1.4	63.1	2.8	-0.1	2.9
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.2	-1.1	62.3	1.9	0.2	1.7
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	59.8	-0.6	62.6	2.3	0.8	1.5
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.7	-0.7	64.3	4.0	3.1	0.9
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	59.9	-0.5	61.9	1.6	0.9	0.7
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 30 的、具有改变 H1* + N54S + V56T +	61.7	1.3	---	---	---	---

[1050]

K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G + A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体						
空白	60.4	0.0	---	---	---	---

[1051] 表35. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.1)

[1052]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.3	0.4	76.1	14.2	6.2	7.9
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.6	-0.4	75.1	13.2	5.5	7.7
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.4	-0.6	74.2	12.2	5.3	7.0
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	61.0	-1.0	74.0	12.1	4.9	7.2
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.1	0.1	73.3	11.3	6.0	5.3
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.2	0.2	73.9	11.9	6.1	5.8
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A +	67.8	5.9	---	---	---	---

[1053]

D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体						
空白	62.0	0.0	---	---	---	---

[1054] 表36. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1055]

	单独使用酶		地衣多糖酶与具有 SEQ ID NO: 12 的 淀粉酶组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.5	-2.1	75.1	12.5	5.4	7.1
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.7	-1.9	73.9	11.3	5.6	5.7
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	63.0	0.3	73.3	10.7	7.8	2.8
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	60.8	-1.8	74.5	11.9	5.7	6.2
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.6	-1.0	70.4	7.8	6.5	1.2
具有 SEQ ID NO: 12 的淀粉酶	70.1	7.5	---	---	---	---
空白	62.6	0.0	---	---	---	---

[1056] 表37. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1057]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶 是 SEQ ID NO: 23 的、具有改变 G182* + D183* 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌	60.9	1.3	71.8	12.1	8.0	4.2

[1058]	地衣多糖酶					
	秋叶氏芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	60.9	1.2	71.5	11.8	7.9
	莫哈韦芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	61.3	1.6	71.3	11.6	8.3
	芽孢杆菌属物种-62449					
	地衣多糖酶	60.9	1.2	71.7	12.0	7.9
	解淀粉芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	60.9	1.3	68.5	8.8	8.0
	枯草芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	60.3	0.6	68.4	8.8	7.3
	淀粉酶，其是SEQ ID NO: 23的、具有改变G182* + D183*的变体	66.4	6.7	---	---	---
	空白	59.7	0.0	---	---	---

[1059] 表38. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1060]		单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合，该淀粉酶是SEQ ID NO: 24 的、具有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体			
		REM	ΔREM	组合的REM	组合的ΔREM	理论ΔREM	REM 协同作用
	粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.9	1.3	73.3	13.7	8.0	5.6
	秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.9	1.2	71.7	12.1	8.0	4.0
	莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.3	1.6	72.2	12.5	8.4	4.2
	芽孢杆菌属物种-62449 地衣多糖酶	60.9	1.2	72.5	12.8	8.0	4.8
	解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.9	1.3	68.9	9.2	8.1	1.2

[1061]

枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.3	0.6	68.6	8.9	7.4	1.5
淀粉, 其是 SEQ ID NO: 24 的、具 有改变 H183* + G184* + I405L + A421H + A422P + A428T 的变体	66.5	6.8	---	---	---	---
空白	59.7	0.0	---	---	---	---

[1062] 表39. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1063]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.5	-2.1	73.1	10.9	2.3	8.2
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.7	-1.9	73.2	10.6	2.5	8.1
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	63.0	0.3	74.0	11.4	4.7	6.6
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	60.8	-1.8	75.1	12.4	2.6	9.9
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.6	-1.0	70.8	8.2	3.4	4.8
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 24 的、具 有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F +	67.0	4.4	---	---	---	---

[1064]

M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体						
空白	62.6	0.0	---	---	---	---

[1065] 表40. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1066]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 24 的、具有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.4	1.0	69.8	8.4	7.1	1.3
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	60.8	-0.6	69.8	8.4	5.5	2.9
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 24 的、具 有改变 R178* + G179* + E187P + I203Y + R458N + T459S + D460T + G476K 的变体	67.5	6.1	---	---	---	---
空白	61.4	0.0	---	---	---	---

[1067] 表41. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1068]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 27 的、具有改变 M202L 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.2	0.8	69.4	8.0	5.3	2.8

[1069]

秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.0	0.6	69.5	8.1	5.1	3.0
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.4	1.0	68.9	7.5	5.5	2.0
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	60.8	-0.6	69.3	7.9	3.9	4.0
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 27 的、具 有改变 M202L 的 变体	65.9	4.5	---	---	---	---
空白	61.4	0.0	---	---	---	---

[1070] 表42. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1071]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 28 的、具有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.0	0.7	67.5	6.2	3.9	2.3
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	61.2	-0.1	68.4	7.1	3.1	4.1
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	62.3	1.0	67.4	6.1	4.2	2.0
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	61.9	0.6	66.5	5.2	3.8	1.3
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 28 的、具 有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体	64.5	3.2	---	---	---	---
空白	61.3	0.0	---	---	---	---

[1072] 表43. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1073]

	单独使用酶		地衣多糖酶与 SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶的组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	60.0	-1.8	65.7	3.9	1.3	2.6
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	62.1	0.4	66.9	5.2	3.5	1.7
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	62.0	0.3	65.9	4.2	3.4	0.8
枯草芽孢杆菌地衣多糖酶	61.6	-0.2	65.7	3.9	2.9	1.0
SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶	64.8	3.1	---	---	---	---
空白	61.7	0.0	---	---	---	---

[1074] 表44. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 10.2)

[1075]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 30 的、具有改变 H1* + N54S + V56T + K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G + A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	59.4	-0.8	61.6	1.4	-0.5	1.9
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	60.5	0.4	61.8	1.6	0.7	1.0
枯草芽孢杆菌	60.1	-0.1	61.5	1.3	0.3	1.0

[1076]

地衣多糖酶						
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 30 的、具有改变 H1* + N54S + V56T + K72R + G109A + F113Q + R116Q + W167F + Q172G + A174S + G184T + N195F + V206L + K391A + P473R + G476K 的变体	60.5	0.3	---	---	---	---
空白	60.2	0.0	---	---	---	---

[1077] 表45. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 30min (pH 10.2)

[1078]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用
粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	61.4	-0.4	72.9	11.1	7.0	4.1
秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶	60.0	-1.8	74.1	12.4	5.7	6.7
莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶	62.1	0.4	73.2	11.5	7.8	3.7
芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶	61.4	-0.3	75.1	13.4	7.1	6.3
解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	62.0	0.3	72.6	10.8	7.7	3.1
枯草芽孢杆菌地衣多糖酶	61.6	-0.2	71.1	9.3	7.3	2.1
淀粉酶, 其是	69.2	7.4	---	---	---	---

[1079]

SEQ ID NO: 31 的、具有改变 M9L + R118K + G149A + G182T + G186A + D183* + G184* + N195F + T246V + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K 的变体						
空白	61.7	0.0	---	---	---	---

[1080] 表46. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 10.2)

[1081]

	单独使用酶		地衣多糖酶与淀粉酶组合, 该淀粉酶是 SEQ ID NO: 28 的、具有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.2	-0.9	63.9	2.9	1.0	1.9
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.4	-0.6	65.5	4.5	1.2	3.3
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.9	-0.2	65.0	4.0	1.7	2.3
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.9	-0.1	63.9	2.9	1.7	1.1
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	60.7	-0.4	63.5	2.5	1.5	1.0
淀粉酶, 其是 SEQ ID NO: 28 的、具 有改变 R180* + S181* + S243Q + G475K 的变体	62.9	1.9	---	---	---	---
空白	61.0	0.0	---	---	---	---

[1082] 表47. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 20min (pH 10.2)

	单独使用酶		地衣多糖酶与 SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶的组合				
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协同作用	
[1083]	粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶	60.2	-0.9	65.0	4.0	1.8	2.2
	解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶	60.9	-0.1	62.8	1.8	2.5	-0.7
	SEQ ID NO: 29 的、具有改变 D183* + G184* + W140Y + N195F + I206Y + Y243F + E260G + G304R + G476K 的淀粉酶	63.7	2.6	---	---	---	---
	空白	61.0	0.0	---	---	---	---

[1084] 实例10:与蛋白酶组合的地衣多糖酶的协同效应:

[1085] I.Wascator瓶洗涤方法描述:

[1086] 使用Wascator瓶洗涤方法来检测酶的性能。在Wascator洗涤机 (FOM 71实验室) 中添加具有包括一种或多种酶的25mL洗涤剂溶液的瓶 (60mL, DSE PP 70X 35 Aseptisk, 材料#:216-2620, 来自VWR) 和四种污渍 (C-H097-可可/燕麦片, 来自测试材料BV中心 (Center for Testmaterials BV), 邮箱120,3133KT, 弗拉尔丁恩, 荷兰, 直径2cm)。洗衣机中包括2kg 压载物 (茶巾, 棉)。在40℃在25L水中在标准洗涤剂中持续洗涤15min用于洗衣 (标准X) 并且在ADW标准洗涤剂A中洗涤用于自动餐具洗涤。洗涤后, 用自来水冲洗污渍两次 (3L) 并在干燥箱 (伊莱克斯, Intuition, EDD2400) 中在室温干燥过夜。在分光光度计 (Macbeth Color-Eye 7000 Remissions) 上在460nm处测量反射。

[1087] II. 结果:

[1088] 在本实例中示出, 使用Wascator瓶洗涤方法, 研究了将粘琼脂芽孢杆菌地衣多糖酶 (SEQ ID NO:39、His-标记的、重组的)、秋叶氏芽孢杆菌地衣多糖酶 (SEQ ID NO:38、His-标记的、重组的)、莫哈韦芽孢杆菌地衣多糖酶 (SEQ ID NO:40、His-标记的、重组的)、芽孢杆菌属物种-62449地衣多糖酶 (SEQ ID NO:37、His-标记的、重组的)、解淀粉芽孢杆菌地衣多糖酶 (SEQ ID NO:32) 和枯草杆菌地衣多糖酶 (SEQ ID NO:33) 的单独的成熟地衣多糖酶与蛋白酶 (Savinase, SEQ ID NO:34) 组合的结果, 以便调查在不同洗涤剂中的两种酶类别之间的潜在的协同效应。在标准洗涤剂X和ADW标准洗涤剂A中使用0.01mg酶蛋白每升的地衣多糖酶浓度和0.23mg酶蛋白每升的蛋白酶浓度在40℃进行与来自解淀粉芽孢杆菌的地衣多糖酶和来自枯草杆菌的地衣多糖酶的对比。详细条件如表48和表49所述, 并且结果如表50和表51所示。

[1089] 表48:实验条件

[1090]

洗涤剂	标准洗涤剂X (参见表13)
洗涤剂剂量	1.75g/L
测试溶液体积	25mL
pH	按原样
洗涤时间	15分钟
温度	40℃
水硬度	12° dH
测试中的蛋白酶浓度	0.23mg/L
测试中的地衣多糖酶浓度	0.01mg/L
测试材料	C-H097可可/燕麦片

[1091]

表49:实验条件

[1092]

洗涤剂	ADW标准洗涤剂A (参见表15)
洗涤剂剂量	3.77g/L
测试溶液体积	25mL
pH	按原样
洗涤时间	15分钟
温度	40℃
水硬度	21° dH
测试中的蛋白酶浓度	0.23mg/L
测试中的地衣多糖酶浓度	0.01mg/L
测试材料	C-H097可可/燕麦片

[1093]

表50. 在标准洗涤剂X中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 15min (pH 10.1)

[1094]

	单独使用酶		地衣多糖酶与蛋白酶 Savinase (SEQ ID NO: 34) 组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	40.0	6.1	54.5	20.6	10.6	10.0
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	37.6	3.8	45.4	11.5	8.2	3.3
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	37.6	3.7	50.9	17.0	8.2	8.7
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	37.7	3.8	48.4	14.5	8.3	6.2
解淀粉芽孢杆菌 地衣多糖酶	34.6	0.7	42.8	8.9	5.2	3.6
枯草芽孢杆菌 地衣多糖酶	35.8	1.9	42.8	8.9	6.4	2.5
Savinase (SEQ ID NO: 34)	38.4	4.5	---	---	---	---
空白	33.9	0.0	---	---	---	---

[1095] 表51. 在ADW标准洗涤剂A中的Wascator瓶洗涤, 40℃, 15min (pH 10.2)

[1096]

	单独使用酶		地衣多糖酶与蛋白酶 Savinase (SEQ ID NO: 34) 组合			
	REM	ΔREM	组合的 REM	组合的 ΔREM	理论 ΔREM	REM 协 同作用
粘琼脂芽孢杆菌 地衣多糖酶	40.0	4.6	53.0	17.6	10.3	7.4
秋叶氏芽孢杆菌 地衣多糖酶	36.8	1.4	52.2	16.8	7.1	9.7
莫哈韦芽孢杆菌 地衣多糖酶	39.0	3.6	51.1	15.7	9.3	6.4
芽孢杆菌属物种 -62449 地衣多糖酶	42.7	7.3	59.6	24.2	12.9	11.3
解淀粉芽孢杆菌	36.6	1.2	47.2	11.8	6.8	5.0

[1097]	地衣多糖酶					
	枯草芽孢杆菌					
	地衣多糖酶	37.1	1.7	48.3	12.9	7.4
	Savinase (SEQ ID NO: 34)	41.1	5.7	---	---	---
	空白	35.4	0.0	---	---	---

[1098] 实例11:用地衣多糖酶对煮熟的燕麦进行自动餐具洗涤清洁

[1099] I.自动餐具洗涤机

[1100] 使用自动餐具洗涤机 (Miele,G 1223,GSL-2) 来示出煮熟的燕麦中的地衣多糖酶性能。

[1101] II.结果:

[1102] 在表52中给出的实验条件下,在ADW标准洗涤剂A中在煮熟的燕麦上测试全规模的餐具洗涤性能。

[1103] 表52.实验条件:

[1104]		ADW 标准洗涤剂 A (参见表 15)
	洗涤剂剂量	3.77 g/L
	地衣多糖酶浓度	0 或 0.3 mg 酶蛋白/L
	淀粉酶浓度	0.5 mg 酶蛋白/L
	水硬度	按原样
	蛋白酶浓度	SEQ ID NO: 35: 3.7 mg 酶蛋白/L SEQ ID NO: 36: 5.9 mg 酶蛋白/L
	测试溶液体积	5.4 L
	Miele 机器	G 1223, GSL-2, 程序: 45°C/3'/8'/55
	污渍 (燕麦 : 奶 : 糖)	150 g : 300 mL : 50 g
	每盘污渍	35 g
	压载物	50 g IKW 压载物浆

[1105] 通过将磨碎的燕麦 (150g AXA Finvalsede Havregryn,在浸泡搅拌器“切碎机”中)、奶 (300mL) 和糖 (50g) 在烧杯中混合来制备污渍。将混合物加热至沸点并煮2分钟。将污渍添加至瓷盘 (35g) 中并在烘箱 (Heraeus Instruments公司, Typ UT6200) 中在40°C干燥过夜。将该盘冷却至室温,称重,并且在Miele餐具洗涤机 (G 1223,GSL-2) 在45°C用50g IKW压载物浆在ADW标准洗涤剂A、淀粉酶 (其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体;0.5mg酶蛋白/L) 和蛋白酶 (SEQ ID NO:35;3.7mg酶蛋白/L,SEQ ID NO:36;5.9mg酶蛋白/L) 或ADW标准洗涤剂A、淀粉酶 (其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体;0.5mg酶蛋白/L)、蛋白酶 (SEQ ID NO:35;3.7mg酶蛋白/L、SEQ ID NO:36;5.9mg酶蛋白/L) 和地衣多糖酶 (粘琼脂芽孢杆菌 (SEQ ID NO:39、His-标记的、重组的;0.3mg酶蛋白/L)) 洗涤持续8min (主洗)。

[1106] 地衣多糖酶对煮熟的燕麦的效果清晰可见且同样具有加权的。测量的数字示出在

表53中,以及洗涤后留在盘上的污渍的计算的数字。

[1107] 计算:

[1108] 洗涤前留在盘上的污渍重量=洗涤前盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘重量。

[1109] 洗涤后留在盘上的污渍重量=洗涤后盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘重量。

[1110] 表53.在煮熟的燕麦上的洗涤性能:

	洗涤前盘和污渍的重量(g)*	洗涤后盘和污渍的重量(g)*	洗涤前无污渍的盘重量(g)*	洗涤前留在盘上的污渍重量(g)*	洗涤后留在盘上的污渍重量(g)*
[1111] 无地衣多糖酶	530.6	515.9	514.5	16.1	1.4
有地衣多糖酶	549.0	533.0	532.8	16.2	0.2

[1112] *4次重复的平均值。

[1113] 实例12:用地衣多糖酶对煮熟且烧糊的燕麦进行自动餐具洗涤清洁

[1114] I.自动餐具洗涤机

[1115] 使用自动餐具洗涤机(Miele,G 1223,GSL-2)来示出煮熟且烧糊的燕麦中的地衣多糖酶性能。

[1116] II.结果:

[1117] 在表54中给出的实验条件下,在ADW标准洗涤剂A中在煮熟且烧糊的燕麦上测试全规模的餐具洗涤性能。

[1118] 表54.实验条件:

	ADW 标准洗涤剂 A (参见表 15)
洗涤剂剂量	3.77 g/L
地衣多糖酶浓度	0 或 0.3 mg 酶蛋白/L
淀粉酶浓度	0.5 mg 酶蛋白/L
水硬度	按原样
[1119] 蛋白酶浓度	SEQ ID NO: 35: 3.7 mg 酶蛋白/L SEQ ID NO: 36: 5.9 mg 酶蛋白/L
测试溶液体积	5.4 L
Miele 机器	G 1223, GSL-2, 程序: 45°C/3'/8'/55
污渍(燕麦:奶:糖)	150 g:300 mL:50 g
每盘污渍	15 g
压载物	50 g IKW 压载物浆

[1120] 通过将磨碎的燕麦(150g AXA Finvalsede Havregryn,在浸泡搅拌器“切碎机”中)、奶(300mL)和糖(50g)在烧杯中混合来制备污渍。将混合物加热至沸点并煮2分钟。将污渍添加钢盘(15g)中并在烘箱(Heraeus Instruments公司,Typ UT6200)中在140°C干燥持续40分钟。将该盘冷却,称重并在45°C在Miele餐具洗涤机(G 1223,GSL-2)中,使用50g IKW

压载物浆在ADW标准洗涤剂A、淀粉酶(其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体,0.5mg酶蛋白/L)和蛋白酶(SEQ ID NO:35,3.7mg酶蛋白/L,SEQ ID NO:36,5.9mg酶蛋白/L)或ADW标准洗涤剂A、淀粉酶(其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体;0.5mg酶蛋白/L)、蛋白酶(SEQ ID NO:35;3.7mg酶蛋白/L、SEQ ID NO:36;5.9mg酶蛋白/L)和地衣多糖酶(粘琼脂芽孢杆菌,SEQ ID NO:39,His-标记的、重组的、0.3mg酶蛋白/L)洗涤持续8min(主洗)。洗涤后,将盘在室温干燥并称重。

[1121] 计算:

[1122] 洗涤前留在盘上的污渍重量=洗涤前盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘的重量。

[1123] 洗涤后留在盘上的污渍重量=洗涤后盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘的重量。

[1124] 在煮熟且烧糊的燕麦上观察到地衣多糖酶的清楚效果,并且测量的数字示出在表55中以及洗涤后留在盘上的污渍的计算的数字。

[1125] 表55.在煮熟且烧糊的燕麦上的洗涤性能:

	洗涤前盘和污渍的重量(g)*	洗涤后盘和污渍的重量(g)*	洗涤前无污渍的盘的重量(g)*	洗涤前留在盘上的污渍的重量(g)*	洗涤后留在盘上的污渍的重量(g)*
[1126] 无地衣多糖酶	210.1	205.8	203.6	6.5	2.2
有地衣多糖酶	205.9	200.5	199.4	6.5	1.2

[1127] *6次重复的平均值。

[1128] 实例13:用地衣多糖酶对未煮熟的燕麦进行自动餐具洗涤清洁

[1129] I.自动餐具洗涤机

[1130] 使用自动餐具洗涤机(Miele,G 1223,GSL-2)来示出未煮熟的燕麦中的地衣多糖酶性能。

[1131] II.结果:

[1132] 在表56中给出的实验条件下,在ADW标准洗涤剂A中在未煮熟的燕麦上测试全规模的餐具洗涤性能。

[1133] 表56.实验条件:

[1134]		ADW 标准洗涤剂 A (参见表 15)
	洗涤剂剂量	3.77 g/L
	地衣多糖酶浓度	0 或 0.3 mg 酶蛋白/L
	淀粉酶浓度	0.5 mg 酶蛋白/L
	水硬度	按原样
	蛋白酶浓度	SEQ ID NO: 35: 3.7 mg 酶蛋白/L SEQ ID NO: 36: 5.9 mg 酶蛋白/L
	测试溶液体积	5.4 L
	Miele 机器	G 1223, GSL-2, 程序: 45°C/3'/8'/55
	污渍(燕麦:奶:糖)	150 g:300 mL:50 g
	每盘污渍	35 g
	压载物	50 g IKW 压载物浆

[1135] 通过将磨碎的燕麦(150g AXA Finvalsede Havregryn,在浸泡搅拌器“切碎机”中)、奶(300mL)和糖(50g)在烧杯中混合来制备污渍。将污渍添加至瓷盘(35g)中并在烘箱(Heraeus Instruments公司,Typ UT6200)中在40°C干燥过夜。将该盘在室温中冷却,称重并在45°C在Miele餐具洗涤剂(G 1223,GSL-2)中使用50g IKW压载物浆在ADW标准洗涤剂A、淀粉酶(其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体,0.5mg酶蛋白/L)和蛋白酶(SEQ ID NO:35;3.7mg酶蛋白/L、SEQ ID NO:36;5.9mg酶蛋白/L)或ADW标准洗涤剂A、淀粉酶(其是SEQ ID NO:24的、具有改变M9L+R118K+G149A+G182T+G186A+D183*+G184*+N195F+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K的变体;0.5mg酶蛋白/L)、蛋白酶(SEQ ID NO:35;3.7mg酶蛋白/L、SEQ ID NO:36;5.9mg酶蛋白/L)和地衣多糖酶(粘琼脂芽孢杆菌;SEQ ID NO:39、His-标记的、重组的;0.3mg酶蛋白/L)洗涤持续8min(主洗)。洗涤后,将盘在室温干燥并称重。

[1136] 地衣多糖酶对未煮熟的燕麦的影响清晰可见并具有加权的。测量的数字示出在表57中,以及洗涤后留在盘上的污渍的计算的数字。

[1137] 计算:

[1138] 洗涤前留在盘上的污渍重量=洗涤前盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘重量。

[1139] 洗涤后留在盘上的污渍重量=洗涤后盘和污渍的重量-洗涤前没有污渍的盘重量。

[1140] 表57.在未煮熟的燕麦上的洗涤性能:

[1141]		洗涤前盘和污渍的重量(g)*	洗涤后盘和污渍的重量(g)*	洗涤前无污渍的盘重量(g)*	洗涤前留在盘上的污渍重量(g)*	洗涤后留在盘上的污渍重量(g)*
	无地衣多糖酶	530.5	515.2	514.5	16.0	0.7
	有地衣多糖酶	548.8	532.8	532.8	16.0	0.0

[1142] *4次重复的平均值。

[1143] 实例14:地衣多糖酶的洗涤性能和抗再沉积作用

[1144] I. Mini Tergo-0-tometer (MiniTOM) 洗涤测定

[1145] Mini Tergo-To-Meter (MiniTOM) 是一种中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试16种不同洗涤条件。MiniTOM基本上是大型的具有多达16个开放金属烧杯(300mL)淹没至其中的温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的顶部加载型洗涤机器并且在实验期间,它们中的每一者将含有特定洗涤剂/酶系统的溶液并且对弄脏的和未弄脏的织物测试其性能。通过旋转搅拌臂获得机械应力,该旋转搅拌臂搅拌在每个烧杯内的液体。因为MiniTOM烧杯不含盖子,所以有可能在MiniTOM实验期间收回样品并且在洗涤期间在线分析信息。

[1146] MiniTOM标准洗涤系统主要在US或LA/AP洗涤条件下用于洗涤剂和酶的中等规模测试。在MiniTOM实验中,因素如压载物与污垢的比率和织物与洗涤液的比率可以变化。因此,MiniTOM提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在顶部加载型洗涤机中的更费时的全规模实验之间的联系。

[1147] II. 结果:

[1148] 在表58中给出的实验条件下,在标准洗涤剂A中测试地衣多糖酶,粘琼脂芽孢杆菌(SEQ ID NO:7)的MiniTergotometer (MiniTOM) 抗再沉积。

[1149] 表58:实验条件:

	标准 A (参见表 11)
洗涤剂剂量	3.33 g/L
地衣多糖酶浓度	0 或 0.3 mg 酶蛋白/L
淀粉酶浓度	0.2 mg 酶蛋白/L
水硬度	15°dH ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 4 : 1 : 7.5$)
测试溶液体积	100 ml
洗涤时间	20 分钟
[1150] 转速	120 rpm
pH	按原样
温度	20°C
测试材料	纺织品样品 C-H097 (可可/燕麦片) 获得自测试材料 BV 中心 (Center For Testmaterials BV) (邮政信箱 120, 3133 KT 弗拉尔丁恩, 荷兰)。 没有初始污渍的布样: 预洗过的针织棉获得自来自沃里克 伊奎斯特公司 (Warwick Equest Ltd), 55 单元,
[1151]	康塞特商业园 (Consett Business Park), 康塞特, 达勒姆郡, DH8 6BN, 英国。

[1152] 如下所述测试了地衣多糖酶,粘琼脂芽孢杆菌(SEQ ID NO:7)的抗再沉积(和洗涤性能)。

[1153] 洗涤溶液通过以下步骤制备:通过添加 CaCl_2 、 MgCl_2 和 NaHCO_3 ($\text{Ca}^{2+} : \text{Mg}^{2+} : \text{HCO}_3^- = 4 : 1 : 7.5$)来调节水硬度至15°dH,添加所希望的量的洗涤剂(3.33g/L的标准洗涤剂A)并且在

水桶中调节温度至40℃。在磁力搅拌过程中将洗涤剂溶解10分钟(洗涤溶液在制备后30分钟至60分钟内使用)。MiniTOM中的水浴中的温度和旋转分别设定为40℃和120rpm。当根据设定(公差是 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$)调节温度时,将100mL的洗涤溶液添加到MiniTOM烧杯(300mL)中。

[1154] 将布样(1个针织棉布样(圆形,直径2cm)和12个C-H097(圆形,直径2cm))、地衣多糖酶(粘琼脂芽孢杆菌(SEQ ID NO:39,His-标记的、重组的),0或0.3mg酶蛋白/L)和淀粉酶(SEQ ID NO:12,0.2mg酶蛋白/L)添加至烧杯中并且洗涤持续20分钟。将布样在冷自来水中冲洗5分钟。将布样在干燥橱中的滤纸之间分类并干燥,而不加热过夜。

[1155] 将抗再沉积(和洗涤性能)作为所洗涤的纺织品的颜色的亮度来测量,表示为反射值(REM)。使用Macbeth 7000Color Eye分光光度计进行反射测量。测量每个干燥的布样。由于存在来自背景的干扰风险,在测量反射期间将布样置于2层织物的顶部。在460nm处测量反射。不包括UV滤光片。计算布样的反射的平均结果。

[1156] 由于地衣多糖酶的存在引起的抗再沉积作用见表59。在没有地衣多糖酶存在的烧杯中,污染的布样(C-H097)释放的污垢重新沉积到没有初始污渍的布样上。当地衣多糖酶存在于洗涤液中时,清楚地看到了抗再沉积作用。

[1157] 表59.地衣多糖酶的抗再沉积作用和洗涤性能:

[1158]		REM 洗涤前	洗涤后 REM 无地衣多糖酶	洗涤后 REM 有地衣多糖酶
	无初始污渍的样布 (抗再沉积)	92.1	65.3	88.2
	有污渍的样布(C-H097) (洗涤性能)	18.8	38.1	42.2

[1159] 实例15:

[1160] 燕麦片上的清洗性能:

[1161] 充分混合500g燕麦片、167g糖和1升半脱脂牛奶(1.5%脂肪)。将该混合物留在室温不搅拌至少2小时。之后,使用金属环(半径11cm)将15g($\pm 0.2\text{g}$)的该制剂均匀地散布在盘(瓷盘)上,并在40℃干燥过夜。

[1162] 在自动餐具洗涤剂Miele GSL中,以21°dH,45℃,8min保持时间和在55℃的冲洗温度,使用放在其中的污染的餐具/刀具(根据IKW方法, *Söfwjournal*, 142, (06), 2016, S.33-48)和放在其中的如上制备的另外的4个盘测试了清洁性能。根据IKW测量对意大利面和淀粉混合物的清洁性能。根据IKW进行估算,针对燕麦片的结果记录也为算术平均值。较高的值表示较好的清洁性能,高于1.0的差被认为是显著的。

[1163] 清洁性能:

[1164] 将双组液体自动餐具洗涤产品(每种组合物A和B各15ml,表60、61)同时添加到餐具洗涤剂的剂量室中。

[1165] 表60:

[1166]	酶相 (EP)	A
	淀粉酶 (wt.%酶蛋白)	0.02
	蛋白酶 (wt.%酶蛋白)	0.20
	甘油	8.0
	包含含有单体的磺酸基团的共聚物	7.5
	MGDA Na4	10.00
	一种或多种非离子型表面活性剂	2.8
	根据本发明的多肽(*根据 SEQ ID NO: 7 的成熟多肽)	见下文
	混合的 (香料、着色剂、酶稳定剂和 UV、玻璃腐蚀抑制剂、增稠剂、水)	添加至 100
	pH 值 (未稀释, 25°C)	7.5

[1167] 表61:

[1168]	碱性相 (AP)	B
	HEDP	2.5
	MGDA (四钠盐)	3.5
	KOH	3.2
	碳酸钠	8.5

[1169]	阳离子共聚物	0.5
	柠檬酸钠 x 2H ₂ O	14.0
	混合的 (香料、着色剂、酶稳定剂和 UV、玻璃腐蚀抑制剂、增稠剂、水)	添加至 100
	(KOH/柠檬酸)调节的 pH 值(未稀释, 25°C)	10.5

[1170] 表62

[1171]	清洁性能	燕麦片	淀粉混合物
	无地衣多糖酶, 测试前直接制备	6.5	7.3
	在 A 中的 1.5 mg 地衣多糖酶*, 在测试前直接制备	8.0	8.3

[1172] *根据SEQ ID NO:7的成熟多肽

[1173] 表63

[1174]	清洁性能	意大利面
	无地衣多糖酶, 测试前直接制备	5.8
	在 A 中的 1 mg 地衣多糖酶*, 在测试前直接制备	7.5

[1175] *根据SEQ ID NO:7的成熟多肽

[1176] 表64

[1177]	液体自动餐具洗涤产品	在燕麦片上的 清洁性能
	无地衣多糖酶, 储存条件: 在 T = 22°C 四周	5.9
	在 A 中的 1 mg 地衣多糖酶*, 在测试前直接制备	7.5
	在 A 中的 1 mg 地衣多糖酶*, 储存条件: 在 T = 22°C 四周	7.3
	在 A 中的 1 mg 地衣多糖酶*, 储存条件: 在 T = 30°C 四周	7.6
	在 A 中的 1 mg 地衣多糖酶*, 储存条件: 在 T = 40°C 四周	7.1

[1178] *根据SEQ ID NO:7的成熟多肽

[1179] 令人惊奇地发现,在意大利面(spaghetti)和/或含淀粉污垢中,餐具洗涤剂组合物(优选自动餐具洗涤组合物)的清洁性能得到增强(表62、63)。

[1180] 因此,本发明的地衣多糖酶有助于在存在一种或多种淀粉酶的情况下去除含淀粉污垢并增强淀粉酶相关的清洁性能。

[1181] 在不同温度中储存4周后,餐具洗涤组合物在燕麦片上的清洁性能没有显著地改变(表64)。对于含有1.5mg或2.0mg活性酶蛋白/作业地衣多糖酶的自动餐具洗涤组合物,储存条件:在T=40°C持续8周或在T=50°C持续2周,发现了相似的结果。

[1182] 本文描述和要求保护的本发明不限于本文披露的特定方面的范围,因为这些方面旨在作为本发明若干方面的说明。任何等同方面意欲在本发明的范围之内。实际上,除了本文所示和描述的那些之外,对于本领域的技术人员而言本发明的各种修改将从前述的说明书变得显而易见。这样的修改也旨在落入所附权利要求书的范围内。在冲突的情况下,以包括定义的本披露为准。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 诺维信公司 (Novozymes A/S)
 [0003] <120> 具有 β -葡聚糖酶活性的多肽、
 [0004] 编码其的多核苷酸及其在清洁和
 [0005] 洗涤剂组合物中的用途
 [0006] <130> 13203-W0-PCT
 [0007] <150> EP15198277.4
 [0008] <151> 2015-12-07
 [0009] <150> EP15198282.4
 [0010] <151> 2015-12-07
 [0011] <160> 40
 [0012] <170> PatentIn版本3.5
 [0013] <210> 1
 [0014] <211> 1140
 [0015] <212> DNA
 [0016] <213> 芽孢杆菌属物种-62449
 [0017] <220>
 [0018] <221> CDS
 [0019] <222> (1) .. (1137)
 [0020] <220>
 [0021] <221> 尚未归类的特征
 [0022] <222> (1) .. (3)
 [0023] <223> SEQ ID NO: 2所示的且由SEQ ID NO:1所示的
 [0024] 多核苷酸编码的多肽中的第一氨基酸(位置-28)应该是
 [0025] Met,而不是Val。当第一密码子是gtg时,插入
 [0026] Met,尽管gtg通常编码V。
 [0027] <220>
 [0028] <221> 信号肽
 [0029] <222> (1) .. (84)
 [0030] <220>
 [0031] <221> 成熟肽
 [0032] <222> (85) .. (1137)
 [0033] <400> 1
 [0034] gtg gtt aaa att aaa att aac aat agt att aga att gta atg ctg acg 48
 [0035] Val Val Lys Ile Lys Ile Asn Asn Ser Ile Arg Ile Val Met Leu Thr
 [0036] -25 -20 -15
 [0037] cta ata atg atg tcc gtt tca gtg gtg gct tat gcg tac aac cca gta 96
 [0038] Leu Ile Met Met Ser Val Ser Val Val Ala Tyr Ala Tyr Asn Pro Val

[0039]	-10					-5					-1					1				
[0040]	aca	gag	gac	gaa	cta	tat	cat	tcg	ttc	gat	agt	cat	gat	gct	cgg	aac	144			
[0041]	Thr	Glu	Asp	Glu	Leu	Tyr	His	Ser	Phe	Asp	Ser	His	Asp	Ala	Arg	Asn				
[0042]	5					10					15					20				
[0043]	tgg	cag	att	tct	gat	ggt	tgg	aga	aat	ggc	gat	gat	ttt	ttc	ggt	tgc	192			
[0044]	Trp	Gln	Ile	Ser	Asp	Gly	Trp	Arg	Asn	Gly	Asp	Asp	Phe	Phe	Gly	Cys				
[0045]	25					30					35									
[0046]	cat	tgg	agt	caa	aac	agg	gtt	aat	ttt	aat	cgt	ggt	gaa	atg	gaa	cta	240			
[0047]	His	Trp	Ser	Gln	Asn	Arg	Val	Asn	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Met	Glu	Leu				
[0048]	40					45					50									
[0049]	tct	ctt	cgt	aca	aat	tat	tca	tac	tca	gct	ccg	tat	aat	tat	gag	tgt	288			
[0050]	Ser	Leu	Arg	Thr	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ala	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Cys				
[0051]	55					60					65									
[0052]	gca	gag	tat	gcg	acg	agt	aat	ttc	tat	gga	tat	ggt	ttg	tac	gaa	gta	336			
[0053]	Ala	Glu	Tyr	Ala	Thr	Ser	Asn	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Val				
[0054]	70					75					80									
[0055]	tct	atg	aaa	cca	gcc	aat	gta	tca	gga	gtg	att	tct	tct	ttc	ttc	acg	384			
[0056]	Ser	Met	Lys	Pro	Ala	Asn	Val	Ser	Gly	Val	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr				
[0057]	85					90					95					100				
[0058]	tat	aca	ggt	cct	tca	tat	aat	gga	gca	cct	tgg	gat	gag	att	gat	att	432			
[0059]	Tyr	Thr	Gly	Pro	Ser	Tyr	Asn	Gly	Ala	Pro	Trp	Asp	Glu	Ile	Asp	Ile				
[0060]	105					110					115									
[0061]	gaa	ttt	cta	gga	aac	gac	acg	aca	aaa	gtt	caa	ttc	aat	tat	tac	acg	480			
[0062]	Glu	Phe	Leu	Gly	Asn	Asp	Thr	Thr	Lys	Val	Gln	Phe	Asn	Tyr	Tyr	Thr				
[0063]	120					125					130									
[0064]	aac	ggt	gta	gga	gga	aat	gaa	ata	att	tac	gat	tta	gga	ttt	gat	gct	528			
[0065]	Asn	Gly	Val	Gly	Gly	Asn	Glu	Ile	Ile	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Asp	Ala				
[0066]	135					140					145									
[0067]	gca	aat	agt	ttt	aat	acg	tat	gcg	ttt	gat	tgg	caa	gag	aat	tat	att	576			
[0068]	Ala	Asn	Ser	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Trp	Gln	Glu	Asn	Tyr	Ile				
[0069]	150					155					160									
[0070]	agc	tgg	tat	gtt	aat	ggg	aac	ttg	gta	gct	aca	gca	aca	gaa	aat	att	624			
[0071]	Ser	Trp	Tyr	Val	Asn	Gly	Asn	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Asn	Ile				
[0072]	165					170					175					180				
[0073]	cca	agt	aac	ccg	agt	aaa	atc	atg	atg	aat	gtg	tgg	aat	acg	tac	gga	672			
[0074]	Pro	Ser	Asn	Pro	Ser	Lys	Ile	Met	Met	Asn	Val	Trp	Asn	Thr	Tyr	Gly				
[0075]	185					190					195									
[0076]	att	gat	gaa	tgg	gca	ggg	gca	tat	gga	gga	gaa	gcc	gct	aat	gcc	acc	720			
[0077]	Ile	Asp	Glu	Trp	Ala	Gly	Ala	Tyr	Gly	Gly	Glu	Ala	Ala	Asn	Ala	Thr				

[0078]	200	205	210
[0079]	tat gaa tgg gta cgg tat aca ccg aat aat gga aac aca act cct tcc	768	
[0080]	Tyr Glu Trp Val Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Gly Asn Thr Thr Pro Ser		
[0081]	215	220	225
[0082]	act gct cct gac ttt caa ttg caa gcg tgt gat tac tca gat tca agt	816	
[0083]	Thr Ala Pro Asp Phe Gln Leu Gln Ala Cys Asp Tyr Ser Asp Ser Ser		
[0084]	230	235	240
[0085]	ggg atc aca tct tgg tct tgt ggg gta ggg acc ttt cat tct agt aat	864	
[0086]	Gly Ile Thr Ser Trp Ser Cys Gly Val Gly Thr Phe His Ser Ser Asn		
[0087]	245	250	255
[0088]	260		
[0088]	tgg att aaa ttt gat agc gtt gat tta tct aca ggg tat aat gca ttt	912	
[0089]	Trp Ile Lys Phe Asp Ser Val Asp Leu Ser Thr Gly Tyr Asn Ala Phe		
[0090]	265	270	275
[0091]	gct gtc agc tat act tct ccg gga agt ggt agt ttt gat att aga cta	960	
[0092]	Ala Val Ser Tyr Thr Ser Pro Gly Ser Gly Ser Phe Asp Ile Arg Leu		
[0093]	280	285	290
[0094]	ggt agt cct cat ggt caa aga att ggt act gta aac tat ggt gca act	1008	
[0095]	Gly Ser Pro His Gly Gln Arg Ile Gly Thr Val Asn Tyr Gly Ala Thr		
[0096]	295	300	305
[0097]	ggt ggt tgg tct aac tac gag tgg agt ggt acc ccg tca tta gat gtg	1056	
[0098]	Gly Gly Trp Ser Asn Tyr Glu Trp Ser Gly Thr Pro Ser Leu Asp Val		
[0099]	310	315	320
[0100]	acc gta aga gga gca cat gat ata tac att gta gct acg agc gga gcg	1104	
[0101]	Thr Val Arg Gly Ala His Asp Ile Tyr Ile Val Ala Thr Ser Gly Ala		
[0102]	325	330	335
[0103]	340		
[0103]	gct aat cta agg gaa ttt tgg ttt aaa aat gaa taa	1140	
[0104]	Ala Asn Leu Arg Glu Phe Trp Phe Lys Asn Glu		
[0105]	345	350	
[0106]	<210> 2		
[0107]	<211> 379		
[0108]	<212> PRT		
[0109]	<213> 芽孢杆菌属物种-62449		
[0110]	<400> 2		
[0111]	Val Val Lys Ile Lys Ile Asn Asn Ser Ile Arg Ile Val Met Leu Thr		
[0112]	-25	-20	-15
[0113]	Leu Ile Met Met Ser Val Ser Val Val Ala Tyr Ala Tyr Asn Pro Val		
[0114]	-10	-5	-1 1
[0115]	Thr Glu Asp Glu Leu Tyr His Ser Phe Asp Ser His Asp Ala Arg Asn		
[0116]	5	10	15
			20

[0117]	Trp	Gln	Ile	Ser	Asp	Gly	Trp	Arg	Asn	Gly	Asp	Asp	Phe	Phe	Gly	Cys
[0118]					25					30					35	
[0119]	His	Trp	Ser	Gln	Asn	Arg	Val	Asn	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Met	Glu	Leu
[0120]				40					45					50		
[0121]	Ser	Leu	Arg	Thr	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ala	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Cys
[0122]				55					60					65		
[0123]	Ala	Glu	Tyr	Ala	Thr	Ser	Asn	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Val
[0124]		70						75					80			
[0125]	Ser	Met	Lys	Pro	Ala	Asn	Val	Ser	Gly	Val	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr
[0126]	85					90					95					100
[0127]	Tyr	Thr	Gly	Pro	Ser	Tyr	Asn	Gly	Ala	Pro	Trp	Asp	Glu	Ile	Asp	Ile
[0128]					105					110					115	
[0129]	Glu	Phe	Leu	Gly	Asn	Asp	Thr	Thr	Lys	Val	Gln	Phe	Asn	Tyr	Tyr	Thr
[0130]				120					125					130		
[0131]	Asn	Gly	Val	Gly	Gly	Asn	Glu	Ile	Ile	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Asp	Ala
[0132]			135					140						145		
[0133]	Ala	Asn	Ser	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Trp	Gln	Glu	Asn	Tyr	Ile
[0134]		150						155					160			
[0135]	Ser	Trp	Tyr	Val	Asn	Gly	Asn	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Asn	Ile
[0136]	165					170					175					180
[0137]	Pro	Ser	Asn	Pro	Ser	Lys	Ile	Met	Met	Asn	Val	Trp	Asn	Thr	Tyr	Gly
[0138]					185					190					195	
[0139]	Ile	Asp	Glu	Trp	Ala	Gly	Ala	Tyr	Gly	Gly	Glu	Ala	Ala	Asn	Ala	Thr
[0140]				200					205					210		
[0141]	Tyr	Glu	Trp	Val	Arg	Tyr	Thr	Pro	Asn	Asn	Gly	Asn	Thr	Thr	Pro	Ser
[0142]			215						220					225		
[0143]	Thr	Ala	Pro	Asp	Phe	Gln	Leu	Gln	Ala	Cys	Asp	Tyr	Ser	Asp	Ser	Ser
[0144]		230					235					240				
[0145]	Gly	Ile	Thr	Ser	Trp	Ser	Cys	Gly	Val	Gly	Thr	Phe	His	Ser	Ser	Asn
[0146]	245					250					255					260
[0147]	Trp	Ile	Lys	Phe	Asp	Ser	Val	Asp	Leu	Ser	Thr	Gly	Tyr	Asn	Ala	Phe
[0148]				265					270					275		
[0149]	Ala	Val	Ser	Tyr	Thr	Ser	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Phe	Asp	Ile	Arg	Leu
[0150]				280					285					290		
[0151]	Gly	Ser	Pro	His	Gly	Gln	Arg	Ile	Gly	Thr	Val	Asn	Tyr	Gly	Ala	Thr
[0152]			295						300					305		
[0153]	Gly	Gly	Trp	Ser	Asn	Tyr	Glu	Trp	Ser	Gly	Thr	Pro	Ser	Leu	Asp	Val
[0154]		310						315				320				
[0155]	Thr	Val	Arg	Gly	Ala	His	Asp	Ile	Tyr	Ile	Val	Ala	Thr	Ser	Gly	Ala

[0156]	325	330	335	340
[0157]	Ala Asn Leu Arg Glu Phe Trp Phe Lys Asn Glu			
[0158]	345	350		
[0159]	<210> 3			
[0160]	<211> 379			
[0161]	<212> PRT			
[0162]	<213> 芽孢杆菌属物种-62449			
[0163]	<220>			
[0164]	<221> 信号			
[0165]	<222> (1) .. (28)			
[0166]	<220>			
[0167]	<221> 成熟肽			
[0168]	<222> (29) .. (379)			
[0169]	<400> 3			
[0170]	Met Val Lys Ile Lys Ile Asn Asn Ser Ile Arg Ile Val Met Leu Thr			
[0171]	-25 -20 -15			
[0172]	Leu Ile Met Met Ser Val Ser Val Val Ala Tyr Ala Tyr Asn Pro Val			
[0173]	-10 -5 -1 1			
[0174]	Thr Glu Asp Glu Leu Tyr His Ser Phe Asp Ser His Asp Ala Arg Asn			
[0175]	5 10 15 20			
[0176]	Trp Gln Ile Ser Asp Gly Trp Arg Asn Gly Asp Asp Phe Phe Gly Cys			
[0177]	25 30 35			
[0178]	His Trp Ser Gln Asn Arg Val Asn Phe Asn Arg Gly Glu Met Glu Leu			
[0179]	40 45 50			
[0180]	Ser Leu Arg Thr Asn Tyr Ser Tyr Ser Ala Pro Tyr Asn Tyr Glu Cys			
[0181]	55 60 65			
[0182]	Ala Glu Tyr Ala Thr Ser Asn Phe Tyr Gly Tyr Gly Leu Tyr Glu Val			
[0183]	70 75 80			
[0184]	Ser Met Lys Pro Ala Asn Val Ser Gly Val Ile Ser Ser Phe Phe Thr			
[0185]	85 90 95 100			
[0186]	Tyr Thr Gly Pro Ser Tyr Asn Gly Ala Pro Trp Asp Glu Ile Asp Ile			
[0187]	105 110 115			
[0188]	Glu Phe Leu Gly Asn Asp Thr Thr Lys Val Gln Phe Asn Tyr Tyr Thr			
[0189]	120 125 130			
[0190]	Asn Gly Val Gly Gly Asn Glu Ile Ile Tyr Asp Leu Gly Phe Asp Ala			
[0191]	135 140 145			
[0192]	Ala Asn Ser Phe Asn Thr Tyr Ala Phe Asp Trp Gln Glu Asn Tyr Ile			
[0193]	150 155 160			
[0194]	Ser Trp Tyr Val Asn Gly Asn Leu Val Ala Thr Ala Thr Glu Asn Ile			

[0195]	165	170	175	180
[0196]	Pro Ser Asn Pro Ser Lys Ile Met Met Asn Val Trp Asn Thr Tyr Gly			
[0197]		185	190	195
[0198]	Ile Asp Glu Trp Ala Gly Ala Tyr Gly Gly Glu Ala Ala Asn Ala Thr			
[0199]		200	205	210
[0200]	Tyr Glu Trp Val Arg Tyr Thr Pro Asn Asn Gly Asn Thr Thr Pro Ser			
[0201]		215	220	225
[0202]	Thr Ala Pro Asp Phe Gln Leu Gln Ala Cys Asp Tyr Ser Asp Ser Ser			
[0203]		230	235	240
[0204]	Gly Ile Thr Ser Trp Ser Cys Gly Val Gly Thr Phe His Ser Ser Asn			
[0205]		245	250	255
[0206]	Trp Ile Lys Phe Asp Ser Val Asp Leu Ser Thr Gly Tyr Asn Ala Phe			
[0207]		265	270	275
[0208]	Ala Val Ser Tyr Thr Ser Pro Gly Ser Gly Ser Phe Asp Ile Arg Leu			
[0209]		280	285	290
[0210]	Gly Ser Pro His Gly Gln Arg Ile Gly Thr Val Asn Tyr Gly Ala Thr			
[0211]		295	300	305
[0212]	Gly Gly Trp Ser Asn Tyr Glu Trp Ser Gly Thr Pro Ser Leu Asp Val			
[0213]		310	315	320
[0214]	Thr Val Arg Gly Ala His Asp Ile Tyr Ile Val Ala Thr Ser Gly Ala			
[0215]		325	330	335
[0216]	Ala Asn Leu Arg Glu Phe Trp Phe Lys Asn Glu			
[0217]		345	350	
[0218]	<210> 4			
[0219]	<211> 831			
[0220]	<212> DNA			
[0221]	<213> 秋叶氏芽孢杆菌			
[0222]	<220>			
[0223]	<221> CDS			
[0224]	<222> (1) .. (828)			
[0225]	<220>			
[0226]	<221> 信号肽			
[0227]	<222> (1) .. (93)			
[0228]	<220>			
[0229]	<221> 成熟肽			
[0230]	<222> (94) .. (828)			
[0231]	<400> 4			
[0232]	atg aaa aag aaa ttt gtt tta ttt tct atg tgt tta tta ttg ttt agc	48		
[0233]	Met Lys Lys Lys Phe Val Leu Phe Ser Met Cys Leu Leu Leu Phe Ser			

[0234]	-30	-25	-20
[0235]	ggc ctc ata act gga tta gtt caa agt cca caa gtt gct gaa gca gca	96	
[0236]	Gly Leu Ile Thr Gly Leu Val Gln Ser Pro Gln Val Ala Glu Ala Ala		
[0237]	-15	-10	-5
[0238]	gaa aga cca att ggg act aca ttt gtt gaa aca ttt gaa tca tat gac	144	
[0239]	Glu Arg Pro Ile Gly Thr Thr Phe Val Glu Thr Phe Glu Ser Tyr Asp		
[0240]	5	10	15
[0241]	tca gaa cgt tgg tcg aaa gcg gga gtt tgg aca aat gga caa atg ttt	192	
[0242]	Ser Glu Arg Trp Ser Lys Ala Gly Val Trp Thr Asn Gly Gln Met Phe		
[0243]	20	25	30
[0244]	aat gca aca tgg tat cca gaa caa gtt act ttt tct gat ggt aag atg	240	
[0245]	Asn Ala Thr Trp Tyr Pro Glu Gln Val Thr Phe Ser Asp Gly Lys Met		
[0246]	35	40	45
[0247]	aag ttg caa att gat aaa gaa gac aat gaa act gcg agc ccg cca tac	288	
[0248]	Lys Leu Gln Ile Asp Lys Glu Asp Asn Glu Thr Ala Ser Pro Pro Tyr		
[0249]	50	55	60
[0250]	aaa gct gga gaa ctt cgt aca aac gat ttt tat cac tac ggg ttg ttt	336	
[0251]	Lys Ala Gly Glu Leu Arg Thr Asn Asp Phe Tyr His Tyr Gly Leu Phe		
[0252]	70	75	80
[0253]	gaa gtg agt atg aaa cct gca aaa tca acg gga aca gtc tct tca ttt	384	
[0254]	Glu Val Ser Met Lys Pro Ala Lys Ser Thr Gly Thr Val Ser Ser Phe		
[0255]	85	90	95
[0256]	ttc acc tat act gga cct tgg gat tgg gat aat gat cca tgg gat gaa	432	
[0257]	Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Trp Asp Trp Asp Asn Asp Pro Trp Asp Glu		
[0258]	100	105	110
[0259]	att gat atc gaa ttt tta ggt aag gat act act aaa ata caa ttt aat	480	
[0260]	Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Lys Asp Thr Thr Lys Ile Gln Phe Asn		
[0261]	115	120	125
[0262]	tat ttt aca aac gga gta ggc gga aat gag cat tac cat gaa tta gga	528	
[0263]	Tyr Phe Thr Asn Gly Val Gly Gly Asn Glu His Tyr His Glu Leu Gly		
[0264]	130	135	140
[0265]	ttt gat gca gca gat gat ttt aat acg tat gct ttt gag tgg aga cca	576	
[0266]	Phe Asp Ala Ala Asp Asp Phe Asn Thr Tyr Ala Phe Glu Trp Arg Pro		
[0267]	150	155	160
[0268]	gaa tct att cgt tgg ttt gta aat ggt gaa ctg gtt cat aca gca aca	624	
[0269]	Glu Ser Ile Arg Trp Phe Val Asn Gly Glu Leu Val His Thr Ala Thr		
[0270]	165	170	175
[0271]	gaa aat ata cca caa aca cca caa aaa ata atg atg aac tta tgg cct	672	
[0272]	Glu Asn Ile Pro Gln Thr Pro Gln Lys Ile Met Met Asn Leu Trp Pro		

[0273]	180	185	190
[0274]	ggt att gga gta gac ggg tgg act ggt aga ttt aat gga gaa gat act	720	
[0275]	Gly Ile Gly Val Asp Gly Trp Thr Gly Arg Phe Asn Gly Glu Asp Thr		
[0276]	195	200	205
[0277]	cct gta gtt aca cag tac gat tgg gtg aag tat aca cca ctt gag gaa	768	
[0278]	Pro Val Val Thr Gln Tyr Asp Trp Val Lys Tyr Thr Pro Leu Glu Glu		
[0279]	210	215	220
[0280]	ctg ggc tgt tac aat gag aaa aat aat aaa tac aag aaa tgt aag aaa	816	
[0281]	Leu Gly Cys Tyr Asn Glu Lys Asn Asn Lys Tyr Lys Lys Cys Lys Lys		
[0282]	230	235	240
[0283]	acg aag gta aaa tag	831	
[0284]	Thr Lys Val Lys		
[0285]	245		
[0286]	<210> 5		
[0287]	<211> 276		
[0288]	<212> PRT		
[0289]	<213> 秋叶氏芽孢杆菌		
[0290]	<400> 5		
[0291]	Met Lys Lys Lys Phe Val Leu Phe Ser Met Cys Leu Leu Leu Phe Ser		
[0292]	-30	-25	-20
[0293]	Gly Leu Ile Thr Gly Leu Val Gln Ser Pro Gln Val Ala Glu Ala Ala		
[0294]	-15	-10	-5
[0295]	Glu Arg Pro Ile Gly Thr Thr Phe Val Glu Thr Phe Glu Ser Tyr Asp		
[0296]	5	10	15
[0297]	Ser Glu Arg Trp Ser Lys Ala Gly Val Trp Thr Asn Gly Gln Met Phe		
[0298]	20	25	30
[0299]	Asn Ala Thr Trp Tyr Pro Glu Gln Val Thr Phe Ser Asp Gly Lys Met		
[0300]	35	40	45
[0301]	Lys Leu Gln Ile Asp Lys Glu Asp Asn Glu Thr Ala Ser Pro Pro Tyr		
[0302]	50	55	60
[0303]	Lys Ala Gly Glu Leu Arg Thr Asn Asp Phe Tyr His Tyr Gly Leu Phe		
[0304]	70	75	80
[0305]	Glu Val Ser Met Lys Pro Ala Lys Ser Thr Gly Thr Val Ser Ser Phe		
[0306]	85	90	95
[0307]	Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Trp Asp Trp Asp Asn Asp Pro Trp Asp Glu		
[0308]	100	105	110
[0309]	Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Lys Asp Thr Thr Lys Ile Gln Phe Asn		
[0310]	115	120	125
[0311]	Tyr Phe Thr Asn Gly Val Gly Gly Asn Glu His Tyr His Glu Leu Gly		

[0312]	130	135	140	145
[0313]	Phe Asp Ala Ala Asp Asp Phe Asn Thr Tyr Ala Phe Glu Trp Arg Pro			
[0314]		150	155	160
[0315]	Glu Ser Ile Arg Trp Phe Val Asn Gly Glu Leu Val His Thr Ala Thr			
[0316]		165	170	175
[0317]	Glu Asn Ile Pro Gln Thr Pro Gln Lys Ile Met Met Asn Leu Trp Pro			
[0318]		180	185	190
[0319]	Gly Ile Gly Val Asp Gly Trp Thr Gly Arg Phe Asn Gly Glu Asp Thr			
[0320]		195	200	205
[0321]	Pro Val Val Thr Gln Tyr Asp Trp Val Lys Tyr Thr Pro Leu Glu Glu			
[0322]	210	215	220	225
[0323]	Leu Gly Cys Tyr Asn Glu Lys Asn Asn Lys Tyr Lys Lys Cys Lys Lys			
[0324]		230	235	240
[0325]	Thr Lys Val Lys			
[0326]		245		
[0327]	<210> 6			
[0328]	<211> 714			
[0329]	<212> DNA			
[0330]	<213> 粘琼脂芽孢杆菌			
[0331]	<220>			
[0332]	<221> CDS			
[0333]	<222> (1) .. (711)			
[0334]	<220>			
[0335]	<221> 信号肽			
[0336]	<222> (1) .. (45)			
[0337]	<220>			
[0338]	<221> 成熟肽			
[0339]	<222> (46) .. (711)			
[0340]	<400> 6			
[0341]	atg ttg acg tta cta atg atg tct ttc gcg ggt gcg gca tat gca cat 48			
[0342]	Met Leu Thr Leu Leu Met Met Ser Phe Ala Gly Ala Ala Tyr Ala His			
[0343]	-15	-10	-5	-1 1
[0344]	aat cca gta aca gat gaa gaa gtc tat cat tcg ttt aac agt cat gat 96			
[0345]	Asn Pro Val Thr Asp Glu Glu Val Tyr His Ser Phe Asn Ser His Asp			
[0346]		5	10	15
[0347]	tgg caa aac tgg aat atg tct gac ggt tgg aaa aat gat gat tac ttt 144			
[0348]	Trp Gln Asn Trp Asn Met Ser Asp Gly Trp Lys Asn Asp Asp Tyr Phe			
[0349]		20	25	30
[0350]	ttc ggg tgt cat tgg agt cag aac aga gtt aac ttt tat ggt ggg caa 192			


```

[0351] Phe Gly Cys His Trp Ser Gln Asn Arg Val Asn Phe Tyr Gly Gly Gln
[0352]      35                      40                      45
[0353] atg gag ttg tca ctg cgt aca aac tat tca tac gca cct cct tac aac 240
[0354] Met Glu Leu Ser Leu Arg Thr Asn Tyr Ser Tyr Ala Pro Pro Tyr Asn
[0355] 50                      55                      60                      65
[0356] tat gag tgt gcg gag tat acg acc aat aat ttt tat gga tat gga tta 288
[0357] Tyr Glu Cys Ala Glu Tyr Thr Thr Asn Asn Phe Tyr Gly Tyr Gly Leu
[0358]      70                      75                      80
[0359] tac gag gta tct atg aaa cca gca aag gta tca ggg gtc att tct tct 336
[0360] Tyr Glu Val Ser Met Lys Pro Ala Lys Val Ser Gly Val Ile Ser Ser
[0361]      85                      90                      95
[0362] ttc ttc acg tat aca ggg cct tcc tat aat gga gcc cct tgg gat gaa 384
[0363] Phe Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Ser Tyr Asn Gly Ala Pro Trp Asp Glu
[0364]      100                     105                     110
[0365] att gac att gaa ttt tta gga aac gac acg act aag gtt caa ttc aat 432
[0366] Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Asn Asp Thr Thr Lys Val Gln Phe Asn
[0367]      115                     120                     125
[0368] tat tac aca gat ggc gta gga ggg aat gaa ata ctt tat gac tta gga 480
[0369] Tyr Tyr Thr Asp Gly Val Gly Gly Asn Glu Ile Leu Tyr Asp Leu Gly
[0370] 130                     135                     140                     145
[0371] ttc gat gca gcg gat agt tat aat acg tat gca ttc gat tgg caa gaa 528
[0372] Phe Asp Ala Ala Asp Ser Tyr Asn Thr Tyr Ala Phe Asp Trp Gln Glu
[0373]      150                     155                     160
[0374] aat tat att aat tgg tat gtt aat ggc caa ctt gtt gca aca gca acg 576
[0375] Asn Tyr Ile Asn Trp Tyr Val Asn Gly Gln Leu Val Ala Thr Ala Thr
[0376]      165                     170                     175
[0377] gaa aac ata cct agt aat cct agt aaa att atg atg aac att tgg aat 624
[0378] Glu Asn Ile Pro Ser Asn Pro Ser Lys Ile Met Met Asn Ile Trp Asn
[0379]      180                     185                     190
[0380] acg tat ggt att gac gag tgg gca gga agg tat tat gga gag gat gcc 672
[0381] Thr Tyr Gly Ile Asp Glu Trp Ala Gly Arg Tyr Tyr Gly Glu Asp Ala
[0382]      195                     200                     205
[0383] aat gct tca tat aat tgg gtt cgc tat aca cct aac cgt taa 714
[0384] Asn Ala Ser Tyr Asn Trp Val Arg Tyr Thr Pro Asn Arg
[0385] 210                     215                     220
[0386] <210> 7
[0387] <211> 237
[0388] <212> PRT
[0389] <213> 粘琼脂芽孢杆菌

```

[0390]	<400> 7
[0391]	Met Leu Thr Leu Leu Met Met Ser Phe Ala Gly Ala Ala Tyr Ala His
[0392]	-15 -10 -5 -1 1
[0393]	Asn Pro Val Thr Asp Glu Glu Val Tyr His Ser Phe Asn Ser His Asp
[0394]	5 10 15
[0395]	Trp Gln Asn Trp Asn Met Ser Asp Gly Trp Lys Asn Asp Asp Tyr Phe
[0396]	20 25 30
[0397]	Phe Gly Cys His Trp Ser Gln Asn Arg Val Asn Phe Tyr Gly Gly Gln
[0398]	35 40 45
[0399]	Met Glu Leu Ser Leu Arg Thr Asn Tyr Ser Tyr Ala Pro Pro Tyr Asn
[0400]	50 55 60 65
[0401]	Tyr Glu Cys Ala Glu Tyr Thr Thr Asn Asn Phe Tyr Gly Tyr Gly Leu
[0402]	70 75 80
[0403]	Tyr Glu Val Ser Met Lys Pro Ala Lys Val Ser Gly Val Ile Ser Ser
[0404]	85 90 95
[0405]	Phe Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Ser Tyr Asn Gly Ala Pro Trp Asp Glu
[0406]	100 105 110
[0407]	Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Asn Asp Thr Thr Lys Val Gln Phe Asn
[0408]	115 120 125
[0409]	Tyr Tyr Thr Asp Gly Val Gly Gly Asn Glu Ile Leu Tyr Asp Leu Gly
[0410]	130 135 140 145
[0411]	Phe Asp Ala Ala Asp Ser Tyr Asn Thr Tyr Ala Phe Asp Trp Gln Glu
[0412]	150 155 160
[0413]	Asn Tyr Ile Asn Trp Tyr Val Asn Gly Gln Leu Val Ala Thr Ala Thr
[0414]	165 170 175
[0415]	Glu Asn Ile Pro Ser Asn Pro Ser Lys Ile Met Met Asn Ile Trp Asn
[0416]	180 185 190
[0417]	Thr Tyr Gly Ile Asp Glu Trp Ala Gly Arg Tyr Tyr Gly Glu Asp Ala
[0418]	195 200 205
[0419]	Asn Ala Ser Tyr Asn Trp Val Arg Tyr Thr Pro Asn Arg
[0420]	210 215 220
[0421]	<210> 8
[0422]	<211> 732
[0423]	<212> DNA
[0424]	<213> 莫哈韦芽孢杆菌
[0425]	<220>
[0426]	<221> CDS
[0427]	<222> (1) .. (729)
[0428]	<220>

[0429] <221> 信号肽
 [0430] <222> (1) .. (87)
 [0431] <220>
 [0432] <221> 成熟肽
 [0433] <222> (88) .. (729)
 [0434] <400> 8
 [0435] atg tct tat cgt atg aaa cga gta ttg ttg ctt ctt gtt act ggg ttg 48
 [0436] Met Ser Tyr Arg Met Lys Arg Val Leu Leu Leu Leu Val Thr Gly Leu
 [0437] -25 -20 -15
 [0438] ttt atg agt ttg tct gca ttc act tct act gcc tcg gct caa aca ggt 96
 [0439] Phe Met Ser Leu Ser Ala Phe Thr Ser Thr Ala Ser Ala Gln Thr Gly
 [0440] -10 -5 -1 1
 [0441] gga tcg ttt ttt gac ccc ttt aat ggc tac aac tcc ggt ttt tgg caa 144
 [0442] Gly Ser Phe Phe Asp Pro Phe Asn Gly Tyr Asn Ser Gly Phe Trp Gln
 [0443] 5 10 15
 [0444] aag gca aat ggc tat tcg aat gga aat atg ttt aac tgt acc tgg cgt 192
 [0445] Lys Ala Asn Gly Tyr Ser Asn Gly Asn Met Phe Asn Cys Thr Trp Arg
 [0446] 20 25 30 35
 [0447] gca aat aac gta tca atg acg tca tta ggg gaa atg cgt ttg gcg cta 240
 [0448] Ala Asn Asn Val Ser Met Thr Ser Leu Gly Glu Met Arg Leu Ala Leu
 [0449] 40 45 50
 [0450] aca agt cca tct tat aac aag ttt gac tgc ggg gaa aac cgc tct gtt 288
 [0451] Thr Ser Pro Ser Tyr Asn Lys Phe Asp Cys Gly Glu Asn Arg Ser Val
 [0452] 55 60 65
 [0453] caa aca tat ggc tat gga ctt tat gaa gtc agg atg aaa cca gct aaa 336
 [0454] Gln Thr Tyr Gly Tyr Gly Leu Tyr Glu Val Arg Met Lys Pro Ala Lys
 [0455] 70 75 80
 [0456] aac gta gga att gtt tca tcg ttc ttc act tac aca ggt cca aca gat 384
 [0457] Asn Val Gly Ile Val Ser Ser Phe Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Thr Asp
 [0458] 85 90 95
 [0459] gga act cct tgg gat gag att gat atc gaa ttt tta gga aaa gac aca 432
 [0460] Gly Thr Pro Trp Asp Glu Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Lys Asp Thr
 [0461] 100 105 110 115
 [0462] aca aag gtt caa ttt aac tat tat aca aat ggt gta gga aac cat gag 480
 [0463] Thr Lys Val Gln Phe Asn Tyr Tyr Thr Asn Gly Val Gly Asn His Glu
 [0464] 120 125 130
 [0465] aag ctc gtg gat ctc gga ttt gat gct gcc aac gcc tat cat acg tat 528
 [0466] Lys Leu Val Asp Leu Gly Phe Asp Ala Ala Asn Ala Tyr His Thr Tyr
 [0467] 135 140 145

[0468] gcg ttc gat tgg cag cca aac tct att aaa tgg tat gtc gat ggg caa 576
 [0469] Ala Phe Asp Trp Gln Pro Asn Ser Ile Lys Trp Tyr Val Asp Gly Gln
 [0470] 150 155 160
 [0471] tta aaa cat act gcg aca agc caa att ccg aca aca cca ggt aag atc 624
 [0472] Leu Lys His Thr Ala Thr Ser Gln Ile Pro Thr Thr Pro Gly Lys Ile
 [0473] 165 170 175
 [0474] atg atg aac ttg tgg aat ggt acg ggt gta gat gaa tgg ctc ggt tcc 672
 [0475] Met Met Asn Leu Trp Asn Gly Thr Gly Val Asp Glu Trp Leu Gly Ser
 [0476] 180 185 190 195
 [0477] tac aat ggt gtg aca ccg cta tac gct cat tac gac tgg gtg cgc tat 720
 [0478] Tyr Asn Gly Val Thr Pro Leu Tyr Ala His Tyr Asp Trp Val Arg Tyr
 [0479] 200 205 210
 [0480] aca aaa aaa taa 732
 [0481] Thr Lys Lys
 [0482] <210> 9
 [0483] <211> 243
 [0484] <212> PRT
 [0485] <213> 莫哈韦芽孢杆菌
 [0486] <400> 9
 [0487] Met Ser Tyr Arg Met Lys Arg Val Leu Leu Leu Leu Val Thr Gly Leu
 [0488] -25 -20 -15
 [0489] Phe Met Ser Leu Ser Ala Phe Thr Ser Thr Ala Ser Ala Gln Thr Gly
 [0490] -10 -5 -1 1
 [0491] Gly Ser Phe Phe Asp Pro Phe Asn Gly Tyr Asn Ser Gly Phe Trp Gln
 [0492] 5 10 15
 [0493] Lys Ala Asn Gly Tyr Ser Asn Gly Asn Met Phe Asn Cys Thr Trp Arg
 [0494] 20 25 30 35
 [0495] Ala Asn Asn Val Ser Met Thr Ser Leu Gly Glu Met Arg Leu Ala Leu
 [0496] 40 45 50
 [0497] Thr Ser Pro Ser Tyr Asn Lys Phe Asp Cys Gly Glu Asn Arg Ser Val
 [0498] 55 60 65
 [0499] Gln Thr Tyr Gly Tyr Gly Leu Tyr Glu Val Arg Met Lys Pro Ala Lys
 [0500] 70 75 80
 [0501] Asn Val Gly Ile Val Ser Ser Phe Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Thr Asp
 [0502] 85 90 95
 [0503] Gly Thr Pro Trp Asp Glu Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly Lys Asp Thr
 [0504] 100 105 110 115
 [0505] Thr Lys Val Gln Phe Asn Tyr Tyr Thr Asn Gly Val Gly Asn His Glu
 [0506] 120 125 130

[0507] Lys Leu Val Asp Leu Gly Phe Asp Ala Ala Asn Ala Tyr His Thr Tyr
 [0508] 135 140 145
 [0509] Ala Phe Asp Trp Gln Pro Asn Ser Ile Lys Trp Tyr Val Asp Gly Gln
 [0510] 150 155 160
 [0511] Leu Lys His Thr Ala Thr Ser Gln Ile Pro Thr Thr Pro Gly Lys Ile
 [0512] 165 170 175
 [0513] Met Met Asn Leu Trp Asn Gly Thr Gly Val Asp Glu Trp Leu Gly Ser
 [0514] 180 185 190 195
 [0515] Tyr Asn Gly Val Thr Pro Leu Tyr Ala His Tyr Asp Trp Val Arg Tyr
 [0516] 200 205 210
 [0517] Thr Lys Lys
 [0518] <210> 10
 [0519] <211> 27
 [0520] <212> PRT
 [0521] <213> 克劳氏芽孢杆菌
 [0522] <220>
 [0523] <221> 信号
 [0524] <222> (1) .. (27)
 [0525] <223> 分泌信号
 [0526] <400> 10
 [0527] Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
 [0528] 1 5 10 15
 [0529] Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala
 [0530] 20 25
 [0531] <210> 11
 [0532] <211> 8
 [0533] <212> PRT
 [0534] <213> 人工序列
 [0535] <220>
 [0536] <223> N-末端聚组氨酸亲和纯化标签
 [0537] <400> 11
 [0538] His His His His His His Pro Arg
 [0539] 1 5
 [0540] <210> 12
 [0541] <211> 483
 [0542] <212> PRT
 [0543] <213> 芽孢杆菌属物种
 [0544] <400> 12
 [0545] His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser			
[0548]	20	25	30	
[0549]	Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp			
[0550]	35	40	45	
[0551]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr			
[0552]	50	55	60	
[0553]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly			
[0554]	65	70	75	80
[0555]	Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly			
[0556]	85	90	95	
[0557]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp			
[0558]	100	105	110	
[0559]	Ala Thr Glu Met Val Lys Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn			
[0560]	115	120	125	
[0561]	Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp			
[0562]	130	135	140	
[0563]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr			
[0564]	145	150	155	160
[0565]	His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg			
[0566]	165	170	175	
[0567]	Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr Glu			
[0568]	180	185	190	
[0569]	Phe Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met Asp His			
[0570]	195	200	205	
[0571]	Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr Thr Asn			
[0572]	210	215	220	
[0573]	Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His Ile Lys			
[0574]	225	230	235	240
[0575]	Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala Thr Gly			
[0576]	245	250	255	
[0577]	Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu Gly Ala			
[0578]	260	265	270	
[0579]	Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val Phe Asp			
[0580]	275	280	285	
[0581]	Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly Gly Asn			
[0582]	290	295	300	
[0583]	Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Lys His Pro			
[0584]	305	310	315	320

[0585]	Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro Glu Glu
[0586]	325 330 335
[0587]	Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala
[0588]	340 345 350
[0589]	Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr Gly Asp
[0590]	355 360 365
[0591]	Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser Lys Ile
[0592]	370 375 380
[0593]	Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg Gln Asn
[0594]	385 390 395 400
[0595]	Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asn
[0596]	405 410 415
[0597]	Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp Gly Ala
[0598]	420 425 430
[0599]	Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly Gln Val
[0600]	435 440 445
[0601]	Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Lys Ala Gly Thr Val Thr Ile Asn Ala
[0602]	450 455 460
[0603]	Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Trp
[0604]	465 470 475 480
[0605]	Val Asn Lys
[0606]	<210> 13
[0607]	<211> 483
[0608]	<212> PRT
[0609]	<213> 地衣芽孢杆菌
[0610]	<220>
[0611]	<221> 尚未归类的特征
[0612]	<223> 对应于W0 95/10603中的SEQ ID NO: 2
[0613]	<400> 13
[0614]	Ala Asn Leu Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Met Pro
[0615]	1 5 10 15
[0616]	Asn Asp Gly Gln His Trp Arg Arg Leu Gln Asn Asp Ser Ala Tyr Leu
[0617]	20 25 30
[0618]	Ala Glu His Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Gly
[0619]	35 40 45
[0620]	Thr Ser Gln Ala Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu
[0621]	50 55 60
[0622]	Gly Glu Phe His Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys
[0623]	65 70 75 80

[0624]	Gly	Glu	Leu	Gln	Ser	Ala	Ile	Lys	Ser	Leu	His	Ser	Arg	Asp	Ile	Asn
[0625]					85				90						95	
[0626]	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Ile	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp	Ala	Thr
[0627]				100					105						110	
[0628]	Glu	Asp	Val	Thr	Ala	Val	Glu	Val	Asp	Pro	Ala	Asp	Arg	Asn	Arg	Val
[0629]				115					120						125	
[0630]	Ile	Ser	Gly	Glu	His	Leu	Ile	Lys	Ala	Trp	Thr	His	Phe	His	Phe	Pro
[0631]			130						135					140		
[0632]	Gly	Arg	Gly	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Phe	Lys	Trp	His	Trp	Tyr	His	Phe
[0633]	145							150					155			160
[0634]	Asp	Gly	Thr	Asp	Trp	Asp	Glu	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Arg	Ile	Tyr	Lys
[0635]					165					170						175
[0636]	Phe	Gln	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Ser	Asn	Glu	Asn	Gly	Asn
[0637]					180					185						190
[0638]	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Tyr	Asp	His	Pro	Asp	Val
[0639]				195						200					205	
[0640]	Ala	Ala	Glu	Ile	Lys	Arg	Trp	Gly	Thr	Trp	Tyr	Ala	Asn	Glu	Leu	Gln
[0641]				210						215					220	
[0642]	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	His	Ile	Lys	Phe	Ser	Phe
[0643]	225					230						235				240
[0644]	Leu	Arg	Asp	Trp	Val	Asn	His	Val	Arg	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Glu	Met
[0645]					245						250					255
[0646]	Phe	Thr	Val	Ala	Glu	Tyr	Trp	Gln	Asn	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu	Asn
[0647]					260						265					270
[0648]	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Phe	Asn	His	Ser	Val	Phe	Asp	Val	Pro	Leu
[0649]				275						280					285	
[0650]	His	Tyr	Gln	Phe	His	Ala	Ala	Ser	Thr	Gln	Gly	Gly	Gly	Tyr	Asp	Met
[0651]				290						295					300	
[0652]	Arg	Lys	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Ser	Lys	His	Pro	Leu	Lys	Ser
[0653]	305					310						315				320
[0654]	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Thr	Gln	Pro	Gly	Gln	Ser	Leu	Glu
[0655]					325						330					335
[0656]	Ser	Thr	Val	Gln	Thr	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala	Tyr	Ala	Phe	Ile	Leu
[0657]					340						345					350
[0658]	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Tyr	Pro	Gln	Val	Phe	Tyr	Gly	Asp	Met	Tyr	Gly
[0659]					355						360					365
[0660]	Thr	Lys	Gly	Asp	Ser	Gln	Arg	Glu	Ile	Pro	Ala	Leu	Lys	His	Lys	Ile
[0661]					370											380
[0662]	Glu	Pro	Ile	Leu	Lys	Ala	Arg	Lys	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Ala	Gln	His

[0663]	385	390	395	400
[0664]	Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp			
[0665]	405	410	415	
[0666]	Ser Ser Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro			
[0667]	420	425	430	
[0668]	Gly Gly Ala Lys Arg Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Glu Thr			
[0669]	435	440	445	
[0670]	Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Glu Pro Val Val Ile Asn Ser			
[0671]	450	455	460	
[0672]	Glu Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr			
[0673]	465	470	475	480
[0674]	Val Gln Arg			
[0675]	<210> 14			
[0676]	<211> 515			
[0677]	<212> PRT			
[0678]	<213> 嗜热脂肪芽孢杆菌			
[0679]	<220>			
[0680]	<221> 尚未归类的特征			
[0681]	<223> 对应于WO 2002/010355中的SEQ ID NO: 6			
[0682]	<400> 14			
[0683]	Ala Ala Pro Phe Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Leu			
[0684]	1	5	10	15
[0685]	Pro Asp Asp Gly Thr Leu Trp Thr Lys Val Ala Asn Glu Ala Asn Asn			
[0686]	20	25	30	
[0687]	Leu Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ala Leu Trp Leu Pro Pro Ala Tyr Lys			
[0688]	35	40	45	
[0689]	Gly Thr Ser Arg Ser Asp Val Gly Tyr Gly Val Tyr Asp Leu Tyr Asp			
[0690]	50	55	60	
[0691]	Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr			
[0692]	65	70	75	80
[0693]	Lys Ala Gln Tyr Leu Gln Ala Ile Gln Ala Ala His Ala Ala Gly Met			
[0694]	85	90	95	
[0695]	Gln Val Tyr Ala Asp Val Val Phe Asp His Lys Gly Gly Ala Asp Gly			
[0696]	100	105	110	
[0697]	Thr Glu Trp Val Asp Ala Val Glu Val Asn Pro Ser Asp Arg Asn Gln			
[0698]	115	120	125	
[0699]	Glu Ile Ser Gly Thr Tyr Gln Ile Gln Ala Trp Thr Lys Phe Asp Phe			
[0700]	130	135	140	
[0701]	Pro Gly Arg Gly Asn Thr Tyr Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr His			

[0702]	145	150	155	160
[0703]	Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Ser Arg Ile Tyr			
[0704]		165	170	175
[0705]	Lys Phe Arg Gly Ile Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr Glu			
[0706]		180	185	190
[0707]	Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Leu Asp Met Asp His			
[0708]		195	200	205
[0709]	Pro Glu Val Val Thr Glu Leu Lys Asn Trp Gly Lys Trp Tyr Val Asn			
[0710]		210	215	220
[0711]	Thr Thr Asn Ile Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys			
[0712]		225	230	235
[0713]	Phe Ser Phe Phe Pro Asp Trp Leu Ser Tyr Val Arg Ser Gln Thr Gly			
[0714]		245	250	255
[0715]	Lys Pro Leu Phe Thr Val Gly Glu Tyr Trp Ser Tyr Asp Ile Asn Lys			
[0716]		260	265	270
[0717]	Leu His Asn Tyr Ile Thr Lys Thr Asp Gly Thr Met Ser Leu Phe Asp			
[0718]		275	280	285
[0719]	Ala Pro Leu His Asn Lys Phe Tyr Thr Ala Ser Lys Ser Gly Gly Ala			
[0720]		290	295	300
[0721]	Phe Asp Met Arg Thr Leu Met Thr Asn Thr Leu Met Lys Asp Gln Pro			
[0722]		305	310	315
[0723]	Thr Leu Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Glu Pro Gly Gln			
[0724]		325	330	335
[0725]	Ala Leu Gln Ser Trp Val Asp Pro Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala			
[0726]		340	345	350
[0727]	Phe Ile Leu Thr Arg Gln Glu Gly Tyr Pro Cys Val Phe Tyr Gly Asp			
[0728]		355	360	365
[0729]	Tyr Tyr Gly Ile Pro Gln Tyr Asn Ile Pro Ser Leu Lys Ser Lys Ile			
[0730]		370	375	380
[0731]	Asp Pro Leu Leu Ile Ala Arg Arg Asp Tyr Ala Tyr Gly Thr Gln His			
[0732]		385	390	395
[0733]	Asp Tyr Leu Asp His Ser Asp Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Gly			
[0734]		405	410	415
[0735]	Thr Glu Lys Pro Gly Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro			
[0736]		420	425	430
[0737]	Gly Gly Ser Lys Trp Met Tyr Val Gly Lys Gln His Ala Gly Lys Val			
[0738]		435	440	445
[0739]	Phe Tyr Asp Leu Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Thr Ile Asn Ser			
[0740]		450	455	460

[0741]	Asp Gly Trp Gly Glu Phe Lys Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Val Trp
[0742]	465 470 475 480
[0743]	Val Pro Arg Lys Thr Thr Val Ser Thr Ile Ala Arg Pro Ile Thr Thr
[0744]	485 490 495
[0745]	Arg Pro Trp Thr Gly Glu Phe Val Arg Trp Thr Glu Pro Arg Leu Val
[0746]	500 505 510
[0747]	Ala Trp Pro
[0748]	515
[0749]	<210> 15
[0750]	<211> 481
[0751]	<212> PRT
[0752]	<213> 人工序列
[0753]	<220>
[0754]	<223> WO 2006/066594的SEQ ID NO: 6的残基1-33和
[0755]	WO 2006/06659的SEQ ID NO: 4的残基36-4834
[0756]	<220>
[0757]	<221> 尚未归类的特征
[0758]	<223> 对应于包含
[0759]	WO 2006/066594的SEQ ID NO: 6的残基1-33和WO 2006/066594的
[0760]	SEQ ID NO: 4的残基36-483的杂合多肽
[0761]	<400> 15
[0762]	Val Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Thr Pro Asn Asp
[0763]	1 5 10 15
[0764]	Gly Gln His Trp Lys Arg Leu Gln Asn Asp Ala Glu His Leu Ser Asp
[0765]	20 25 30
[0766]	Ile Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Gly Thr Ser
[0767]	35 40 45
[0768]	Gln Ala Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu Gly Glu
[0769]	50 55 60
[0770]	Phe His Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys Gly Glu
[0771]	65 70 75 80
[0772]	Leu Gln Ser Ala Ile Lys Ser Leu His Ser Arg Asp Ile Asn Val Tyr
[0773]	85 90 95
[0774]	Gly Asp Val Val Ile Asn His Lys Gly Gly Ala Asp Ala Thr Glu Asp
[0775]	100 105 110
[0776]	Val Thr Ala Val Glu Val Asp Pro Ala Asp Arg Asn Arg Val Ile Ser
[0777]	115 120 125
[0778]	Gly Glu His Leu Ile Lys Ala Trp Thr His Phe His Phe Pro Gly Arg
[0779]	130 135 140

[0780]	Gly Ser Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp His Trp Tyr His Phe Asp Gly
[0781]	145 150 155 160
[0782]	Thr Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Asn Arg Ile Tyr Lys Phe Gln
[0783]	165 170 175
[0784]	Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Ser Asn Glu Asn Gly Asn Tyr Asp
[0785]	180 185 190
[0786]	Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Tyr Asp His Pro Asp Val Ala Ala
[0787]	195 200 205
[0788]	Glu Ile Lys Arg Trp Gly Thr Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Gln Leu Asp
[0789]	210 215 220
[0790]	Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys Phe Ser Phe Leu Arg
[0791]	225 230 235 240
[0792]	Asp Trp Val Asn His Val Arg Glu Lys Thr Gly Lys Glu Met Phe Thr
[0793]	245 250 255
[0794]	Val Ala Glu Tyr Trp Gln Asn Asp Leu Gly Ala Leu Glu Asn Tyr Leu
[0795]	260 265 270
[0796]	Asn Lys Thr Asn Phe Asn His Ser Val Phe Asp Val Pro Leu His Tyr
[0797]	275 280 285
[0798]	Gln Phe His Ala Ala Ser Thr Gln Gly Gly Gly Tyr Asp Met Arg Lys
[0799]	290 295 300
[0800]	Leu Leu Asn Gly Thr Val Val Ser Lys His Pro Leu Lys Ser Val Thr
[0801]	305 310 315 320
[0802]	Phe Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser Leu Glu Ser Thr
[0803]	325 330 335
[0804]	Val Gln Thr Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe Ile Leu Thr Arg
[0805]	340 345 350
[0806]	Glu Ser Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly Thr Lys
[0807]	355 360 365
[0808]	Gly Asp Ser Gln Arg Glu Ile Pro Ala Leu Lys His Lys Ile Glu Pro
[0809]	370 375 380
[0810]	Ile Leu Lys Ala Arg Lys Gln Tyr Ala Tyr Gly Ala Gln His Asp Tyr
[0811]	385 390 395 400
[0812]	Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp Ser Ser
[0813]	405 410 415
[0814]	Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro Gly Gly
[0815]	420 425 430
[0816]	Ala Lys Arg Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Glu Thr Trp His
[0817]	435 440 445
[0818]	Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Glu Pro Val Val Ile Asn Ser Glu Gly

[0819]	450	455	460
[0820]	Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr Val Gln		
[0821]	465	470	475
[0822]	Arg		
[0823]	<210> 16		
[0824]	<211> 485		
[0825]	<212> PRT		
[0826]	<213> 芽孢杆菌属物种		
[0827]	<220>		
[0828]	<221> 尚未归类的特征		
[0829]	<223> 对应于WO 2002/019467的SEQ ID NO: 6		
[0830]	<400> 16		
[0831]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr		
[0832]	1	5	10
[0833]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser		
[0834]	20	25	30
[0835]	Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp		
[0836]	35	40	45
[0837]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr		
[0838]	50	55	60
[0839]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly		
[0840]	65	70	75
[0841]	Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly		
[0842]	85	90	95
[0843]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp		
[0844]	100	105	110
[0845]	Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn		
[0846]	115	120	125
[0847]	Gln Glu Val Thr Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Arg Phe Asp		
[0848]	130	135	140
[0849]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr		
[0850]	145	150	155
[0851]	His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Arg Leu Asn Asn Arg		
[0852]	165	170	175
[0853]	Ile Tyr Lys Phe Arg Gly His Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp		
[0854]	180	185	190
[0855]	Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met		
[0856]	195	200	205
[0857]	Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr		

[0858]	210	215	220
[0859]	Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His		
[0860]	225	230	235 240
[0861]	Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala		
[0862]	245	250	255
[0863]	Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu		
[0864]	260	265	270
[0865]	Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Gln Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val		
[0866]	275	280	285
[0867]	Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly		
[0868]	290	295	300
[0869]	Gly Asn Tyr Asp Met Arg Asn Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg		
[0870]	305	310	315 320
[0871]	His Pro Ser His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro		
[0872]	325	330	335
[0873]	Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala		
[0874]	340	345	350
[0875]	Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		
[0876]	355	360	365
[0877]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Arg Ser		
[0878]	370	375	380
[0879]	Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Lys		
[0880]	385	390	395 400
[0881]	Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		
[0882]	405	410	415
[0883]	Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		
[0884]	420	425	430
[0885]	Gly Ala Gly Gly Ser Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly		
[0886]	435	440	445
[0887]	Gln Val Trp Ser Asp Ile Thr Gly Asn Arg Thr Gly Thr Val Thr Ile		
[0888]	450	455	460
[0889]	Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
[0890]	465	470	475 480
[0891]	Ile Trp Val Asn Lys		
[0892]	485		
[0893]	<210> 17		
[0894]	<211> 485		
[0895]	<212> PRT		
[0896]	<213> 芽孢杆菌属物种NCIB 12512		

[0897] <220>
 [0898] <221> 尚未归类的特征
 [0899] <223> 对应于WO 1996/023873的SEQ ID NO: 1
 [0900] <400> 17
 [0901] His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr
 [0902] 1 5 10 15
 [0903] Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Asp Asp Ala Ala
 [0904] 20 25 30
 [0905] Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp
 [0906] 35 40 45
 [0907] Lys Gly Thr Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr
 [0908] 50 55 60
 [0909] Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly
 [0910] 65 70 75 80
 [0911] Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly
 [0912] 85 90 95
 [0913] Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
 [0914] 100 105 110
 [0915] Gly Thr Glu Ile Val Asn Ala Val Glu Val Asn Arg Ser Asn Arg Asn
 [0916] 115 120 125
 [0917] Gln Glu Thr Ser Gly Glu Tyr Ala Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp
 [0918] 130 135 140
 [0919] Phe Pro Gly Arg Gly Asn Asn His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
 [0920] 145 150 155 160
 [0921] His Phe Asp Gly Thr Asp Trp Asp Gln Ser Arg Gln Leu Gln Asn Lys
 [0922] 165 170 175
 [0923] Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Thr Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp
 [0924] 180 185 190
 [0925] Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Met
 [0926] 195 200 205
 [0927] Asp His Pro Glu Val Ile His Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr
 [0928] 210 215 220
 [0929] Thr Asn Thr Leu Asn Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His
 [0930] 225 230 235 240
 [0931] Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Leu Thr His Val Arg Asn Thr
 [0932] 245 250 255
 [0933] Thr Gly Lys Pro Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu
 [0934] 260 265 270
 [0935] Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Ser Trp Asn His Ser Val

[0936]	275	280	285
[0937]	Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Asn Ser Gly		
[0938]	290	295	300
[0939]	Gly Tyr Tyr Asp Met Arg Asn Ile Leu Asn Gly Ser Val Val Gln Lys		
[0940]	305	310	315
[0941]	His Pro Thr His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro		
[0942]	325	330	335
[0943]	Gly Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Gln Gln Trp Phe Lys Pro Leu Ala		
[0944]	340	345	350
[0945]	Tyr Ala Leu Val Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		
[0946]	355	360	365
[0947]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser		
[0948]	370	375	380
[0949]	Lys Ile Asp Pro Leu Leu Gln Ala Arg Gln Thr Phe Ala Tyr Gly Thr		
[0950]	385	390	395
[0951]	Gln His Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		
[0952]	405	410	415
[0953]	Gly Asn Ser Ser His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		
[0954]	420	425	430
[0955]	Gly Pro Gly Gly Asn Lys Trp Met Tyr Val Gly Lys Asn Lys Ala Gly		
[0956]	435	440	445
[0957]	Gln Val Trp Arg Asp Ile Thr Gly Asn Arg Thr Gly Thr Val Thr Ile		
[0958]	450	455	460
[0959]	Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
[0960]	465	470	475
[0961]	Val Trp Val Lys Gln		
[0962]	485		
[0963]	<210> 18		
[0964]	<211> 485		
[0965]	<212> PRT		
[0966]	<213> 芽孢杆菌属物种NCIB 12513		
[0967]	<220>		
[0968]	<221> 尚未归类的特征		
[0969]	<223> 对应于WO 1996/023873的SEQ ID NO: 2		
[0970]	<400> 18		
[0971]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp His		
[0972]	1	5	10
[0973]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Asp Asp Ala Ser		
[0974]	20	25	30

[0975]	Asn	Leu	Arg	Asn	Arg	Gly	Ile	Thr	Ala	Ile	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp
[0976]			35					40					45			
[0977]	Lys	Gly	Thr	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr
[0978]		50					55					60				
[0979]	Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Val	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly
[0980]	65					70					75					80
[0981]	Thr	Arg	Ser	Gln	Leu	Glu	Ser	Ala	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Gly
[0982]				85						90					95	
[0983]	Val	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp
[0984]				100					105						110	
[0985]	Ala	Thr	Glu	Asn	Val	Leu	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Asn	Asn	Arg	Asn
[0986]				115					120						125	
[0987]	Gln	Glu	Ile	Ser	Gly	Asp	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp
[0988]		130					135					140				
[0989]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	Tyr	Ser	Asp	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[0990]	145					150					155					160
[0991]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Gln	Phe	Gln	Asn	Arg
[0992]				165					170						175	
[0993]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[0994]				180					185						190	
[0995]	Ser	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Val	Asp	Met
[0996]			195						200					205		
[0997]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Arg	Trp	Gly	Glu	Trp	Tyr
[0998]		210					215					220				
[0999]	Thr	Asn	Thr	Leu	Asn	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1000]	225					230					235					240
[1001]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Leu	Thr	His	Val	Arg	Asn	Ala
[1002]				245					250						255	
[1003]	Thr	Gly	Lys	Glu	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1004]				260					265					270		
[1005]	Gly	Ala	Leu	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1006]			275						280					285		
[1007]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Asn	Ser	Gly
[1008]		290						295				300				
[1009]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Ala	Lys	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Lys
[1010]	305					310					315					320
[1011]	His	Pro	Met	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro
[1012]				325						330					335	
[1013]	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Gln	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala

[1014]	340	345	350
[1015]	Tyr Ala Leu Ile Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		
[1016]	355	360	365
[1017]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Ser Val Pro Ala Met Lys Ala		
[1018]	370	375	380
[1019]	Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Asn Phe Ala Tyr Gly Thr		
[1020]	385	390	395
[1021]	Gln His Asp Tyr Phe Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		
[1022]	405	410	415
[1023]	Gly Asn Thr Thr His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		
[1024]	420	425	430
[1025]	Gly Pro Gly Gly Glu Lys Trp Met Tyr Val Gly Gln Asn Lys Ala Gly		
[1026]	435	440	445
[1027]	Gln Val Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Lys Pro Gly Thr Val Thr Ile		
[1028]	450	455	460
[1029]	Asn Ala Asp Gly Trp Ala Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
[1030]	465	470	475
[1031]	Ile Trp Val Lys Arg		
[1032]	485		
[1033]	<210> 19		
[1034]	<211> 485		
[1035]	<212> PRT		
[1036]	<213> 芽孢杆菌属物种#707		
[1037]	<220>		
[1038]	<221> 尚未归类的特征		
[1039]	<223> 对应于WO 1996/023873的SEQ ID NO: 7		
[1040]	<400> 19		
[1041]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr		
[1042]	1	5	10
[1043]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser		
[1044]	20	25	30
[1045]	Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp		
[1046]	35	40	45
[1047]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr		
[1048]	50	55	60
[1049]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly		
[1050]	65	70	75
[1051]	Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly		
[1052]	85	90	95

[1053]	Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp
[1054]					100				105					110		
[1055]	Ala	Thr	Glu	Met	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Asn	Asn	Arg	Asn
[1056]					115				120					125		
[1057]	Gln	Glu	Val	Thr	Gly	Glu	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Arg	Phe	Asp
[1058]					130				135					140		
[1059]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	His	Ser	Ser	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[1060]					145				150					155		160
[1061]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Arg	Leu	Asn	Asn	Arg
[1062]					165				170					175		
[1063]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	His	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1064]					180				185					190		
[1065]	Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met
[1066]					195				200					205		
[1067]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
[1068]					210				215					220		
[1069]	Thr	Asn	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1070]					225				230					235		240
[1071]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Ile	Asn	His	Val	Arg	Ser	Ala
[1072]					245				250					255		
[1073]	Thr	Gly	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1074]					260				265					270		
[1075]	Gly	Ala	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Gln	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1076]					275				280					285		
[1077]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly
[1078]					290				295					300		
[1079]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Arg	Asn	Ile	Phe	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Arg
[1080]					305				310					315		320
[1081]	His	Pro	Ser	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro
[1082]					325				330					335		
[1083]	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala
[1084]					340				345					350		
[1085]	Tyr	Ala	Leu	Thr	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr
[1086]					355				360					365		
[1087]	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Gly	Val	Pro	Ala	Met	Arg	Ser
[1088]					370				375					380		
[1089]	Lys	Ile	Asp	Pro	Ile	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Lys
[1090]					385				390					395		400
[1091]	Gln	Asn	Asp	Tyr	Leu	Asp	His	His	Asn	Ile	Ile	Gly	Trp	Thr	Arg	Glu

[1092]	405								410								415								
[1093]	Gly	Asn	Thr	Ala	His	Pro	Asn	Ser	Gly	Leu	Ala	Thr	Ile	Met	Ser	Asp									
[1094]	420								425								430								
[1095]	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	Lys	Trp	Met	Phe	Val	Gly	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly									
[1096]	435								440								445								
[1097]	Gln	Val	Trp	Ser	Asp	Ile	Thr	Gly	Asn	Arg	Thr	Gly	Thr	Val	Thr	Ile									
[1098]	450								455								460								
[1099]	Asn	Ala	Asp	Gly	Trp	Gly	Asn	Phe	Ser	Val	Asn	Gly	Gly	Ser	Val	Ser									
[1100]	465	470								475								480							
[1101]	Ile	Trp	Val	Asn	Lys																				
[1102]	485																								
[1103]	<210> 20																								
[1104]	<211> 485																								
[1105]	<212> PRT																								
[1106]	<213> 芽孢杆菌属物种A 7-7 (DSM 12368)																								
[1107]	<220>																								
[1108]	<221> 尚未归类的特征																								
[1109]	<223> 对应于W0 2008/153815的SEQ ID NO: 2																								
[1110]	<400> 20																								
[1111]	His	His	Asn	Gly	Thr	Asn	Gly	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	Tyr									
[1112]	1	5				10								15											
[1113]	Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Asn	His	Trp	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Ala	Ser									
[1114]	20								25								30								
[1115]	Asn	Leu	Lys	Asp	Lys	Gly	Ile	Thr	Ala	Val	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp									
[1116]	35								40								45								
[1117]	Lys	Gly	Ala	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr									
[1118]	50								55								60								
[1119]	Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Val	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly									
[1120]	65	70								75								80							
[1121]	Thr	Arg	Asn	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Val	Thr	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	Gly									
[1122]	85								90								95								
[1123]	Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp									
[1124]	100								105								110								
[1125]	Ala	Thr	Glu	Trp	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Ser	Asn	Arg	Asn									
[1126]	115								120								125								
[1127]	Gln	Glu	Val	Ser	Gly	Asp	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp									
[1128]	130								135								140								
[1129]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	His	Ser	Asn	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr									
[1130]	145	150								155								160							

[1131]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Gln	Leu	Gln	Asn	Arg
[1132]					165				170						175	
[1133]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Gly	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1134]					180				185						190	
[1135]	Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met
[1136]					195				200					205		
[1137]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
[1138]		210						215				220				
[1139]	Thr	Asn	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1140]	225					230				235						240
[1141]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Leu	Thr	His	Val	Arg	Asn	Thr
[1142]					245					250						255
[1143]	Thr	Gly	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Ile
[1144]					260					265						270
[1145]	Gly	Ala	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Ser	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1146]					275					280				285		
[1147]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Arg	Ser	Gly
[1148]		290						295				300				
[1149]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Arg	Gln	Ile	Phe	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Arg
[1150]	305					310					315					320
[1151]	His	Pro	Thr	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro
[1152]					325					330						335
[1153]	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala
[1154]					340					345					350	
[1155]	Tyr	Ala	Leu	Thr	Leu	Thr	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr
[1156]					355				360					365		
[1157]	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Gly	Val	Pro	Ala	Met	Lys	Ser
[1158]		370						375					380			
[1159]	Lys	Ile	Asp	Pro	Ile	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Lys
[1160]	385					390					395					400
[1161]	Gln	Asn	Asp	Tyr	Leu	Asp	His	His	Asn	Met	Ile	Gly	Trp	Thr	Arg	Glu
[1162]					405					410					415	
[1163]	Gly	Asn	Thr	Ala	His	Pro	Asn	Ser	Gly	Leu	Ala	Thr	Ile	Met	Ser	Asp
[1164]					420					425					430	
[1165]	Gly	Pro	Gly	Gly	Asn	Lys	Trp	Met	Tyr	Val	Gly	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly
[1166]					435					440				445		
[1167]	Gln	Val	Trp	Arg	Asp	Ile	Thr	Gly	Asn	Arg	Ser	Gly	Thr	Val	Thr	Ile
[1168]		450						455				460				
[1169]	Asn	Ala	Asp	Gly	Trp	Gly	Asn	Phe	Ser	Val	Asn	Gly	Gly	Ser	Val	Ser

[1170]	465	470	475	480
[1171]	Ile Trp Val Asn Asn			
[1172]	485			
[1173]	<210> 21			
[1174]	<211> 483			
[1175]	<212> PRT			
[1176]	<213> 解淀粉芽孢杆菌			
[1177]	<220>			
[1178]	<221> 尚未归类的特征			
[1179]	<223> 对应于WO 2001/066712中的SEQ ID NO: 10			
[1180]	<400> 21			
[1181]	Val Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Thr Pro Asn Asp			
[1182]	1 5 10 15			
[1183]	Gly Gln His Trp Lys Arg Leu Gln Asn Asp Ala Glu His Leu Ser Asp			
[1184]	20 25 30			
[1185]	Ile Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Gly Leu Ser			
[1186]	35 40 45			
[1187]	Gln Ser Asp Asn Gly Tyr Gly Pro Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu Gly Glu			
[1188]	50 55 60			
[1189]	Phe Gln Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys Ser Glu			
[1190]	65 70 75 80			
[1191]	Leu Gln Asp Ala Ile Gly Ser Leu His Ser Arg Asn Val Gln Val Tyr			
[1192]	85 90 95			
[1193]	Gly Asp Val Val Leu Asn His Lys Ala Gly Ala Asp Ala Thr Glu Asp			
[1194]	100 105 110			
[1195]	Val Thr Ala Val Glu Val Asn Pro Ala Asn Arg Asn Gln Glu Thr Ser			
[1196]	115 120 125			
[1197]	Glu Glu Tyr Gln Ile Lys Ala Trp Thr Asp Phe Arg Phe Pro Gly Arg			
[1198]	130 135 140			
[1199]	Gly Asn Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp His Trp Tyr His Phe Asp Gly			
[1200]	145 150 155 160			
[1201]	Ala Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Ile Ser Arg Ile Phe Lys Phe Arg			
[1202]	165 170 175			
[1203]	Gly Glu Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Ser Ser Glu Asn Gly Asn			
[1204]	180 185 190			
[1205]	Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Tyr Asp His Pro Asp Val			
[1206]	195 200 205			
[1207]	Val Ala Glu Thr Lys Lys Trp Gly Ile Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Ser			
[1208]	210 215 220			

[1209]	Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Lys Phe Ser Phe		
[1210]	225	230	235 240
[1211]	Leu Arg Asp Trp Val Gln Ala Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Glu Met		
[1212]		245	250 255
[1213]	Phe Thr Val Ala Glu Tyr Trp Gln Asn Asn Ala Gly Lys Leu Glu Asn		
[1214]		260	265 270
[1215]	Tyr Leu Asn Lys Thr Ser Phe Asn Gln Ser Val Phe Asp Val Pro Leu		
[1216]		275	280 285
[1217]	His Phe Asn Leu Gln Ala Ala Ser Ser Gln Gly Gly Gly Tyr Asp Met		
[1218]		290	295 300
[1219]	Arg Arg Leu Leu Asp Gly Thr Val Val Ser Arg His Pro Glu Lys Ala		
[1220]	305	310	315 320
[1221]	Val Thr Phe Val Glu Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser Leu Glu		
[1222]		325	330 335
[1223]	Ser Thr Val Gln Thr Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe Ile Leu		
[1224]		340	345 350
[1225]	Thr Arg Glu Ser Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly		
[1226]		355	360 365
[1227]	Thr Lys Gly Thr Ser Pro Lys Glu Ile Pro Ser Leu Lys Asp Asn Ile		
[1228]		370	375 380
[1229]	Glu Pro Ile Leu Lys Ala Arg Lys Glu Tyr Ala Tyr Gly Pro Gln His		
[1230]	385	390	395 400
[1231]	Asp Tyr Ile Asp His Pro Asp Val Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp		
[1232]		405	410 415
[1233]	Ser Ser Ala Ala Lys Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro		
[1234]		420	425 430
[1235]	Gly Gly Ser Lys Arg Met Tyr Ala Gly Leu Lys Asn Ala Gly Glu Thr		
[1236]		435	440 445
[1237]	Trp Tyr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Lys Ile Gly Ser		
[1238]		450	455 460
[1239]	Asp Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Asp Gly Ser Val Ser Ile Tyr		
[1240]	465	470	475 480
[1241]	Val Gln Lys		
[1242]	<210> 22		
[1243]	<211> 484		
[1244]	<212> PRT		
[1245]	<213> 芽孢杆菌属物种TS-23		
[1246]	<220>		
[1247]	<221> 尚未归类的特征		

[1248]	<223> 对应于WO 2009/061380的SEQ ID NO: 2															
[1249]	<400> 22															
[1250]	Asn	Thr	Ala	Pro	Ile	Asn	Glu	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	Asp
[1251]	1				5					10					15	
[1252]	Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Thr	Leu	Trp	Thr	Lys	Val	Lys	Asn	Glu	Ala	Ala
[1253]				20					25					30		
[1254]	Asn	Leu	Ser	Ser	Leu	Gly	Ile	Thr	Ala	Leu	Trp	Leu	Pro	Pro	Ala	Tyr
[1255]			35					40					45			
[1256]	Lys	Gly	Thr	Ser	Gln	Ser	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Val	Tyr	Asp	Leu	Tyr
[1257]		50					55					60				
[1258]	Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Ile	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly
[1259]	65					70					75				80	
[1260]	Thr	Lys	Thr	Gln	Tyr	Ile	Gln	Ala	Ile	Gln	Ala	Ala	Lys	Ala	Ala	Gly
[1261]				85					90						95	
[1262]	Met	Gln	Val	Tyr	Ala	Asp	Val	Val	Phe	Asn	His	Lys	Ala	Gly	Ala	Asp
[1263]				100					105					110		
[1264]	Gly	Thr	Glu	Phe	Val	Asp	Ala	Val	Glu	Val	Asp	Pro	Ser	Asn	Arg	Asn
[1265]				115					120					125		
[1266]	Gln	Glu	Thr	Ser	Gly	Thr	Tyr	Gln	Ile	Gln	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp
[1267]		130						135					140			
[1268]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	Tyr	Ser	Ser	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[1269]	145					150					155				160	
[1270]	His	Phe	Asp	Gly	Thr	Asp	Trp	Asp	Glu	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Arg	Ile
[1271]				165					170					175		
[1272]	Tyr	Lys	Phe	Arg	Ser	Thr	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp	Thr
[1273]				180					185					190		
[1274]	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Phe	Ala	Asp	Leu	Asp	Met	Asp
[1275]			195					200					205			
[1276]	His	Pro	Glu	Val	Val	Thr	Glu	Leu	Lys	Asn	Trp	Gly	Thr	Trp	Tyr	Val
[1277]		210						215				220				
[1278]	Asn	Thr	Thr	Asn	Ile	Asp	Gly	Phe	Arg	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	His	Ile
[1279]	225					230					235				240	
[1280]	Lys	Tyr	Ser	Phe	Phe	Pro	Asp	Trp	Leu	Thr	Tyr	Val	Arg	Asn	Gln	Thr
[1281]				245					250						255	
[1282]	Gly	Lys	Asn	Leu	Phe	Ala	Val	Gly	Glu	Phe	Trp	Ser	Tyr	Asp	Val	Asn
[1283]				260					265					270		
[1284]	Lys	Leu	His	Asn	Tyr	Ile	Thr	Lys	Thr	Asn	Gly	Ser	Met	Ser	Leu	Phe
[1285]			275					280					285			
[1286]	Asp	Ala	Pro	Leu	His	Asn	Asn	Phe	Tyr	Thr	Ala	Ser	Lys	Ser	Ser	Gly

[1287]	290	295	300
[1288]	Tyr Phe Asp Met Arg Tyr Leu Leu Asn Asn Thr Leu Met Lys Asp Gln		
[1289]	305	310	315
[1290]	Pro Ser Leu Ala Val Thr Leu Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly		
[1291]	325	330	335
[1292]	Gln Ser Leu Gln Ser Trp Val Glu Pro Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr		
[1293]	340	345	350
[1294]	Ala Phe Ile Leu Thr Arg Gln Glu Gly Tyr Pro Cys Val Phe Tyr Gly		
[1295]	355	360	365
[1296]	Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Lys Tyr Asn Ile Pro Gly Leu Lys Ser Lys		
[1297]	370	375	380
[1298]	Ile Asp Pro Leu Leu Ile Ala Arg Arg Asp Tyr Ala Tyr Gly Thr Gln		
[1299]	385	390	395
[1300]	Arg Asp Tyr Ile Asp His Gln Asp Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly		
[1301]	405	410	415
[1302]	Ile Asp Thr Lys Pro Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly		
[1303]	420	425	430
[1304]	Pro Gly Gly Ser Lys Trp Met Tyr Val Gly Lys Lys His Ala Gly Lys		
[1305]	435	440	445
[1306]	Val Phe Tyr Asp Leu Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Thr Ile Asn		
[1307]	450	455	460
[1308]	Ala Asp Gly Trp Gly Glu Phe Lys Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile		
[1309]	465	470	475
[1310]	Trp Val Ala Lys		
[1311]	<210> 23		
[1312]	<211> 485		
[1313]	<212> PRT		
[1314]	<213> 芽孢杆菌属物种		
[1315]	<400> 23		
[1316]	His His Asp Gly Thr Asn Gly Thr Ile Met Gln Tyr Phe Glu Trp Asn		
[1317]	1	5	10
[1318]	Val Pro Asn Asp Gly Gln His Trp Asn Arg Leu His Asn Asn Ala Gln		
[1319]	20	25	30
[1320]	Asn Leu Lys Asn Ala Gly Ile Thr Ala Ile Trp Ile Pro Pro Ala Trp		
[1321]	35	40	45
[1322]	Lys Gly Thr Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr		
[1323]	50	55	60
[1324]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly		
[1325]	65	70	75
			80

[1326]	Thr	Lys	Ala	Glu	Leu	Glu	Arg	Ala	Ile	Arg	Ser	Leu	Lys	Ala	Asn	Gly
[1327]					85					90					95	
[1328]	Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp
[1329]					100					105					110	
[1330]	Phe	Thr	Glu	Arg	Val	Gln	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Gln	Asn	Arg	Asn
[1331]					115					120					125	
[1332]	Gln	Glu	Val	Ser	Gly	Thr	Tyr	Gln	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Gly	Phe	Asn
[1333]					130					135					140	
[1334]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Gln	His	Ser	Ser	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[1335]					145					150					155	
[1336]	His	Phe	Asp	Gly	Thr	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Gln	Leu	Ala	Asn	Arg
[1337]					165					170					175	
[1338]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1339]					180					185					190	
[1340]	Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Val	Asp	Met
[1341]					195					200					205	
[1342]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Ile	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
[1343]					210					215					220	
[1344]	Ala	Asn	Thr	Leu	Asn	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1345]					225					230					235	
[1346]	Ile	Lys	Phe	Ser	Phe	Met	Arg	Asp	Trp	Leu	Gly	His	Val	Arg	Gly	Gln
[1347]					245					250					255	
[1348]	Thr	Gly	Lys	Asn	Leu	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Tyr	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1349]					260					265					270	
[1350]	Gly	Ala	Leu	Glu	Asn	Tyr	Leu	Ser	Lys	Thr	Asn	Trp	Thr	Met	Ser	Ala
[1351]					275					280					285	
[1352]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Gln	Ala	Ser	Asn	Ser	Ser
[1353]					290					295					300	
[1354]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Arg	Asn	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Leu	Val	Gln	Arg
[1355]					305					310					315	
[1356]	His	Pro	Ser	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Thr	Gln	Pro
[1357]					325					330					335	
[1358]	Gly	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Gln	Gly	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala
[1359]					340					345					350	
[1360]	Tyr	Ala	Thr	Ile	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Gln	Val	Phe	Tyr
[1361]					355					360					365	
[1362]	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Tyr	Arg	Gln
[1363]					370					375					380	
[1364]	Gln	Ile	Asp	Pro	Leu	Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Arg

[1365]	385	390	395	400
[1366]	Gln His Asp Tyr Phe Asp His Trp Asp Val Ile Gly Trp Thr Arg Glu			
[1367]	405	410	415	
[1368]	Gly Asn Ala Ser His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp			
[1369]	420	425	430	
[1370]	Gly Pro Gly Gly Ser Lys Trp Met Tyr Val Gly Arg Gln Lys Ala Gly			
[1371]	435	440	445	
[1372]	Glu Val Trp His Asp Met Thr Gly Asn Arg Ser Gly Thr Val Thr Ile			
[1373]	450	455	460	
[1374]	Asn Gln Asp Gly Trp Gly His Phe Phe Val Asn Gly Gly Ser Val Ser			
[1375]	465	470	475	480
[1376]	Val Trp Val Lys Arg			
[1377]	485			
[1378]	<210> 24			
[1379]	<211> 483			
[1380]	<212> PRT			
[1381]	<213> 芽孢杆菌属物种			
[1382]	<400> 24			
[1383]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr			
[1384]	1	5	10	15
[1385]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser			
[1386]	20	25	30	
[1387]	Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp			
[1388]	35	40	45	
[1389]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr			
[1390]	50	55	60	
[1391]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly			
[1392]	65	70	75	80
[1393]	Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly			
[1394]	85	90	95	
[1395]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp			
[1396]	100	105	110	
[1397]	Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn			
[1398]	115	120	125	
[1399]	Gln Glu Val Thr Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Arg Phe Asp			
[1400]	130	135	140	
[1401]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr			
[1402]	145	150	155	160
[1403]	His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Arg Leu Asn Asn Arg			

[1404]		165		170		175
[1405]	Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr Glu					
[1406]		180		185		190
[1407]	Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met Asp His					
[1408]		195		200		205
[1409]	Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr Thr Asn					
[1410]		210		215		220
[1411]	Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His Ile Lys					
[1412]	225		230		235	240
[1413]	Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala Thr Gly					
[1414]		245		250		255
[1415]	Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu Gly Ala					
[1416]		260		265		270
[1417]	Ile Glu Asn Tyr Leu Gln Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val Phe Asp					
[1418]		275		280		285
[1419]	Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly Gly Asn					
[1420]		290		295		300
[1421]	Tyr Asp Met Arg Asn Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg His Pro					
[1422]	305		310		315	320
[1423]	Ser His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro Glu Glu					
[1424]		325		330		335
[1425]	Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala					
[1426]		340		345		350
[1427]	Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr Gly Asp					
[1428]		355		360		365
[1429]	Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Arg Ser Lys Ile					
[1430]		370		375		380
[1431]	Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Pro Gln His					
[1432]	385		390		395	400
[1433]	Asp Tyr Leu Asp His Pro Asp Val Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp					
[1434]		405		410		415
[1435]	Ser Ser His Pro Lys Ser Gly Leu Ala Thr Leu Ile Thr Asp Gly Pro					
[1436]		420		425		430
[1437]	Gly Gly Ser Lys Arg Met Tyr Ala Gly Leu Lys Asn Ala Gly Glu Thr					
[1438]		435		440		445
[1439]	Trp Tyr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Lys Ile Gly Ser					
[1440]		450		455		460
[1441]	Asp Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Asp Gly Ser Val Ser Ile Tyr					
[1442]	465		470		475	480

[1443]	Val Gln Lys
[1444]	<210> 25
[1445]	<211> 485
[1446]	<212> PRT
[1447]	<213> 芽孢杆菌属物种
[1448]	<400> 25
[1449]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr
[1450]	1 5 10 15
[1451]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser
[1452]	20 25 30
[1453]	Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp
[1454]	35 40 45
[1455]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr
[1456]	50 55 60
[1457]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly
[1458]	65 70 75 80
[1459]	Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly
[1460]	85 90 95
[1461]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
[1462]	100 105 110
[1463]	Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn
[1464]	115 120 125
[1465]	Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp
[1466]	130 135 140
[1467]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
[1468]	145 150 155 160
[1469]	His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg
[1470]	165 170 175
[1471]	Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp
[1472]	180 185 190
[1473]	Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met
[1474]	195 200 205
[1475]	Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr
[1476]	210 215 220
[1477]	Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His
[1478]	225 230 235 240
[1479]	Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala
[1480]	245 250 255
[1481]	Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu

[1482]	260	265	270
[1483]	Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val		
[1484]	275	280	285
[1485]	Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly		
[1486]	290	295	300
[1487]	Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg		
[1488]	305	310	315
[1489]	His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro		
[1490]	325	330	335
[1491]	Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala		
[1492]	340	345	350
[1493]	Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		
[1494]	355	360	365
[1495]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser		
[1496]	370	375	380
[1497]	Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg		
[1498]	385	390	395
[1499]	Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		
[1500]	405	410	415
[1501]	Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		
[1502]	420	425	430
[1503]	Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly		
[1504]	435	440	445
[1505]	Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile		
[1506]	450	455	460
[1507]	Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
[1508]	465	470	475
[1509]	Ile Trp Val Asn Lys		
[1510]	485		
[1511]	<210> 26		
[1512]	<211> 485		
[1513]	<212> PRT		
[1514]	<213> 噬细胞菌属物种		
[1515]	<400> 26		
[1516]	Ala Ala Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Val Pro		
[1517]	1	5	10
[1518]	Asn Asp Gly Gln Gln Trp Asn Arg Leu Arg Thr Asp Ala Pro Tyr Leu		
[1519]	20	25	30
[1520]	Ser Ser Val Gly Ile Thr Ala Val Trp Thr Pro Pro Ala Tyr Lys Gly		

[1521]	35	40	45
[1522]	Thr Ser Gln Ala Asp Val Gly Tyr Gly Pro Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu		
[1523]	50	55	60
[1524]	Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys		
[1525]	65	70	75
[1526]	Gly Glu Leu Lys Ser Ala Val Asn Thr Leu His Ser Asn Gly Ile Gln		
[1527]	85	90	95
[1528]	Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Ala Gly Ala Asp Tyr Thr		
[1529]	100	105	110
[1530]	Glu Asn Val Thr Ala Val Glu Val Asn Pro Ser Asn Arg Asn Gln Glu		
[1531]	115	120	125
[1532]	Thr Ser Gly Glu Tyr Asn Ile Gln Ala Trp Thr Gly Phe Asn Phe Pro		
[1533]	130	135	140
[1534]	Gly Arg Gly Thr Thr Tyr Ser Asn Phe Lys Trp Gln Trp Phe His Phe		
[1535]	145	150	155
[1536]	Asp Gly Thr Asp Trp Asp Gln Ser Arg Ser Leu Ser Arg Ile Phe Lys		
[1537]	165	170	175
[1538]	Phe Arg Gly Thr Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Ser Ser Glu Asn		
[1539]	180	185	190
[1540]	Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Tyr Asp His Pro		
[1541]	195	200	205
[1542]	Asp Val Val Asn Glu Met Lys Lys Trp Gly Val Trp Tyr Ala Asn Glu		
[1543]	210	215	220
[1544]	Val Gly Leu Asp Gly Tyr Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys Phe		
[1545]	225	230	235
[1546]	Ser Phe Leu Lys Asp Trp Val Asp Asn Ala Arg Ala Ala Thr Gly Lys		
[1547]	245	250	255
[1548]	Glu Met Phe Thr Val Gly Glu Tyr Trp Gln Asn Asp Leu Gly Ala Leu		
[1549]	260	265	270
[1550]	Asn Asn Tyr Leu Ala Lys Val Asn Tyr Asn Gln Ser Leu Phe Asp Ala		
[1551]	275	280	285
[1552]	Pro Leu His Tyr Asn Phe Tyr Ala Ala Ser Thr Gly Gly Gly Tyr Tyr		
[1553]	290	295	300
[1554]	Asp Met Arg Asn Ile Leu Asn Asn Thr Leu Val Ala Ser Asn Pro Thr		
[1555]	305	310	315
[1556]	Lys Ala Val Thr Leu Val Glu Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser		
[1557]	325	330	335
[1558]	Leu Glu Ser Thr Val Gln Pro Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe		
[1559]	340	345	350

[1560]	Ile Leu Thr Arg Ser Gly Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr Gly Asp Met
[1561]	355 360 365
[1562]	Tyr Gly Thr Lys Gly Thr Thr Thr Arg Glu Ile Pro Ala Leu Lys Ser
[1563]	370 375 380
[1564]	Lys Ile Glu Pro Leu Leu Lys Ala Arg Lys Asp Tyr Ala Tyr Gly Thr
[1565]	385 390 395 400
[1566]	Gln Arg Asp Tyr Ile Asp Asn Pro Asp Val Ile Gly Trp Thr Arg Glu
[1567]	405 410 415
[1568]	Gly Asp Ser Thr Lys Ala Lys Ser Gly Leu Ala Thr Val Ile Thr Asp
[1569]	420 425 430
[1570]	Gly Pro Gly Gly Ser Lys Arg Met Tyr Val Gly Thr Ser Asn Ala Gly
[1571]	435 440 445
[1572]	Glu Ile Trp Tyr Asp Leu Thr Gly Asn Arg Thr Asp Lys Ile Thr Ile
[1573]	450 455 460
[1574]	Gly Ser Asp Gly Tyr Ala Thr Phe Pro Val Asn Gly Gly Ser Val Ser
[1575]	465 470 475 480
[1576]	Val Trp Val Gln Gln
[1577]	485
[1578]	<210> 27
[1579]	<211> 485
[1580]	<212> PRT
[1581]	<213> 芽孢杆菌属物种
[1582]	<400> 27
[1583]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr
[1584]	1 5 10 15
[1585]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser
[1586]	20 25 30
[1587]	Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp
[1588]	35 40 45
[1589]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr
[1590]	50 55 60
[1591]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly
[1592]	65 70 75 80
[1593]	Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly
[1594]	85 90 95
[1595]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
[1596]	100 105 110
[1597]	Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn
[1598]	115 120 125

[1599]	Gln	Glu	Val	Thr	Gly	Glu	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Arg	Phe	Asp
[1600]	130					135					140					
[1601]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	His	Ser	Ser	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[1602]	145					150					155					160
[1603]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Arg	Leu	Asn	Asn	Arg
[1604]	165					170					175					
[1605]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	His	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1606]	180					185					190					
[1607]	Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met
[1608]	195					200					205					
[1609]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
[1610]	210					215					220					
[1611]	Thr	Asn	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1612]	225					230					235					240
[1613]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Ile	Asn	His	Val	Arg	Ser	Ala
[1614]	245					250					255					
[1615]	Thr	Gly	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1616]	260					265					270					
[1617]	Gly	Ala	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Gln	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1618]	275					280					285					
[1619]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly
[1620]	290					295					300					
[1621]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Arg	Asn	Ile	Phe	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Arg
[1622]	305					310					315					320
[1623]	His	Pro	Ser	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro
[1624]	325					330					335					
[1625]	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala
[1626]	340					345					350					
[1627]	Tyr	Ala	Leu	Thr	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr
[1628]	355					360					365					
[1629]	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Gly	Val	Pro	Ala	Met	Arg	Ser
[1630]	370					375					380					
[1631]	Lys	Ile	Asp	Pro	Ile	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Lys
[1632]	385					390					395					400
[1633]	Gln	Asn	Asp	Tyr	Leu	Asp	His	His	Asn	Ile	Ile	Gly	Trp	Thr	Arg	Glu
[1634]	405					410					415					
[1635]	Gly	Asn	Thr	Ala	His	Pro	Asn	Ser	Gly	Leu	Ala	Thr	Ile	Met	Ser	Asp
[1636]	420					425					430					
[1637]	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	Lys	Trp	Met	Phe	Val	Gly	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly

[1638]	435	440	445
[1639]	Gln Val Trp Ser Asp Ile Thr Gly Asn Arg Thr Gly Thr Val Thr Ile		
[1640]	450	455	460
[1641]	Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
[1642]	465	470	475
[1643]	Ile Trp Val Asn Lys		
[1644]	485		
[1645]	<210> 28		
[1646]	<211> 484		
[1647]	<212> PRT		
[1648]	<213> 芽孢杆菌属物种		
[1649]	<400> 28		
[1650]	Asn Thr Ala Pro Ile Asn Glu Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Asp		
[1651]	1	5	10
[1652]	Leu Pro Asn Asp Gly Thr Leu Trp Thr Lys Val Lys Asn Glu Ala Ala		
[1653]	20	25	30
[1654]	Asn Leu Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ala Leu Trp Leu Pro Pro Ala Tyr		
[1655]	35	40	45
[1656]	Lys Gly Thr Ser Gln Ser Asp Val Gly Tyr Gly Val Tyr Asp Leu Tyr		
[1657]	50	55	60
[1658]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly		
[1659]	65	70	75
[1660]	Thr Lys Thr Gln Tyr Ile Gln Ala Ile Gln Ala Ala Lys Ala Ala Gly		
[1661]	85	90	95
[1662]	Met Gln Val Tyr Ala Asp Val Val Phe Asn His Lys Ala Gly Ala Asp		
[1663]	100	105	110
[1664]	Gly Thr Glu Phe Val Asp Ala Val Glu Val Asp Pro Ser Asn Arg Asn		
[1665]	115	120	125
[1666]	Gln Glu Thr Ser Gly Thr Tyr Gln Ile Gln Ala Trp Thr Lys Phe Asp		
[1667]	130	135	140
[1668]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr Tyr Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr		
[1669]	145	150	155
[1670]	His Phe Asp Gly Thr Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Asn Arg Ile		
[1671]	165	170	175
[1672]	Tyr Lys Phe Arg Ser Thr Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr		
[1673]	180	185	190
[1674]	Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Phe Ala Asp Leu Asp Met Asp		
[1675]	195	200	205
[1676]	His Pro Glu Val Val Thr Glu Leu Lys Asn Trp Gly Thr Trp Tyr Val		

[1677]	210	215	220
[1678]	Asn Thr Thr Asn Ile Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile		
[1679]	225	230	235 240
[1680]	Lys Tyr Thr Phe Phe Pro Asp Trp Leu Thr Tyr Val Arg Asn Gln Thr		
[1681]	245	250	255
[1682]	Gly Lys Asn Leu Phe Ala Val Gly Glu Phe Trp Ser Tyr Asp Val Asn		
[1683]	260	265	270
[1684]	Lys Leu His Asn Tyr Ile Thr Lys Thr Asn Gly Ser Met Ser Leu Phe		
[1685]	275	280	285
[1686]	Asp Ala Pro Leu His Asn Asn Phe Tyr Thr Ala Ser Lys Ser Ser Gly		
[1687]	290	295	300
[1688]	Tyr Phe Asp Met Arg Tyr Leu Leu Asn Asn Thr Leu Met Lys Asp Gln		
[1689]	305	310	315 320
[1690]	Pro Ser Leu Ala Val Thr Leu Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly		
[1691]	325	330	335
[1692]	Gln Ser Leu Gln Ser Trp Val Glu Pro Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr		
[1693]	340	345	350
[1694]	Ala Phe Ile Leu Thr Arg Gln Glu Gly Tyr Pro Cys Val Phe Tyr Gly		
[1695]	355	360	365
[1696]	Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Lys Tyr Asn Ile Pro Gly Leu Lys Ser Lys		
[1697]	370	375	380
[1698]	Ile Asp Pro Leu Leu Ile Ala Arg Arg Asp Tyr Ala Tyr Gly Thr Gln		
[1699]	385	390	395 400
[1700]	Arg Asp Tyr Ile Asp His Gln Asp Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly		
[1701]	405	410	415
[1702]	Ile Asp Thr Lys Pro Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly		
[1703]	420	425	430
[1704]	Pro Gly Gly Ser Lys Trp Met Tyr Val Gly Lys Lys His Ala Gly Lys		
[1705]	435	440	445
[1706]	Val Phe Tyr Asp Leu Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Thr Ile Asn		
[1707]	450	455	460
[1708]	Ala Asp Gly Trp Gly Glu Phe Lys Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile		
[1709]	465	470	475 480
[1710]	Trp Val Ala Lys		
[1711]	<210> 29		
[1712]	<211> 485		
[1713]	<212> PRT		
[1714]	<213> 盐敏芽孢杆菌		
[1715]	<400> 29		

[1716]	His	His	Asn	Gly	Thr	Asn	Gly	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	His
[1717]	1				5				10					15		
[1718]	Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Asn	His	Trp	Asn	Arg	Leu	Arg	Asp	Asp	Ala	Ser
[1719]				20				25					30			
[1720]	Asn	Leu	Arg	Asn	Arg	Gly	Ile	Thr	Ala	Ile	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp
[1721]			35					40				45				
[1722]	Lys	Gly	Thr	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr
[1723]		50					55				60					
[1724]	Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Val	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly
[1725]	65					70				75					80	
[1726]	Thr	Arg	Ser	Gln	Leu	Glu	Ser	Ala	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Gly
[1727]				85				90						95		
[1728]	Val	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp
[1729]				100				105					110			
[1730]	Ala	Thr	Glu	Asn	Val	Leu	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Asn	Asn	Arg	Asn
[1731]			115					120					125			
[1732]	Gln	Glu	Ile	Ser	Gly	Asp	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp
[1733]		130					135					140				
[1734]	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	Tyr	Ser	Asp	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
[1735]	145					150				155					160	
[1736]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Gln	Phe	Gln	Asn	Arg
[1737]				165				170					175			
[1738]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1739]			180					185					190			
[1740]	Ser	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Val	Asp	Met
[1741]		195					200					205				
[1742]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Arg	Trp	Gly	Glu	Trp	Tyr
[1743]		210					215				220					
[1744]	Thr	Asn	Thr	Leu	Asn	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1745]	225					230				235					240	
[1746]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Leu	Thr	His	Val	Arg	Asn	Ala
[1747]				245				250				255				
[1748]	Thr	Gly	Lys	Glu	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1749]			260					265				270				
[1750]	Gly	Ala	Leu	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1751]		275					280				285					
[1752]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Asn	Ser	Gly
[1753]		290					295				300					
[1754]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Ala	Lys	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Lys

[1755]	305	310	315	320
[1756]	His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro			
[1757]		325	330	335
[1758]	Gly Glu Ser Leu Glu Ser Phe Val Gln Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala			
[1759]		340	345	350
[1760]	Tyr Ala Leu Ile Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr			
[1761]		355	360	365
[1762]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Ser Val Pro Ala Met Lys Ala			
[1763]		370	375	380
[1764]	Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Asn Phe Ala Tyr Gly Thr			
[1765]	385	390	395	400
[1766]	Gln His Asp Tyr Phe Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu			
[1767]		405	410	415
[1768]	Gly Asn Thr Thr His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp			
[1769]		420	425	430
[1770]	Gly Pro Gly Gly Glu Lys Trp Met Tyr Val Gly Gln Asn Lys Ala Gly			
[1771]		435	440	445
[1772]	Gln Val Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Lys Pro Gly Thr Val Thr Ile			
[1773]		450	455	460
[1774]	Asn Ala Asp Gly Trp Ala Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser			
[1775]	465	470	475	480
[1776]	Ile Trp Val Lys Arg			
[1777]		485		
[1778]	<210> 30			
[1779]	<211> 485			
[1780]	<212> PRT			
[1781]	<213> 人工序列			
[1782]	<220>			
[1783]	<223> 人工序列			
[1784]	<400> 30			
[1785]	His His Asp Gly Thr Asn Gly Thr Ile Met Gln Tyr Phe Glu Trp Asn			
[1786]	1	5	10	15
[1787]	Val Pro Asn Asp Gly Gln His Trp Asn Arg Leu His Asn Asn Ala Gln			
[1788]		20	25	30
[1789]	Asn Leu Lys Asn Ala Gly Ile Thr Ala Ile Trp Ile Pro Pro Ala Trp			
[1790]		35	40	45
[1791]	Lys Gly Thr Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr			
[1792]		50	55	60
[1793]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly			

[1794]	65	70	75	80
[1795]	Thr Lys Ala Glu Leu Glu Arg Ala Ile Arg Ser Leu Lys Ala Asn Gly			
[1796]	85	90	95	
[1797]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp			
[1798]	100	105	110	
[1799]	Phe Thr Glu Arg Val Gln Ala Val Glu Val Asn Pro Gln Asn Arg Asn			
[1800]	115	120	125	
[1801]	Gln Glu Val Ser Gly Thr Tyr Gln Ile Glu Ala Trp Thr Gly Phe Asn			
[1802]	130	135	140	
[1803]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Gln His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr			
[1804]	145	150	155	160
[1805]	His Phe Asp Gly Thr Asp Trp Asp Gln Ser Arg Gln Leu Ala Asn Arg			
[1806]	165	170	175	
[1807]	Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp			
[1808]	180	185	190	
[1809]	Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Met			
[1810]	195	200	205	
[1811]	Asp His Pro Glu Val Ile Asn Glu Leu Asn Arg Trp Gly Val Trp Tyr			
[1812]	210	215	220	
[1813]	Ala Asn Thr Leu Asn Leu Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His			
[1814]	225	230	235	240
[1815]	Ile Lys Phe Ser Phe Met Arg Asp Trp Leu Gly His Val Arg Gly Gln			
[1816]	245	250	255	
[1817]	Thr Gly Lys Asn Leu Phe Ala Val Ala Glu Tyr Trp Lys Asn Asp Leu			
[1818]	260	265	270	
[1819]	Gly Ala Leu Glu Asn Tyr Leu Ser Lys Thr Asn Trp Thr Met Ser Ala			
[1820]	275	280	285	
[1821]	Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Gln Ala Ser Asn Ser Ser			
[1822]	290	295	300	
[1823]	Gly Asn Tyr Asp Met Arg Asn Leu Leu Asn Gly Thr Leu Val Gln Arg			
[1824]	305	310	315	320
[1825]	His Pro Ser His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro			
[1826]	325	330	335	
[1827]	Gly Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Gln Gly Trp Phe Lys Pro Leu Ala			
[1828]	340	345	350	
[1829]	Tyr Ala Thr Ile Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr			
[1830]	355	360	365	
[1831]	Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Ser Asp Gly Val Pro Ser Tyr Arg Gln			
[1832]	370	375	380	

[1833]	Gln Ile Asp Pro Leu Leu Lys Ala Arg Gln Gln Tyr Ala Tyr Gly Thr																		
[1834]	385					390					395								400
[1835]	Gln His Asp Tyr Leu Asp Asn Gln Asp Val Ile Gly Trp Thr Arg Glu																		
[1836]					405					410									415
[1837]	Gly Asp Ser Ala His Ala Gly Ser Gly Leu Ala Thr Val Met Ser Asp																		
[1838]					420					425									430
[1839]	Gly Pro Gly Gly Ser Lys Thr Met Tyr Val Gly Thr Ala His Ala Gly																		
[1840]					435					440									445
[1841]	Gln Val Phe Lys Asp Ile Thr Gly Asn Arg Thr Asp Thr Val Thr Ile																		
[1842]					450					455									460
[1843]	Asn Ser Ala Gly Asn Gly Thr Phe Pro Cys Asn Gly Gly Ser Val Ser																		
[1844]	465					470					475								480
[1845]	Ile Trp Val Lys Gln																		
[1846]					485														
[1847]	<210>	31																	
[1848]	<211>	485																	
[1849]	<212>	PRT																	
[1850]	<213>	芽孢杆菌属物种																	
[1851]	<400>	31																	
[1852]	His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr																		
[1853]	1				5					10									15
[1854]	Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser																		
[1855]					20					25									30
[1856]	Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp																		
[1857]					35					40									45
[1858]	Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr																		
[1859]					50					55									60
[1860]	Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly																		
[1861]	65					70					75								80
[1862]	Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly																		
[1863]					85					90									95
[1864]	Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp																		
[1865]					100					105									110
[1866]	Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn																		
[1867]					115					120									125
[1868]	Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp																		
[1869]					130					135									140
[1870]	Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr																		
[1871]	145					150					155								160

[1872]	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Asn	Arg
[1873]					165				170					175		
[1874]	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Gly	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
[1875]					180				185					190		
[1876]	Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met
[1877]					195				200					205		
[1878]	Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
[1879]		210						215					220			
[1880]	Thr	Asn	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
[1881]	225					230				235					240	
[1882]	Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Ile	Asn	His	Val	Arg	Ser	Ala
[1883]					245				250						255	
[1884]	Thr	Gly	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
[1885]					260				265						270	
[1886]	Gly	Ala	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val
[1887]					275				280					285		
[1888]	Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly
[1889]		290					295					300				
[1890]	Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Arg	Gln	Ile	Phe	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Arg
[1891]	305					310				315					320	
[1892]	His	Pro	Met	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro
[1893]					325				330						335	
[1894]	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala
[1895]					340				345					350		
[1896]	Tyr	Ala	Leu	Thr	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr
[1897]					355				360					365		
[1898]	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Gly	Val	Pro	Ala	Met	Lys	Ser
[1899]		370					375					380				
[1900]	Lys	Ile	Asp	Pro	Ile	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Arg
[1901]	385					390				395					400	
[1902]	Gln	Asn	Asp	Tyr	Leu	Asp	His	His	Asn	Ile	Ile	Gly	Trp	Thr	Arg	Glu
[1903]					405				410						415	
[1904]	Gly	Asn	Thr	Ala	His	Pro	Asn	Ser	Gly	Leu	Ala	Thr	Ile	Met	Ser	Asp
[1905]					420				425					430		
[1906]	Gly	Ala	Gly	Gly	Asn	Lys	Trp	Met	Phe	Val	Gly	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly
[1907]					435				440					445		
[1908]	Gln	Val	Trp	Thr	Asp	Ile	Thr	Gly	Asn	Arg	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Ile
[1909]		450					455					460				
[1910]	Asn	Ala	Asp	Gly	Trp	Gly	Asn	Phe	Ser	Val	Asn	Gly	Gly	Ser	Val	Ser

[1911]	465	470	475	480
[1912]	Ile Trp Val Asn Lys			
[1913]	485			
[1914]	<210> 32			
[1915]	<211> 214			
[1916]	<212> PRT			
[1917]	<213> 解淀粉芽孢杆菌			
[1918]	<400> 32			
[1919]	Gln Thr Gly Gly Ser Phe Phe Glu Pro Phe Asn Ser Tyr Asn Ser Gly			
[1920]	1 5 10 15			
[1921]	Leu Trp Gln Lys Ala Asn Gly Tyr Ser Asn Gly Asp Met Phe Asn Cys			
[1922]	20 25 30			
[1923]	Thr Trp Arg Ala Asn Asn Val Ser Met Thr Ser Ser Gly Glu Met Arg			
[1924]	35 40 45			
[1925]	Leu Ala Leu Thr Ser Pro Ser Tyr Asn Lys Phe Asp Cys Gly Glu Asn			
[1926]	50 55 60			
[1927]	Arg Ser Val Gln Thr Tyr Gly Tyr Gly Leu Tyr Glu Val Arg Met Lys			
[1928]	65 70 75 80			
[1929]	Pro Ala Lys Asn Thr Gly Ile Val Ser Ser Phe Phe Thr Tyr Thr Gly			
[1930]	85 90 95			
[1931]	Pro Thr Asp Gly Thr Pro Trp Asp Glu Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly			
[1932]	100 105 110			
[1933]	Lys Asp Thr Thr Lys Val Gln Phe Asn Tyr Tyr Thr Asn Gly Ala Gly			
[1934]	115 120 125			
[1935]	Asn His Glu Lys Val Ala Asp Leu Gly Phe Asp Ala Thr Asn Ala Tyr			
[1936]	130 135 140			
[1937]	His Thr Tyr Ala Phe Asp Trp Gln Pro Asn Ser Ile Lys Trp Tyr Val			
[1938]	145 150 155 160			
[1939]	Asp Gly Gln Leu Lys His Thr Ala Thr Ser Gln Ile Pro Thr Asn Pro			
[1940]	165 170 175			
[1941]	Gly Lys Ile Met Met Asn Leu Trp Asn Gly Ile Gly Val Asp Asp Trp			
[1942]	180 185 190			
[1943]	Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Val Asn Pro Leu Tyr Ala His Tyr Asp Trp			
[1944]	195 200 205			
[1945]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys			
[1946]	210			
[1947]	<210> 33			
[1948]	<211> 214			
[1949]	<212> PRT			

[1950]	<213> 枯草芽胞杆菌															
[1951]	<400> 33															
[1952]	Gln	Thr	Gly	Gly	Ser	Phe	Phe	Asp	Pro	Phe	Asn	Gly	Tyr	Asn	Ser	Gly
[1953]	1				5					10					15	
[1954]	Phe	Trp	Gln	Lys	Ala	Asp	Gly	Tyr	Ser	Asn	Gly	Asn	Met	Phe	Asn	Cys
[1955]					20					25					30	
[1956]	Thr	Trp	Arg	Ala	Asn	Asn	Val	Ser	Met	Thr	Ser	Leu	Gly	Glu	Met	Arg
[1957]					35					40					45	
[1958]	Leu	Ala	Leu	Thr	Ser	Pro	Ala	Tyr	Asn	Lys	Phe	Asp	Cys	Gly	Glu	Asn
[1959]					50					55					60	
[1960]	Arg	Ser	Val	Gln	Thr	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Val	Arg	Met	Lys
[1961]	65									70					75	80
[1962]	Pro	Ala	Lys	Asn	Thr	Gly	Ile	Val	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Tyr	Thr	Gly
[1963]										85					90	95
[1964]	Pro	Thr	Asp	Gly	Thr	Pro	Trp	Asp	Glu	Ile	Asp	Ile	Glu	Phe	Leu	Gly
[1965]										100					105	110
[1966]	Lys	Asp	Thr	Thr	Lys	Val	Gln	Phe	Asn	Tyr	Tyr	Thr	Asn	Gly	Ala	Gly
[1967]										115					120	125
[1968]	Asn	His	Glu	Lys	Ile	Val	Asp	Leu	Gly	Phe	Asp	Ala	Ala	Asn	Ala	Tyr
[1969]										130					135	140
[1970]	His	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Trp	Gln	Pro	Asn	Ser	Ile	Lys	Trp	Tyr	Val
[1971]	145									150					155	160
[1972]	Asp	Gly	Gln	Leu	Lys	His	Thr	Ala	Thr	Asn	Gln	Ile	Pro	Thr	Thr	Pro
[1973]										165					170	175
[1974]	Gly	Lys	Ile	Met	Met	Asn	Leu	Trp	Asn	Gly	Thr	Gly	Val	Asp	Glu	Trp
[1975]										180					185	190
[1976]	Leu	Gly	Ser	Tyr	Asn	Gly	Val	Asn	Pro	Leu	Tyr	Ala	His	Tyr	Asp	Trp
[1977]										195					200	205
[1978]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys										
[1979]										210						
[1980]	<210> 34															
[1981]	<211> 269															
[1982]	<212> PRT															
[1983]	<213> 迟缓芽胞杆菌															
[1984]	<400> 34															
[1985]	Ala	Gln	Ser	Val	Pro	Trp	Gly	Ile	Ser	Arg	Val	Gln	Ala	Pro	Ala	Ala
[1986]	1									5					10	15
[1987]	His	Asn	Arg	Gly	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Val	Lys	Val	Ala	Val	Leu	Asp
[1988]										20					25	30

[1989]	Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
[1990]	35 40 45
[1991]	Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
[1992]	50 55 60
[1993]	His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
[1994]	65 70 75 80
[1995]	Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
[1996]	85 90 95
[1997]	Ser Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
[1998]	100 105 110
[1999]	Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
[2000]	115 120 125
[2001]	Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
[2002]	130 135 140
[2003]	Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Gly Ser Ile Ser
[2004]	145 150 155 160
[2005]	Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
[2006]	165 170 175
[2007]	Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
[2008]	180 185 190
[2009]	Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
[2010]	195 200 205
[2011]	Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
[2012]	210 215 220
[2013]	Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
[2014]	225 230 235 240
[2015]	Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
[2016]	245 250 255
[2017]	Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
[2018]	260 265
[2019]	<210> 35
[2020]	<211> 270
[2021]	<212> PRT
[2022]	<213> 人工序列
[2023]	<220>
[2024]	<223> 人工序列
[2025]	<400> 35
[2026]	Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
[2027]	1 5 10 15

[2028]	His	Asn	Arg	Gly	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Val	Lys	Val	Ala	Val	Leu	Asp
[2029]				20					25						30	
[2030]	Thr	Gly	Ile	Ser	Thr	His	Pro	Asp	Leu	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Ala	Ser
[2031]				35					40						45	
[2032]	Phe	Val	Pro	Gly	Glu	Pro	Ser	Thr	Gln	Asp	Gly	Asn	Gly	His	Gly	Thr
[2033]				50					55						60	
[2034]	His	Val	Ala	Gly	Thr	Ile	Ala	Ala	Leu	Asn	Asn	Ser	Ile	Gly	Val	Leu
[2035]	65								70						75	80
[2036]	Gly	Val	Ala	Pro	Ser	Ala	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Lys	Val	Leu	Gly	Ala
[2037]									85						90	95
[2038]	Ala	Asp	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Ser	Ile	Ala	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp
[2039]									100						105	110
[2040]	Ala	Gly	Asn	Asn	Gly	Met	His	Val	Ala	Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Ser	Pro
[2041]									115						120	125
[2042]	Ser	Pro	Ser	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Ala	Val	Asn	Ser	Ala	Thr	Ser	Arg
[2043]									130						135	140
[2044]	Gly	Val	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Gly	Ala	Gly	Ser	Ile
[2045]	145								150						155	160
[2046]	Ser	Tyr	Pro	Ala	Arg	Tyr	Ala	Asn	Ala	Met	Ala	Val	Gly	Ala	Thr	Asp
[2047]									165						170	175
[2048]	Gln	Asn	Asn	Asn	Arg	Ala	Ser	Phe	Ser	Gln	Tyr	Gly	Ala	Gly	Leu	Asp
[2049]									180						185	190
[2050]	Ile	Val	Ala	Pro	Gly	Val	Asn	Val	Gln	Ser	Thr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Thr
[2051]									195						200	205
[2052]	Tyr	Ala	Ser	Leu	Asn	Gly	Thr	Ser	Met	Ala	Thr	Pro	His	Val	Ala	Gly
[2053]									210						215	220
[2054]	Ala	Ala	Ala	Leu	Val	Lys	Gln	Lys	Asn	Pro	Ser	Trp	Ser	Asn	Val	Gln
[2055]	225								230						235	240
[2056]	Ile	Arg	Asn	His	Leu	Lys	Asn	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Thr	Asn
[2057]									245						250	255
[2058]	Leu	Tyr	Gly	Ser	Gly	Leu	Val	Asn	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Arg		
[2059]									260						265	270
[2060]	<210> 36															
[2061]	<211> 269															
[2062]	<212> PRT															
[2063]	<213> 人工序列															
[2064]	<220>															
[2065]	<223> 人工序列															
[2066]	<400> 36															

[2067]	Ala	Gln	Ser	Val	Pro	Trp	Gly	Ile	Arg	Arg	Val	Gln	Ala	Pro	Thr	Ala
[2068]	1				5				10						15	
[2069]	His	Asn	Arg	Gly	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Val	Lys	Val	Ala	Val	Leu	Asp
[2070]				20					25						30	
[2071]	Thr	Gly	Ile	Ser	Thr	His	Pro	Asp	Leu	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Ala	Ser
[2072]				35					40						45	
[2073]	Phe	Val	Pro	Gly	Glu	Pro	Ser	Thr	Gln	Asp	Gly	Asn	Gly	His	Gly	Thr
[2074]		50						55					60			
[2075]	His	Ala	Ala	Gly	Thr	Ile	Ala	Ala	Leu	Asn	Asn	Ser	Ile	Gly	Val	Leu
[2076]	65					70					75				80	
[2077]	Gly	Val	Ala	Pro	Ser	Ala	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Lys	Val	Leu	Gly	Ala
[2078]					85					90					95	
[2079]	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Ser	Ile	Ala	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ala
[2080]				100					105						110	
[2081]	Gly	Asn	Asn	Gly	Met	His	Val	Ala	Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Ser	Pro	Ser
[2082]				115					120						125	
[2083]	Pro	Ser	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Ala	Val	Asn	Ser	Ala	Thr	Ser	Arg	Gly
[2084]		130						135							140	
[2085]	Val	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Gly	Ala	Gly	Ser	Ile	Ser
[2086]	145					150					155				160	
[2087]	Tyr	Pro	Ala	Arg	Tyr	Ala	Asn	Ala	Met	Ala	Val	Gly	Ala	Thr	Asp	Gln
[2088]				165					170						175	
[2089]	Asn	Asn	Asn	Arg	Ala	Ser	Phe	Ser	Gln	Tyr	Gly	Ala	Gly	Leu	Asp	Ile
[2090]				180					185						190	
[2091]	Val	Ala	Pro	Gly	Val	Asn	Val	Gln	Ser	Thr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Thr	Tyr
[2092]			195					200						205		
[2093]	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Thr	Ser	Met	Ala	Thr	Pro	His	Val	Ala	Gly	Ala
[2094]		210						215					220			
[2095]	Ala	Ala	Leu	Val	Lys	Gln	Lys	Asn	Pro	Ser	Trp	Ser	Asn	Val	Arg	Ile
[2096]	225					230					235				240	
[2097]	Arg	Asn	His	Leu	Lys	Asn	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Thr	Asn	Leu
[2098]				245					250						255	
[2099]	Tyr	Gly	Ser	Gly	Leu	Val	Asn	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Arg			
[2100]				260					265							
[2101]	<210> 37															
[2102]	<211> 359															
[2103]	<212> PRT															
[2104]	<213> 人工序列															
[2105]	<220>															

[2106]	<223> His-标记的成熟蛋白(芽孢杆菌属物种-62449)															
[2107]	<400> 37															
[2108]	His	His	His	His	His	His	Pro	Arg	Tyr	Asn	Pro	Val	Thr	Glu	Asp	Glu
[2109]	1				5					10				15		
[2110]	Leu	Tyr	His	Ser	Phe	Asp	Ser	His	Asp	Ala	Arg	Asn	Trp	Gln	Ile	Ser
[2111]					20					25				30		
[2112]	Asp	Gly	Trp	Arg	Asn	Gly	Asp	Asp	Phe	Phe	Gly	Cys	His	Trp	Ser	Gln
[2113]					35					40				45		
[2114]	Asn	Arg	Val	Asn	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Met	Glu	Leu	Ser	Leu	Arg	Thr
[2115]		50					55					60				
[2116]	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ala	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Cys	Ala	Glu	Tyr	Ala
[2117]	65					70					75				80	
[2118]	Thr	Ser	Asn	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Val	Ser	Met	Lys	Pro
[2119]					85					90					95	
[2120]	Ala	Asn	Val	Ser	Gly	Val	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Tyr	Thr	Gly	Pro
[2121]					100					105					110	
[2122]	Ser	Tyr	Asn	Gly	Ala	Pro	Trp	Asp	Glu	Ile	Asp	Ile	Glu	Phe	Leu	Gly
[2123]					115					120					125	
[2124]	Asn	Asp	Thr	Thr	Lys	Val	Gln	Phe	Asn	Tyr	Tyr	Thr	Asn	Gly	Val	Gly
[2125]		130						135					140			
[2126]	Gly	Asn	Glu	Ile	Ile	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Asp	Ala	Ala	Asn	Ser	Phe
[2127]	145					150					155				160	
[2128]	Asn	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Trp	Gln	Glu	Asn	Tyr	Ile	Ser	Trp	Tyr	Val
[2129]					165					170					175	
[2130]	Asn	Gly	Asn	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Asn	Ile	Pro	Ser	Asn	Pro
[2131]					180					185					190	
[2132]	Ser	Lys	Ile	Met	Met	Asn	Val	Trp	Asn	Thr	Tyr	Gly	Ile	Asp	Glu	Trp
[2133]			195					200						205		
[2134]	Ala	Gly	Ala	Tyr	Gly	Gly	Glu	Ala	Ala	Asn	Ala	Thr	Tyr	Glu	Trp	Val
[2135]		210					215						220			
[2136]	Arg	Tyr	Thr	Pro	Asn	Asn	Gly	Asn	Thr	Thr	Pro	Ser	Thr	Ala	Pro	Asp
[2137]	225					230					235				240	
[2138]	Phe	Gln	Leu	Gln	Ala	Cys	Asp	Tyr	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Ile	Thr	Ser
[2139]					245					250					255	
[2140]	Trp	Ser	Cys	Gly	Val	Gly	Thr	Phe	His	Ser	Ser	Asn	Trp	Ile	Lys	Phe
[2141]					260					265					270	
[2142]	Asp	Ser	Val	Asp	Leu	Ser	Thr	Gly	Tyr	Asn	Ala	Phe	Ala	Val	Ser	Tyr
[2143]					275					280					285	
[2144]	Thr	Ser	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Phe	Asp	Ile	Arg	Leu	Gly	Ser	Pro	His

[2145]	290	295	300
[2146]	Gly Gln Arg Ile Gly Thr Val Asn Tyr Gly Ala Thr Gly Gly Trp Ser		
[2147]	305	310	315
[2148]	Asn Tyr Glu Trp Ser Gly Thr Pro Ser Leu Asp Val Thr Val Arg Gly		
[2149]	325	330	335
[2150]	Ala His Asp Ile Tyr Ile Val Ala Thr Ser Gly Ala Ala Asn Leu Arg		
[2151]	340	345	350
[2152]	Glu Phe Trp Phe Lys Asn Glu		
[2153]	355		
[2154]	<210> 38		
[2155]	<211> 253		
[2156]	<212> PRT		
[2157]	<213> 人工序列		
[2158]	<220>		
[2159]	<223> His-标记的成熟蛋白(秋叶氏芽孢杆菌)		
[2160]	<400> 38		
[2161]	His His His His His His Pro Arg Ala Glu Arg Pro Ile Gly Thr Thr		
[2162]	1	5	10
[2163]	Phe Val Glu Thr Phe Glu Ser Tyr Asp Ser Glu Arg Trp Ser Lys Ala		
[2164]	20	25	30
[2165]	Gly Val Trp Thr Asn Gly Gln Met Phe Asn Ala Thr Trp Tyr Pro Glu		
[2166]	35	40	45
[2167]	Gln Val Thr Phe Ser Asp Gly Lys Met Lys Leu Gln Ile Asp Lys Glu		
[2168]	50	55	60
[2169]	Asp Asn Glu Thr Ala Ser Pro Pro Tyr Lys Ala Gly Glu Leu Arg Thr		
[2170]	65	70	75
[2171]	Asn Asp Phe Tyr His Tyr Gly Leu Phe Glu Val Ser Met Lys Pro Ala		
[2172]	85	90	95
[2173]	Lys Ser Thr Gly Thr Val Ser Ser Phe Phe Thr Tyr Thr Gly Pro Trp		
[2174]	100	105	110
[2175]	Asp Trp Asp Asn Asp Pro Trp Asp Glu Ile Asp Ile Glu Phe Leu Gly		
[2176]	115	120	125
[2177]	Lys Asp Thr Thr Lys Ile Gln Phe Asn Tyr Phe Thr Asn Gly Val Gly		
[2178]	130	135	140
[2179]	Gly Asn Glu His Tyr His Glu Leu Gly Phe Asp Ala Ala Asp Asp Phe		
[2180]	145	150	155
[2181]	Asn Thr Tyr Ala Phe Glu Trp Arg Pro Glu Ser Ile Arg Trp Phe Val		
[2182]	165	170	175
[2183]	Asn Gly Glu Leu Val His Thr Ala Thr Glu Asn Ile Pro Gln Thr Pro		

[2184]	180					185					190						
[2185]	Gln	Lys	Ile	Met	Met	Asn	Leu	Trp	Pro	Gly	Ile	Gly	Val	Asp	Gly	Trp	
[2186]	195					200					205						
[2187]	Thr	Gly	Arg	Phe	Asn	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Val	Val	Thr	Gln	Tyr	Asp	
[2188]	210					215					220						
[2189]	Trp	Val	Lys	Tyr	Thr	Pro	Leu	Glu	Glu	Leu	Gly	Cys	Tyr	Asn	Glu	Lys	
[2190]	225					230					235					240	
[2191]	Asn	Asn	Lys	Tyr	Lys	Lys	Cys	Lys	Lys	Thr	Lys	Val	Lys				
[2192]	245					250											
[2193]	<210> 39																
[2194]	<211> 230																
[2195]	<212> PRT																
[2196]	<213> 人工序列																
[2197]	<220>																
[2198]	<223> His-标记的成熟蛋白(粘琼脂芽孢杆菌)																
[2199]	<400> 39																
[2200]	His	His	His	His	His	His	Pro	Arg	His	Asn	Pro	Val	Thr	Asp	Glu	Glu	
[2201]	1	5				10				15							
[2202]	Val	Tyr	His	Ser	Phe	Asn	Ser	His	Asp	Trp	Gln	Asn	Trp	Asn	Met	Ser	
[2203]	20					25					30						
[2204]	Asp	Gly	Trp	Lys	Asn	Asp	Asp	Tyr	Phe	Phe	Gly	Cys	His	Trp	Ser	Gln	
[2205]	35					40					45						
[2206]	Asn	Arg	Val	Asn	Phe	Tyr	Gly	Gly	Gln	Met	Glu	Leu	Ser	Leu	Arg	Thr	
[2207]	50					55					60						
[2208]	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Ala	Pro	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Glu	Cys	Ala	Glu	Tyr	Thr	
[2209]	65	70				75				80							
[2210]	Thr	Asn	Asn	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Val	Ser	Met	Lys	Pro	
[2211]	85					90					95						
[2212]	Ala	Lys	Val	Ser	Gly	Val	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Tyr	Thr	Gly	Pro	
[2213]	100					105					110						
[2214]	Ser	Tyr	Asn	Gly	Ala	Pro	Trp	Asp	Glu	Ile	Asp	Ile	Glu	Phe	Leu	Gly	
[2215]	115					120					125						
[2216]	Asn	Asp	Thr	Thr	Lys	Val	Gln	Phe	Asn	Tyr	Tyr	Thr	Asp	Gly	Val	Gly	
[2217]	130					135					140						
[2218]	Gly	Asn	Glu	Ile	Leu	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Asp	Ala	Ala	Asp	Ser	Tyr	
[2219]	145	150				155				160							
[2220]	Asn	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Trp	Gln	Glu	Asn	Tyr	Ile	Asn	Trp	Tyr	Val	
[2221]	165					170					175						
[2222]	Asn	Gly	Gln	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Asn	Ile	Pro	Ser	Asn	Pro	

205

[2262]		195					200					205		
[2263]	Pro	Leu	Tyr	Ala	His	Tyr	Asp	Trp	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys
[2264]		210					215					220		