

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7540876号
(P7540876)

(45)発行日 令和6年8月27日(2024.8.27)

(24)登録日 令和6年8月19日(2024.8.19)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/55 (2006.01)	C 1 2 N	15/55 Z N A
C 1 1 D	3/37 (2006.01)	C 1 1 D	3/37
C 1 1 D	3/386(2006.01)	C 1 1 D	3/386
C 1 1 D	17/06 (2006.01)	C 1 1 D	17/06
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
請求項の数 19 (全224頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2018-517631(P2018-517631)	(73)特許権者	500586299
(86)(22)出願日	平成28年10月7日(2016.10.7)		ノボザイムス アクティーゼルスカブ
(65)公表番号	特表2018-535664(P2018-535664 A)		デンマーク国, デーコー- 2 8 8 0 バ
(43)公表日	平成30年12月6日(2018.12.6)	(74)代理人	グスバエルト, クロシェイバイ 3 6
(86)国際出願番号	PCT/EP2016/074079		100099759
(87)国際公開番号	WO2017/060475	(74)代理人	弁理士 青木 篤
(87)国際公開日	平成29年4月13日(2017.4.13)		100123582
審査請求日	令和1年10月7日(2019.10.7)	(74)代理人	弁理士 三橋 真二
審判番号	不服2023-2332(P2023-2332/J1)		100092624
審判請求日	令和5年2月10日(2023.2.10)	(74)代理人	弁理士 鶴田 準一
(31)優先権主張番号	PA201500615		100114018
(32)優先日	平成27年10月7日(2015.10.7)	(74)代理人	弁理士 南山 知広
(33)優先権主張国・地域又は機関	デンマーク(DK)		100117019
	最終頁に続く	(74)代理人	弁理士 渡辺 陽一
			100108903
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリペプチド

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

D N a s e 活性を有する少なくとも0.002ppmのポリペプチドを含む、洗濯組成物等の洗剤組成物である組成物であって、ポリペプチドは、モチーフHXXXP（Hは、ヒスチジン、Pは、プロリン、及びXは、任意のアミノ酸である）を含み、ここで前記ポリペプチドがGYSクレードに属し、そしてモチーフ[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）又はASXNRSKG（配列番号205）のうちの一方又は両方を含み、そしてここでD N a s e 活性を有するポリペプチドが、配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77及び配列番号80からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも85%の配列同一性を有するポリペプチドを含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなり、ここで、前記組成物が、さらに、以下：

(a)

i. 好ましくは、グリセロール、（モノ、ジ、もしくはトリ）プロピレングリコール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、糖アルコール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、ズルシトール、イノシトール、キシリトールおよびアドニトールから選択される、1種または複数種のポリオール、

i i . 任意選択で、好ましくは、プロテアーゼ、アミラーゼ、もしくはリパーゼから選択される、1種または複数種の酵素、

i i i . 任意選択で、好ましくは、アニオン性およびノニオン性界面活性剤から選択される、1種または複数種の界面活性剤、

i v . 任意選択で、1種または複数種のポリマー；

または、

(b)

i . D N a s e 活性を有するポリペプチドを含むコア、および任意選択で、

i i . 前記コアを取り囲む1つまたは複数の層からなるコーティングを含む顆粒を含む、前記組成物。

10

【請求項2】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、以下のモチーフ：[T/D/S] [G/N] P Q L (配列番号198)、[G/T] Y [D/S] [R/K/L] (配列番号199)、[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号200)、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V] (配列番号201) および C [D/N] T [A/R] (配列番号202) から選択される、1つまたは複数のモチーフを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、前記モチーフ：[T/D/S] [G/N]] P Q L (配列番号198) を含む、請求項2に記載の組成物。

20

【請求項4】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、前記モチーフ：[G/T] Y [D/S] [R/K/L] (配列番号199) を含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項5】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、前記モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号200) を含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項6】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、前記モチーフ：[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V] (配列番号201) を含む、請求項2に記載の組成物。

30

【請求項7】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、前記モチーフ：C [D/N] T [A/R]] (配列番号202) を含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項8】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、モチーフ：[D/Q] [I/V] D H (配列番号203) を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項9】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77および配列番号80からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドを含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項10】

D N a s e 活性を有する前記ポリペプチドが、以下：

- a) 配列番号8のポリペプチドと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号9のポリペプチドと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号11のポリペプチドと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチ

50

- ド、
d) 配列番号 12 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
e) 配列番号 13 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
f) 配列番号 14 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
g) 配列番号 15 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
h) 配列番号 16 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
i) 配列番号 17 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
j) 配列番号 18 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
k) 配列番号 19 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
l) 配列番号 20 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
m) 配列番号 21 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
n) 配列番号 22 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
o) 配列番号 23 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
p) 配列番号 53 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
q) 配列番号 56 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
r) 配列番号 59 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
s) 配列番号 62 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
t) 配列番号 65 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
u) 配列番号 68 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
v) 配列番号 71 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
w) 配列番号 74 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
x) 配列番号 77 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
y) 配列番号 80 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、

ならびに

- z) 以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 65、配列番号 68、配列

10

20

30

40

50

番号 71、配列番号 74、配列番号 77、及び配列番号 80 からなる群から選択されるポリペプチドの変異体であって、前記変異体が、DNase 活性を有し、且つ前記変異体が、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 の位置に、1 つもしくは複数のアミノ酸置換、および／または 1 つもしくは複数のアミノ酸欠失、および／または 1 つもしくは複数のアミノ酸挿入またはそれらの組合せを含む変異体からなる群から選択される、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

DNase 活性を有する前記ポリペプチドが、バチルス属から得られる、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記組成物が、プロテアーゼを含む、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

DNase 活性を有するポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、以下：[T/D/S] [G/N] PQL (配列番号 198)、[G/T] Y [D/S] [R/K/L] (配列番号 199)、[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号 200)、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V] (配列番号 201) および C [D/N] T [A/R] (配列番号 202) からなるモチーフの群から選択される、1 つまたは複数のモチーフを含み、そして

DNase 活性を有する前記ポリペプチドが、GYS クレードに属し、且つ、前記モチーフが、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204) または ASXNRSKG (配列番号 205) の一方もしくは両方を含み、そして DNase 活性を有するポリペプチドが、以下の：

- a) 配列番号 8 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号 9 に示されるポリペプチドに少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号 11 に示されるポリペプチドに少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- d) 配列番号 12 に示されるポリペプチドに少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- e) 配列番号 13 に示されるポリペプチドに少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
- f) 配列番号 14 に示されるポリペプチドに少なくとも 96% の配列同一性を有するポリペプチド、
- g) 配列番号 15 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- h) 配列番号 16 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- i) 配列番号 17 に示されるポリペプチドに少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- j) 配列番号 18 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- k) 配列番号 19 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- l) 配列番号 20 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- m) 配列番号 21 に示されるポリペプチドに少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- n) 配列番号 22 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、

10

20

30

40

50

- o) 配列番号 23 に示されるポリペプチドに少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- p) 配列番号 53 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- q) 配列番号 56 に示されるポリペプチドに少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチド、
- r) 配列番号 59 に示されるポリペプチドに少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
- s) 配列番号 62 に示されるポリペプチドに少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- t) 配列番号 68 に示されるポリペプチドに少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
- u) 配列番号 71 に示されるポリペプチドに少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチド、
- v) 配列番号 74 に示されるポリペプチドに少なくとも 91% の配列同一性を有するポリペプチド、及び
- w) 配列番号 77 に示されるポリペプチドに少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチドを含む、前記ポリペプチド。

【請求項 14】

前記ポリペプチドが、以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 68、配列番号 74 および配列番号 77 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される、請求項 13 に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記ポリペプチドが、バチルス属から得られる、請求項 13 又は 14 に記載の DNAase 活性を有するポリペプチド。

【請求項 16】

発現宿主において前記ポリペプチドの産生を指令する 1 つまたは複数の制御配列に作動可能に連結された請求項 13 ~ 15 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸構築物または発現ベクター。

【請求項 17】

好ましくは、洗濯などのクリーニング工程である、生地などの品目からのバイオフィルムの低減または除去を目的とする、請求項 13 ~ 15 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドの使用。

【請求項 18】

前記ポリペプチドの産生を指令する 1 つまたは複数の制御配列に作動可能に連結された、請求項 16 に記載のポリヌクレオチドを含む、組換え宿主細胞。

【請求項 19】

(a) 前記ポリペプチドの生成を促す条件下で請求項 18 に記載の組換え宿主細胞を培養するステップ；および

(b) 前記ポリペプチドを回収するステップを含む、請求項 13 ~ 15 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドの生成方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表の参照

本出願は、コンピュータ読み取り可能な形態の配列表を含んでおり、これは本明細書において参照により援用される。

10

20

30

40

50

【0002】

本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（DNase）活性を有する新規のポリペプチド、ポリペプチドをコードするヌクレオチド、ならびにポリペプチドを生成する方法に関する。本発明はまた、DNaseを含む洗剤組成物、洗濯方法およびDNaseの使用にも関する。

【背景技術】

【0003】

微生物は、一般に、多くの自然、産業および医療環境における表面に生きたまま付着し、バイオポリマーおよび高分子などの細胞外物質によって被包される。こうして形成される粘性の被包微生物の層はバイオフィームと呼ばれる。バイオフィームは、自然環境の細菌の優勢な増殖方法であり、バイオフィームで増殖する細菌は、独特な生理的特徴を呈示する。浮遊状態で（planktonically）増殖するそれらの対応物と比較して、バイオフィーム内の細菌は、抗生物質、紫外線照射、洗剤および宿主免疫応答に対して、より耐性である。

【0004】

バイオフィームは、グラム陽性およびグラム陰性菌、海藻、原生動物、ならびに／または酵母もしくは糸状真菌およびウイルスならびに／またはバクテリオファージなどの1種または複数種の微生物を含み得る。問題となるバイオフィームの例として、歯垢、医療移植片の感染があるが、船体の初期汚染も含まれる。バイオフィームは、ヒトにおける多くの感染症の病因となり、露出した表面の生物付着に関しては産業界で重要な問題であり、その場合、バイオフィームコロニー化は、局在化した生態系の主成分を形成する可能性があり、これによって、産業工程および構成要素が中断および妨害され得る。

【0005】

Tシャツまたはスポーツウエアなどの洗濯品目を使用する場合、これらは、使用者の身体や、それらが用いられるその他の環境からの細菌に曝露される。これらの細菌の一部は、洗濯品目に付着することができ、その品目にバイオフィームを形成する。細菌の存在は、洗濯品目が、粘着性になり、従って、汚れが粘着性の部分に付着することを意味する。この汚れは、市販の洗剤組成物によって除去し難いことが判明している。さらに、非常に汚れた洗濯品目をあまり汚れていない洗濯品目と一緒に洗浄する場合、洗浄液中に存在する汚れが、バイオフィームに付着する傾向がある。その結果、洗濯品目は、洗浄前よりも洗浄後の方が「汚れる」ことになる。さらにまた、こうした細菌は、洗濯品目の使用後に発生する悪臭源でもある。悪臭（bad odor）（悪臭（malodor））は、除去するのが難しく、洗浄後も残留し得る。この悪臭の理由は、生地表面への細菌の付着である。生地への付着によって、細菌は、洗浄後も残留して、悪臭源となり続ける恐れがある。

【0006】

国際公開出願：国際公開第2011/098579号パンフレット（University of Newcastle）および国際公開第2014/087011号パンフレット（Novozymes A/S）は、デオキシリボヌクレアーゼ化合物およびバイオフィーム破壊および防止のための方法に関する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、DNase（デオキシリボヌクレアーゼ）活性を有する新規のポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一態様は、DNase活性を有する少なくとも0.002 ppmのポリペプチドを含む組成物に関し、ポリペプチドは、モチーフHXXXP（Hは、ヒスチジン、Pは、プロリン、Xは、任意のアミノ酸である）を含み、ここで、組成物は、さらに、以下：好ましくは、グリセロール、（モノ、ジ、もしくはトリ）プロピレングリコール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、糖アルコール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、ズ

ルシトール、イノシトール、キシリトールおよびアドニトールから選択される、1種または複数種のポリオール、ならびに／または

i i . 任意選択で、好ましくは、プロテアーゼ、アミラーゼ、もしくはリパーゼから選択される、1種または複数種の酵素、

i i i . 任意選択で、好ましくは、アニオン性およびノニオン性界面活性剤から選択される、1種または複数種の界面活性剤、

i v . 任意選択で、1種または複数種のポリマーを含む。

【0008】

本発明の別の態様は、以下：

i . D N a s e 活性を有するポリペプチドを含むコア、および任意選択で、

i i . コアを取り囲む1つまたは複数の層からなるコーティング

を含む顆粒に関する。

【0009】

本発明の一態様では、顆粒は、D N a s e 活性を有するポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、以下のモチーフ：[T/D/S] [G/N] P Q L (配列番号198)、[G/T] Y [D/S] [R/K/L] (配列番号199)、[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号200)、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V] (配列番号201)およびC [D/N] T [A/R] (配列番号202)から選択される、1つまたは複数のモチーフを含み、顆粒は、前記ポリペプチドおよびコーティングを含むコアを含む。

【0010】

一態様において、本発明は、D N a s e 活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、ポリペプチドは、以下のモチーフ：[T/D/S] [G/N] P Q L (配列番号198)、[G/T] Y [D/S] [R/K/L] (配列番号199)、[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号200)、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V] (配列番号201)およびC [D/N] T [A/R] (配列番号202)から選択される、1つまたは複数のモチーフを含む。

【0011】

一態様において、本発明は、D N a s e 活性を有するポリペプチドが、G Y S クレードに属し、モチーフ：[D/M/L] [S/T] G Y S R [D/N] (配列番号204)またはA S X N R S K G (配列番号205)の一方もしくは両方を含む組成物に関する。

【0012】

一態様において、組成物は、ポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、D N a s e 活性を有し、ポリペプチドが、モチーフ：[D/M/L] [S/T] G Y S R [D/N] (配列番号204)またはA S X N R S K G (配列番号205)の一方もしくは両方を含み、且つ、ポリペプチドが、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77および配列番号80からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

【0013】

一態様では、組成物は、D N a s e 活性を有するポリペプチドであって、N A W K クレードに属し、且つ、モチーフ：[V/I] P L [S/A] N A W K (配列番号206)またはN P Q L (配列番号207)の一方もしくは両方を含むポリペプチドを含む。

【0014】

一態様において、組成物は、ポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、D N a s e 活性を有し、ポリペプチドは、モチーフ：[V/I] P L [S/A] N A W K (配列番号

10

20

30

40

50

号206)またはNPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含み、且つ、ポリペプチドは、以下：配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116および配列番号119からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

【0015】

一態様では、組成物は、DNase活性を有するポリペプチドであって、KNWクレードに属し、且つ、モチーフ：P[Q/E]L[W/Y](配列番号208)または[K/H/E]NAW(配列番号209)の一方もしくは両方を含むポリペプチドを含む。

10

【0016】

一態様において、組成物は、ポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、P[Q/E]L[W/Y](配列番号208)または[K/H/E]NAW(配列番号209)を含み、且つ、ポリペプチドは、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

【0017】

一態様では、組成物は、洗濯または食器洗浄組成物などのクリーニング組成物である。

20

【0018】

本発明の一態様は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフHXXPを含み、式中、Hは、ヒスチジンであり、Pは、プロリンであり、Xは、任意のアミノ酸である。

【0019】

一態様において、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：[T/D/S][G/N]PQL(配列番号198)、[G/T]Y[D/S][R/K/L](配列番号199)、[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S](配列番号200)、[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V](配列番号201)およびC[D/N]T[A/R](配列番号202)からなるモチーフの群から選択される、1つまたは複数のモチーフを含む。

30

【0020】

本発明の一態様において、DNase活性を有するポリペプチドは、GYSクレードに属し、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N](配列番号204)またはASXNRSKG(配列番号205)の一方もしくは両方を含む。

【0021】

一態様において、ポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、および配列番号80に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも98%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

40

【0022】

本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、NAWKクレードに属し、且つ、ポリペプチドは、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)またはNPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むポリペプチドを含む。

【0023】

一態様において、ポリペプチドは、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配

50

列番号 206) または N P Q L (配列番号 207) のいずれかを含み、以下：配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116 および配列番号 119 に示されるポリペプチド、ならびにそれと少なくとも 95% の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0024】

本発明の一態様では、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、K N A W クレードに属し、モチーフ：P [Q / E] L [W / Y] (配列番号 208) または [K / H / E] N A W (配列番号 209) から選択されるモチーフの一方もしくは両方を含む。

【0025】

一態様において、ポリペプチドは、モチーフ：P [Q / E] L [W / Y] (配列番号 208) または [K / H / E] N A W (配列番号 209) を含み、配列番号 122、配列番号 125、配列番号 128、配列番号 131、配列番号 134、配列番号 137、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 146、配列番号 149、配列番号 152、配列番号 155 および配列番号 158 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0026】

本発明の一態様は、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明はさらに、ポリヌクレオチドを含む核酸構築物または発現ベクターに関する。本発明はさらに、本発明のポリペプチドを含む宿主細胞に関する。

【0027】

一態様は、生地などの品目からバイオフィルムを低減または除去するための本発明のポリペプチドの使用に関し、これは、好ましくは、洗濯などのクリーニング工程である。

【0028】

一態様は、本発明のポリペプチドを生成する方法に関し、これは、

- (a) ポリペプチドの生成を促す条件下で組換え宿主細胞を培養するステップ；および
- (b) ポリペプチドを回収するステップ

を含む。

【0029】

本発明は、さらに、以下：

(a) 配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドと少なくとも 60% の配列同一性を有するポリペプチド；

(b) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列と少なくとも 60% の配列同一性を有するポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；

(c) 1 つまたは複数の位置に置換、欠失、および / または挿入を含む配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドの変異体；ならびに

(d) D N a s e 活性を有する、(a)、(b) もしくは (c) のポリペプチドの断片に関する。

【0030】

別の態様では、本発明は、D N a s e 活性を有するポリペプチドと、好ましくは洗剤補助成分を含む洗剤組成物に関する。本発明の一態様は、配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドと少なくとも 60% の配列同一性を有する、D N a s e 活性を有するポリペプチドと、洗剤補助剤を含む組成物に関する。

【0031】

本発明は、さらに、品目をクリーニングまたは洗濯する方法に関し、これは、以下：

a. D N a s e 活性を有するポリペプチドを含む洗浄液または D N a s e 活性を有するポリペプチドを含む洗剤組成物に品目を曝露するステップ；

b. 少なくとも 1 つの洗浄サイクルを完了するステップ；および

c. 任意選択で、品目をすすぐステップ

を含み、

ここで、品目は、生地であり、DNase活性を有するポリペプチドは、配列番号8、9もしくは10のポリペプチドと少なくとも60%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0032】

加えて、品目のバイオフィルムを防止、低減または除去するためのDNaseの使用も特許請求の範囲に記載される。

【0033】

本発明は、さらに、ポリペプチドをコードするヌクレオチドおよびポリペプチドを生成する方法にも関する。

【0034】

配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451から得られる配列番号1 DNA 配列

配列番号2は、配列番号1から得られるポリペプチド配列である

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号3 DNA 配列

配列番号4は、配列番号3由来のポリペプチド配列である

パエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られる配列番号5 DNA 配列

配列番号6は、配列番号3由来のポリペプチド配列である

配列番号7 成熟型ポリペプチドベンゾナーゼDNase (国際公開第2011/098579号パンフレット)

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451から得られる配列番号2の配列番号8 成熟型ポリペプチド

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号4の配列番号9 成熟型ポリペプチド

パエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られる配列番号6の配列番号10 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られる配列番号11 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られる配列番号12 成熟型ポリペプチド

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号13 成熟型ポリペプチド

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号14 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる配列番号15 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる配列番号16 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668から得られる配列番号17 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395から得られる配列番号18 成熟型ポリペプチド

バチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られる配列番号19 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238から得られる配列番号20 成熟型ポリペプチド

バチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる配列番号21 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318から得られる配列番号22 成熟型ポリ

10

20

30

40

50

ペプチド

バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる配列番号 23 成熟型ポリペプチド

配列番号 24 は、バチルス・クラウジイ (*Bacillus clausii*) 分泌シグナルである

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる配列番号 25 DNA 配列

配列番号 25 由来の配列番号 26 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる配列番号 27 DNA 配列

配列番号 27 由来の配列番号 28 ポリペプチド配列

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号 29 DNA 配列

10

配列番号 29 由来の配列番号 30 ポリペプチド配列

バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる配列番号 31 DNA 配列

配列番号 31 由来の配列番号 32 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られる配列番号 33 DNA 配列

配列番号 33 由来の配列番号 34 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られる配列番号 35 DNA 配列

配列番号 35 由来の配列番号 36 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668 から得られる配列番号 37 DNA 配列

20

配列番号 37 由来の配列番号 38 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395 から得られる配列番号 39 DNA 配列

配列番号 39 由来の配列番号 40 ポリペプチド配列

バチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られる配列番号 41 DNA 配列

配列番号 41 由来の配列番号 42 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238 から得られる配列番号 43 DNA 配列

配列番号 43 由来の配列番号 44 ポリペプチド配列

バチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる配列番号 45 DNA 配列

配列番号 45 由来の配列番号 46 ポリペプチド配列

30

バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318 から得られる配列番号 47 DNA 配列

配列番号 47 由来の配列番号 48 ポリペプチド配列

バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる配列番号 49 DNA 配列

配列番号 49 由来の配列番号 50 ポリペプチド配列

バチルス・アルギコーラ (*Bacillus algicola*) から得られる配列番号 51 DNA 配列

配列番号 51 由来の配列番号 52 ポリペプチド配列

配列番号 53 は、バチルス・アルギコーラ (*Bacillus algicola*) から得られる成熟型ポリペプチドである

40

キサントン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) J 由来の配列番号 54 DNA 配列

配列番号 54 由来の配列番号 55 ポリペプチド配列

キサントン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) J から得られる配列番号 56 成熟型ポリペプチド

バチルス・ビエトナムエンシス (*Bacillus vietnamensis*) から得られる配列番号 57 DNA 配列

配列番号 57 由来の配列番号 58 ポリペプチド配列

バチルス・ビエトナムエンシス (*Bacillus vietnamensis*) から得られる配列番号 59 成熟型ポリペプチド

50

バチルス・ファジンポエンシス (*Bacillus hwa jinpoensis*) から得られる配列番号 60 DNA 配列

配列番号 60 由来の配列番号 61 ポリペプチド配列

バチルス・ファジンポエンシス (*Bacillus hwa jinpoensis*) から得られる配列番号 62 成熟型ポリペプチド

パエニバチルス・ムシラギノサス (*Paenibacillus mucilaginosus*) から得られる配列番号 63 DNA 配列

配列番号 63 由来の配列番号 64 ポリペプチド配列

パエニバチルス・ムシラギノサス (*Paenibacillus mucilaginosus*) から得られる配列番号 65 成熟型ポリペプチド

バチルス・インディカス (*Bacillus indicus*) から得られる配列番号 66 DNA 配列

配列番号 66 由来の配列番号 67 ポリペプチド配列

バチルス・インディカス (*Bacillus indicus*) から得られる配列番号 68 成熟型ポリペプチド

バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる配列番号 69 DNA 配列

配列番号 69 由来の配列番号 70 ポリペプチド配列

バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる配列番号 71 成熟型ポリペプチド

バチルス・ルシフェレンシス (*Bacillus luciferensis*) から得られる配列番号 72 DNA 配列

配列番号 72 由来の配列番号 73 ポリペプチド配列

バチルス・ルシフェレンシス (*Bacillus luciferensis*) から得られる配列番号 74 成熟型ポリペプチド

バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる配列番号 75 DNA 配列

配列番号 75 由来の配列番号 76 ポリペプチド配列

バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる配列番号 77 成熟型ポリペプチド

バチルス属 (*Bacillus* sp.) SA2-6 から得られる配列番号 78 DNA 配列

配列番号 78 由来の配列番号 79 ポリペプチド配列

バチルス属 (*Bacillus* sp.) SA2-6 から得られる配列番号 80 ポリペプチド配列

ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) から得られる配列番号 81 DNA 配列

配列番号 81 由来の配列番号 82 ポリペプチド配列

ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) から得られる配列番号 83 成熟型ポリペプチド

ビブリッセア・フラボビレンス (*Vibrissea flavovirens*) から得られる配列番号 84 DNA 配列

配列番号 84 由来の配列番号 85 ポリペプチド配列

ビブリッセア・フラボビレンス (*Vibrissea flavovirens*) から得られる配列番号 86 成熟型ポリペプチド

セトスフェリア・ロストラタ (*Setosphaeria rostrata*) から得られる配列番号 87 DNA 配列

配列番号 87 由来の配列番号 88 ポリペプチド配列

セトスフェリア・ロストラタ (*Setosphaeria rostrata*) から得られる配列番号 89 成熟型ポリペプチド

エンドフラグミエラ・バルディナ (*Endophragmiella valdina*)

10

20

30

40

50

から得られる配列番号 90 DNA 配列

配列番号 90 由来の配列番号 91 ポリペプチド配列

エンドフラグミエラ・バルディナ (*Endophragmiella valdina*)

から得られる配列番号 92 成熟型ポリペプチド

コリネスポラ・カッシイコーラ (*Corynespora cassiicola*) から

得られる配列番号 93 DNA 配列

配列番号 93 由来の配列番号 94 ポリペプチド配列

コリネスポラ・カッシイコーラ (*Corynespora cassiicola*) から

得られる配列番号 95 成熟型ポリペプチド

パラフォーマ属 (*Paraphoma* sp.) XZ1965 から得られる配列番号 96 DNA 配列

10

配列番号 96 由来の配列番号 97 ポリペプチド配列

パラフォーマ属 (*Paraphoma* sp.) XZ1965 から得られる配列番号 98 成熟型ポリペプチド

モニリニア・フルクチコーラ (*Monilinia fructicola*) から得られる配列番号 99 DNA 配列

配列番号 99 由来の配列番号 100 ポリペプチド配列

モニリニア・フルクチコーラ (*Monilinia fructicola*) から得られる配列番号 101 成熟型ポリペプチド

クルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*) から得られる配列番号 102 DNA 配列

20

配列番号 102 由来の配列番号 103 ポリペプチド配列

クルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*) から得られる配列番号 104 成熟型ポリペプチド

ペニシリウム・レチクチスポルム (*Penicillium reticulisporum*) から得られる配列番号 105 DNA 配列

配列番号 105 由来の配列番号 106 ポリペプチド配列

ペニシリウム・レチクチスポルム (*Penicillium reticulisporum*) から得られる配列番号 107 成熟型ポリペプチド

ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) から得られる配列番号 108 DNA 配列

30

配列番号 108 由来の配列番号 109 ポリペプチド配列

ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) から得られる配列番号 110 成熟型ポリペプチド

セトフェオスフェリア属 (*Setophaeosphaeria* sp.) から得られる配列番号 111 DNA 配列

配列番号 111 由来の配列番号 112 ポリペプチド配列

セトフェオスフェリア属 (*Setophaeosphaeria* sp.) から得られる配列番号 113 成熟型ポリペプチド

アルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) XZ2545 から得られる配列番号 114 DNA 配列

40

配列番号 114 由来の配列番号 115 ポリペプチド配列

アルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) XZ2545 から得られる配列番号 116 成熟型ポリペプチド

アルテルナリア属 (*Alternaria*) から得られる配列番号 117 DNA 配列

配列番号 117 由来の配列番号 118 ポリペプチド配列

アルテルナリア属 (*Alternaria*) から得られる配列番号 119 成熟型ポリペプチド

トリコデルマ・リーセイ (*Trichoderma reesei*) から得られる配列番号 120 DNA 配列

50

配列番号 121 由来の配列番号 121 ポリペプチド配列

トリコデルマ・リーセイ (*Trichoderma reesei*) から得られる配列番号 122 成熟型ポリペプチド

カエトミウム・サーモフィルム (*Chaetomium thermophilum*) から得られる配列番号 123 DNA 配列

配列番号 123 由来の配列番号 124 ポリペプチド配列

カエトミウム・サーモフィルム (*Chaetomium thermophilum*) から得られる配列番号 125 成熟型ポリペプチド

シタリディウム・サーモフィルム (*Scytalidium thermophilum*) から得られる配列番号 126 DNA 配列

10

配列番号 126 由来の配列番号 127 ポリペプチド配列

シタリディウム・サーモフィルム (*Scytalidium thermophilum*) から得られる配列番号 128 成熟型ポリペプチド

メタポコニア・スクラスポリア (*Metapochonia suchlasporia*) から得られる配列番号 129 DNA 配列

配列番号 129 由来の配列番号 130 ポリペプチド配列

メタポコニア・スクラスポリア (*Metapochonia suchlasporia*) から得られる配列番号 131 成熟型ポリペプチド

ダルジニア・フィッサ (*Daldinia fissa*) から得られる配列番号 132 の DNA 配列

20

配列番号 132 由来の配列番号 133 ポリペプチド配列

ダルジニア・フィッサ (*Daldinia fissa*) から得られる配列番号 134 成熟型ポリペプチド

アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2007 から得られる配列番号 135 DNA 配列

配列番号 135 由来の配列番号 136 ポリペプチド配列

アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2007 から得られる配列番号 137 成熟型ポリペプチド

アクレモニウム・ジクロモスポルム (*Acremonium dichromosporum*) から得られる配列番号 138 DNA 配列

30

配列番号 138 由来の配列番号 139 ポリペプチド配列

アクレモニウム・ジクロモスポルム (*Acremonium dichromosporum*) から得られる配列番号 140 成熟型ポリペプチド

サロクラジウム属 (*Sarocladium* sp.) XZ2014 から得られる配列番号 141 DNA 配列

配列番号 141 由来の配列番号 142 ポリペプチド配列

サロクラジウム属 (*Sarocladium* sp.) XZ2014 から得られる配列番号 143 成熟型ポリペプチド

メタリジウム属 (*Metarhizium* sp.) HNA15-2 から得られる配列番号 144 DNA 配列

40

配列番号 144 由来の配列番号 145 ポリペプチド配列

メタリジウム属 (*Metarhizium* sp.) HNA15-2 から得られる配列番号 146 成熟型ポリペプチド

アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2414 から得られる配列番号 147 DNA 配列

配列番号 147 由来の配列番号 148 ポリペプチド配列

アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2414 から得られる配列番号 149 成熟型ポリペプチド

イサリア・テヌイペス (*Isaria tenuipes*) から得られる配列番号 150 DNA 配列

50

配列番号 150 由来の配列番号 151 ポリペプチド配列

イサリア・テヌイペス (*Isaria tenuipes*) から得られる配列番号 152 成熟型ポリペプチド

シタリジウム・チルシナタム (*Scytalidium circinatum*) から得られる配列番号 153 DNA 配列

配列番号 153 由来の配列番号 154 ポリペプチド配列

シタリジウム・チルシナタム (*Scytalidium circinatum*) から得られる配列番号 155 成熟型ポリペプチド

メタリジウム・レピジオタエ (*Metarhizium lepidiotae*) から得られる配列番号 156 DNA 配列

10

配列番号 156 由来の配列番号 157 ポリペプチド配列

メタリジウム・レピジオタエ (*Metarhizium lepidiotae*) から得られる配列番号 158 成熟型ポリペプチド

サーモビスポラ・ビスポラ (*Thermobispora bispora*) から得られる配列番号 159 DNA 配列

配列番号 159 由来の配列番号 160 ポリペプチド配列

サーモビスポラ・ビスポラ (*Thermobispora bispora*) から得られる配列番号 161 成熟型ポリペプチド

スポロルミア・フィメタリア (*Sporormia fimetaria*) から得られる配列番号 162 DNA 配列

20

配列番号 162 由来の配列番号 163 ポリペプチド配列

スポロルミア・フィメタリア (*Sporormia fimetaria*) から得られる配列番号 164 成熟型ポリペプチド

ピクニジオフォーラ cf. ディスペラ (*Pycnidophora cf. dispersa*) から得られる配列番号 165 DNA 配列

配列番号 165 由来の配列番号 166 ポリペプチド配列

ピクニジオフォーラ cf. ディスペラ (*Pycnidophora cf. dispersa*) から得られる配列番号 167 成熟型ポリペプチド

キサント・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) D から得られる配列番号 168 DNA 配列

30

配列番号 168 由来の配列番号 169 ポリペプチド配列

キサント・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) D から得られる配列番号 170 成熟型ポリペプチド

キサント・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) O から得られる配列番号 171 DNA 配列

配列番号 171 由来の配列番号 172 ポリペプチド配列

キサント・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) O から得られる配列番号 173 成熟型ポリペプチド

バッカクキン科 (*Clavicipitaceae*) sp-70249 から得られる配列番号 174 DNA 配列

40

配列番号 174 由来の配列番号 175 ポリペプチド配列

バッカクキン科 (*Clavicipitaceae*) sp-70249 から得られる配列番号 176 成熟型ポリペプチド

ウェステルディケラ属 (*Westerdykella* sp.) AS85-2 から得られる配列番号 177 DNA 配列

配列番号 177 由来の配列番号 178 ポリペプチド配列

ウェステルディケラ属 (*Westerdykella* sp.) AS85-2 から得られる配列番号 179 成熟型ポリペプチド

フミコロプシス・セファロスポリオイデス (*Humicolopsis cephalosporioides*) から得られる配列番号 180 DNA 配列

50

配列番号 180 由来の配列番号 181 ポリペプチド配列

フミコロプシス・セファロスポリオイデス (*Humicolopsis cephalosporioides*) から得られる配列番号 182 成熟型ポリペプチド

ネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から得られる配列番号 183 DNA 配列

配列番号 183 由来の配列番号 184 ポリペプチド配列

ネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から得られる配列番号 185 成熟型ポリペプチド

ローソエラ・インターメディア (*Rousoella intermedia*) から得られる配列番号 186 DNA 配列

配列番号 186 由来の配列番号 187 ポリペプチド配列

187 から得られる配列番号 188 成熟型ポリペプチド

プレオスポラ目 (*Pleosporales*) から得られる配列番号 189 DNA 配列

配列番号 189 由来の配列番号 190 ポリペプチド配列

プレオスポラ目 (*Pleosporales*) から得られる配列番号 191 成熟型ポリペプチド

フェオスフェリア属 (*Phaeosphaeria*) から得られる配列番号 192 DNA 配列

配列番号 192 由来の配列番号 193 ポリペプチド配列

フェオスフェリア属 (*Phaeosphaeria*) から得られる配列番号 194 成熟型ポリペプチド

ディディモスフェリア・フチリス (*Didymosphaeria futilis*) から得られる配列番号 195 DNA 配列

配列番号 195 由来の配列番号 196 ポリペプチド配列

ディディモスフェリア・フチリス (*Didymosphaeria futilis*) から得られる配列番号 197 成熟型ポリペプチド

配列番号 198 モチーフ [T/D/S] [G/N] PQL

配列番号 199 モチーフ [G/T] Y [D/S] [R/K/L]

配列番号 200 モチーフ [E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]

配列番号 201 モチーフ [F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]

配列番号 202 モチーフ C [D/N] T [A/R]

配列番号 203 モチーフ [D/Q] [I/V] DH

配列番号 204 モチーフ [D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]

配列番号 205 モチーフ ASXNRSKG

配列番号 206 モチーフ [V/I] PL [S/A] NAWK

配列番号 207 モチーフ NPQL

配列番号 208 モチーフ P [Q/E] L [W/Y]

配列番号 209 モチーフ [K/H/E] NAW

【0035】

定義

対立遺伝子変異体：「対立遺伝子変異体」という用語は、同一の染色体座を占有する遺伝子の2つ以上の代替的な形態のいずれかを意味する。対立遺伝子変異は、突然変異を介して自然に生じ、また、個体群に多型性をもたらし得る。遺伝子突然変異は、サイレント（コードされるポリペプチドにおける変化なし）であってもよいし、または、改変されたアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするものでもよい。ポリペプチドの対立遺伝子変異体は、遺伝子の対立遺伝子変異体によってコードされたポリペプチドである。

【0036】

バイオフィルム：バイオフィルムは、細胞が、生地、食器類または硬質表面などの表面上に互いに付着している、いずれかの微生物群である。こうした付着細胞は、多くの場合、細胞外高分子物質（EPS）の自己生成マトリックス内に包埋されている。バイオフィ

10

20

30

40

50

ルムEPSは、一般に、細胞外DNA、タンパク質、および多糖から構成された高分子凝集塊である。バイオフィームは、生存または非生存表面上に形成し得る。バイオフィーム内で増殖する微生物細胞は、同じ生物の浮遊細胞とは生理学的に異なり、浮遊細胞は、対照的に、液体媒体中に浮遊または泳動し得る単細胞である。バイオフィーム内に生存する細菌は、通常フィルムの高密度かつ保護された環境によって、これらの細菌が多様な方法で協同および相互作用することが可能になるため、同じ種の浮遊細菌とは極めて異なる特性を有する。このような環境の1つの利点は、高密度の細胞外マトリックスおよび細胞の外層が集団の内部を保護するために、洗剤および抗生物質に対する耐性が増大することである。洗濯の際、細菌を産生するバイオフィームは、以下の種から見出すことができる：アシネトバクテリウム属 (*Acinetobacter* sp.)、アエロミクロビウム属 (*Aeromicrobium* sp.)、ブレバンジモナス属 (*Brevundimonas* sp.)、ミクロバクテリウム属 (*Microbacterium* sp.)、ミクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*)、シュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.)、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、およびステノトロホモナス属 (*Stenotrophomonas* sp.)。

【0037】

コード配列：「コード配列」という用語は、ポリペプチドのアミノ酸配列を直接規定するポリヌクレオチドを意味する。コード配列の境界は、一般に、オープンリーディングフレームによって決定されるが、これは、ATG、GTG、またはTTGなどの開始コドンで開始し、TAA、TAG、またはTGAなどの終止コドンで終了する。コード配列は、ゲノムDNA、合成DNA、またはこれらの組合せのいずれであってもよい。

【0038】

色差 (L 値)：Lab 色空間は、明度を意味する次元 L を有する反対色空間である。L 値、L* は、L* = 0 で、最も暗い黒を示し、L* = 100 で、最も明るい白を示す。本発明に関連して、L 値は、色差とも呼ばれる。

【0039】

制御配列：「制御配列」という用語は、本発明の成熟型ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現に必要な核酸配列を意味する。各制御配列は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに対して在来 (すなわち、同じ遺伝子に由来する) もしくは外来の (すなわち、異なる遺伝子に由来する) ものであっても、または、相互に在来もしくは外来のものであってもよい。このような制御配列としては、これらに限定されないが、リーダ、ポリアデニル化配列、プロペプチド配列、プロモータ、シグナルペプチド配列、および転写ターミネータが挙げられる。少なくとも、制御配列は、プロモータ、ならびに、転写および翻訳終止シグナルを含む。制御配列は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドのコード領域と制御配列の連結を促進させる特定の制限部位を導入する目的で、リンカーを備えていてもよい。

【0040】

ディープクリーニング：「ディープクリーニング」という用語は、バイオフィーム、またはバイオフィーム内に存在する多糖、タンパク質、DNA、汚れもしくは他の成分などのバイオフィームの成分の破壊または除去を意味する。

【0041】

洗剤補助成分：洗剤補助成分は、本発明のDNaseとは異なる。こうした追加的補助成分の厳密な性質、ならびにその含有レベルは、組成物の物理的形態およびそれをを用いようとする作業の種類に応じて変動し得る。好適な補助成分としては、限定されないが、後述する成分、例えば、界面活性剤、ビルダー、凝集助剤、キレート化剤、移染防止剤、酵素、酵素安定剤、酵素阻害剤、触媒材料、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素供給源、事前形成された過酸 (performed peracid)、ポリマー分散剤、泥汚れ除去/再付着防止剤、増白剤、セッケン泡抑制剤、染料、香料、構造弾性化剤、布地柔軟剤、キャリア、ヒドロトロップ、ビルターおよびコビルダー、布地色相剤、消泡剤、分

10

20

30

40

50

散剤、加工助剤、および／または顔料が挙げられる。

【0042】

洗剤組成物：「洗剤組成物」という用語は、生地などの洗浄しようとする品目から不要な化合物を除去する上で有用な組成物を指す。洗剤組成物は、家庭用クリーニングおよび業務用クリーニングの両方の用途で、例えば、生地をクリーニングするために用いることができる。この用語は、特定のタイプの所望のクリーニング組成物および製品の形態（例えば、液体、ゲル、粉末、顆粒、ペースト、またはスプレー組成物）のために選択されるあらゆる材料／化合物を包含し、限定されないが、洗剤組成物（例えば、液体および／または固体洗濯洗剤ならびにデリケート用洗剤；布地フレッシュナ；布地柔軟剤；ならびに生地および洗濯プレスポッター／前処理剤）を包含する。本発明の酵素を含有する以外に、洗剤製剤は、1種または複数種の別の酵素（例えば、プロテアーゼ、アミラーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、セルラーゼ、エンドグルカナーゼ、キシログルカナーゼ、ペクチナーゼ、ペクチンリアーゼ、キサンタナーゼ、ペルオキシダーゼ、ハロペルオキシゲナーゼ、カタラーゼおよびマンナーゼ、もしくはこれらの任意の混合物）、ならびに／または洗剤補助成分、例えば、界面活性剤、ビルダー、キレート剤もしくはキレート化剤、漂白剤系もしくは漂白剤成分、ポリマー、布地コンディショナ、起泡増進剤、セッケン泡抑制剤、染料、香料、色あせ防止剤、光学増白剤、殺菌剤、殺カビ剤、汚染物懸濁剤、腐食防止剤、酵素抑制剤もしくは安定化剤、酵素活性化剤、トランスフェラーゼ、加水分解酵素、酸化還元酵素、青み付け剤および蛍光性染料、酸化防止剤、および溶解剤を含有してもよい。

【0043】

D N a s e（デオキシリボヌクレアーゼ）：「D N a s e」という用語は、DNA骨格において、ホスホジエステル結合の加水分解切断を触媒することにより、DNAを分解するD N a s e活性を有するポリペプチドを意味する。「D N a s e」という用語および「D N a s e活性を有するポリペプチド」という表現は、本出願全体を通して置き換え可能に用いられる。本発明の対象のために、D N a s e活性は、アッセイIに記載する手順に従って決定される。一態様では、本発明のポリペプチドは、配列番号2、4もしくは6の、好ましくは配列番号2の成熟型ポリペプチドのD N a s e活性の少なくとも20%、例えば、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%を有する。一実施形態では、本発明のポリペプチドは、向上したD N a s e活性を有し、例えば、それによって、ポリペプチドのD N a s e活性は、配列番号2、4もしくは6の、好ましくは配列番号2の成熟型ポリペプチドのD N a s e活性を基準として、少なくとも105%、例えば、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、または少なくとも200%である。

【0044】

好ましい実施形態では、ポリペプチドのD N a s e活性は、アッセイIに記載する手順に従い決定して、配列番号2の成熟型ポリペプチドのD N a s e活性に対して少なくとも20%、例えば、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも105%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、または少なくとも200%である。

【0045】

酵素洗浄力有益性：本明細書において、「酵素洗浄力有益性」という用語は、酵素を伴わない同一の洗剤と比して、酵素が洗剤に追加し得る有利な効果として定義される。酵素によりもたらされることが可能である重要な洗浄力有益性は、洗浄および／またはクリーニング後に視認可能な汚染物がないかほとんどないしみ除去（再付着防止とも呼ばれる効果である）、洗浄プロセスで遊離した汚染物の再付着の防止または低減（白色化とも呼ば

れる効果である）、元々は白色であったが反復的な使用および洗浄の後に灰色がかったもしくは黄色がかった外観となってしまった生地の色度の完全なまたは部分的な回復である。触媒によるしみ除去もしくは汚染物の再付着防止に直接関係はしない、生地の取り扱いによる有益性（textile care benefit）もまた酵素洗浄力有益性に重要である。このような生地の取り扱いによる有益性の例は、一の布地から他の布地へ、もしくは、同一の布地の他の部分への移染の防止もしくは低減（移染防止または逆汚染防止とも呼ばれる効果である）；ピル性を低減するための布地表面からの突出繊維もしくは破断繊維の除去、または、既に存在しているピルもしくは毛羽の除去（抗ピルとも呼ばれる効果である）；布地柔軟性の向上；布地の色の清澄化；および、布地もしくは衣服の繊維中に詰まった粒状の汚染物の除去である。酵素漂白はさらなる酵素洗浄力有益性であり、ここで、触媒活性は、一般に、過酸化水素もしくは他の過酸化物などの漂白成分の形成を触媒するために用いられる。

【0046】

発現：「発現」という用語は、限定するものではないが、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾および分泌物を含むポリペプチドの生成に関与するいずれかのステップを含む。

【0047】

発現ベクター：「発現ベクター」という用語は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含み、また、その発現をもたらす制御配列に作動可能にリンクされている直鎖または環状DNA分子を含む。

【0048】

断片：「断片」という用語は、成熟型ポリペプチドまたはドメインのアミノおよび／またはカルボキシル末端から欠失された1つまたは複数（数個）のアミノ酸を有するポリペプチドを意味し；ここで、断片はDNAse活性を有する。一態様において、断片は、少なくとも206個のアミノ酸残基（例えば、配列番号2のアミノ酸1～206）、少なくとも205個のアミノ酸残基（例えば、配列番号2のアミノ酸2～206）、または少なくとも204個のアミノ酸残基（例えば、配列番号2のアミノ酸3～206）を含む。一態様では、断片は、少なくとも206個のアミノ酸残基（例えば、配列番号4のアミノ酸1～206）、少なくとも205個のアミノ酸残基（例えば、配列番号4のアミノ酸4～206）、または少なくとも204個のアミノ酸残基（例えば、配列番号4のアミノ酸3～206）を含む。一態様では、断片は、少なくとも206個のアミノ酸残基（例えば、配列番号6のアミノ酸1～206）、少なくとも205個のアミノ酸残基（例えば、配列番号6のアミノ酸2～206）、または少なくとも204個のアミノ酸残基（例えば、配列番号6のアミノ酸3～206）を含む。

【0049】

宿主細胞：「宿主細胞」という用語は、本発明のポリヌクレオチドを含む核酸構築物または発現ベクターによる形質転換、形質移入、形質導入等などに対する感受性を有するあらゆる細胞型を意味する。「宿主細胞」という用語は、複製の最中に生じる突然変異のために、親細胞と同じではない親細胞のあらゆる子孫を包含する。

【0050】

向上した洗浄性能：「向上した洗浄性能」という用語は、本明細書では、酵素を含まない同じ洗剤組成物の洗浄性能に対して、例えば、汚れの除去の増加または再付着の減少による、洗剤組成物の洗浄性能の増加を示す酵素として定義される。「向上した洗浄性能」という用語は、洗濯における洗浄性能を包含する。

【0051】

単離された：「単離された」という用語は、自然界においては生じない形態または環境にある物質を意味する。単離された物質の非限定的な例としては、（1）いずれかの非天然物質、（2）限定されないが、自然界において関連している天然構成成分の1種または複数種もしくは全てから少なくとも部分的に取り出されたいずれかの酵素、変異体、核酸、タンパク質、ペプチドもしくは補因子を含むいずれかの物質；（3）自然界に見出される物質に対して人為的に修飾されたいずれかの物質；または（4）自然界で関連する他の

成分に対して物質量の増加により修飾されたいずれかの物質（例えば、宿主細胞における組換え産生；物質をコードする遺伝子の複数のコピー；ならびに、物質をコードする遺伝子と自然界で関連するプロモータよりも強力なプロモータの使用）が挙げられる。単離された物質は、発酵ブロスサンプル中に存在してもよく；例えば、本発明のポリペプチドを発現するように、宿主細胞を遺伝子改変してもよい。宿主細胞からの発酵ブロスは、単離されたポリペプチドを含み得る。

【0052】

洗濯する：「洗濯する」という用語は、家庭での洗濯および業務用洗濯の両方に関し、本発明のクリーニングまたは洗剤組成物を含む溶液で生地を処理する工程を意味する。洗濯工程は、例えば、家庭用または業務用洗浄機を用いて実施することもできるし、または手で実施することもできる。

10

【0053】

「悪臭」という用語は、清浄な品目に対して望ましくない臭いを意味する。洗浄された品目は、その品目に付着する悪臭がなく、新鮮かつ清浄な臭いがすべきである。悪臭の一例として、微生物によって発生され得る不快な臭いを有する化合物がある。別の例は、ヒトまたは動物と接触していた品目に付着した汗または体臭であり得る不快な臭いである。悪臭の別の例は、品目に付着する香辛料からの臭いである場合もあり、例えば、カレーや、強烈な臭いがする他の外来香辛料がある。品目が悪臭を付着する程度を計測する方法は、本明細書に開示するアッセイの使用によるものである。

20

【0054】

成熟型ポリペプチド：「成熟型ポリペプチド」という用語は、翻訳およびあらゆる翻訳後修飾、例えば、N末端プロセッシング、C末端切断、グリコシル化、リン酸化などを経たその最終形態にあるポリペプチドを意味する。一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号2のアミノ酸29～210、配列番号4のアミノ酸29～210、または配列番号6のアミノ酸23～202であり、また、配列番号2のアミノ酸1～28、配列番号4のアミノ酸1～28、配列番号6のアミノ酸1～22は、シグナルペプチドである。

【0055】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号26のアミノ酸1～182である。

【0056】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号28のアミノ酸1～182である。

30

【0057】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号30のアミノ酸1～182である。

【0058】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号32のアミノ酸1～182である。

【0059】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号34のアミノ酸1～182である。

【0060】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号36のアミノ酸1～182である。

【0061】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号38のアミノ酸1～182である。

40

【0062】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号40のアミノ酸1～183である。

【0063】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号42のアミノ酸1～185である。

【0064】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号44のアミノ酸1～182である。

【0065】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号46のアミノ酸1～182である。

【0066】

一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号48のアミノ酸1～182である。

50

- 【0067】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号50のアミノ酸1～182である。
- 【0068】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号52のアミノ酸1～182である。
- 【0069】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号55のアミノ酸1～182である。
- 【0070】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号58のアミノ酸1～182である。
- 【0071】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号61のアミノ酸1～182である。 10
- 【0072】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号64のアミノ酸1～182である。
- 【0073】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号67のアミノ酸1～182である。
- 【0074】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号70のアミノ酸1～182である。
- 【0075】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号73のアミノ酸1～184である。
- 【0076】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号76のアミノ酸1～182である。 20
- 【0077】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号79のアミノ酸1～182である。
- 【0078】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号82のアミノ酸1～191である。
- 【0079】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号85のアミノ酸1～190である。
- 【0080】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号88のアミノ酸1～192である。
- 【0081】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号91のアミノ酸1～192である。 30
- 【0082】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号94のアミノ酸1～190である。
- 【0083】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号97のアミノ酸1～192である。
- 【0084】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号100のアミノ酸1～186である。
- 【0085】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号103のアミノ酸1～190である。
- 【0086】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号106のアミノ酸1～191である。 40
- 【0087】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号109のアミノ酸1～191である。
- 【0088】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号112のアミノ酸1～192である。
- 【0089】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号115のアミノ酸1～192である。
- 【0090】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号118のアミノ酸1～192である。
- 【0091】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号121のアミノ酸1～186である。 50

- 【0092】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号124のアミノ酸1～188である。
- 【0093】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号127のアミノ酸1～190である。
- 【0094】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号130のアミノ酸1～186である。
- 【0095】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号133のアミノ酸1～198である。
- 【0096】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号136のアミノ酸1～188である。 10
- 【0097】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号139のアミノ酸1～182である。
- 【0098】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号142のアミノ酸1～188である。
- 【0099】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号145のアミノ酸1～186である。
- 【0100】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号148のアミノ酸1～188である。
- 【0101】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号151のアミノ酸1～186である。 20
- 【0102】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号154のアミノ酸1～184である。
- 【0103】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号157のアミノ酸1～186である。
- 【0104】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号160のアミノ酸1～226である。
- 【0105】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号163のアミノ酸1～191である。
- 【0106】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号166のアミノ酸1～193である。 30
- 【0107】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号169のアミノ酸1～199である。
- 【0108】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号172のアミノ酸1～194である。
- 【0109】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号175のアミノ酸1～186である。
- 【0110】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号178のアミノ酸1～187である。
- 【0111】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号181のアミノ酸1～194である。 40
- 【0112】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号184のアミノ酸1～190である。
- 【0113】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号187のアミノ酸1～191である。
- 【0114】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号190のアミノ酸1～191である。
- 【0115】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号193のアミノ酸1～192である。
- 【0116】
一態様では、成熟型ポリペプチドは、配列番号196のアミノ酸1～189である。 50

【0117】

同じポリヌクレオチドによって発現された宿主細胞が、2つのさらに異なる成熟型ポリペプチド（すなわち、異なるC末端および／またはN末端アミノ酸を含む）の混合物を産生しうることは当分野において公知である。さらに、異なる宿主細胞は、ポリペプチドを異なる様式でプロセッシングするため、あるポリヌクレオチドを発現する1宿主細胞は、同じポリヌクレオチドを発現する別の宿主細胞と比較して、異なる成熟型ポリペプチド（例えば、異なるC末端および／またはN末端アミノ酸を有する）を産生し得ることも当分野において公知である。配列番号2の成熟型ポリペプチドは、配列番号8であり、配列番号4の成熟型ポリペプチドは、配列番号9であり、かつ配列番号6の成熟型ポリペプチドは、配列番号10である。

10

【0118】

成熟型ポリペプチドコード配列：「成熟型ポリペプチドコード配列」という用語は、DNase活性を有する成熟型ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを意味する。一態様において、成熟型ポリペプチドコード配列は、配列番号1のヌクレオチド85～630、配列番号3のヌクレオチド85～630、および配列番号5のヌクレオチド67～606である。

【0119】

核酸構築物：「核酸構築物」という用語は、一本鎖または二本鎖いずれかの核酸分子を意味し、これは、天然の遺伝子から単離されるか、もしくは、そうでなければ自然に存在しないであろう様式で核酸のセグメントを含有するよう修飾されるか、または、合成物であり、これは、1つまたは複数の制御配列を含む。

20

【0120】

作動可能にリンクされた：「作動可能にリンクされた」という用語は、制御配列がコード配列の発現を指令するように、ポリヌクレオチドのコード配列に対して適切な位置に制御配列が配置される構造を意味する。

【0121】

医薬補助成分は、医薬化合物を製剤化する上で好適ないずれかの医薬品賦形剤を意味する。

【0122】

こうした賦形剤、キャリア、ビヒクルなどは、当業者にはよく知られており、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985といったテキストに記載されている。

30

【0123】

錠剤製剤での使用に好適な薬学的に許容される賦形剤として、例えば、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウムまたはリン酸ナトリウムなどの不活性希釈剤；造粒剤および崩壊剤、例えば、トウモロコシデンプン、またはアルギン酸；結合剤、例えば、デンプン、ゼラチンまたはアカシア、ならびに潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルクが挙げられる。錠剤は、素錠であってもよいし、または消化管での崩壊および吸収を遅延させることによって、より長期間にわたって持続的作用をもたらす公知の技術によりコーティングしてもよい。例えば、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの時間遅延材料を使用してもよい。

40

【0124】

硬質ゼラチンカプセル製剤の場合には、活性成分を不活性固体希釈剤、例えば、炭酸カルシウム、リン酸カルシウムまたはカオリンと混合することができる。軟質ゼラチンカプセル製剤の場合には、活性成分を水または油媒質、例えば、ピーナッツ油、液体パラフィンもしくはオリーブ油と混合することができる。

【0125】

水性懸濁液の製造に好適な賦形剤としては、懸濁剤、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナト

50

リウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴムおよびアカシアゴムが挙げられ；分散または湿潤剤は、天然に存在するリン脂質、例えば、レシチン、またはアルキレンオキシドと脂肪酸の縮合物、例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールの縮合物、例えば、ヘプタデカエチレンオキシエタノール、またはエチレンオキシドと、脂肪酸およびヘキシトールから得られる部分エステルとの縮合物、例えば、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート、またはエチレンオキシドと、脂肪酸および無水ヘキシトールから得られる部分エステルとの縮合物、例えば、ポリエチレンソルビタンモノオレエートであってもよい。

【0126】

水性懸濁液はまた、1種または複数種の防腐剤、例えば、エチルもしくはp-ヒドロキシ安息香酸n-プロピルなどの安息香酸塩、1種または複数種の着色料、1種または複数種の香味料、ならびに1種または複数種の甘味料、例えば、スクロースもしくはサッカリンを含有してもよい。

【0127】

油性懸濁液は、植物油、例えば、落花生油、オリーブ油、ゴマ油もしくはヤシ油、または液体パラフィンのような鉱油に活性成分を懸濁させることによって製剤化することができる。油性懸濁液は、増粘剤、例えば、蜜蝋、固形パラフィンまたはセチルアルコールを含有してもよい。甘味料および香味料を添加してもよい。これらの組成物は、アスコルビン酸のような抗酸化剤の添加によって保存することができる。

【0128】

再発光 (Remission) 値：洗浄性能は、汚れた布きれの再発光値として表される。洗浄およびすすぎの後、布きれを一面に広げて、室温で一晩空気乾燥させた。洗浄した布きれは全て、洗浄の翌日に評価する。開口部が非常に小さいMacbeth Color Eye 7000反射光分光計を用いて、布きれの光の反射率評価を実施した。計測は、入射光においてUVなしで実施し、460nmでの再発光を抽出した。

【0129】

配列同一性：2つのアミノ酸配列間または2つのヌクレオチド配列間の関連性は、「配列同一性」というパラメータによって表される。本発明の目的のために、2つのアミノ酸配列間の配列同一性の程度は、好ましくはバージョン5.0.0以降のEMBOSSパッケージ (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277) のNeedleプログラムにおいて実装されている、Needleman-Wunschアルゴリズム (Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) を用いて判定される。用いられるパラメータは、10のギャップオープンペナルティ、0.5のギャップエクステンションペナルティおよびEBL0SUM62 (BL0SUM62のEMBOSSバージョン) 置換マトリックスである。Needle標識された「最長の同一性」 (-nobriefオプションを用いて得られる) の出力が同一性割合として用いられ、以下のように算出される：

$$(\text{同等の残基} \times 100) / (\text{アラインメントの長さ} - \text{アラインメント中のギャップの総数})$$

【0130】

緊縮条件：「極めて低度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSPE、0.3% SDS、200マイクログラム/ml断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、25%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、45℃で15分間ずつ3回洗浄される。

【0131】

「低度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSP

10

20

30

40

50

E、0.3% SDS、200マイクログラム／mL断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、25%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、50℃で15分間ずつ3回洗浄される。

【0132】

「中度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSPE、0.3% SDS、200マイクログラム／mL断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、35%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、55℃で15分間ずつ3回洗浄される。

10

【0133】

「中度～高度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSPE、0.3% SDS、200マイクログラム／mL断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、35%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、60℃で15分間ずつ3回洗浄される。

【0134】

「高度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSPE、0.3% SDS、200マイクログラム／mL断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、50%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、65℃で15分間ずつ3回洗浄される。

20

【0135】

「極めて高度の緊縮条件」という用語は、長さが少なくとも100ヌクレオチドのプロープに関して、12～24時間の標準的なサザンブロッティング法に続く、42℃、5×SSPE、0.3% SDS、200マイクログラム／mL断片処理および修飾済みのサケ精子DNA、ならびに、50%ホルムアミドでのプレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを意味する。キャリア材料は、最終的に、2×SSC、0.2% SDSを用いて、70℃で15分間ずつ3回洗浄される。

30

【0136】

サブ配列：「サブ配列」という用語は、成熟型ポリペプチドコード配列の5'および／または3'末端から欠失された1つまたは複数（例えば、数個）のヌクレオチドを有するポリヌクレオチドを意味し；ここで、サブ配列は、DNase活性を有する断片をコードする。一態様において、サブ配列は、少なくとも550個のヌクレオチド（例えば、配列番号1、3または5のヌクレオチド85～630）、少なくとも400個のヌクレオチド（例えば、配列番号1、3または5のヌクレオチド100～500）、または少なくとも300個のヌクレオチド（例えば、配列番号1、3または5のヌクレオチド200～500）を含む。

40

【0137】

生地：「生地」という用語は、ヤーン、ヤーン中間物、繊維、不織布材料、天然材料、合成材料などのいずれかの生地材料、およびその他いずれかの生地材料、これらの材料から製造される布地、ならびに布地から製造される製品（例えば、衣服および他の物品）を意味する。生地または布地は、ニット、織物、デニム、不織物、フェルト、ヤーンおよびタオル地の形態であってよい。生地は、綿、亜麻／リンネル、ジュート、ラミー、サイザルもしくはコイアを含む天然セルロース系材料、または、ビスコース／レーヨン、酢酸セルロース繊維（三細胞性）、リオセルもしくはこれらのブレンドを含む人工セルロース系材料（例えば、木材パルプ由来のもの）などのセルロース系材料であってよい。生地また

50

は布地はまた、ウール、ラクダ、カシミア、モヘア、ウサギおよび絹などの天然ポリアミドなどの非セルロース系材料、または、ナイロン、アラミド、ポリエステル、アクリル、ポリプロピレンおよびスパンデックス／エラスタンなどの合成ポリマー、または、これらのブレンド、ならびに、セルロース系および非セルロース系繊維のブレンドであってよい。ブレンドの例は、綿および／またはレーヨン／ビスコースと、ウール、合成繊維（例えば、ポリアミド繊維、アクリル繊維、ポリエステル繊維、ポリ塩化ビニル繊維、ポリウレタン繊維、ポリウレア繊維、アラミド繊維）、および／またはセルロース含有繊維（例えば、レーヨン／ビスコース、ラミー、亜麻／リンネル、ジュート、酢酸セルロース繊維、リオセル）などの１種または複数種の随伴材料とのブレンドである。布地は、例えば、汚れた家庭ランドリーなどの従来の可洗ランドリーであってよい。布地または衣服という用語が用いられる場合、より広義の生地という用語も含むものとする。本発明に関連して、「生地」という用語は、布地も包含する。

10

【０１３８】

変異体：「変異体」という用語は、１つまたは複数（例えば、数個）の位置に改変（すなわち、置換、挿入および／または欠失）を含む、親酵素と同じ酵素活性を有するポリペプチド、例えば、本発明に関しては、DNase活性を有する本発明の変異体を意味する。置換とは、ある位置を占めるアミノ酸の、異なるアミノ酸による置き換えを意味し；欠失とは、ある位置を占めるアミノ酸の除去を意味し；また、挿入とは、ある位置を占めるアミノ酸に隣接し、この直後に続く１アミノ酸を付加することを意味する。本発明に関連して、同定されたDNaseの変異体は、親の酵素活性、すなわち、DNA骨格におけるホスホジエステル結合の加水分解切断を触媒する能力（デオキシリボヌクレアーゼ活性）を有する。一実施形態では、変異体のデオキシリボヌクレアーゼ活性は、親DNase、例えば、配列番号２、４または６の成熟型ポリペプチドに対して増加している。一実施形態では、ポリペプチドは、DNase活性を有し、変異体は、親DNase、例えば、以下：配列番号２、配列番号４、配列番号６、配列番号２６、配列番号２８、配列番号３０、配列番号３２、配列番号３４、配列番号３６、配列番号３８、配列番号４０、配列番号４２、配列番号４４、配列番号４６、配列番号４８、配列番号５０、配列番号５２、配列番号５５、配列番号５８、配列番号６１、配列番号６４、配列番号６７、配列番号７０、配列番号７３、配列番号７６、配列番号７９、配列番号８２、配列番号８５、配列番号８８、配列番号９１、配列番号９４、配列番号９７、配列番号１００、配列番号１０３、配列番号１０６、配列番号１０９、配列番号１１２、配列番号１１５、配列番号１１８、配列番号１２１、配列番号１２４、配列番号１２７、配列番号１３０、配列番号１３３、配列番号１３６、配列番号１３９、配列番号１４２、配列番号１４５、配列番号１４８、配列番号１５１、配列番号１５４、配列番号１５７、配列番号１６０、配列番号１６３、配列番号１６６、配列番号１６９、配列番号１７２、配列番号１７５、配列番号１７８、配列番号１８１、配列番号１８４、配列番号１８７、配列番号１９０、配列番号１９３または配列番号１９６の成熟型ポリペプチドと比較して、増加したDNase活性を有する。

20

30

【０１３９】

洗浄サイクル：「洗浄サイクル」という用語は、本明細書において、生地を洗浄液に浸漬し、汚れを放出すると共に、生地への洗浄液の流入および流出を促進するために、ある種の機械的作用を生地に加え、最後に、余分な洗浄液を除去する、洗浄操作として定義される。１回または複数回の洗浄サイクル後に、一般的に、生地をすすぎ、乾燥させる。

40

【０１４０】

洗浄液：「洗浄液」という用語は、本明細書において、水と洗剤成分（任意選択で、本発明の酵素を含有する）の溶液または混合物として定義される。

【０１４１】

洗浄時間：「洗浄時間」という用語は、本明細書において、全洗浄工程にかかる時間；すなわち、洗浄サイクルおよびすすぎサイクルの合計時間として定義される。

【０１４２】

白色度：「白色度」という用語は、本明細書において、様々な分野において、また様々

50

な顧客について、異なる意味を有する広義の用語として定義される。白色度の喪失は、例えば、灰色化、黄色化、または蛍光増白剤／色相剤の除去に起因し得る。灰色化および黄色化は、汚れの再付着、身体の汚れ、例えば、鉄および鉄イオン由来の着色料または移染に起因して起こり得る。白色度は、以下に挙げるリストからの1つまたは複数の項目を含むうる：着色料または染料作用；不完全な汚れの除去（例えば、身体の汚れ、皮脂など）；再付着（対象物の灰色化、黄色化、またはその他の変色）（除去した汚れが、汚れた、または汚れていない生地との別の部分に再結合したもの）；使用中の生地における化学変化；ならびに色の明瞭化もしくは白色化。

【0143】

命名法

本発明の目的のために、名称 [E/Q] は、この位置のアミノ酸が、グルタミン酸 (Glu, E) またはグルタミン (Gln, Q) であり得ることを意味する。同様に、名称 [V/G/A/I] は、この位置のアミノ酸が、バリン (Val, V)、グリシン (Gly, G)、アラニン (Ala, A) またはイソロイシン (Ile, I) であり得ることを意味し、本明細書に記載する他の組合せも同様である。特に限定のない限り、アミノ酸 X は、20の天然アミノ酸のいずれであってもよいものとして定義される。

【図面の簡単な説明】

【0144】

【図1】 GYSクレードに含まれる本発明のポリペプチドのアラインメントを図1に示す。

【図2】 NAWKクレードに含まれる本発明のポリペプチドのアラインメントを図1に示す。

【図3】 KNAWクレードに含まれる本発明のポリペプチドのアラインメントを図1に示す。

【発明を実施するための形態】

【0145】

本発明は、生地および／または布地などの品目上のバイオフィルムを防止、低減または除去するために用いることができる、デオキシリボヌクレアーゼ (DNase) 活性を有する新規のポリペプチドに関する。DNase 活性を有するポリペプチドまたはデオキシリボヌクレアーゼ (DNase) は、DNA 骨格中のホスホジエステル結合の加水分解切断を触媒し、これにより DNA を分解する任意の酵素である。DNase 活性を有するポリペプチドおよび DNase という2つの用語は、置き換え可能に使用される。

【0146】

ポリペプチド

DNase 活性を有するポリペプチドの例は、PFAMドメイン DUF1524を含むポリペプチドである (<http://pfam.xfam.org/>) , "The Pfam protein families database: towards a more sustainable future", R. D. Finn, et. al. Nucleic Acids Research (2016) Database Issue 44: D279-D285". DUF1524ドメインは、ヌクレアーゼに一般に見出される保存 HXXP 配列モチーフを含有する (M. A. Machnicka, et. al. Phylogenomics and sequence-structure-function relationships in the GmrSD family of Type IV restriction enzymes BMC Bioinformatics, 2015, 16, 336)。DUFは、未知の機能のドメインを意味し、例えば、DUFを含むポリペプチドファミリーは、Pfamデータベース内にまとめて収集されている。Pfamデータベースは、配列アラインメント、および収集されたタンパク質ドメインを画定する隠れマルコフ (Markov) モデルを提供する。タンパク質ドメインは、タンパク質鎖の残り部分とは独立に進化、機能および存在することができる所与のタンパク質配列および (三次) 構造の保存部分である。各ドメインは、密な3次元構造を形成し、多くの場合、独立に安定性であり、折り畳むことができる。多くのタンパク質は、数個の

10

20

30

40

50

構造ドメインからなる。1つのドメインが、多種多様なタンパク質として出現し得る。

【0147】

特定のDUFは、例えば、1524などの番号が続く接頭辞DUFを用いて識別することができる。DUF1524は、全てがHXXPモチーフを含むタンパク質のファミリーであり、ここで、Hは、アミノ酸ヒスチジンであり、Pは、アミノ酸プロリンであり、Xは、任意のアミノ酸である。

【0148】

本発明の一態様では、DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、DUF1524ドメインを含む。従って、一実施形態によれば、本発明は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DUF1524ドメインを含み、本発明は、例えば、生地および／または布地などの品目上のバイオフィルムを防止、低減または除去するための、こうしたDNaseの使用に関する。本発明は、さらに、DUF1524ドメイン、例えば、HXXPを含む、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物にも関する。こうした組成物は、限定されないが、液体もしくは粉末洗濯組成物、錠剤、単位用量、スプレーまたはセッケンバーであってもよい。

【0149】

一実施形態では、本発明のDNaseは、1つまたは複数のDUF1524ドメインを含み、例えば、新規モチーフ：[T/D/S][G/N]PQL（配列番号198）；[G/T]Y[D/S][R/K/L]（配列番号199）の一方もしくは両方を含み、ここで、Tは、トレオニン、Dは、アスパラギン酸、Sは、セリン、Gは、グリシン、Nは、アスパラギン、Pは、プロリン、Qは、グルタミン、Lは、ロイシン、Yは、チロシン、Rは、アルギニン、Kは、リシンである。すなわち、アミノ酸は、1文字コードで記載される。括弧は、括弧内の代替アミノ酸を示し、これらは、縦線で隔てられているか、または場合によっては、例えば、[TDS]のように線がない。従って、[T/D/S][G/N]PQLは、T、DまたはSのいずれかが最初の位置にあってよく、GまたはNのいずれかが二番目の位置にあってよく、その次がPQLであってよいことを意味する。次に、モチーフは、TG PQL、TN PQL、DG PQL、DN PQL、SG PQLまたはSN PQLのいずれであってもよい。モチーフ：[G/T]Y[D/S][R/K/L]の場合、保存アミノ酸は、Yであり、GまたはTの任意選択的アミノ酸がその前に、またDまたはSの任意選択的アミノ酸がその後に位置する。この場合、モチーフは、GYD、TYD、GYSまたはTYSであってよい。

【0150】

DUF1524のポリペプチド同士で共有される別のドメインは、[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S]（配列番号200）であり、これは、バチルス・シービー（B. c i b i）（配列番号21）の87位～91位に対応する位置に位置する。H88は、DUF1524の触媒活性に関与する触媒残基であり、HXXPモチーフの一部である。H88を別のアミノ酸に修飾すると、触媒活性の喪失が起こり得る。

【0151】

DNase活性を有し、且つこれらのモチーフを含むポリペプチドは、特に優れたディープクリーニング特性を示していることから、DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、バイオフィルムの除去または低減に特に有効である。本発明の一態様は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S]（配列番号200）、[T/D/S][G/N]PQL（配列番号198）および[G/T]Y[D/S][R/K/L]（配列番号199）の1つまたは複数を含む。本発明の一態様は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S]（配列番号200）、[T/D/S][G/N]PQL（配列番号198）および[G/T]Y[D/S][R/K/L]（配列番号199）の1つまたは複数を含むが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2を含むDNaseではないものとする。

【0152】

本発明の一実施形態は、DUF1524ドメインおよびモチーフ：配列番号198、配列番号199または配列番号200の1つまたは複数を含み、DNaseは、ディープクリーニング特性を有する、すなわち、DNaseは、布地、生地および／または硬質表面などの品目のバイオフィルムを有効に防止、低減または除去する。

【0153】

既述したように、DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、DUF1524の構造ドメインを含み得る。好ましくは本発明のDNaseによって共有される別のドメインが同定された。このドメインは、これまで記載されておらず、NUC1と称するが、このドメインのポリペプチドは、DNase活性を有する以外に、特定のモチーフ、例えば、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）またはC[D/N]T[A/R]（配列番号202）の1つまたは複数を含むことを特徴とし；前述したように、文字は、1文字コードでアミノ酸を示し、従って、Fは、フェニルアラニン、Lは、ロイシン、Aは、アラニン、Nは、アスパラギン、Dは、アスパラギン酸、Iは、イソロイシン、Vは、バリン、Hは、ヒスチジン、Gは、グリシン、Cは、システイン、Tは、トレオニン、Rは、アルギニンである、などである。括弧は、括弧内のアミノ酸が代替物であることを示す。

【0154】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）またはC[D/N]T[A/R]（配列番号Y）の一方もしくは両方を含む。本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）またはC[D/N]T[A/R]（配列番号202）の一方もしくは両方を含み、好ましくは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）は、配列番号21の110～114位に対応する位置に配置され、および／またはモチーフ：C[D/N]T[A/R]は、配列番号21の43～46位に対応する位置に配置される。

【0155】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）またはC[D/N]T[A/R]（配列番号202）の一方もしくは両方を含むが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2を含むDNaseではないものとし、好ましくは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]（配列番号201）は、配列番号21の110～114位に対応する位置に配置され、および／またはモチーフ：C[D/N]T[A/R]は、配列番号21の43～46位に対応する位置に配置される。

【0156】

モチーフおよびドメインは、画定された交差界（cross-kingdom）であり、ドメインおよびモチーフが、真菌および細菌DNaseの両方を含むことを意味する。異なる分類系統に属するDNaseが、共通の構造要素を共有し得ることはよく知られており、これは、例えば、アミノ酸配列などの一次構造を比較して、DNaseを配列相同性に従って分類することによって同定することができる。しかし、共有の構造要素は、様々なDNaseの三次元（3D）構造を比較することによって同定することもできる。いずれの手法も本発明で適用されている。

【0157】

構造的手法によって、DNaseが同定され、これは、異なる分類系統を有するが、同定された群に共通する構造要素を共有する。例えば、クレードなどの群は、共通の機能性を有し、これは、特定のバイオフィルムなどを選好すると考えられる。

【0158】

NUC1ドメインから、サブドメインは、本発明者らによって同定されており、このドメインは、NUC1__Aドメインと称する。前述したドメインのいずれかを含むことに加えて、NUC1__Aドメインに属するDNase活性を有するポリペプチドは、共通のモチーフ：[D/Q] [I/V] DH（配列番号203）を共有し、これは、参照ポリペプチド（配列番号21）のアミノ酸85～88に対応する。配列番号21の85位に対応する位置のDは、触媒金属イオン補因子の結合に関与することが予測されており、これらの文字は、前述した通りにアミノ酸を定義し、括弧は、代替アミノ酸を示す。一実施形態では、本発明は、モチーフ：[D/Q] [I/V] DH（配列番号203）を含むポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有する。一実施形態では、本発明は、モチーフ：[D/Q] [I/V] DH（配列番号203）を含むポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有するが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2を含むDNaseではないものとする。一実施形態では、本発明は、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DHから選択されるモチーフの1つまたは複数を含むポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有する。一実施形態では、本発明は、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DHから選択されるモチーフの1つまたは複数を含むポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有するが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2を含むDNaseではないものとする。

[0159]

DNase活性を有し、且つモチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DHの1つもしくは複数または全部を含むポリペプチドは、バイオフィルムを有効に防止、除去または低減し、DNaseは、洗濯および食器洗浄などのクリーニング工程に特に有用である。本発明の一態様は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191および配列番号197に示されるアミノ酸配列を有するポリヌクレオチド、またはそれと少なくとも80%の配列同一性、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択され、ポリペプチドは、さらに、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DHの1つもしくは複数または全部を含む。モチーフは、新規であり、これまで記載されていない。従って、

10

20

30

40

50

本発明の D N a s e は、新規の共通する発明概念を有する。

【0160】

本発明の一態様は、D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] P Q L、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] または [D/Q] [I/V] D H の 1 つもしくは複数または全部を含み、ポリペプチドは、以下：

- a) 配列番号 8 のポリペプチドと少なくとも 84% の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号 9 のポリペプチドと少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号 11 のポリペプチドと少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- d) 配列番号 12 のポリペプチドと少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- e) 配列番号 13 のポリペプチドと少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
- f) 配列番号 14 のポリペプチドと少なくとも 96% の配列同一性を有するポリペプチド、
- g) 配列番号 15 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- h) 配列番号 16 のポリペプチドと少なくとも 88% の配列同一性を有するポリペプチド、
- i) 配列番号 17 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- j) 配列番号 18 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- k) 配列番号 19 のポリペプチドと少なくとも 89% の配列同一性を有するポリペプチド、
- l) 配列番号 20 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- m) 配列番号 21 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- n) 配列番号 22 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- o) 配列番号 23 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
- p) 配列番号 53 のポリペプチドと少なくとも 85% の配列同一性を有するポリペプチド、
- q) 配列番号 56 のポリペプチドと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチド、
- r) 配列番号 59 のポリペプチドと少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
- s) 配列番号 62 のポリペプチドと少なくとも 85% の配列同一性を有するポリペプチド、
- t) 配列番号 68 のポリペプチドと少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
- u) 配列番号 71 のポリペプチドと少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチド、
- v) 配列番号 74 のポリペプチドと少なくとも 91% の配列同一性を有するポリペプチド、
- w) 配列番号 77 のポリペプチドと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチド

10

20

30

40

50

ド、

x) 配列番号 83 のポリペプチドと少なくとも 81 % の配列同一性を有するポリペプチド、

y) 配列番号 86 のポリペプチドと少なくとも 89 % の配列同一性を有するポリペプチド、

z) 配列番号 89 のポリペプチドと少なくとも 99 % の配列同一性を有するポリペプチド、

aa) 配列番号 92 のポリペプチドと少なくとも 91 % の配列同一性を有するポリペプチド、

bb) 配列番号 95 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、

cc) 配列番号 98 のポリペプチドと少なくとも 91 % の配列同一性を有するポリペプチド、

dd) 配列番号 104 のポリペプチドと少なくとも 92 % の配列同一性を有するポリペプチド、

ee) 配列番号 107 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、

ff) 配列番号 110 のポリペプチドと少なくとも 91.5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

gg) 配列番号 113 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、

hh) 配列番号 116 のポリペプチドと少なくとも 96 % の配列同一性を有するポリペプチド、

ii) 配列番号 119 のポリペプチドと少なくとも 99.5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

jj) 配列番号 128 のポリペプチドと少なくとも 99.5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

kk) 配列番号 131 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、

ll) 配列番号 134 のポリペプチドと少なくとも 79 % の配列同一性を有するポリペプチド、

mm) 配列番号 137 のポリペプチドと少なくとも 72 % の配列同一性を有するポリペプチド、

nn) 配列番号 140 のポリペプチドと少なくとも 77 % の配列同一性を有するポリペプチド、

oo) 配列番号 143 のポリペプチドと少なくとも 74 % の配列同一性を有するポリペプチド、

pp) 配列番号 146 のポリペプチドと少なくとも 97 % の配列同一性を有するポリペプチド、

qq) 配列番号 149 のポリペプチドと少なくとも 71 % の配列同一性を有するポリペプチド、

rr) 配列番号 152 のポリペプチドと少なくとも 96 % の配列同一性を有するポリペプチド、

ss) 配列番号 155 のポリペプチドと少なくとも 72 % の配列同一性を有するポリペプチド、

tt) 配列番号 158 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、

uu) 配列番号 164 のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列同一性を有するポリペプチド、

vv) 配列番号 167 のポリペプチドと少なくとも 88 % の配列同一性を有するポリペ

10

20

30

40

50

プチド、

ww) 配列番号 176 のポリペプチドと少なくとも 87% の配列同一性を有するポリペプチド、

xx) 配列番号 179 のポリペプチドと少なくとも 81% の配列同一性を有するポリペプチド、

yy) 配列番号 182 のポリペプチドと少なくとも 89% の配列同一性を有するポリペプチド、

zz) 配列番号 185 のポリペプチドと少なくとも 96% の配列同一性を有するポリペプチド、

aaa) 配列番号 188 のポリペプチドと少なくとも 88% の配列同一性を有するポリペプチド、

bbb) 配列番号 191 のポリペプチドと少なくとも 87% の配列同一性を有するポリペプチド、

ccc) 配列番号 194 のポリペプチドと少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、

ddd) 配列番号 197 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド

からなる群から選択される。

【0161】

NUC__1Aドメインは、本発明で初めて同定され、上に記載する。ドメインは、さらに様々なクレードに分割することができる。クレードは、共通の祖先にさかのぼる相同性に基づいて一緒にクラスター化されたポリペプチドの群である。ポリペプチドクレードは、系統樹として視覚化することができ、クレードは、共通の祖先とその全て直系子孫からなるポリペプチドの1群である。実施例11に、系統樹の作製を記載する。

【0162】

GY SのクレードまたはGY Sクレードは、全て同じ祖先に関連するDNaseの1群であり、これらは、共通の特性を有する。ここで、未知のクレードは、系統樹のドメイン、例えば、NUC1__A内に1群を形成するポリペプチドを含み、これらは、共通の特性を有し、同じドメイン内の他のポリペプチドよりも近縁である。

【0163】

GY Sクレードのポリペプチドは、保存的モチーフ：[D/M/L] [S/T] GY S R [D/N] (配列番号204) またはASXNRSKG (配列番号205) を共有し、ここで、これらの文字は、アミノ酸(1文字コード)であり、Xは、任意のアミノ酸であり、括弧は、アミノ酸が代替的であることを意味する。さらに、GY Sクレードのポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DHのいずれを含んでもよい。

【0164】

本発明の一態様は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GY S R [D/N] (配列番号204) またはASXNRSKG (配列番号205) の1つまたは複数を含むGY Sクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有する。一態様では、ASXNRSKGモチーフは、配列番号21の125~133位に対応する。一態様では、[D/M/L] [S/T] GY S R [D/N] モチーフは、配列番号21の26~32位に対応する。

【0165】

GY Sクレードは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列

10

20

30

40

50

番号 71、配列番号 74、配列番号 77 および配列番号 80 に示される DNase 活性を有するポリペプチドを含む。

【0166】

配列番号 65 および配列番号 80 に示される DNase 活性を有するポリペプチドは、UniProt アクセッション番号 (H6NAU2 および A0A0M2T1U6) を有する公開配列である。

【0167】

本発明の一態様は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204)、ASXNRSG (配列番号 205) の 1 つまたは両方を含む GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74、および配列番号 77 に示されるポリペプチドまたは 1~25、例えば 1~20、例えば 1~15、例えば 1~10、例えば 1~5 のアミノ酸改変 (例えば、置換) を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0168】

本発明の一態様は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]、ASXNRSG の 1 つまたは両方を含み、さらに、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DH の 1 つまたは複数を含む GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74 および配列番号 77 に示されるポリペプチドまたは 1~25、例えば 1~20、例えば 1~15、例えば 1~10、例えば 1~5 のアミノ酸改変 (例えば、置換) を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0169】

本発明の一実施形態は、DNase 活性を有し、且つモチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204)、ASXNRSG (配列番号 205) の 1 つまたは複数を含むが、但し、ポリペプチドは、配列番号 65 または配列番号 80 に示されるポリペプチドではない、GYS クレードのポリペプチドに関する。

【0170】

本発明の一実施形態は、DNase 活性を有する GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204)、ASXNRSG (配列番号 205) の一方もしくは両方を含み、ポリペプチドは、以下のポリペプチド：

- a) 配列番号 8 のポリペプチドと少なくとも 84% の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号 9 のポリペプチドと少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号 11 のポリペプチドと少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- d) 配列番号 12 のポリペプチドと少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- e) 配列番号 13 のポリペプチドと少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
- f) 配列番号 14 のポリペプチドと少なくとも 96% の配列同一性を有するポリペプチド、

- ド、
 g) 配列番号 15 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
 h) 配列番号 16 のポリペプチドと少なくとも 88% の配列同一性を有するポリペプチド、
 i) 配列番号 17 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
 j) 配列番号 18 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
 k) 配列番号 19 のポリペプチドと少なくとも 89% の配列同一性を有するポリペプチド、
 l) 配列番号 20 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
 m) 配列番号 21 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
 n) 配列番号 22 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
 o) 配列番号 23 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、
 p) 配列番号 53 のポリペプチドと少なくとも 85% の配列同一性を有するポリペプチド、
 q) 配列番号 56 のポリペプチドと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチド、
 r) 配列番号 59 のポリペプチドと少なくとも 94% の配列同一性を有するポリペプチド、
 s) 配列番号 62 のポリペプチドと少なくとも 85% の配列同一性を有するポリペプチド、
 t) 配列番号 68 のポリペプチドと少なくとも 97% の配列同一性を有するポリペプチド、
 u) 配列番号 71 のポリペプチドと少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチド、
 v) 配列番号 74 のポリペプチドと少なくとも 91% の配列同一性を有するポリペプチド、
 w) 配列番号 77 のポリペプチドと少なくとも 98% の配列同一性を有するポリペプチドから選択される。

10

20

30

【0171】

本発明の一実施形態は、DNase 活性を有する GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号 204）、ASXNRSKG（配列番号 205）の 1 つまたは複数を含み、DNase 活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74 および配列番号 77 またはそれと少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

40

【0172】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号 204）または ASXNRSKG（配列番号 205）の一方もしくは両方を含む GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、配列番号 8 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 84%、

50

例えば少なくとも８５％、例えば少なくとも９０％、例えば少なくとも９５％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７３】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号９に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９４％、例えば少なくとも９５％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７４】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１１に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９２％、例えば少なくとも９５％、例えば少なくとも９６％、例えば少なくとも９８％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７５】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１２に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９２％、例えば少なくとも９５％、例えば少なくとも９７％、例えば少なくとも９８％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７６】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１３に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９７％、例えば少なくとも９８％、例えば少なくとも９９％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７７】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１４に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９６％、例えば少なくとも９７％、例えば少なくとも９８％、例えば少なくとも９９％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７８】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１５に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも９０％、例えば少なくとも９３％、例えば少なくとも９５％、例えば少なくとも９７％もしくは例えば少なくとも１００％の配列同一性を有するポリペプチドである。

【０１７９】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号２０４）またはASXNRSKG（配列番号２０５）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号１６に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも８８％、例えば少なくとも９０％、例えば少なくとも９３％、例えば少なくとも９５％、例えば

10

20

30

40

50

少なくとも 98%もしくは例えば少なくとも 100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0180】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号17に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0181】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号18に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0182】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号21）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号19に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

20

【0183】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号20に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

30

【0184】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号21に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

40

【0185】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号22に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

50

【0186】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号23に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0187】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号53に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0188】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号56に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

20

【0189】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の一方もしくは両方を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号59に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

30

【0190】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の1つもしくは複数を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号62に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0191】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の1つもしくは複数を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号68に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも97%、例えば少なくとも98%もしくは例えば少なくとも100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

40

【0192】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N]（配列番号204）またはASXNRSKG（配列番号205）の1つもしくは複数を含むGYSクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、

50

ポリペプチドは、配列番号 71 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 99 % もしくは 100 % の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0193】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204) または ASXNRSKG (配列番号 205) の 1 つもしくは複数を含む GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、配列番号 74 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 91 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 % もしくは例えば少なくとも 100 % の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0194】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号 204) または ASXNRSKG (配列番号 205) の 1 つもしくは複数を含む GYS クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、配列番号 77 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 98 %、例えば少なくとも 99 % もしくは 100 % の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0195】

もう 1 つの識別可能なクレードは、NAWK クレードである。NAWK のクレードまたは NAWK クレードは、全て同じ祖先に関連する DNase の 1 群であり、これらは、共通の特性を有する。ここで、未知のクレードは、系統樹のドメイン、例えば、NUC1__A 内に 1 群を形成するポリペプチドを含み、共通の特性を有すると考えられ、同じドメイン内の他のポリペプチドよりも近縁である。

20

【0196】

NAWK クレードのポリペプチドは、保存モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK (配列番号 206)、または NPQL (配列番号 207) を共有し、ここで、これらの文字は、アミノ酸 (1 文字コード) であり、括弧内のアミノ酸は代替的である。さらに、NAWK クレードのポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DH のいずれを含んでもよい。

30

【0197】

本発明の一態様は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK (配列番号 206) または NPQL (配列番号 207) の 1 つまたは複数を含む NAWK クレードのポリペプチドに関し、ポリペプチドは、DNase 活性を有する。一態様では、[VI] PL [S/A] NAWK モチーフは、配列番号 68 の 87 ~ 94 位に対応する。一態様では、NPQL モチーフは、配列番号 68 の 114 ~ 117 位に対応する。

【0198】

NAWK クレードは、以下：配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116 および配列番号 119 に示される DNase 活性を有するポリペプチドを含む。

40

【0199】

配列番号 119 に示されるポリペプチドは、アクセッション番号 A0A178DM75 を有する UniProt 配列のポリペプチドと 99.48 % の配列同一性を共有する。

【0200】

本発明の一態様は、[V/I] PL [S/A] NAWK (配列番号 206) または NPQL (配列番号 207) の一方または両方を含む NAWK クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番

50

号 116 および配列番号 119 に示されるポリペプチドまたは 1～25、例えば 1～20、例えば 1～15、例えば 1～10、例えば 1～5 のアミノ酸改変（例えば、置換）を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0201】

本発明の一態様は、モチーフ：[V/I] P L [S/A] N A W K（配列番号 206）または N P Q L（配列番号 207）の一方または両方を含み、さらに、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] P Q L、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] D H の 1 つまたは複数を含む N A W K クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、D N a s e 活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116 および配列番号 119 に示されるポリペプチド、または 1～25、例えば 1～20、例えば 1～15、例えば 1～10、例えば 1～5 のアミノ酸改変（例えば、置換）を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0202】

本発明の一実施形態は、D N a s e 活性を有し、且つモチーフ：[V/I] P L [S/A] N A W K（配列番号 206）、N P Q L（配列番号 207）の 1 つまたは複数を含むが、但し、ポリペプチドは、配列番号 119 に示されるポリペプチドではない、N A W K クレードのポリペプチドに関する。

【0203】

本発明の一実施形態は、D N a s e 活性を有する N A W K クレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[V/I] P L [S/A] N A W K（配列番号 206）または N P Q L（配列番号 207）の一方もしくは両方を含み、ポリペプチドは、以下のポリペプチド：

- a) 配列番号 83 のポリペプチドと少なくとも 81% の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号 86 のポリペプチドと少なくとも 88.5% の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号 89 のポリペプチドと少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチド、
- d) 配列番号 92 のポリペプチドと少なくとも 91% の配列同一性を有するポリペプチド、
- e) 配列番号 95 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- f) 配列番号 98 のポリペプチドと少なくとも 91% の配列同一性を有するポリペプチド、
- g) 配列番号 101 のポリペプチドと少なくとも 89% の配列同一性を有するポリペプチド、
- h) 配列番号 104 のポリペプチドと少なくとも 92% の配列同一性を有するポリペプチド、
- i) 配列番号 107 のポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチド、
- j) 配列番号 110 のポリペプチドと少なくとも 91.5% の配列同一性を有するポリペプチド、
- k) 配列番号 113 のポリペプチドと少なくとも 93% の配列同一性を有するポリペプチド、ならびに
- l) 配列番号 116 のポリペプチドと少なくとも 96% の配列同一性を有するポリペプチド

から選択される。

【0204】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号83、配列番号86、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113および配列番号116またはそれと少なくとも96%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0205】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号83に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも81%、例えば少なくとも83%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0206】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号86に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも88.5%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0207】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号89に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0208】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号92に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0209】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号95に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも90%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0210】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号20

10

20

30

40

50

6)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号98に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0211】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号101に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0212】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号68)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号104に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

20

【0213】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号107に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも90%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0214】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号110に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも91.5%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

30

【0215】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号113に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

40

【0216】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I]PL[S/A]NAWK(配列番号206)、NPQL(配列番号207)の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号116に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一

50

性を有するポリペプチドである。

【0217】

本発明の一実施形態は、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK（配列番号206）、NPQL（配列番号207）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号119に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。

【0218】

3番目の識別可能なクレードは、KNAWクレードである。KNAWのクレードまたはKNAWクレードは、全て同じ祖先に関連するDNaseの1群であり、これらは、共通の特性を共有する。ここで、未知のクレードは、系統樹のドメイン、例えば、NUC1__A内に1群を形成するポリペプチドを含み、共通の特性を有すると考えられ、同じドメイン内の他のポリペプチドよりも近縁である。

【0219】

KNAWクレードのポリペプチドは、保存モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）および[K/H/E] NAW（配列番号209）を共有し、ここで、これらの文字は、アミノ酸（1文字コード）であり、括弧内のアミノ酸は代替的である。さらに、KNAWクレードのポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R]または[D/Q] [I/V] DHのいずれを含んでもよい。

【0220】

本発明の一態様は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）および/[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むNAWKクレードのポリペプチドに関し、ポリペプチドは、DNase活性を有する。

【0221】

KNAWクレードは、以下：配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158に示されるDNase活性を有するポリペプチドを含む。

【0222】

配列番号122および配列番号125に示されるポリペプチドは、公開配列である。

【0223】

本発明の一態様は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158に示されるポリペプチド、または1~25、例えば1~20、例えば1~15、例えば1~10、例えば1~5のアミノ酸改変（例えば、置換）を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0224】

本発明の一態様は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含み、さらに、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R]および[D/Q] [I/V] DHの1つまたは複数を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、以下：配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158に示されるポリペプチド

または1～25、例えば1～20、例えば1～15、例えば1～10、例えば1～5のアミノ酸改変（例えば、置換）を有するその変異体のいずれかから選択される。

【0225】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有し、且つモチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むが、但し、ポリペプチドは、配列番号122および配列番号125に示されるポリペプチドではなく、且つ国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム（*trichoderma harzianum*）DNaseではない、KNAWクレードのポリペプチドに関する。

【0226】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含み、ポリペプチドは、以下のポリペプチド：

a) 配列番号128のポリペプチドと少なくとも99.5%の配列同一性を有するポリペプチド、

b) 配列番号131のポリペプチドと少なくとも93%の配列同一性を有するポリペプチド、

c) 配列番号134のポリペプチドと少なくとも79%の配列同一性を有するポリペプチド、

d) 配列番号137のポリペプチドと少なくとも72%の配列同一性を有するポリペプチド、

e) 配列番号140のポリペプチドと少なくとも77%の配列同一性を有するポリペプチド、

f) 配列番号143のポリペプチドと少なくとも74%の配列同一性を有するポリペプチド、

g) 配列番号146のポリペプチドと少なくとも97%の配列同一性を有するポリペプチド、

h) 配列番号149のポリペプチドと少なくとも71%の配列同一性を有するポリペプチド、

i) 配列番号152のポリペプチドと少なくとも96%の配列同一性を有するポリペプチド、

j) 配列番号155のポリペプチドと少なくとも72%の配列同一性を有するポリペプチド、

k) 配列番号158のポリペプチドと少なくとも98%の配列同一性を有するポリペプチド

から選択される。

【0227】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158、またはそれと少なくとも98%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0228】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または[K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号128に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも99.5%もしくは

10

20

30

40

50

は100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0229】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号131に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0230】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号134に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも79%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0231】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号137に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも72%、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

20

【0232】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号140に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

30

【0233】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号143に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも74%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

40

【0234】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の一方もしくは両方を含むKNAWKクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号146に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペ

50

プチドである。

【0235】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または [K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号149に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも71%、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

10

【0236】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または [K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号152に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

【0237】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または [K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号155に示されるポリペプチドまたはそれと少なくとも72%、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

20

【0238】

本発明の一実施形態は、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y]（配列番号208）または [K/H/E] NAW（配列番号209）の一方もしくは両方を含むKNAWクレードのポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、DNase活性を有し、ポリペプチドは、配列番号158に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも98%、例えば少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドである。

30

【0239】

本発明の一態様は、DNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、以下：

- a) 配列番号8のポリペプチドと少なくとも84%の配列同一性を有するポリペプチド、
- b) 配列番号9のポリペプチドと少なくとも94%の配列同一性を有するポリペプチド、
- c) 配列番号11のポリペプチドと少なくとも92%の配列同一性を有するポリペプチド、
- d) 配列番号12のポリペプチドと少なくとも92%の配列同一性を有するポリペプチド、
- e) 配列番号13のポリペプチドと少なくとも97%の配列同一性を有するポリペプチド、
- f) 配列番号14のポリペプチドと少なくとも96%の配列同一性を有するポリペプチド、
- g) 配列番号15のポリペプチドと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチド、
- h) 配列番号16のポリペプチドと少なくとも88%の配列同一性を有するポリペプチド、
- i) 配列番号17のポリペプチドと少なくとも93%の配列同一性を有するポリペプチド、

40

50

- ド、
j) 配列番号 18 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、
k) 配列番号 19 のポリペプチドと少なくとも 89 % の配列同一性を有するポリペプチド、
l) 配列番号 20 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、
m) 配列番号 21 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、
n) 配列番号 22 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、
o) 配列番号 23 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、
p) 配列番号 53 のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列同一性を有するポリペプチド、
q) 配列番号 56 のポリペプチドと少なくとも 98 % の配列同一性を有するポリペプチド、
r) 配列番号 59 のポリペプチドと少なくとも 94 % の配列同一性を有するポリペプチド、
s) 配列番号 62 のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列同一性を有するポリペプチド、
t) 配列番号 68 のポリペプチドと少なくとも 97 % の配列同一性を有するポリペプチド、
u) 配列番号 71 のポリペプチドと少なくとも 99 % の配列同一性を有するポリペプチド、
v) 配列番号 74 のポリペプチドと少なくとも 91 % の配列同一性を有するポリペプチド、
w) 配列番号 77 のポリペプチドと少なくとも 98 % の配列同一性を有するポリペプチド、
x) 配列番号 83 のポリペプチドと少なくとも 81 % の配列同一性を有するポリペプチド、
y) 配列番号 86 のポリペプチドと少なくとも 89 % の配列同一性を有するポリペプチド、
z) 配列番号 89 のポリペプチドと少なくとも 99 % の配列同一性を有するポリペプチド、
a a) 配列番号 92 のポリペプチドと少なくとも 91 % の配列同一性を有するポリペプチド、
b b) 配列番号 95 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、
c c) 配列番号 98 のポリペプチドと少なくとも 91 % の配列同一性を有するポリペプチド、
d d) 配列番号 104 のポリペプチドと少なくとも 92 % の配列同一性を有するポリペプチド、
e e) 配列番号 107 のポリペプチドと少なくとも 90 % の配列同一性を有するポリペプチド、
f f) 配列番号 110 のポリペプチドと少なくとも 91.5 % の配列同一性を有するポリペプチド、
g g) 配列番号 113 のポリペプチドと少なくとも 93 % の配列同一性を有するポリペプチド、
h h) 配列番号 116 のポリペプチドと少なくとも 96 % の配列同一性を有するポリペ

ブチド、

i i) 配列番号 1 1 9 のポリペプチドと少なくとも 9 9 . 5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

j j) 配列番号 1 2 8 のポリペプチドと少なくとも 9 9 . 5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

k k) 配列番号 1 3 1 のポリペプチドと少なくとも 9 3 % の配列同一性を有するポリペプチド、

l l) 配列番号 1 3 4 のポリペプチドと少なくとも 7 9 % の配列同一性を有するポリペプチド、

m m) 配列番号 1 3 7 のポリペプチドと少なくとも 7 2 % の配列同一性を有するポリペプチド、

10

n n) 配列番号 1 4 0 のポリペプチドと少なくとも 7 7 % の配列同一性を有するポリペプチド、

o o) 配列番号 1 4 3 のポリペプチドと少なくとも 7 4 % の配列同一性を有するポリペプチド、

p p) 配列番号 1 4 6 のポリペプチドと少なくとも 9 7 % の配列同一性を有するポリペプチド、

q q) 配列番号 1 4 9 のポリペプチドと少なくとも 7 1 % の配列同一性を有するポリペプチド、

r r) 配列番号 1 5 2 のポリペプチドと少なくとも 9 6 % の配列同一性を有するポリペプチド、

20

s s) 配列番号 1 5 5 のポリペプチドと少なくとも 7 2 % の配列同一性を有するポリペプチド、

t t) 配列番号 1 5 8 のポリペプチドと少なくとも 9 3 % の配列同一性を有するポリペプチド、

u u) 配列番号 1 6 4 のポリペプチドと少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するポリペプチド、

v v) 配列番号 1 6 7 のポリペプチドと少なくとも 8 8 % の配列同一性を有するポリペプチド、

w w) 配列番号 1 7 0 のポリペプチドと少なくとも 9 9 . 8 % の配列同一性を有するポリペプチド、

30

x x) 配列番号 1 7 3 のポリペプチドと少なくとも 9 7 % の配列同一性を有するポリペプチド、

y y) 配列番号 1 7 6 のポリペプチドと少なくとも 8 7 % の配列同一性を有するポリペプチド、

z z) 配列番号 1 7 9 のポリペプチドと少なくとも 8 1 % の配列同一性を有するポリペプチド、

a a a) 配列番号 1 8 2 のポリペプチドと少なくとも 8 9 % の配列同一性を有するポリペプチド、

b b b) 配列番号 1 8 5 のポリペプチドと少なくとも 9 6 % の配列同一性を有するポリペプチド、

40

c c c) 配列番号 1 8 8 のポリペプチドと少なくとも 8 8 % の配列同一性を有するポリペプチド、

d d d) 配列番号 1 9 1 のポリペプチドと少なくとも 8 7 % の配列同一性を有するポリペプチド、

e e e) 配列番号 1 9 4 のポリペプチドと少なくとも 9 4 % の配列同一性を有するポリペプチド、

f f f) 配列番号 1 9 7 のポリペプチドと少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するポリペプチド、ならびに任意選択で、

g g g) モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T

50

／D／S] [G／N] P Q L、[G／T] Y [D／S] [R／K／L]、[F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V] または C [D／N] T [A／R] および [D／Q] [I／V] D H の 1 つもしくは複数からなる群から選択される。

【0240】

本発明の一態様では、DNase は、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057 から得られる。本発明の DNase は、配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチド、または配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドに対して少なくとも 60%、例えば、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、もしくは 100% の配列同一性を有するポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、DNase 活性を有する。

【0241】

前述した GYS クレードに含まれる DNase の群は、前述したような類似の構造および機能特性、例えば、共通のモチーフを共有する。GYS クレードの DNase は、バチルス (*Bacillus*) 属から取得するのが好ましい。GYS 群の個々の DNase を以下に詳しく記載する。

【0242】

DNase は、バチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-62451 から取得することもできる。DNase は、配列番号 2 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチドまたはその近縁のポリペプチド、例えば、それと少なくとも 60%、例えば少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90% もしくは例えば少なくとも 95% の配列同一性を有するポリペプチドであってもよい。本発明の DNase は、バチルス属 (*Bacillus*)、例えば、バチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-62451 から得られるものでよく、配列番号 8 と少なくとも 60%、例えば、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 76%、少なくとも 77%、少なくとも 78%、少なくとも 79%、少なくとも 80%、少なくとも 81%、少なくとも 82%、少なくとも 83%、少なくとも 84%、少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、もしくは 100% の配列同一性を有するポリペプチドを含み得る。配列番号 21 (バチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる成熟ポリペプチド)、配列番号 22 (バチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-18318 から得られる成熟ポリペプチド) および配列番号 23 (バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる成熟ポリペプチド) を含むポリペプチドは、例えば、配列番号 8 と少なくとも 80% を有する相同体ポリペプチドである。

【0243】

配列番号 21 (バチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる成熟ポリペプチド)、配列番号 22 (バチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-18318 から得られる成熟ポリペプチド) および配列番号 23 (バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる成熟ポリペプチド) を含むポリペプチドもまた、実施例 2 に示すように、生地および／または布地などの品目上のバイオフィルムを防止または除去する上で有用である。DNase は、配列番号 21 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチドまたはその近縁のポリペプチドであってもよい。従って、本発明の一態様は、配列番号 21 と、少なくとも 60%、例えば、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 76%、少なくとも 77%、少なくとも 7

8%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる。DNaseは、配列番号22の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチドまたはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号22と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-18318から得られる。DNaseは、配列番号23の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチドまたはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号23と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる。

【0244】

DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*)、好ましくは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られるものでもよい。DNaseは、配列番号4の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチド、例えば、それと少なくとも60%、例えば少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%もしくは例えば少なくとも95%の配列同一性を有するポリペプチドであってもよい。本発明のDNaseは、バチルス属 (*Bacillus*)、例えば、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られるものでよく、配列番号9と少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドを含み得る。配列番号11 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号12 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号13 (バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号14 (バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号15 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号1

6 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号17 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号18 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号19 (バチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られる成熟型ポリペプチド) または配列番号20 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238 から得られる成熟型ポリペプチド) に含まれる相同体ポリペプチドは、配列番号9 と少なくとも80%の配列同一性を有する相同体ポリペプチドである。配列番号11 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号12 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号13 (バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号14 (バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号15 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号16 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号17 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号18 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395 から得られる成熟型ポリペプチド)、配列番号19 (バチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られる成熟型ポリペプチド) または配列番号20 (バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238 から得られる成熟型ポリペプチド) を含むポリペプチドもまた、実施例2 に示すように、生地および／または布地などの品目上のバイオフィルムを防止または除去する上で有用である。DNase は、配列番号11 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。従って、本発明の一態様は、配列番号11 と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNase に関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる。DNase は、配列番号12 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号12 と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNase に関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 から得られる。DNase は、配列番号13 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号13 と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%

10

20

30

40

50

%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる。DNaseは、配列番号14の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号14と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる。DNaseは、配列番号15の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号15と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる。DNaseは、配列番号16の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号16と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる。DNaseは、配列番号17の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号17と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-62668から得られる。DNaseは、配列番号18の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号18と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%

10

20

30

40

50

、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-13395から得られる。DNaseは、配列番号19の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号19と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られる。

【0245】

DNaseは、配列番号20の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号20と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス属 (*Bacillus*) sp-11238から得られる。

【0246】

DNaseは、配列番号53の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号53と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・アルギコーラ (*Bacillus algalicola*) から得られる。

【0247】

DNaseは、配列番号56の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号56と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少な

くとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはキサントラン・アルカリン・コミュニティ(Xanthan alkaline community)Jから得られる。

【0248】

DNaseは、配列番号59の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号59と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ビエトナメンシス(Bacillus vietnamensis)から得られる。

10

【0249】

DNaseは、配列番号62の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号62と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ファジンポエンシス(Bacillus hwasinpoensis)から得られる。

20

30

【0250】

DNaseは、配列番号68の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号68と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・インディカス(Bacillus indicus)から得られる。

40

【0251】

DNaseは、配列番号71の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号71と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%

50

%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる。

【0252】

DNaseは、配列番号74の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号74と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・ルシフェレンシス (*Bacillus luciferensis*) から得られる。

【0253】

DNaseは、配列番号77の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドを含むポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号77と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはバチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られる。

【0254】

前述したNAWKクレードに含まれるDNaseの群は、前述したような類似の構造および機能特性、例えば、共通のモチーフを共有する。NAWKクレードのDNaseは、以下に挙げる属および種のいずれから得られるものであってもよい。NAWK群の個々のDNaseを以下に詳しく記載する。

【0255】

DNaseは、配列番号83の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号83と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) から得られる。

【0256】

D N a s e は、配列番号 86 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 86 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e に関し、これは、好ましくは

10

【0257】

D N a s e は、配列番号 89 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 89 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e に関し、これは、好ましくは

20

【0258】

D N a s e は、配列番号 92 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 92 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e に関し、これは、好ましくは

30

【0259】

D N a s e は、配列番号 95 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 95 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e に関し、これは、好ましくは

40

50

得られる。

【0260】

DNa seは、配列番号98の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号98と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはパラフォーマ属 (*Paraphoma* sp.) XZ1965から得られる。

10

【0261】

DNa seは、配列番号101の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号101と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはモニリニア・フルクチコーラ (*Monilinia fructicola*) から得られる。

20

【0262】

DNa seは、配列番号104の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号104と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはクルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*) から得られる。

30

【0263】

DNa seは、配列番号107の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号107と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはペニシリウム・レチクテスポルム (*Penicillium reticulisp*

40

50

orum) から得られる。

【0264】

DNaaseは、配列番号110の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号110と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaaseに関し、これは、好ましくはペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) から得られる。

10

【0265】

DNaaseは、配列番号113の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号113と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaaseに関し、これは、好ましくはセトフェオスフェリア属 (*Setophaeosphaeria* sp.) から得られる。

20

【0266】

DNaaseは、配列番号116の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号116と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaaseに関し、これは、好ましくはアルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) XZ2545から得られる。

30

【0267】

DNaaseは、配列番号119の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号119と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaaseに関し、これは、好まし

40

50

くはアルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) から得られる。

【0268】

前述したKNAWクレードに含まれるDNaseの群は、前述したような類似の構造および機能特性、例えば、共通のモチーフを共有する。NAWKクレードのDNaseは、以下に挙げる属および種のいずれから得られるものであってもよい。NAWK群の個々のDNaseを以下に詳しく記載する。

【0269】

DNaseは、配列番号128の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号128と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはシタリディウム・サーモフィルム (*Scytalidium thermophilum*) から得られる。

【0270】

DNaseは、配列番号131の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号131と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはメタポコニア・スクラスポリア (*Metapochonia suchlasporia*) から得られる。

【0271】

DNaseは、配列番号134の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号134と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはダルジニア・フィッサ (*Daldinia fissa*) から得られる。

【0272】

DNaseは、配列番号137の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号137と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも

81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはアクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2007から得られる。

【0273】

DNaseは、配列番号140の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号140と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはアクレモニウム・ジクロモスポルム (*Acremonium dichromosporum*) から得られる。

【0274】

DNaseは、配列番号143の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号143と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはサロクラジウム属 (*Sarocladium* sp.) XZ2014から得られる。

【0275】

DNaseは、配列番号146の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号146と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはメタリジウム属 (*Metarhizium* sp.) HNA15-2から得られる。

【0276】

DNaseは、配列番号149の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号149と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、

少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはアクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2414から得られる。

【0277】

DNaseは、配列番号152の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号152と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはイサリア・テヌイペス (*Isaria tenuipes*) から得られる。

【0278】

DNaseは、配列番号155の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号155と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはシタリジウム・チルシナタム (*Scytalidium circinatum*) から得られる。

【0279】

DNaseは、配列番号158の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号158と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはメタリジウム・レピジオタエ (*Metarhizium lepidiotae*) から得られる。

【0280】

以下に挙げるDNase活性を有するポリペプチドもまた、ディープクリーニング、例えば、綿およびポリエステルといった生地などの布地上のバイオフィルムを防止、低減または除去する上で有用である。以下に挙げるDNase活性を有するポリペプチドは、NUC1およびNUC1__AドメインならびにNUC1およびNUC1__Aモチーフを含み、やはりNUC1およびNUC1__Aドメインならびにモチーフを含むクレードGYS、NAWKおよびKNAWのいずれかに属するポリペプチドと類似性を有している。

【0281】

DNa seは、配列番号164の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号164と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはスポロルミア・フィメタリア (*Sporormia fimetaria*) から得られる。

10

【0282】

DNa seは、配列番号167の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号167と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはピクニジオフォーラ c f. ディスペラ (*Pycnidophora c f. dispersa*) から得られる。

20

【0283】

DNa seは、配列番号170の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号170と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好ましくはキサントラン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) Dから得られる。

30

【0284】

DNa seは、配列番号173の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号173と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNa seに関し、これは、好まし

40

50

くはキサントラン・アルカリン・コミュニティ (Xanthan alkaline community) から得られる。

【0285】

DNase は、配列番号 176 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 176 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する DNase に関し、これは、好ましくはバツカクキン科 (Clavicipitaceae) sp-70249 から得られる。

【0286】

DNase は、配列番号 179 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 179 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する DNase に関し、これは、好ましくはウェステルディケラ属 (Westerdykella sp.) AS85-2 から得られる。

【0287】

DNase は、配列番号 182 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 182 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、もしくは 100 % の配列同一性を有する DNase に関し、これは、好ましくはフミコロプシス・セファロスポリオイデス (Humicolopsis cephalosporioides) から得られる。

【0288】

DNase は、配列番号 185 の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号 185 と、少なくとも 60 %、例えば、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 71 %、少なくとも 72 %、少なくとも 73 %、少なくとも 74 %、少なくとも 75 %、少なくとも 76 %、少なくとも 77 %、少なくとも 78 %、少なくとも 79 %、少なくとも 80 %、少なくとも 81 %、少なくとも 82 %、少なくとも 83 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なく

とも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から得られる。

【0289】

DNaseは、配列番号188の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号188と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはローソエラ・インターメディア (*Roussoeella intermedia*) から得られる。

10

【0290】

DNaseは、配列番号191の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号191と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはプレオスポラ目 (*Pleosporales*) から得られる。

20

【0291】

DNaseは、配列番号194の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号194と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好ましくはフェオスフェリア属 (*Phaeosphaeria* sp.) から得られる。

30

【0292】

DNaseは、配列番号197の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明の一態様は、配列番号197と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するDNaseに関し、これは、好まし

40

50

くはディディモスフェリア・フチリス (*Didymosphaeria futilis*) から得られる。

【0293】

DNaseは、パエニバチルス属 (*Paenibacillus*)、好ましくはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られるものであってもよい。DNaseは、配列番号6の成熟型ポリペプチドを含むポリペプチド、またはその近縁のポリペプチドであってよい。本発明のDNaseは、パエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られるものであってもよく、配列番号10と、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0294】

本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-62451から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-62668から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-13395から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス属 (*Bacillus*) sp-18318から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*)、特にバチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ビブリッセア・フラボビレンス (*Vibrissea flavovirens*) から得られ、配列番号86に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム・ジクロモスポルム (*Acremonium dichromosporum*) から得られ、配列番号140に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バツカクキン科 (*Clavicipitaceae*) sp-70249から得られ、配列番号176に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ペニシリウム・レチクテスポルム (*Penicillium reticulisporum*) から得られ、配列番号107に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ピクニジオフォーラ cf. ディスペラ (*Pycnidiophora* cf.

10

20

30

40

50

dispera) から得られ、配列番号 167 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、メタポコニア・スクラスポリア (*Metapochonia suchlasporia*) から得られ、配列番号 131 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2007 から得られ、配列番号 137 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、セトスフェリア・ロストラタ (*Setosphaeria rostrata*) から得られ、配列番号 89 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、サロクラジウム属 (*Sarocladium* sp.) XZ2014 から得られ、配列番号 143 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、メタリジウム属 (*Metarhizium* sp.) HNA15-2 から得られ、配列番号 146 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、エンドフラグミエラ・バルディナ (*Endophragmiella valdina*) から得られ、配列番号 92 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、フミコロプシス・セファロスポリオイデス (*Humicolopsis cephalosporioides*) から得られ、配列番号 182 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、コリネスポラ・カッシイコーラ (*Corynespora cassicola*) から得られ、配列番号 95 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、パラフォーマ属 (*Paraphoma* sp.) XZ1965 から得られ、配列番号 98 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、クルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*) から得られ、配列番号 104 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2414 から得られ、配列番号 149 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、イサリア・テヌイペス (*Isaria tenuipes*) から得られ、配列番号 152 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ローソエラ・インターメディア (*Rousoella intermedia*) から得られ、配列番号 188 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、シタリジウム・チルシナタム (*Scytalidium circinatum*) から得られ、配列番号 155 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、セトフェオスフェリア属 (*Setophaeosphaeria* sp.) から得られ、配列番号 158 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) XZ2545 から得られ、配列番号 116 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) から得られ、配列番号 119 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、メタリジウム・レピジオタエ (*Metarhizium lepidiotae*) から得られ、配列番号 158 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、プレオスポラ目 (*Pleosporales*) から得られ、配列番号 191 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、フェ

10

20

30

40

50

オスフェリア属 (*Phaeosphaeria*) から得られ、配列番号 194 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ディディモスフェリア・フチリス (*Didymosphaeria futillis*) から得られ、配列番号 197 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・ビエトナメンシス (*Bacillus vietnamensis*) から得られ、配列番号 59 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・ファジンポエンシス (*Bacillus hwa jinpoensis*) から得られ、配列番号 62 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、キサントラン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) J から得られ、配列番号 56 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・インディカス (*Bacillus indicus*) から得られ、配列番号 68 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られ、配列番号 71 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・ルシフェレンシス (*Bacillus luciferensis*) から得られ、配列番号 74 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られ、配列番号 77 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、スポロルミア・フィメタリア (*Sporormia fimetaria*) から得られ、配列番号 164 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ダルジニア・フィッサ (*Daldinia fissa*) から得られ、配列番号 134 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) から得られ、配列番号 83 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ウェステルディケラ属 (*Westerdykella* sp.) AS 85-2 から得られ、配列番号 179 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、モニリニア・フルクチコーラ (*Monilinia fructicola*) から得られ、配列番号 101 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から得られ、配列番号 185 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) から得られ、配列番号 110 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、キサントラン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) D から得られ、配列番号 170 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、バチルス・アルギコーラ (*Bacillus algicola*) から得られ、配列番号 53 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、キサントラン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) O から得られ、配列番号 173 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、シタリディウム・サーモフィラム (*Scytalidium thermophilum*) から得られ、配列番号 12

10

20

30

40

50

8に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。

【0295】

本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、パエニバチルス属 (*Paenibacillus*)、特にパエニバシラス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*) から得られ、配列番号2、4または6の成熟型ポリペプチド、すなわち配列番号8、9または10の成熟型ポリペプチドを含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451から得られ、配列番号8のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号9のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、パエニバシラス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られ、配列番号10のポリペプチド配列のいずれかを含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られ、配列番号11のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られ、配列番号12のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号13のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号14のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られ、配列番号15のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840から得られ、配列番号16のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668から得られ、配列番号17のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395から得られ、配列番号18のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホルネッキアエ (*Bacillus horneckiae*) から得られ、配列番号19のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238から得られ、配列番号20のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・シビー (*Bacillus cibi*) から得られ、配列番号21のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318から得られ、配列番号22のポリペプチド配列を含む。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られ、配列番号23のポリペプチド配列を含む。

【0296】

本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451から得られ、配列番号8のポリペプチド配列からなる。本発明の別の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号9のポリペプチド配列からなる。本発明の別の好ましい態様では、DNaseは、パエニバシラス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られ、配列番号10のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られ、配列番号11のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520から得られ、配列番号12のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号13のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) から得られ、配列番号14のポリペプチド配列からなる。本発明

の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られ、配列番号15のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 から得られ、配列番号16のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668 から得られ、配列番号17のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395 から得られ、配列番号18のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・ホルネッキア (*Bacillus horneckiae*) から得られ、配列番号19のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238 から得られ、配列番号20のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・シビー (*Bacillus cibi*) から得られ、配列番号21のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318 から得られ、配列番号22のポリペプチド配列からなる。本発明の好ましい態様では、DNaseは、バチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られ、配列番号23のポリペプチド配列からなる。

【0297】

バイオフィームは、微生物が、ある品目上に存在し、その品目上で互いに付着するとき生地の上に形成され得る。一部の微生物は、生地などの品目の表面に付着する傾向がある。一部の微生物は、こうした表面に付着して、その表面にバイオフィームを形成する。バイオフィームは、粘着性であると考えられるため、付着した微生物および／またはバイオフィームは、除去するのが難しいことがある。さらに、バイオフィームは、バイオフィームの粘着性によって、汚れに付着する。市販の洗濯洗剤組成物では、このような微生物またはバイオフィームは除去されない。

【0298】

本発明は、DNase活性を有するポリペプチド、および生地などの品目からバイオフィームを防止、低減または除去するためのこうしたポリペプチドの使用に関する。本発明の一実施形態では、DNase活性を有するポリペプチドは、品目の粘着性を防止、低減または除去するために使用される。本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドは、生地などの品目の白色度を改善する。一実施形態では、DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、生地の色を維持する上で役立つ。生地を繰り返し洗浄すると、それらの色は明るさを失う傾向がある。一実施形態では、DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、洗浄を繰り返した後であっても、着色された生地の色を維持する改善された効果を有する。一実施形態では、本発明のポリペプチドはまた、洗浄液中に存在する同じまたは別の生地の非着色部分の着色を低減した。

【0299】

DNase活性を有するポリペプチドは、さらに、著しい量のバイオフィームが付着した生地などの生地上の汚れを前処理するために使用することもできる。

【0300】

DNase活性を有するポリペプチドはさらに、静電気が蓄積し得る品目から静電気を防止、低減または除去するために使用することもでき、こうした品目は、生地または硬質表面であってよい。DNase活性を有するポリペプチドはさらに、品目からバイオフィームを防止、低減および／または除去するために使用することもでき、こうした品目は、例えば、皿、カトラリー、磁器、陶器、瀬戸物などの硬質表面であってよい。従って、一部の態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ADW（自動食器洗浄）工程で使用され得る。

【0301】

加えて、本発明は、洗浄サイクル中の汚れの再付着を防止、低減または除去するためのDNase活性を有するポリペプチドの使用にも関する。例えば、生地の洗濯のためにポリペプチドを使用する場合、ポリペプチドは、洗浄液中に存在する汚れが生地に付着する

のを阻止する。

【0302】

さらに、本発明は、品目への汚れの付着を防止、低減または除去するためのDNase活性を有するポリペプチドの使用にも関する。一実施形態では、上記品目は、生地である。汚れが品目に付着しなければ、その品目はより清浄に見える。従って、本発明は、さらに、品目の白色度を維持または改善するためのDNase活性を有するポリペプチドの使用にも関する。

【0303】

Tシャツまたはスポーツウエアなどの品目を使用する場合、これらの品目は、使用者の身体や、それらが用いられるその他の環境からの細菌に曝露される。これによって、品目を洗浄した後も、その品目の悪臭が生じ得る。本発明は、生地に付いた悪臭の除去または低減に関する。この悪臭は、不快な臭いを有する化合物を生成する細菌に起因し得る。こうした不快な臭いがする化合物の一例は、E-2-ノネナールである。悪臭は、まだ濡れている新しく洗浄した生地に存在し得る。あるいは、悪臭は、新しく洗浄し、後に乾燥させた生地にも存在し得る。また、悪臭は、洗浄後しばらく溜めておいた生地にも存在し得る。本発明は、濡れた、または乾いた生地からのE-2-ノネナールなどの悪臭の低減または除去にも関する。

【0304】

DNase活性を有する本発明のポリペプチド、すなわち本発明のDNaseは、粉末および液体洗剤において非常に優れたクリーニング性能を有する。配列番号8、9および10のDNase、ならびに相同体DNase、例えば、DNase活性を有し、且つ以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるポリペプチド配列を有するポリペプチドの有益な効果の例。ディープクリーニング効果は、実施例2および3に示し、1つの効果は、ランドリーの灰色化防止および悪臭の除去である。配列番号8、9および10を含むポリペプチドは、粉末洗剤および液体洗剤においてディープクリーニング効果を有する、DNase活性を有する新規のポリペプチドである。配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号176、配列番号179、配列番号185、配列番号188、配列番号191および配列番号197を含むポリペプチドもまた、粉末洗剤および液体洗剤においてディープクリーニング効果を有する、DNase活性を有するポリペプチドである。

10

20

30

40

50

【0305】

ベンゾナーゼ（SIGMA-E1014）配列番号7）は、市販されているDNaseである。本発明者らは、このDNaseも、実施例2で認められるように、ディープクリーニング効果を有することを証明する。ディープクリーニング効果は、ランドリーの灰色化を防止すると共に、ランドリーの臭いの除去を助ける。

【0306】

また別の実施形態は、ランドリーおよび／または生地からの悪臭を低減するための配列番号7、8、9および10からなる群から選択されるDNaseの使用に関する。別の実施形態は、ランドリーおよび／または生地からの悪臭の低減、再付着防止、ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、配列番号7、8、9および10からなる群から選択されるDNaseの使用にも関する。

10

【0307】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、DNase活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、HXXPモチーフを含み、ここで、Hは、アミノ酸ヒスチジン、Pは、アミノ酸プロリン、およびXは、任意のアミノ酸である。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

【0308】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、DNase活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S]、[T/D/S][G/N]PQL、[G/T]Y[D/S][R/K/L]の1つまたは複数を含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

20

【0309】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、DNase活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]、C[D/N]T[A/R]の一方または両方を含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

30

【0310】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、DNase活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、GYSクレードに属し、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSG（配列番号205）の一方もしくは両方を含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

【0311】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、DNase活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、GYSクレードに属し、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77および配列番号80に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドから選択されるポリペプチドを含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

40

【0312】

50

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、N A W K クレードに属し、モチーフ：[V / I] P L [S / A] N A W K (配列番号 2 0 6) または N P Q L (配列番号 2 0 7) の一方もしくは両方を含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

【0313】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、N A W K クレードに属し、以下：配列番号 8 3、配列番号 8 6、配列番号 8 9、配列番号 9 2、配列番号 9 5、配列番号 9 8、配列番号 1 0 1、配列番号 1 0 4、配列番号 1 0 7、配列番号 1 1 0、配列番号 1 1 3、配列番号 1 1 6 および配列番号 1 1 9 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 8 0 %、例えば少なくとも 8 5 %、例えば少なくとも 9 0 %、例えば少なくとも 9 5 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するポリペプチドから選択されるポリペプチドを含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

10

【0314】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、K N A W クレードに属し、モチーフ：P [Q / E] L [W / Y] (配列番号 2 0 8) または [K / H / E] N A W (配列番号 2 0 9) の一方もしくは両方を含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

20

【0315】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、K N A W クレードに属し、以下：配列番号 1 2 2、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 8、配列番号 1 3 1、配列番号 1 3 4、配列番号 1 3 7、配列番号 1 4 0、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 2、配列番号 1 5 5 および配列番号 1 5 8 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 8 0 %、例えば少なくとも 8 5 %、例えば少なくとも 9 0 %、例えば少なくとも 9 5 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するポリペプチドから選択されるポリペプチドを含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

30

【0316】

本発明のある態様は、品目からのバイオフィルムの防止、低減または除去を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、ここで、D N a s e 活性を有するポリペプチドは、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 4、配列番号 1 6 7、配列番号 1 7 0、配列番号 1 7 3、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 9、配列番号 1 8 2、配列番号 1 8 5、配列番号 1 8 8、配列番号 1 9 1、配列番号 1 9 4 および配列番号 1 9 7 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 8 0 %、例えば少なくとも 8 5 %、例えば少なくとも 9 0 %、例えば少なくとも 9 5 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するポリペプチドから選択されるポリペプチドを含む。品目は、好ましくは布地、例えば、生地、例えば、綿および／またはポリエステルである。

40

【0317】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 1 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0318】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0319】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0320】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【0321】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0322】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 16 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【0323】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0324】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【0325】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 19 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0326】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 20 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【0327】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 21 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0328】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 22 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0329】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 23 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0330】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 53 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【0331】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 56 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0332】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 59 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【0333】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 62 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0334】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 65 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【0335】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 68 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0336】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 71 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【0337】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 74 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0338】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 77 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0339】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 80 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0340】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 83 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【0341】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 86 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0342】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 89 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【0343】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 92 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0344】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 95 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【0345】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 98 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0346】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 101 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【0347】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 104 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0348】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 107 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0349】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 110 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0350】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 113 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【0351】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 116 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0352】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 119 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【0353】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 122 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0354】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 125 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【0355】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 128 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0356】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 131 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【0357】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 134 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0358】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、DNase 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 1 3 7 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 5 9 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 4 0 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 0 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 4 3 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【 0 3 6 1 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 4 6 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 2 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 4 9 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【 0 3 6 3 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 5 2 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 4 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 5 5 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【 0 3 6 5 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 5 8 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 6 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 6 1 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【 0 3 6 7 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 6 4 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 8 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号 1 6 7 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 6 9 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 7 0 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 7 0 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 7 3 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【 0 3 7 1 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 7 6 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 7 2 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 7 9 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【 0 3 7 3 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 8 2 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 7 4 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 8 5 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【 0 3 7 5 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 8 8 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 7 6 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 9 1 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

40

【 0 3 7 7 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプチドの使用に関し、これは、配列番号 1 9 4 に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【 0 3 7 8 】

本発明のある態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、D N a s e 活性を有するポリペプ

50

チドの使用に関し、これは、配列番号197に示されるアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0379】

本発明の特に好ましい態様は、バチルス属 (*Bacillus*) 由来のDNase、例えば、バチルス属 (*Bacillus*) DNase、好ましくはバチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-62451、または配列番号8 (バチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-62451) に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有する、その近縁のDNase、例えば、バチルス・シービー (*Bacillus cibi*)、バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318 およびバチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) からなる群から選択されるDNaseに関する。本発明の好ましい態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、バチルス属 (*Bacillus*)、例えばバチルス属 (*Bacillus* sp.) sp-62451 から得られるDNaseの使用に関し、これは、配列番号8と少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。本発明の好ましい態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、バチルス属 (*Bacillus*)、例えばバチルス・シービー (*Bacillus cibi*) から得られるDNaseの使用に関し、これは、配列番号21と少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。本発明の好ましい態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、バチルス属 (*Bacillus*)、例えばバチルス属 (*Bacillus*) sp-18318 から得られるDNaseの使用に関し、これは、配列番号22と少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。本発明の好ましい態様は、ランドリーおよび／もしくは生地からの悪臭の低減、再付着防止ならびに生地の白色度の維持または改善を目的とする、バチルス属 (*Bacillus*)、例えばバチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) から得られるDNaseの使用に関し、これは、配列番号23と少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも

10

20

30

40

50

90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0380】

前述したように、本発明のDNaseポリペプチドは、特定のディープクリーニング力を有し、例えば、本発明のDNaseは、バイオフィルム、もしくは多糖、タンパク質、DNA、汚れなどのバイオフィルムの成分、またはバイオフィルム中に存在する他の成分の破壊または除去に特に有効である。従って、本発明のDNaseポリペプチドは、生地および硬質表面などの品目からバイオフィルムを防止、低減または除去する上で特に有効である。

10

【0381】

DNase活性を有するポリペプチドは、好ましくは、バチルス属 (*Bacillus* sp.) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) から得られる。本発明は、配列番号2、4もしくは6の成熟型ポリペプチドのいずれかに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。本発明は、さらに、配列番号2、4もしくは6の成熟型ポリペプチドのいずれかに対して少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、または少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。本発明は、さらに、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22または配列番号23のポリペプチドのいずれかに対して少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、または少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0382】

一実施形態では、本発明は、配列番号8のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

30

【0383】

一実施形態では、本発明は、配列番号9のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0384】

一実施形態では、本発明は、配列番号10のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0385】

一実施形態では、本発明は、配列番号11のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0386】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0387】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも60%の

50

配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0388】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0389】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0390】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0391】

一実施形態では、本発明は、配列番号17のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0392】

一実施形態では、本発明は、配列番号18のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0393】

一実施形態では、本発明は、配列番号19のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0394】

一実施形態では、本発明は、配列番号20のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0395】

一実施形態では、本発明は、配列番号21のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0396】

一実施形態では、本発明は、配列番号22のポリペプチドに対して少なくとも60%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0397】

一実施形態では、本発明は、配列番号23のポリペプチドに対して少なくとも60%の

50

配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0398】

一実施形態では、本発明は、配列番号8のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0399】

一実施形態では、本発明は、配列番号9のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

10

【0400】

一実施形態では、本発明は、配列番号10のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0401】

一実施形態では、本発明は、配列番号11のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0402】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0403】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0404】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0405】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0406】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0407】

一実施形態では、本発明は、配列番号17のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

50

【0408】

一実施形態では、本発明は、配列番号18のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0409】

一実施形態では、本発明は、配列番号19のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0410】

一実施形態では、本発明は、配列番号20のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0411】

一実施形態では、本発明は、配列番号21のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0412】

一実施形態では、本発明は、配列番号22のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0413】

一実施形態では、本発明は、配列番号23のポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0414】

一実施形態では、本発明は、配列番号8のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0415】

一実施形態では、本発明は、配列番号9のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0416】

一実施形態では、本発明は、配列番号10のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

40

【0417】

一実施形態では、本発明は、配列番号11のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0418】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプ

50

チドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0419】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0420】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0421】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0422】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0423】

一実施形態では、本発明は、配列番号17のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0424】

一実施形態では、本発明は、配列番号18のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0425】

一実施形態では、本発明は、配列番号19のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0426】

一実施形態では、本発明は、配列番号20のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0427】

一実施形態では、本発明は、配列番号21のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0428】

一実施形態では、本発明は、配列番号22のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプ

50

チドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0429】

一実施形態では、本発明は、配列番号23のポリペプチドに対して少なくとも80%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0430】

一実施形態では、本発明は、配列番号8のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

10

【0431】

一実施形態では、本発明は、配列番号9のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0432】

一実施形態では、本発明は、配列番号10のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0433】

一実施形態では、本発明は、配列番号11のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0434】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0435】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0436】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0437】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0438】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも85%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0439】

50

一実施形態では、本発明は、配列番号 17 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0440】

一実施形態では、本発明は、配列番号 18 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0441】

一実施形態では、本発明は、配列番号 19 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0442】

一実施形態では、本発明は、配列番号 20 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0443】

一実施形態では、本発明は、配列番号 21 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0444】

一実施形態では、本発明は、配列番号 22 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0445】

一実施形態では、本発明は、配列番号 23 のポリペプチドに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0446】

一実施形態では、本発明は、配列番号 8 のポリペプチドに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0447】

一実施形態では、本発明は、配列番号 9 のポリペプチドに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0448】

一実施形態では、本発明は、配列番号 10 のポリペプチドに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0449】

一実施形態では、本発明は、配列番号 11 のポリペプチドに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有し、且つ D N a s e 活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができ

10

20

30

40

50

る。

【0450】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0451】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0452】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0453】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0454】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0455】

一実施形態では、本発明は、配列番号17のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0456】

一実施形態では、本発明は、配列番号18のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0457】

一実施形態では、本発明は、配列番号19のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0458】

一実施形態では、本発明は、配列番号20のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0459】

一実施形態では、本発明は、配列番号21のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができ

50

る。

【0460】

一実施形態では、本発明は、配列番号22のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0461】

一実施形態では、本発明は、配列番号23のポリペプチドに対して少なくとも90%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0462】

一実施形態では、本発明は、配列番号8のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0463】

一実施形態では、本発明は、配列番号9のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

【0464】

一実施形態では、本発明は、配列番号10のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用される。

20

【0465】

一実施形態では、本発明は、配列番号11のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0466】

一実施形態では、本発明は、配列番号12のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0467】

一実施形態では、本発明は、配列番号13のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0468】

一実施形態では、本発明は、配列番号14のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

40

【0469】

一実施形態では、本発明は、配列番号15のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0470】

一実施形態では、本発明は、配列番号16のポリペプチドに対して少なくとも95%の

50

配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0471】

一実施形態では、本発明は、配列番号17のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0472】

一実施形態では、本発明は、配列番号18のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

10

【0473】

一実施形態では、本発明は、配列番号19のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0474】

一実施形態では、本発明は、配列番号20のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

20

【0475】

一実施形態では、本発明は、配列番号21のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0476】

一実施形態では、本発明は、配列番号22のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

30

【0477】

一実施形態では、本発明は、配列番号23のポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を有し、且つDNase活性を有するポリペプチドに関し、ここで、ポリペプチドは、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するために使用することができる。

【0478】

本発明の好ましいポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451 (配列番号8または配列番号2の成熟型ポリペプチド) 由来のDNaseおよび配列番号8の成熟型ポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有する近縁のポリペプチドである。同様に特許請求の範囲に記載される相同体ポリペプチドは、バチルス・シービー (*Bacillus cibi*)、配列番号21、バチルス属 (*Bacillus*) sp-18318 配列番号22およびバチルス・アイドリエンシス (*Bacillus idriensis*) 配列番号23、ならびにそれと少なくとも80%の配列同一性を有するDNaseである。

40

【0479】

本発明の好ましいポリペプチドは、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) (配列番号9、または配列番号4の成熟型ポリペプチド) 由来のDNase

50

s e および配列番号 9 の成熟型ポリペプチドと少なくとも 80 % の配列同一性を有する近縁のポリペプチドである。同様に特許請求の範囲に記載される相同体ポリペプチドは、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 配列番号 11、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62520 配列番号 12、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) 配列番号 13、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) 配列番号 14、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 配列番号 15、バチルス属 (*Bacillus*) sp-16840 配列番号 16、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62668 配列番号 17、バチルス属 (*Bacillus*) sp-13395 配列番号 18、バチルス・ホルネツキアエ (*Bacillus horneckiae*) 配列番号 19、バチルス属 (*Bacillus*) sp-11238 配列番号 20、ならびにそれらと少なくとも 80 % の配列同一性を有する DNase である。

【0480】

本発明の好ましいポリペプチドは、パエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057 (配列番号 10、または配列番号 6 の成熟型ポリペプチド) 由来の DNase および配列番号 10 の成熟型ポリペプチドと少なくとも 80 % の配列同一性を有する近縁のポリペプチドである。

【0481】

DNase 活性を有する配列番号 8、9 および 10 のポリペプチド、ならびに配列番号 8、9 および 10 と少なくとも 80 % の同一性を有する相同体ポリペプチドのディープクリーニング効果は、実施例 2 に示す。

【0482】

「ディープクリーニング」という用語は、バイオフィルム、または多糖、タンパク質、DNA、汚れなどのバイオフィルムの成分もしくはバイオフィルム中に存在する他の成分の破壊または除去を意味する。

【0483】

本発明のポリペプチドは、配列番号 8、9 もしくは 10 に示されるアミノ酸配列またはそれらの対立遺伝子変異体のいずれかのアミノ酸配列を含むか、またはそれからなるのが好ましく；または DNase 活性を有するそれらの断片である。別の態様では、ポリペプチドは、配列番号 2、4 または 6 に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドのいずれかの成熟型ポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明のポリペプチドは、好ましくは、以下：配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 65、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 77、配列番号 80、配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116、配列番号 119、配列番号 122、配列番号 125、配列番号 128、配列番号 131、配列番号 134、配列番号 137、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 146、配列番号 149、配列番号 152、配列番号 155、配列番号 158、配列番号 161、配列番号 164、配列番号 167、配列番号 170、配列番号 173、配列番号 176、配列番号 179、配列番号 182、配列番号 185、配列番号 188、配列番号 191、配列番号 194 もしくは配列番号 197 に示されるアミノ酸配列のいずれかのアミノ酸配列またはその対立遺伝子変異体を含むか、またはそれからなるか；あるいは、DNase 活性を有するその断片である。別の態様では、ポリペプチドは、以下：配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 65、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 77、配列番号 80、配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号

10

20

30

40

50

号 1 1 0、配列番号 1 1 3、配列番号 1 1 6、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 2、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 8、配列番号 1 3 1、配列番号 1 3 4、配列番号 1 3 7、配列番号 1 4 0、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 2、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 8、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 4、配列番号 1 6 7、配列番号 1 7 0、配列番号 1 7 3、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 9、配列番号 1 8 2、配列番号 1 8 5、配列番号 1 8 8、配列番号 1 9 1、配列番号 1 9 4 もしくは配列番号 1 9 7 に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドのいずれかの成熟型ポリペプチドを含むか、またはそれからなる。

【0484】

一実施形態では、ポリペプチドは、単離される。

10

【0485】

別の実施形態では、本発明は、配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドまたは以下：配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 5 3、配列番号 5 6、配列番号 5 9、配列番号 6 2、配列番号 6 5、配列番号 6 8、配列番号 7 1、配列番号 7 4、配列番号 7 7、配列番号 8 0、配列番号 8 3、配列番号 8 6、配列番号 8 9、配列番号 9 2、配列番号 9 5、配列番号 9 8、配列番号 1 0 1、配列番号 1 0 4、配列番号 1 0 7、配列番号 1 1 0、配列番号 1 1 3、配列番号 1 1 6、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 2、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 8、配列番号 1 3 1、配列番号 1 3 4、配列番号 1 3 7、配列番号 1 4 0、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 2、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 8、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 4、配列番号 1 6 7、配列番号 1 7 0、配列番号 1 7 3、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 9、配列番号 1 8 2、配列番号 1 8 5、配列番号 1 8 8、配列番号 1 9 1、配列番号 1 9 4 もしくは配列番号 1 9 7 に示されるアミノ酸配列を有する相同体ポリペプチドのいずれかの変異体に関し、これらは、1 つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む。一実施形態では、配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10 以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 である。

20

【0486】

別の実施形態では、本発明は、1 つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号 8 の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号 8 のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10 以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 である。

30

【0487】

別の実施形態では、本発明は、1 つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号 9 の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号 9 のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10 以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 である。

40

【0488】

別の実施形態では、本発明は、1 つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号 10 の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号 10 のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10 以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 である。

【0489】

別の実施形態では、本発明は、1 つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号 11 の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号 11 のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10 以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 である。

50

ある。

【0490】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号12の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号12のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0491】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号13の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号13のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

10

【0492】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号14の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号14のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0493】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号15の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号15のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

20

【0494】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号16の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号16のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

30

【0495】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号17の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号17のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0496】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号18の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号18のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

40

【0497】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号19の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号19のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0498】

50

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号20の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号20のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0499】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号21の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号21のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

10

【0500】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号22の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号22のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

【0501】

別の実施形態では、本発明は、1つまたは複数（例えば、数個）の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む配列番号23の成熟型ポリペプチドの変異体に関する。一実施形態では、配列番号23のポリペプチドに導入されるアミノ酸置換、欠失および／または挿入の数は、10以下、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10である。

20

【0502】

アミノ酸変異は、副次的な性質のものであってもよく、すなわち、タンパク質の折り畳みおよび／もしくは活性に顕著に影響しない保存的アミノ酸置換もしくは挿入；典型的には1〜30アミノ酸の小さな欠失；アミノ末端メチオニン残基などの小さなアミノもしくはカルボキシル末端伸長；20〜25個以下の残基の小さなリンカーペプチド；あるいは、正味電荷、またはポリヒスチジン配列、抗原性エピトープもしくは結合性ドメインなどの他の機能を変化させることによって精製を促進させる小さな伸長であってもよい。

30

【0503】

保存的置換の例は、塩基性アミノ酸（アルギニン、リシンおよびヒスチジン）、酸性アミノ酸（グルタミン酸およびアスパラギン酸）、極性アミノ酸（グルタミンおよびアスパラギン）、疎水性アミノ酸（ロイシン、イソロイシンおよびバリン）、芳香族アミノ酸（フェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシン）、および、小さいアミノ酸（グリシン、アラニン、セリン、スレオニンおよびメチオニン）の群の範囲内である。特異活性を一般に改変しないアミノ酸置換は技術分野において公知であり、例えば、H. Neurath and R. L. Hill, 1979, In, The Proteins, Academic Press, New Yorkに記載されている。頻繁に生じる置換は、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およびAsp/Glyである。

40

【0504】

あるいは、アミノ酸変異は、ポリペプチドの物理化学的特性が改変されるような性質のものである。例えば、アミノ酸変異は、ポリペプチドの熱安定性を向上させ、基質特異性を改変し、至適pHを変化させることであり得る。

【0505】

ポリペプチドにおける必須アミノ酸は、部位特異的突然変異誘発またはアラニン走査突

50

然変異誘発 (Cunningham and Wells, 1989, Science 244:1081-1085) などの技術分野において公知である手法に従って同定することが可能である。後者の技術においては、単一のアラニン突然変異が分子中のすべての残基に導入され、得られたミュータント分子が、分子の活性に重要であるアミノ酸残基を同定するために DNase 活性についてテストされる。また、Hilton et al., 1996, J. Biol. Chem. 271:4699-4708 を参照のこと。酵素の活性部位または他の生物学的相互作用は、推定上の接触部位アミノ酸の突然変異が併用される、核磁気共鳴、結晶構造解析、電子回折または光親和性標識などの技術によって判定される、構造の物理的分析によって判定されることも可能である。例えば、以下を参照されたい: de Vos et al., 1992, Science 255:306-312; Smith et al., 1992, J. Mol. Biol. 224:899-904; Wlodaver et al., 1992, FEBS Lett. 309:59-64. Use of a polypeptide having DNase activity 3: 568-576; Svetina et al., 2000, J. Biotechnol. 76:245-251; Rasmussen-Wilson et al., 1997, Appl. Environ. Microbiol. 63:3488-3493; Ward et al., 1995, Biotechnology 13:498-503; および Contreras et al., 1991, Biotechnology 9:378-381; Eaton et al., 1986, Biochemistry 25:505-512; Collins-Racie et al., 1995, Biotechnology 13:982-987; Carter et al., 1989, Proteins: Structure, Function, and Genetics 6:240-248; ならびに Stevens, 2003, Drug Discovery World 4:35-48。

【0506】

ポリヌクレオチド

本発明はまた、本明細書に記載するように、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにも関する。一実施形態では、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、単離されている。別の実施形態では、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1、3 または 5 に記載されるポリヌクレオチド配列を含むか、これから構成される。

【0507】

別の実施形態では、本発明は、低度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する (Sambrook, et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d edition, Cold Spring Harbor, New York)。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0508】

別の実施形態では、本発明は、低度-中度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0509】

別の実施形態では、本発明は、中度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0510】

別の実施形態では、本発明は、中度－高度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0511】

別の実施形態では、本発明は、高度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0512】

別の実施形態では、本発明は、極めて高度の緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列、または (ii) (i) の完全長相補体とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる DNase 活性を有する、単離されたポリペプチドに関する。一実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0513】

配列番号 1、3 もしくは 5 のポリヌクレオチドまたはそのサブ配列、ならびに配列番号 2、4 もしくは 6 のポリペプチドまたはその断片、または配列番号 8、9 もしくは 10 のポリペプチドまたはその断片を用いて、当技術分野でよく知られている方法に従って、異なる属もしくは種の系統から DNase 活性を有するポリペプチドをコードする DNA を同定およびクローニングするための核酸プローブを設計することができる。特に、このようなプローブは、標準的なサザンブロッティング手順の後に、そこに含まれる対応する遺伝子を同定および単離するために、対象の細胞のゲノム DNA とのハイブリダイゼーションに用いることができる。このようなプローブは全配列よりもかなり短くてもよいが、長さが、例えば、少なくとも 25、少なくとも 35、または少なくとも 70 ヌクレオチドと、少なくとも 15 ヌクレオチドであるべきである。好ましくは、核酸プローブは、例えば、長さが少なくとも 200 ヌクレオチド、少なくとも 300 ヌクレオチド、少なくとも 400 ヌクレオチド、少なくとも 500 ヌクレオチド、または少なくとも 600 ヌクレオチドと、長さが少なくとも 100 ヌクレオチドである。DNA および RNA プローブの両方を用いることができる。プローブは、典型的には、対応する遺伝子を検出するために標識化される（例えば、 ^{32}P 、 ^3H 、 ^{35}S 、ビオチン、またはアビジンで）。このようなプローブは本発明によって包含される。

【0514】

このような他の系統から調製されたゲノム DNA もしくは cDNA（ポリペプチドが、イントロンを含む場合）ライブラリは、前述のプローブとハイブリダイズし、DNase 活性を有するポリペプチドをコードする DNA についてスクリーニングしてもよい。このような他の系統由来のゲノムまたは他の DNA は、アガロースもしくはポリアクリルアミドゲル電気泳動、または、他の分離技術によって分離してもよい。これらのライブラリからの DNA または分離された DNA は、ニトロセルロースもしくは他の好適なキャリア材料に移し、そこに固定化してもよい。配列番号 1、3 もしくは 5 またはそのサブ配列とハイブリダイズするクローンもしくは DNA を同定するために、キャリア材料をサザンロットに用いる。

【0515】

本発明の目的に関して、ハイブリダイゼーションとは、極めて低度の緊縮条件、低度の緊縮条件、低度－中度の緊縮条件、中度の緊縮条件、中度－高度の緊縮条件、高度の緊縮条件から極めて高度までの緊縮条件下で、(i) 配列番号 1、3 もしくは 5；(ii) 配列番号 1、3 もしくは 5 の成熟型ポリペプチドコード配列；(iii) その完全長相補体；または (iv) そのサブ配列に対応する標識核酸プローブに、ポリヌクレオチドがハイブリダイズすることを意味する。核酸プローブがこれらの条件下でハイブリダイズする分子は、例えば、X 線フィルムまたは当技術分野では公知の他のいずれかの検出手段を用いて検出することができる。

【0516】

別の実施形態では、本発明は、配列番号1、3もしくは5の成熟型ポリペプチドコード配列に対して、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチドによってコードされる、DNase活性を有するポリペプチドに関する。別の実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0517】

別の実施形態では、本発明は、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号37、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号54、配列番号57、配列番号60、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号72、配列番号75、配列番号78、配列番号81、配列番号84、配列番号87、配列番号90、配列番号93、配列番号96、配列番号99、配列番号102、配列番号105、配列番号108、配列番号111、配列番号114、配列番号117、配列番号120、配列番号123、配列番号126、配列番号129、配列番号132、配列番号135、配列番号138、配列番号141、配列番号144、配列番号147、配列番号150、配列番号153、配列番号156、配列番号159、配列番号162、配列番号165、配列番号168、配列番号171、配列番号174、配列番号177、配列番号180、配列番号183、配列番号186、配列番号189、配列番号192、配列番号195の成熟型ポリペプチドコード配列に対して、少なくとも60%、例えば、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチドによってコードされる、DNase活性を有するポリペプチドに関する。別の実施形態では、ポリペプチドは、単離されている。

【0518】

ポリヌクレオチドの単離またはクローン化に用いられる技術は技術分野において公知であり、ゲノムDNAからの単離、または、これらの組み合わせが含まれる。ゲノムDNAからのポリヌクレオチドのクローン化は、例えば、発現ライブラリの周知のポリメラーゼ連鎖反応(PCR)または抗体スクリーニングを用いて共有される構造機構を伴うクローン化されたDNA断片を検出することにより実施されることが可能である。例えば、Innis et al., 1990, PCR: A Guide to Methods and Application, Academic Press, New Yorkを参照のこと。リガーゼ連鎖反応(LCR)、連結活性化転写(LAT)およびポリヌクレオチドベース増幅(NASBA)などの他の核酸増幅法が用いられ得る。

【0519】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの修飾は、ポリペプチドに実質的に類似するポリペプチドを合成するのに必要であり得る。ポリペプチドに「実質的に同様」という用語は、ポリペプチドの非天然形態を指す。これらのポリペプチドは、天然のソースから単離されたポリペプチドとはいくつかの操作法で異なってもよく、例えば、特異活性、耐熱性、至適pHなどが異なる変異体である。変異体は、配列番号1、3または5の成熟型ポリペプチドコード配列またはそのサブ配列として表されるポリヌクレオチドに基づいて構築され得、および／または、ポリペプチドのアミノ酸配列に変化をもたらさないが、酵素の生成のために意図される宿主生体のコドン利用に対応するヌクレオチド置換の導入により、または、異なるアミノ酸配列をもたらす得るヌクレオチド置換の導入により構築され得る。ヌクレオチド置換の概要については、例えば、Ford et al., 1991, Protein Expression and Purification

n 2 : 95 - 107 を参照のこと。

【0520】

核酸構築物

本発明はまた、制御配列に適合する条件下で好適な宿主細胞中にコード配列を発現させる1つまたは複数の制御配列に作動可能にリンクした本発明のポリヌクレオチドを含む核酸構築物に関する。

【0521】

ポリヌクレオチドは、多様な方法で処置されてポリペプチドの発現がもたらされ得る。ベクターへ挿入される前のポリヌクレオチドの処置が、発現ベクターに応じて、望ましいか、または、必要であり得る。組換えDNA法を利用するポリヌクレオチドを修飾するための技術は技術分野において周知である。

【0522】

制御配列は、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現のための宿主細胞によって認識されるポリヌクレオチドであるプロモータであり得る。プロモータは、ポリペプチドの発現を媒介する転写制御配列を含有する。プロモータは、ミュータント、切断およびハイブリッドプロモータを含む宿主細胞において転写活性を示すいずれかのポリヌクレオチドであり得、ならびに、宿主細胞に対して相同性または非相同性である細胞外または細胞内ポリペプチドをコードする遺伝子から得られ得る。

【0523】

細菌宿主細胞において本発明の核酸構築物の転写を指令する好適なプロモータの例としては、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*) α -アミラーゼ遺伝子 (*amyQ*)、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) α -アミラーゼ遺伝子 (*amyL*)、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) ペニシリナーゼ遺伝子 (*penP*)、バチルス・ステアロテルモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) マルトジェニックアミラーゼ遺伝子 (*amyM*)、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) レバンスクラゼ遺伝子 (*sacB*)、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) *xyIA* および *xyIB* 遺伝子、バチルス・チューリングエンシス (*Bacillus thuringiensis*) *cryIIIA* 遺伝子 (Agaïsse および Lereclus, 1994, *Molecular Microbiology* 13:97-107)、大腸菌 (*E. coli*) *lac* オペロン、大腸菌 (*E. coli*) *trc* プロモータ (Egon et al., 1988, *Gene* 69:301-315)、ストレプトマイセス・コエリコロール (*Streptomyces coelicolor*) アガラゼ遺伝子 (*dagA*) および原核 β -ラクタマーゼ遺伝子 (Villa-Kamaroff et al., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:3727-3731)、ならびに、*tac* プロモータ (DeBoer et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:21-25) から得られるプロモータがある。さらなるプロモータが、「Useful proteins from recombinant bacteria」, Gilbert et al., 1980, *Scientific American* 242:74-94; および、前述の Sambrook et al., 1989 に記載されている。タンデムプロモータの例が、国際公開第99/42835号パンフレットに開示されている。

【0524】

糸状真菌宿主細胞において本発明の核酸構築物の転写を指令する好適なプロモータの例としては、以下：アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) アセトアミダーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) 中性 α -アミラーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) 酸安定 α -アミラーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) またはアスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*) グ

ルコアミラーゼ (glaA)、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKAアミラーゼ、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) アルカリ性タンパク分解酵素、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) トリオースリン酸イソメラーゼ、フザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*) トリプシン様プロテアーゼ (国際公開第96/00787号パンフレット)、フザリウム・ベネナツム (*Fusarium venenatum*) アミログルコシダーゼ (国際公開第00/56900号パンフレット)、フザリウム・ベネナツム・ダリア (*Fusarium venenatum Daria*) (国際公開第00/56900号パンフレット)、フザリウム・ベネナツム・クイン (*Fusarium venenatum Quinn*) (国際公開第00/56900号パンフレット)、リゾムコール・ミエヘイ (*Rhizomucor miehei*) リパーゼ、リゾムコール・ミエヘイ (*Rhizomucor miehei*) アスパラギン酸プロテイナーゼ、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) β -グルコシダーゼ、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) セロビオヒドロラーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) セロビオヒドロラーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼIII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼV、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼIII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) β -キシロシダーゼ、およびトリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) 翻訳延長因子、ならびに、NA2-tpiプロモータ (非翻訳リーダが、アスペルギルス属 (*Aspergillus*) トリオースリン酸イソメラーゼ遺伝子由来の非翻訳リーダで置換された、アスペルギルス属 (*Aspergillus*) 中性 α -アミラーゼ遺伝子由来の修飾プロモータ；非限定的例としては、非翻訳リーダがアスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) またはアスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) トリオースリン酸イソメラーゼ遺伝子由来の非翻訳リーダで置換された、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) 中性 α -アミラーゼ遺伝子由来の修飾プロモータが挙げられる) の遺伝子から得られるプロモータ；ならびに、その突然変異体、切断およびハイブリッドプロモータがある。他のプロモータは、米国特許第6,011,147号明細書に記載されている。

【0525】

イースト菌宿主において、有用なプロモータは、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) エノラーゼ (ENO-1)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) ガラクトキナーゼ (GAL1)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) アルコール脱水素酵素/グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (ADH1、ADH2/GAP)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) トリオースリン酸イソメラーゼ (TPI)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) メタロチオネイン (CUP1) およびサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 3-ホスホグリセリン酸キナーゼの遺伝子から得られる。イースト菌宿主細胞に対する他の有用なプロモータは、Romanos et al., 1992, Yeast 8: 423-488により記載されている。

【0526】

制御配列はまた、宿主細胞によって認識されて転写を終結させる転写ターミネータであ

り得る。ターミネータは、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの3'末端に作動可能にリンクする。本発明においては、宿主細胞において機能するいずれかのターミネータが用いられ得る。

【0527】

細菌宿主細胞の好ましいターミネータは、バチルス・クラウシイ (*Bacillus clausii*) アルカリ性プロテアーゼ (*aprH*)、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) α -アミラーゼ遺伝子 (*amyL*)、および大腸菌 (*Escherichia coli*) リボソームRNA (*rrnB*) の遺伝子から得られる。

【0528】

糸状真菌宿主細胞の好ましいターミネータは、アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) アセトアミダーゼ、アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) アントラニル酸シンターゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) グルコアミラーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) α -グルコシダーゼ、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKAアミラーゼ、フザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*) トリプシン様プロテアーゼ、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) β -グルコシダーゼ、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) セロビオヒドロラーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) セロビオヒドロラーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼIII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) エンドグルカナーゼV、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼI、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) キシラナーゼIII、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) β -キシロシダーゼ、およびトリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) 翻訳延長因子の遺伝子から得られる。

【0529】

イースト菌宿主細胞の好ましいターミネータは、サッカロマイセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) エノラーゼ、サッカロマイセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) チトクロムC (*CYC1*) およびサッカロマイセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素の遺伝子から得られる。イースト菌宿主細胞の他の有用なターミネータが、前述の Romanos et al., 1992 に記載されている。

【0530】

制御配列は、プロモータの下流で、かつ遺伝子のコード配列の上流のmRNA安定化領域であってもよく、これは、遺伝子の発現を増大させる。

【0531】

好適なmRNA安定化領域の例は、バチルス・チューリンゲンシス (*Bacillus thuringiensis*) *cryIIIA* 遺伝子 (国際公開94/25612号パンフレット) および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) SP82 遺伝子 (Hue et al., 1995, Journal of Bacteriology 177:3465-3471) から得られる。

【0532】

制御配列はまた、リーダ、すなわち、mRNAの非翻訳領域であってもよく、これは、宿主細胞による翻訳にとって重要である。リーダは、ポリペプチドをコードするポリヌク

10

20

30

40

50

レオチドの5' -末端に作動可能にリンクさせる。宿主細胞において機能性であれば、どんなリーダを用いてもよい。

【0533】

糸状真菌宿主細胞の好ましいリーダは、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKAアミラーゼおよびアスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) トリオースリン酸イソメラーゼの遺伝子から得られる。

【0534】

イースト菌宿主細胞の好適なリーダは、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) エノラーゼ (ENO-1)、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 3-ホスホグリセリン酸キナーゼ、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) α -因子およびサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) アルコール脱水素酵素/グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (ADH2/GAP) の遺伝子から得られる。

【0535】

制御配列はまた、ポリヌクレオチドの3' -末端に作動可能にリンクし、転写された場合に、ポリアデノシン残基を転写mRNAに負荷するシグナルとして宿主細胞により認識される配列であるポリアデニル化配列であり得る。宿主細胞において機能するポリアデニル化配列のいずれかが用いられ得る。

【0536】

糸状真菌宿主細胞の好ましいポリアデニル化配列は、アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*) アントラニル酸シンターゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) グルコアミラーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) α -グルコシダーゼ、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKAアミラーゼ、およびフザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*) トリプシン様プロテアーゼの遺伝子から得られる。

【0537】

イースト菌宿主細胞の有用なポリアデニル化配列が、Guo and Sherman, 1995, Mol. Cellular Biol. 15: 5983-5990に記載されている。

【0538】

制御配列はまた、ポリペプチドのN-末端にリンクしたシグナルペプチドをコードし、および、ポリペプチドを細胞の分泌経路に送るシグナルペプチドコード領域であり得る。ポリヌクレオチドのコード配列の5' -末端は、ポリペプチドをコードするコード配列のセグメントと共に、翻訳読み枠に元々リンクしたシグナルペプチドコード配列を本質的に含有し得る。または、コード配列の5' -末端は、コード配列に対して外来性のシグナルペプチドコード配列を含有し得る。コード配列がシグナルペプチドコード配列を元々含有していない場合には、外来性のシグナルペプチドコード配列が必要とされる場合がある。または、外来性のシグナルペプチドコード配列は単に、ポリペプチドの分泌を増強するために天然シグナルペプチドコード配列を置き換えてもよい。しかしながら、発現ポリペプチドを宿主細胞の分泌経路に送るいずれかのシグナルペプチドコード配列がもちいられてもよい。

【0539】

細菌宿主細胞の効果的なシグナルペプチドコード配列は、バチルス属 (*Bacillus*) NCIB11837 マルトジェニックアミラーゼ、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) サブチリシン、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) β -ラクタマーゼ、バチルス・ステアロテルモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) α -

10

20

30

40

50

アミラーゼ、バチルス・ステアロテルモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) 中性プロテアーゼ (nprT、nprS、nprM) および古草菌 (*Bacillus subtilis*) prsA の遺伝子から得られるシグナルペプチドコード配列である。さらなるシグナルペプチドが、Simonen and Palva, 1993, Microbiological Reviews 57:109-137 に記載されている。

【0540】

糸状真菌宿主細胞の効果的なシグナルペプチドコード配列は、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) 中性アミラーゼ、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) グルコアミラーゼ、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKA アミラーゼ、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*) セルラーゼ、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*) エンドグルカナーゼ V、フミコラ・ラヌギノサ (*Humicola lanuginosa*) リパーゼおよびリゾムコール・ミエヘイ (*Rhizomucor miehei*) アスパラギン酸プロテイナーゼの遺伝子から得られるシグナルペプチドコード配列である。

【0541】

イースト菌宿主細胞の有用なシグナルペプチドは、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) α -因子およびサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) インベルターゼの遺伝子から得られる。他の有用なシグナルペプチドコード配列が、前述の Romanos et al., 1992 により記載されている。

【0542】

制御配列はまた、ポリペプチドの N-末端でプロペプチド位置をコードするプロペプチドコード配列であり得る。得られたポリペプチドは、酵素原またはプロポリペプチド (または、いくつかの場合においてチモーゲン) として公知である。プロポリペプチドは、一般に非活性であり、プロポリペプチドからのプロペプチドの触媒または自己触媒切断によって活性ポリペプチドに転換されることが可能である。プロペプチドコード配列は、古草菌 (*Bacillus subtilis*) アルカリ性タンパク分解酵素 (aprE)、古草菌 (*Bacillus subtilis*) 中性タンパク分解酵素 (nprT)、ミセリオフトラ・テルモフィラ (*Myceliophthora thermophila*) ラッカーゼ (国際公開第 95/33836 号パンフレット)、リゾムコール・ミエヘイ (*Rhizomucor miehei*) アスパラギン酸プロテイナーゼおよびサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) α -因子の遺伝子から得られ得る。

【0543】

シグナルペプチドおよびプロペプチド配列の両方が存在する場合、プロペプチド配列はポリペプチドの N-末端に隣接して位置されており、また、シグナルペプチド配列は、プロペプチド配列の N-末端に隣接して位置されている。

【0544】

宿主細胞の増殖に関してポリペプチドの発現を調節する調節配列を付加することが望ましい場合もある。調節配列の例は、調節化合物の存在を含む化学的または物理的刺激に応じて、遺伝子の発現をオンまたはオフさせるものである。原核系における調節配列としては、lac、tac、および trp オペレータ系が挙げられる。酵母においては、ADH 2 系または GAL 1 系が用いられ得る。糸状真菌においては、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) グルコアミラーゼプロモータ、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) TAKA α -アミラーゼプロモータ、およびアスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) グルコアミラーゼプロモータ、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) セロビオヒドロラーゼ I プロモータ、およびトリコデルマ・レエセイ (*Trichod*

10

20

30

40

50

erma reesei) セロビオヒドロラーゼ I プロモータが用いられ得る。調節配列の他の例は、遺伝子増幅を可能とするものである。真核系において、これらの調節配列は、メトトレキセートの存在下で増幅されるジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子、および、重金属を伴って増幅されるメタロチオネイン遺伝子を含む。これらの事例において、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、調節配列と作動可能にリンクしているであろう。

【0545】

発現ベクター

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチド、プロモータ、ならびに、転写および翻訳終止シグナルを含む組換え発現ベクターに関する。種々のヌクレオチドおよび制御配列が一緒になって、このような部位でポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの挿入または置換を可能とするために1つまたは複数の好都合な制限部位を含み得る組換え発現ベクターが生成される。あるいは、ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドを含む核酸構築物を、発現のための適切なベクターに挿入することにより発現され得る。発現ベクターの形成に際し、コード配列は、コード配列が、発現のための適切な制御配列と作動可能にリンクするようにベクター中に配置されている。組換え発現ベクターは、組換えDNA法に簡便に供されることが可能であり、ポリヌクレオチドの発現をもたらすことができるいずれかのベクター（例えば、プラスミドまたはウイルス）であってよい。ベクターの選択は、典型的には、ベクターが導入される宿主細胞に対するベクターの適合性に左右されることになる。ベクターは、直鎖プラスミドまたは閉じた環状プラスミドであってもよい。

【0546】

ベクターは、例えばプラスミド、染色体外要素、微小染色体または人工染色体といった、自己複製ベクター（すなわち、染色体外のエンティティとして存在し、その複製が染色体複製とは無関係なベクター）であってもよい。ベクターは、自己複製を確実にするための何らかの手段を含有し得る。あるいは、ベクターは、宿主細胞に導入された際に、ゲノム中に統合され、および、中に統合された染色体と一緒に複製されるものであってもよい。さらに、単一のベクターもしくはプラスミド、または、一緒になって、宿主細胞のゲノムに導入される全DNAを含有する2つ以上のベクターもしくはプラスミド、または、トランスポゾンを用いてもよい。

【0547】

ベクターは、形質転換、形質移入、形質導入などを受けた細胞の容易な選択を可能にする1つまたは複数の選択マーカを含有することが好ましい。選択マーカは、その産物が、殺生剤またはウイルス耐性、重金属に対する耐性、栄養要求体に対する原栄養性等などをもたらす遺伝子である。

【0548】

細菌性選択マーカの例としては、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniiformis*) もしくは枯草菌 (*Bacillus subtilis*) dal 遺伝子、または、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、ネオマイシン、スペクチノマイシン、もしくはテトラサイクリン耐性などの抗生物質耐性を賦与するマーカである。酵母宿主細胞の好適なマーカとしては、限定されないが、ADE2、HIS3、LEU2、LYS2、MET3、TRP1、およびURA3が挙げられる。糸状真菌宿主細胞に使用する選択マーカとしては、限定されないが、adeA（ホスホリボシルアミノイミダゾールスクシノカルボキサミドシンターゼ）、adeB（ホスホリボシルアミノイミダゾールシンターゼ）、amdS（アセトアミダーゼ）、argB（オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼ）、bar（ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ）、hph（ハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ）、niaD（硝酸レダクターゼ）、pyrG（オロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼ）、sC（硫酸アデニルトランスフェラーゼ）、およびtrpC（アントラニル酸シンターゼ）、ならびにこれらの同等物が挙げられる。アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus n*

idulans) またはアスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) *amdS* および *pyrG* 遺伝子、ならびに、ストレプトマイセス・ハイグロスコピクス (*Streptomyces hygroscopicus*) *bar* 遺伝子が、アスペルギルス属 (*Aspergillus*) 細胞での使用に好ましい。*adeA*、*adeB*、*amdS*、*hph*、および *pyrG* 遺伝子が、トリコデルマ (*Trichoderma*) 細胞での使用に好ましい。

【0549】

選択マーカーは、国際公開第2010/039889号パンフレットに記載されている二重選択マーカー系であってもよい。一態様では、二重選択マーカーは、*hph-tk* 二重選択マーカー系である。

【0550】

ベクターは、宿主細胞のゲノムへのベクターの統合、または、ゲノムとは無関係の細胞中のベクターの自律複製を許容する要素を含有することが好ましい。

【0551】

宿主細胞ゲノムへの統合に関して、ベクターは、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの配列、または、相同的もしくは非相同的組換えによるゲノムへの統合に係るベクターのいずれかの他の要素に依存し得る。または、ベクターは、染色体における正確な位置での宿主細胞のゲノムへの相同的組換えによる統合をもたらす追加のポリヌクレオチドを含有していてもよい。正確な位置で統合される可能性を高めるために、統合要素は、相同的組換えの確率を高めるために対応する標的配列に対して高度の配列同一性を有する、100~10,000塩基対、400~10,000塩基対および800~10,000塩基対などの十分な数の核酸を含有しているべきである。統合要素は、宿主細胞のゲノム中の標的配列と相同的であるいずれかの配列であり得る。さらに、統合要素は、非コーディングまたはコーディングポリヌクレオチドであり得る。他方で、ベクターは、非相同的組換えにより宿主細胞のゲノムに統合され得る。

【0552】

自律複製に関して、ベクターは、対象の宿主細胞におけるベクターの自律的な複製を可能とする複製起点をさらに含んでいてもよい。複製起点は、細胞において機能する自律複製を媒介するいずれかのプラスミドレプリケータであり得る。「複製起点」または「プラスミドレプリケータ」という用語は、インビボでのプラスミドまたはベクターの複製を可能とするポリヌクレオチドを意味する。

【0553】

細菌性複製起点の例は、大腸菌 (*E. coli*) における複製を許容するプラスミド *pBR322*、*pUC19*、*pACYC177* および *pACYC184* の複製起点、ならびに、バチルス属 (*Bacillus*) における複製を許容する *pUB110*、*pE194*、*pTA1060* および *pAMβ1* の複製起点である。

【0554】

イースト菌宿主細胞において用いられる複製起点の例は、2ミクロン複製起点、*ARS1*、*ARS4*、*ARS1* と *CEN3* との組み合わせ、および、*ARS4* と *CEN6* との組み合わせである。

【0555】

糸状真菌細胞において有用な複製起点の例は、*AMA1* および *ANS1* (Gems et al., 1991, Gene 98:61-67; Cullen et al., 1987, Nucleic Acids Res. 15:9163-9175; 国際公開第00/24883号パンフレット) である。*AMA1* 遺伝子の単離および *AMA1* 遺伝子を含むプラスミドまたはベクターの構築は、国際公開第00/24883号パンフレットに開示されている方法に従って達成可能である。

【0556】

本発明のポリヌクレオチドの2つ以上のコピーが宿主細胞に挿入されて、ポリペプチドの生成が高められてもよい。ポリヌクレオチドのコピーの数は、配列の少なくとも1つの

10

20

30

40

50

追加のコピーを宿主細胞ゲノムに統合することにより、または、増幅可能な選択マーカ遺伝子をポリヌクレオチドに含めることにより増加させることが可能であり、ここで、選択マーカ遺伝子の増幅されたコピー、従って、ポリヌクレオチドの追加のコピーを含有する細胞は、適切な選択可能な薬剤中で細胞を培養することにより選択可能である。

【0557】

上記の要素を連結して本発明の組換え発現ベクターを構築するために用いられる手法は、当業者に周知である（例えば、前述の Sambrook et al., 1989を参照のこと）。

【0558】

宿主細胞

本発明はまた、本発明のポリペプチドの生成をもたらす1つまたは複数の制御配列に作動可能にリンクした本発明のポリヌクレオチドを含む組換え宿主細胞に関する。ポリヌクレオチドを含む構築物もしくはベクターは、構築物もしくはベクターが染色体性組み込み体として、もしくは、既述の自己複製余剰-染色体性ベクターとして維持されるよう宿主細胞に導入される。「宿主細胞」という用語は、複製の最中に生じる突然変異により親細胞と同等ではない親細胞のいずれかの子孫を包含する。宿主細胞の選択は、ポリペプチドをコードする遺伝子およびそのソースに大きく依存することとなる。

【0559】

宿主細胞は、例えば、原核生物または真核生物といった、本発明のポリペプチドの組換え生成において有用ないずれかの細胞であり得る。

【0560】

原核宿主細胞は、グラム陽性またはグラム陰性バクテリアのいずれかであり得る。グラム陽性バクテリアとしては、これらに限定されないが、バチルス属 (*Bacillus*)、クロストリジウム属 (*Clostridium*)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、ゲオバチルス属 (*Geobacillus*)、ラクトバチルス属 (*Lactobacillus*)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus*)、オセアノバチルス属 (*Oceanobacillus*)、スタフィロコッカス属 (*Staphylococcus*)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) およびストレプトマイセス属 (*Streptomyces*) が挙げられる。グラム陰性バクテリアとしては、これらに限定されないが、カムピロバクター属 (*Campylobacter*)、大腸菌 (*E. coli*)、フラボバクテリウム属 (*Flavobacterium*)、フソバクテリウム属 (*Fusobacterium*)、ヘリコバクター属 (*Helicobacter*)、イリオバクター属 (*Ilyobacter*)、ネイッセリア属 (*Neisseria*)、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、サルモネラ属 (*Salmonella*) およびウレアプラズマ属 (*Ureaplasma*) が挙げられる。

【0561】

細菌宿主細胞は、特にこれらに限定されないが、バチルス・アルカロフィルス (*Bacillus alkalophilus*)、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*)、バチルス・ブレビス (*Bacillus brevis*)、バチルス・シルクランス (*Bacillus circulans*)、バチルス・クラウシイ (*Bacillus clausii*)、バチルス・コアグラランス (*Bacillus coagulans*)、バチルス・フィルムス (*Bacillus firmus*)、バチルス・ラウツス (*Bacillus lautus*)、バチルス・レンツス (*Bacillus lentus*)、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*)、バチルス・メガテリウム (*Bacillus megaterium*)、バチルス・プミルス (*Bacillus pumilus*)、バチルス・ステアロテルモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*)、古草菌 (*Bacillus subtilis*)、およびバチルス・チューリングエンシス (*Bacillus thuringiensis*) 細胞を含むいずれかのバチルス属 (*Bacillus*) 細胞であり得る。

10

20

30

40

50

【0562】

細菌宿主細胞はまた、特にこれらに限定されないが、ストレプトコッカス・エキシミリス (*Streptococcus equisimilis*)、化膿レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、およびストレプトコッカス・ズーエピデミカス (*Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*) 細胞のいずれかのストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 細胞を含むいずれかのストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 細胞であり得る。

【0563】

細菌宿主細胞はまた、特にこれらに限定されないが、ストレプトマイセス・アウロモゲネス (*Streptomyces achromogenes*)、ストレプトマイセス・アベルミチリス (*Streptomyces avermitilis*)、ストレプトマイセス・コエリコロル (*Streptomyces coelicolor*)、ストレプトマイセス・グリセウス (*Streptomyces griseus*)、およびストレプトマイセス・リビダンス (*Streptomyces lividans*) 細胞を含むいずれかのストレプトマイセス属 (*Streptomyces*) 細胞であり得る。

【0564】

バチルス属 (*Bacillus*) 細胞へのDNAの導入は、プロトプラスト形質転換 (例えば、Chang and Cohen, 1979, Mol. Gen. Genet. 168:111-115を参照のこと)、コンピテント細胞転換 (例えば、Young and Spizizen, 1961, J. Bacteriol. 81:823-829、または Dubnau and Davidoff-Abelson, 1971, J. Mol. Biol. 56:209-221を参照のこと)、電気穿孔法 (例えば、Shigekawa and Dower, 1988, Biotechniques 6:742-751を参照のこと)、または、接合により (例えば、Koehler and Thorne, 1987, J. Bacteriol. 169:5271-5278を参照のこと) 行われ得る。大腸菌 (*E. coli*) 細胞へのDNAの導入は、プロトプラスト形質転換により (例えば、Hanahan, 1983, J. Mol. Biol. 166:557-580を参照のこと) または電気穿孔法により (例えば、Dower et al., 1988, Nucleic Acids Res. 16:6127-6145を参照のこと) 行われ得る。ストレプトマイセス属 (*Streptomyces*) 細胞へのDNAの導入は、プロトプラスト形質転換電気穿孔法 (例えば、Gong et al., 2004, Folia Microbiol. (Praha) 49:399-405を参照のこと)、接合 (例えば、Mazodier et al., 1989, J. Bacteriol. 171:3583-3585を参照のこと)、または、形質導入により (例えば、Burke et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:6289-6294を参照のこと) 行われ得る。シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 細胞へのDNAの導入は、電気穿孔法 (例えば、Choi et al., 2006, J. Microbiol. Methods 64:391-397を参照のこと)、または、接合により (例えば、Pinedo and Smets, 2005, Appl. Environ. Microbiol. 71:51-57を参照のこと) 行われ得る。ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 細胞へのDNAの導入は、天然コンピテンス (例えば、Perry and Kuramitsu, 1981, Infect. Immun. 32:1295-1297を参照のこと)、プロトプラスト形質転換 (例えば、Catt and Jollick, 1991, Microbios 68:189-207を参照のこと)、電気穿孔法 (例えば、Buckley et al., 1999, Appl. Environ. Microbiol. 65:3800-3804を参照のこと)、または、接合により (例えば、Clewell, 1981, Microbiol. Rev. 45:409-436を参照のこと) 行われ得る。しかしながら、DNAを宿主細胞に導入するための技術分野において公知である方法のいずれかを用いることが可能である。

10

20

30

40

50

【0565】

宿主細胞はまた、哺乳類、昆虫、植物または真菌細胞などの真核生物であり得る。

【0566】

宿主細胞は真菌細胞であってもよい。本明細書において用いられる「真菌」は、子囊菌門 (*Ascomycota*)、担子菌門 (*Basidiomycota*)、ツボカビ門 (*Chytridiomycota*) および接合菌門 (*Zygomycota*)、ならびに、卵菌門 (*Oomycota*) およびすべての栄養胞子形成真菌を含む (*Hawksworth et al., In, Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi, 8th edition, 1995, CAB International, University Press, Cambridge, UK* に定義されているとおり)。

10

【0567】

真菌宿主細胞はイースト菌細胞であり得る。本明細書において用いられるところ、「イースト菌」は、子囊菌酵母 (エンドミセス目 (*Endomycetales*))、担子菌イースト菌を含み、イースト菌は、不完全菌類 (不完全酵母菌類 (*Blastomyces*)) に属する。イースト菌の分類は将来において変更される可能性があるため、本発明の目的について、イースト菌は、*Biology and Activities of Yeast* (Skinner, Passmore および Davenport 編, Soc. App. Bacteriol. Symposium Series No. 9, 1980) に記載されているとおりに定義されるものとする。

20

【0568】

イースト菌宿主細胞は、クルイベロマイセスラクティス (*Kluyveromyces lactis*)、サッカロマイセスカルスベルゲンシス (*Saccharomyces carlsbergensis*)、サッカロマイセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、サッカロマイセス・ジアスタチクス (*Saccharomyces diastaticus*)、サッカロマイセス・ドウグラシイ (*Saccharomyces douglasii*)、サッカロマイセス・クルイベリ (*Saccharomyces kluyveri*)、サッカロマイセス・ノルベンシス (*Saccharomyces norbensis*)、サッカロマイセス・オビホルミス (*Saccharomyces oviiformis*) またはヤロウイア・リポリチカ (*Yarrowia lipolytica*) 細胞などのカンジダ属 (*Candida*)、ハンセヌラ属 (*Hansenula*)、クルイベロマイセス属 (*Kluyveromyces*)、ピチア属 (*Pichia*)、サッカロマイセス属 (*Saccharomyces*)、シゾサッカロマイセス属 (*Schizosaccharomyces*) またはヤロウイア属 (*Yarrowia*) 細胞であり得る。

30

【0569】

真菌宿主細胞は糸状真菌細胞であり得る。「糸状菌」は、真菌植物門 (*Eumycota*) および卵菌門 (*Oomycota*) 亜門 (前述の *Hawksworth et al., 1995* で定義されているとおり) のすべてのフィラメント形を含む。糸状菌は、一般に、キチン、セルロース、グルカン、キトサン、マンナンおよび他の複雑な多糖類から組成される菌糸体壁によって特徴付けられる。栄養成長は菌糸の伸展によるものであり、および、炭素異化は絶対好気性である。対照的に、サッカロマイセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) などのイースト菌による栄養成長は単細胞葉状体の出芽によるものであり、および、炭素異化は発酵性であり得る。

40

【0570】

糸状真菌宿主細胞は、アクレモニウム属 (*Acremonium*)、アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、アウレオバシジウム属 (*Aureobasidium*)、ブエルカンデラ属 (*Bjerkandera*)、セリポリオプシス属 (*Ceriporiopsis*)、クリソスポリウム属 (*Chrysosporium*)、コプリヌス属 (*Coprinus*)、コリオルス属 (*Coriolus*)、クリプトコッカス属 (*Cryp*

50

tococcus)、フィリバシジウム属 (*Filibasidium*)、フザリウム属 (*Fusarium*)、フミコラ属 (*Humicola*)、マグナポルテ属 (*Magnaporthe*)、ムコール属 (*Mucor*)、ミセリオフトラ属 (*Myceliophthora*)、ネオカリマスチクス属 (*Neocallimastix*)、ニューロスポーラ属 (*Neurospora*)、パエシロマイセス属 (*Paecilomyces*)、ペニシリウム属 (*Penicillium*)、ファネロケーテ属 (*Phanerochaete*)、フレビア属 (*Phlebia*)、ピロマイセス属 (*Piromyces*)、プレウロツス属 (*Pleurotus*)、シゾフィルム属 (*Schizophyllum*)、タラロマイセス属 (*Talaromyces*)、テルモアスクス属 (*Thermoascus*)、チエラビア属 (*Thielavia*)、トリポクラジウム属 (*Tolypocladium*)、トラメテス属 (*Trametes*) またはトリコデルマ属 (*Trichoderma*) 細胞であり得る。

【0571】

例えば、糸状真菌宿主細胞は、アスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・フォエティダス (*Aspergillus foetidus*)、アスペルギルス・フミガーツ (*Aspergillus fumigatus*)、アスペルギルス・ジャポニクス (*Aspergillus japonicus*)、アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*)、ヤケイロタケ (*Bjerkandera adusta*)、セリポリオブシス・アネイリナ (*Ceriporiopsis aneirina*)、セリポリオブシス・カレギエア (*Ceriporiopsis caregiea*)、セリポリオブシス・ギルベスセンス (*Ceriporiopsis gilvescens*)、セリポリオブシス・パンノシンタ (*Ceriporiopsis pannocinta*)、セリポリオブシス・リブロサ (*Ceriporiopsis rivulosa*)、セリポリオブシス・スブルファ (*Ceriporiopsis subrufa*)、セリポリオブシス・スブベルミスボラ (*Ceriporiopsis subvermispora*)、クリソスポリウム・イノプス (*Chrysosporium inops*)、クリソスポリウム・ケラチノフィルム (*Chrysosporium keratinophilum*)、クリソスポリウム・ルクノウェンス (*Chrysosporium lucknowense*)、クリソスポリウム・メルダリウム (*Chrysosporium merdarium*)、クリソスポリウム・パンニコラ (*Chrysosporium pannicola*)、クリソスポリウム・クイーンズランジウム (*Chrysosporium queenslandicum*)、クリソスポリウム・トロピウム (*Chrysosporium tropicum*)、クリソスポリウム・ゾナツム (*Chrysosporium zonatum*)、コプリヌス・シネレウス (*Coprinus cinereus*)、クリオルス・ヒルスツス (*Coriolus hirsutus*)、フザリウム・バクテリジオイデス (*Fusarium bactridioides*)、フザリウム・セラリス (*Fusarium cerealis*)、フザリウム・クロークウェレンス (*Fusarium crookwellense*)、フザリウム・クルモルム (*Fusarium culmorum*)、フザリウム・グラミネアルム (*Fusarium graminearum*)、フザリウムグラミンム (*Fusarium graminum*)、フザリウム・ヘテロスポルム (*Fusarium heterosporum*)、フザリウム・ネグンディ (*Fusarium negundi*)、フザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*)、フザリウム・レチクランツム (*Fusarium reticulatum*)、フザリウム・ロゼウム (*Fusarium roseum*)、フザリウム・サムブシナム (*Fusarium sambucinum*)、フザリウム・サルコクロウム (*Fusarium sarcocroum*)、フザリウム・ポロトリキオイデス (*Fusarium sporotrichioides*)、フザリウム・スルフレウム (*Fusarium sulphu*

10

20

30

40

50

reum)、フザリウム・トルロスム (*Fusarium torulosum*)、フザリウム・トリコテシオイデス (*Fusarium trichothecioides*)、フザリウム・ベネナツム (*Fusarium venenatum*)、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*)、フミコラ・ラヌギノサ (*Humicola lanuginosa*)、ムコール・ミエヘイ (*Mucor miehei*)、ミセリオフトラ・テルモフィラ (*Myceliophthora thermophila*)、ニューロスポラ・クラッサ (*Neurospora crassa*)、ペニシリウム・プルプロゲナム (*Penicillium purpurogenum*)、ファネロケータ・クリソスポリウム (*Phanerochaete chrysosporium*)、フレビア・ラジアタ (*Phlebia radiata*)、プレウロツス・エリンギイ (*Pleurotus eryngii*)、チエラビア・テルレストリス (*Thielavia terrestris*)、トラメテス・ピロサ (*Trametes villosa*)、トラメテス・ベルシコロール (*Trametes versicolor*)、トリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*)、トリコデルマ・コニンギイ (*Trichoderma koningii*)、トリコデルマ・ロンギブラキアツム (*Trichoderma longibrachiatum*)、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) またはトリコデルマ・ビリデ (*Trichoderma viride*) 細胞であり得る。

【0572】

真菌細胞は、それ自体公知の様式でのプロトプラスト形成、プロトプラストの形質転換、および、細胞壁の再生を含むプロセスにより形質転換され得る。アスペルギルス属 (*Aspergillus*) およびトリコデルマ属 (*Trichoderma*) 宿主細胞の形質転換に好適な手法は、欧州特許第238023号明細書、Yelton et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:1470-1474、ならびにChristensen et al., 1988, Bio/Technology 6:1419-1422に記載されている。フザリウム属 (*Fusarium*) 種の形質転換に好適な方法は、Malandier et al., 1989, Gene 78:147-156および国際公開第96/00787号パンフレットに記載されている。イースト菌は、Becker and Guarente, In Abelson, J. N. and Simon, M. I., editors, Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology, Methods in Enzymology, Volume 194, pp 182-187, Academic Press, Inc., New York; Ito et al., 1983, J. Bacteriol. 153:163; および, Hinnen et al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:1920に記載の手法を用いて形質転換され得る。

【0573】

生成方法

本発明はまた：(a) ポリペプチドの生成を実施可能な条件下で、野生型形態でポリペプチドを生成する細胞を培養するステップ；および、任意選択で (b) ポリペプチドを回収するステップを含む本発明のポリペプチドを生成する方法に関する一態様において、細胞は、バチルス属 (*Bacillus* sp.) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) 細胞である。他の態様において、細胞は、バチルス属 (*Bacillus* sp.) 6245、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057細胞である。

【0574】

本発明はまた：(a) ポリペプチドの生成を実施可能な条件下で本発明の組換え宿主細胞を培養するステップ；および、任意選択で (b) ポリペプチドを回収するステップを含む本発明のポリペプチドを生成する方法に関する。

【0575】

本発明の一態様は、ポリペプチドを生成する方法に関し、ここで、ポリペプチドは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるポリペプチドからなる群から選択され、ポリペプチドは、DNase活性を有し、

(a) ポリペプチドの生成を促す条件下で組換え宿主細胞を培養するステップ；および
(b) ポリペプチドを回収するステップ
を含む。

【0576】

一態様では、細胞は、バチルス属 (*Bacillus*) もしくはアスペルギルス (*Aspergillus*) 属または「宿主細胞」のセクションで挙げる宿主細胞のいずれかである。

【0577】

宿主細胞は、技術分野において既知である方法を用いてポリペプチドの生成に好適な栄養培地中で培養される。例えば、細胞は、好適な培地中ならびにポリペプチドの発現および／または単離が許容される条件下で、振盪フラスコ培養により、および、実験用もしくは産業用発酵槽における小規模もしくは大規模発酵（連続式、バッチ式、フェドバッチ式または固体状発酵を含む）により培養され得る。培養は、炭素および窒素源および無機塩を含む好適な栄養培地において、技術分野において公知である手法を用いて行われる。好適な媒体は、商業的な供給者から入手可能であるか、または、公開された組成に従って調製され得る（例えば、American Type Culture Collectionのカatalog）。ポリペプチドが栄養培地に分泌される場合、ポリペプチドは培地から直接回収可能である。ポリペプチドが分泌されない場合、細胞ライセートから回収可能である。

【0578】

ポリペプチドは、ポリペプチドに特異的な技術分野において公知である方法を用いて検出され得る。これらの検出方法として、限定するものではないが、特定の抗体の使用、酵素産物の形成、または、酵素基質の消失などが挙げられる。例えば、酵素アッセイを用いてポリペプチドの活性を判定してもよい。

【0579】

ポリペプチドは技術分野において公知である方法を用いて回収され得る。例えば、ポリペプチドは、特にこれらに限定されないが、収集、遠心分離、ろ過、抽出、噴霧乾燥、蒸発または沈殿を含む従来の手法により栄養培地から回収され得る。一態様において、ポリペプチドを含む発酵ブロスが回収される。

【0580】

ポリペプチドは、実質的に純粋なポリペプチドを得るために、特にこれらに限定されないが、クロマトグラフィ（例えば、イオン交換、親和性、疎水性、クロマトフォーカシングおよびサイズ排除）、電気泳動的手法（例えば、分取等電点電気泳動）、較差溶解度（例えば、硫酸アンモニウム沈殿）、SDS-PAGE、または、抽出（例えば、Protein Purification, JansonおよびRyden編, VCH Publishers, New York, 1989を参照のこと）を含む技術分野において公知

である多様な手法によって精製され得る。

【0581】

代替的な態様においては、ポリペプチドは回収されず、ポリペプチドを発現する本発明の宿主細胞がポリペプチドのソースとして用いられ得る。

【0582】

一実施形態では、本発明は、さらに、対象の第2ポリペプチド；好ましくは対象の酵素；より好ましくは対象の分泌酵素；さらに好ましくはヒドロラーゼ、イソメラーゼ、リガーゼ、リアーゼ、オキシドレダクターゼ、またはトランスフェラーゼをコードするポリヌクレオチドをさらに含む組換え宿主細胞を培養することによってポリペプチドを生成するステップを含み；分泌酵素は、 α -ガラクトシダーゼ、 α -グルコシダーゼ、アミノペプチダーゼ、アミラーゼ、アスパラギナーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、 β -キシロシダーゼ、カルボヒドラーゼ、カルボキシペプチダーゼ、カタラーゼ、セロビオヒドロラーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、クチナーゼ、シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、エンドグルカナーゼ、エステラーゼ、緑色蛍光タンパク質、グルカノートランスフェラーゼ、グルコアミラーゼ、インベルターゼ、ラッカーゼ、リパーゼ、マンノシダーゼ、ムタナーゼ、オキシダーゼ、ペクチン分解酵素、ペルオキシダーゼ、フィターゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、タンパク質分解酵素、リボヌクレアーゼ、トランスグルタミナーゼ、またはキシラナーゼであるのが、最も好ましい。

【0583】

一実施形態では、対象の第2ポリペプチドは、宿主細胞に対して異種または相同性である。

【0584】

一実施形態では、組換え宿主細胞は、真菌宿主細胞；好ましくは、糸状真菌宿主細胞；より好ましくは、アクレモニウム属 (*Acremonium*)、アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、アウレオバシジウム属 (*Aureobasidium*)、ブエルカンデラ属 (*Bjerkandera*)、セリポリオプシス属 (*Ceriporiopsis*)、クリソスポリウム属 (*Chrysosporium*)、コプリヌス属 (*Coprinus*)、コリオルス属 (*Coriolus*)、クリプトコッカス属 (*Cryptococcus*)、フィリバシジウム属 (*Filibasidium*)、フザリウム属 (*Fusarium*)、フミコラ属 (*Humicola*)、マグナポルテ属 (*Magnaporthe*)、ムコール属 (*Mucor*)、ミセリオフトラ属 (*Myceliophthora*)、ネオカリマスチクス属 (*Neocallimastix*)、ニューロスポラ属 (*Neurospora*)、パエシロマイセス属 (*Paecilomyces*)、ペニシリウム属 (*Penicillium*)、ファネロケーテ属 (*Phanerochaete*)、フレビア属 (*Phlebia*)、ピロマイセス属 (*Piromyces*)、プレウロツス属 (*Pleurotus*)、シゾフィラム属 (*Schizophyllum*)、タラロマイセス属 (*Talaromyces*)、テルモアスクス属 (*Thermoascus*)、チエラビア属 (*Thielavia*)、トリボクラジウム属 (*Tolypocladium*)、トラメテス属 (*Trametes*)、またはトリコデルマ属 (*Trichoderma*) 細胞；最も好ましくは、アスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・フォエティダス (*Aspergillus foetidus*)、アスペルギルス・フミガーツス (*Aspergillus fumigatus*)、アスペルギルス・ジャポニクス (*Aspergillus japonicus*)、アスペルギルス・ニズランズ (*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*)、ヤケイロタケ (*Bjerkandera adusta*)、セリポリオプシス・アネイリナ (*Ceriporiopsis aneirina*)、セリポリオプシス・カレギエア (*Ceriporiopsis caregiea*)、セリポリオプシス・ギルベスセンス (*Ceriporiopsis gil*

10

20

30

40

50

vescens)、セリポリオプシス・パンノシンタ (*Ceriporiopsis pannocinta*)、セリポリオプシス・リブロサ (*Ceriporiopsis rivulosa*)、セリポリオプシス・スブルファ (*Ceriporiopsis subrufa*)、セリポリオプシス・スベルミスポラ (*Ceriporiopsis subvermispora*)、クリソスポリウム・イノプス (*Chrysosporium inops*)、クリソスポリウム・ケラチノフィルム (*Chrysosporium keratinophilum*)、クリソスポリウム・ルクノウェンス (*Chrysosporium lucknowense*)、クリソスポリウム・メルダリウム (*Chrysosporium merdarium*)、クリソスポリウム・パンニコラ (*Chrysosporium pannicola*)、クリソスポリウム・クイーンズランジウム (*Chrysosporium queenslandicum*)、クリソスポリウム・トロピウム (*Chrysosporium tropicum*)、クリソスポリウム・ゾナツム (*Chrysosporium zonatum*)、コプリヌス・シネレウス (*Coprinus cinereus*)、コリオルス・ヒルスツス (*Coriolus hirsutus*)、フザリウム・バクテリジオイデス (*Fusarium bactridioides*)、フザリウム・セレアリス (*Fusarium cerealis*)、フザリウム・クロークウェレンス (*Fusarium crookwellense*)、フザリウム・クルモルム (*Fusarium culmorum*)、フザリウム・グラミネアルム (*Fusarium graminearum*)、フザリウム・グラミンム (*Fusarium graminum*)、フザリウム・ヘテロスポルム (*Fusarium heterosporum*)、フザリウム・ネグンディ (*Fusarium negundi*)、フザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*)、フザリウム・レチクラツム (*Fusarium reticulatum*)、フザリウム・ロゼウム (*Fusarium roseum*)、フザリウム・サムブシナム (*Fusarium sambucinum*)、フザリウム・サルコクロウム (*Fusarium sarcochromum*)、フザリウム・スポロトリキオイデス (*Fusarium sporotrichioides*)、フザリウム・スルフレウム (*Fusarium sulphureum*)、フザリウム・トルロスム (*Fusarium torulosum*)、フザリウム・トリコテシオイデス (*Fusarium trichothecioides*)、フザリウム・ベネナツム (*Fusarium venenatum*)、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*)、フミコラ・ラヌギノサ (*Humicola lanuginosa*)、ムコール・ミエヘイ (*Mucor miehei*)、ミセリオフトラ・テルモフィラ (*Myceliophthora thermophila*)、ニューロスポラ・クラッサ (*Neurospora crassa*)、ペニシリウム・プルプロゲナム (*Penicillium purpurogenum*)、ファネロケータ・クリソスポリウム (*Phanerochaete chrysosporium*)、フレビア・ラジアタ (*Phlebia radiata*)、プレウロツス・エリンギイ (*Pleurotus eryngii*)、チエラビア・テルレストリス (*Thielavia terrestris*)、トラメテス・ビロサ (*Trametes villosa*)、トラメテス・ベルシコロール (*Trametes versicolor*)、トリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*)、トリコデルマ・コニンギイ (*Trichoderma koningii*)、トリコデルマ・ロンギブラキアツム (*Trichoderma longibrachiatum*)、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*)、またはトリコデルマ・ビリデ (*Trichoderma viride*) 細胞である。

【0585】

一実施形態では、組換え宿主細胞は、細菌宿主細胞；好ましくは、原核宿主細胞；より好ましくは、グラム陽性宿主細胞；さらに好ましくは、バチルス属 (*Bacillus*)、クロストリジウム属 (*Clostridium*)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、ゲオバチルス属 (*Geobacillus*)、ラクトバチルス属 (*Lactobacillus*)

10

20

30

40

50

ctobacillus)、ラクトコッカス属(Lactococcus)、オセアノバチルス属(Oceanobacillus)、スタフィロコッカス属(Staphylococcus)、ストレプトコッカス属(Streptococcus)、またはストレプトマイセス属(Streptomyces) 宿主細胞；ならびに最も好ましくは、バチルス・アルカロフィルス(Bacillus alkalophilus)、バチルス・アミロリケファシエンス(Bacillus amyloliquefaciens)、バチルス・ブレビス(Bacillus brevis)、バチルス・シルクランス(Bacillus circulans)、バチルス・クラウシイ(Bacillus clausii)、バチルス・コアグランス(Bacillus coagulans)、バチルス・フィルムス(Bacillus firmus)、バチルス・ラウツス(Bacillus lautus)、バチルス・レンツス(Bacillus lentus)、バチルス・リケニホルミス(Bacillus licheniformis)、バチルス・メガテリウム(Bacillus megaterium)、バチルス・プミルス(Bacillus pumilus)、バチルス・ステアロテルモフィルス(Bacillus stearothermophilus)、枯草菌(Bacillus subtilis)、およびバチルス・チューリンゲンシス(Bacillus thuringiensis) 宿主細胞である。

【0586】

一実施形態では、対象の第2ポリペプチドを生成する方法は、対象の第2ポリペプチドの産生を促す条件下で、宿主細胞を培養するステップを含む。

【0587】

一実施形態では、本方法は、対象の第2ポリペプチドを回収するステップをさらに含む。

【0588】

発酵ブロス配合物または細胞組成物

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドを含む、発酵ブロス配合物または細胞組成物にも関する。発酵ブロス配合物はさらに、発酵工程で使用される追加の成分、例えば、細胞(対象のポリペプチドを生成するのに用いられる、本発明のポリペプチドをコードする遺伝子を含む宿主細胞)、細胞残屑、バイオマス、発酵培地および／または発酵産物を含む。一部の実施形態では、組成物は、有機酸、死滅細胞および／または細胞残屑、ならびに培地を含む細胞死滅全ブロスである。

【0589】

本明細書で使用される場合、「発酵ブロス」という用語は、回収および／もしくは精製を全く経ないか、または最低限しか経ていない、細胞発酵により生成された調製物を指す。例えば、発酵ブロスは、微生物培養物を飽和まで増殖させ、タンパク質合成(例えば、宿主細胞による酵素の発現)および細胞培地中への分泌を可能にする炭素制限条件下でインキュベートするときに生成される。発酵ブロスは、発酵終了時に得られる発酵材料の非分画または分画内容物を含有し得る。典型的には、発酵ブロスは、非分画であり、遠心分離によって微生物細胞を除去した後には存在する使用済み培地および細胞残屑を含む。一部の実施形態では、発酵ブロスは、使用済み細胞培地、細胞外酵素、ならびに生存可能および／または生存不能微生物細胞を含有する。

【0590】

一実施形態では、発酵ブロス形成および細胞組成物は、少なくとも1つの炭素数1~5の有機酸および／またはその塩を含む第1有機酸成分と、少なくとも1つの炭素数6以上の有機酸および／またはその塩を含む第2有機酸成分とを含む。具体的な実施形態では、第1有機酸成分は、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、その塩、またはこれらの2種以上の混合物であり、第2有機酸成分は、安息香酸、シクロヘキサンカルボン酸、4-メチル吉草酸、フェニル酢酸、その塩、またはこれらの2種以上の混合物を含む。

【0591】

一態様では、組成物は、有機酸を含み、さらに任意選択で、死滅細胞および／または細胞残屑も含有する。一実施形態では、死滅細胞および／または細胞残屑を細胞死滅全ブロ

スから除去することにより、これらの成分を含まない組成物を取得する。

【0592】

発酵ブロス配合物または細胞組成物は、防腐剤および／または抗菌（例えば、静菌）剤を含有してもよく、こうしたものとして、限定するものではないが、ソルビトール、塩化ナトリウム、ソルビン酸カリウム、ならびに当業者には周知の他のものが挙げられる。

【0593】

細胞死滅全ブロスまたは組成物は、発酵終了時に得られる発酵材料の非分画内容物を含有し得る。典型的には、細胞死滅全ブロスまたは組成物は、微生物培養物を飽和まで増殖させ、タンパク質合成を可能にする炭素制限条件下でインキュベートした後存在する使用済み培地および細胞残屑を含む。一部の実施形態では、細胞死滅全ブロスまたは組成物は、使用済み細胞培地、細胞外酵素、ならびに細菌性細胞を含有する。一部の実施形態では、細胞死滅全ブロスまたは組成物に存在する微生物細胞は、当分野で公知の方法を用いて、透過処理および／または溶解させることができる。

10

【0594】

本明細書に記載する全ブロスまたは組成物は、典型的に、液体であるが、不溶性成分、例えば、死滅細胞、細胞残屑、培地成分、および／または不溶性酵素を含有し得る。一部の実施形態では、不溶性成分を除去することにより、清澄にした液体組成物を取得してもよい。

【0595】

本発明の全ブロス配合物および細胞組成物は、国際公開第90／15861号パンフレットまたは国際公開第2010／096673号パンフレットに記載されている方法によって生成することができる。

20

【0596】

組成物

本発明は、本発明のDNaseを含む組成物に関する。

【0597】

本発明のある態様は、少なくとも0.02 ppmのDNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ポリペプチドは、モチーフHXXPを含み、ここで、Hは、ヒスチジンであり、Pは、プロリン、およびXは、任意のアミノ酸である。

【0598】

DNaseの量は、好ましくは、組成物グラム当たり少なくとも0.02 ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり少なくとも0.00008、少なくとも0.0001、少なくとも0.0002、少なくとも0.0005、少なくとも0.0008、少なくとも0.001、少なくとも0.002、少なくとも0.005、少なくとも0.008、少なくとも0.01、少なくとも0.02、少なくとも0.05、少なくとも0.08、少なくとも0.1、少なくとも0.2、少なくとも0.5または少なくとも0.5 ppmの酵素タンパク質であってもよい。DNaseの量は、好ましくは、組成物グラム当たり少なくとも0.02 ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり0.00008～100、0.0001～100の範囲、0.0002～100の範囲、0.0004～100の範囲、0.0008～100の範囲、0.001～100 ppm酵素タンパク質の範囲、0.01～100 ppm酵素タンパク質、0.01～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.05～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.02～50 ppm酵素タンパク質、0.015～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.01～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.1～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.2～50 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.1～30 ppm酵素タンパク質、好ましくは0.5～20 ppm酵素タンパク質または好ましくは0.5～10 ppm酵素タンパク質であってもよい。

30

40

【0599】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H]H[I/V/L

50

／F／M] X [P／A／S]、[T／D／S] [G／N] PQL、[G／T] Y [D／S] [R／K／L]、[F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V]、C [D／N] T [A／R] および [D／Q] [I／V] DHの1つもしくは複数を含む。好ましくは、DNaseの量は、組成物グラム当たり少なくとも0.02ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり少なくとも0.00008、少なくとも0.0001、少なくとも0.0002、少なくとも0.0005、少なくとも0.0008、少なくとも0.001、少なくとも0.002、少なくとも0.005、少なくとも0.008、少なくとも0.01、少なくとも0.02、少なくとも0.05、少なくとも0.08、少なくとも0.1、少なくとも0.2、少なくとも0.5または少なくとも0.5ppmの酵素タンパク質であってもよい。

10

【0600】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[E／D／H] H [I／V／L／F／M] X [P／A／S]、[T／D／S] [G／N] PQL、[G／T] Y [D／S] [R／K／L]、[F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V]、C [D／N] T [A／R] および [D／Q] [I／V] DHの1つもしくは複数を含むが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*) DNaseではないものとする。好ましくは、DNaseの量は、組成物グラム当たり少なくとも0.02ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり少なくとも0.00008、少なくとも0.0001、少なくとも0.0002、少なくとも0.0005、少なくとも0.0008、少なくとも0.001、少なくとも0.002、少なくとも0.005、少なくとも0.008、少なくとも0.01、少なくとも0.02、少なくとも0.05、少なくとも0.08、少なくとも0.1、少なくとも0.2、少なくとも0.5または少なくとも0.5ppmの酵素タンパク質であってもよい。いくつかの態様では、モチーフ [G／T] Y [D／S] [R／K／L] [RKL] は、配列番号21の28～31位に対応する。いくつかの態様では、モチーフ [E／D／H] H [I／V／L／F／M] X [P／A／S] は、バチルス・シービー (*Bacillus cibi*) (配列番号21) の87～91位に対応する。

20

【0601】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[E／D／H] H [I／V／L／F／M] X [P／A／S]、[T／D／S] [G／N] PQL、[G／T] Y [D／S] [R／K／L]、[F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V]、C [D／N] T [A／R] および [D／Q] [I／V] DHの1つ、2つ、3つまたは全部を含む。好ましくは、DNaseの量は、組成物グラム当たり少なくとも0.02ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり少なくとも0.00008、少なくとも0.0001、少なくとも0.0002、少なくとも0.0005、少なくとも0.0008、少なくとも0.001、少なくとも0.002、少なくとも0.005、少なくとも0.008、少なくとも0.01、少なくとも0.02、少なくとも0.05、少なくとも0.08、少なくとも0.1、少なくとも0.2、少なくとも0.5または少なくとも0.5ppmの酵素タンパク質であってもよい。いくつかの態様では、モチーフ [F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V] (配列番号201) は、配列番号21の110～114位に対応する。

30

40

【0602】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、モチーフ：[E／D／H] H [I／V／L／F／M] X [P／A／S]、[T／D／S] [G／N] PQL、[G／T] Y [D／S] [R／K／L]、[F／L／Y／I] A [N／R] D [L／I／P／V]、C [D／N] T [A／R] および [D／Q] [I／V] DHの1つ、2つ、3つまたは全部を含み、

50

ここで、括弧内のアミノ酸は、代替的である。好ましくは、DNaseの量は、組成物グラム当たり少なくとも0.02ppmの酵素タンパク質であるが、組成物グラム当たり少なくとも0.00008、少なくとも0.0001、少なくとも0.0002、少なくとも0.0005、少なくとも0.0008、少なくとも0.001、少なくとも0.002、少なくとも0.005、少なくとも0.008、少なくとも0.01、少なくとも0.02、少なくとも0.05、少なくとも0.08、少なくとも0.1、少なくとも0.2、少なくとも0.5または少なくとも0.5ppmの酵素タンパク質であってもよいが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*) DNaseではないものとする。

10

【0603】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、GYSクレードに属し、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSGK（配列番号205）から選択される1つまたは複数のモチーフを含む。

【0604】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、GYSクレードに属し、モチーフ：[D/M/L][S/T]GYSR[D/N]（配列番号204）またはASXNRSGK（配列番号205）から選択される一方もしくは両方のモチーフを含み、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77および配列番号80に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

20

【0605】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、NAWKクレードに属し、且つ、ポリペプチドは、[V/I]PL[S/A]NAWK（配列番号206）またはNPQL（配列番号207）から選択される一方もしくは両方のモチーフを含む。

30

【0606】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、NAWKクレードに属し、且つ、ポリペプチドは、モチーフ[V/I]PL[S/A]NAWK（配列番号206）またはNPQL（配列番号207）から選択される一方もしくは両方のモチーフを含み、ここで、括弧内のアミノ酸は、代替的であり、Xは、任意のアミノ酸であり、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116および配列番号119に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドから選択される。

40

【0607】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、KNAWKクレードに属し、ポリペプチドは、モチーフP[Q/E]L[W/Y]（配列番号208）または[K/H/E]NAW（配列番号209）から選択される一方もしくは両方のモチーフを含み、ここで、括弧内の

50

アミノ酸は、代替的であり、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0608】

本発明のある態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、KNAWクレードに属し、ポリペプチドは、モチーフP[Q/E]L[W/Y]（配列番号208）または[K/H/E]NAW（配列番号209）から選択される一方もしくは両方のモチーフを含み、ここで、括弧内のアミノ酸は、代替的であり、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155および配列番号158、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択されるが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム（*Trichoderma harzianum*）DNaseではないものとする。

【0609】

本発明のいくつかの態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ[E/D/H]H[I/V/L/F/M]X[P/A/S]、[T/D/S][G/N]PQL、[G/T]Y[D/S][R/K/L]、[F/L/Y/I]A[N/R]D[L/I/P/V]、C[D/N]T[A/R]および[D/Q][I/V]DHから選択される1つまたは複数のモチーフを含み、ここで、括弧内のアミノ酸は、代替的であり、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197、またはそれと少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される。

【0610】

本発明のいくつかの態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：

a) 配列番号8のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

b) 配列番号9のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

c) 配列番号11のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

d) 配列番号12のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

e) 配列番号13のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

mm) 配列番号 122 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なく

50

ccc) 配列番号170のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有するポリペプチド、

50

d d d) 配列番号 173 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

e e e) 配列番号 176 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

f f f) 配列番号 179 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

g g g) 配列番号 182 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

h h h) 配列番号 185 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

i i i) 配列番号 188 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

j j j) 配列番号 191 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

k k k) 配列番号 194 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド、

l l l) 配列番号 197 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有するポリペプチド

からなる群から選択され、

任意選択で、ポリペプチドは、モチーフ [E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] および [D/Q] [I/V] DH の 1 つまたは複数を含み、ならびに任意選択で、組成物は、以下：

i. 好ましくは、グリセロール、(モノ、ジ、もしくはトリ) プロピレングリコール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、糖アルコール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、ズルシトール、イノシトール、キシリトールおよびアドニトールから選択される、1 種または複数種のポリオール、

ii. 任意選択で、好ましくは、プロテアーゼ、アミラーゼ、もしくはリパーゼから選択される、1 種または複数種の酵素、

iii. 任意選択で、好ましくは、アニオン性およびノニオン性界面活性剤から選択される、1 種または複数種の界面活性剤、

iii. 任意選択で、1 種または複数種のポリマーの 1 つまたは複数を含む。

[0611]

本発明に従って使用されるポリオール (または多価アルコール) は、2 個以上のヒドロキシル基を有するアルコール、例えば、多数のヒドロキシル基を有するアルコールである。ポリオールは、典型的に、10 個未満の炭素、例えば、9、8、7、6、5、4、または 3 個の炭素を含む。分子量は、典型的に、500 g/mol 未満、例えば、400 g/mol または 300 g/mol である。好適なポリオールの例として、限定されないが、グリセロール、(モノ、ジ、もしくはトリ) プロピレングリコール、エチレングリコール

10

20

30

40

50

、ポリエチレングリコール（例えば、PEG200-PEG800）、糖アルコール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、ズルシトール、イノシトール、キシリトールおよびアドニトールが挙げられる。

【0612】

本発明はさらに、DNase活性を有するポリペプチドおよび好ましくは洗剤補助成分を含む洗剤組成物にも関する。洗剤組成物は、品目からバイオフィルムを防止、低減または除去する、品目の粘着性を防止、低減または除去する、品目の汚れを前処理する、洗浄サイクル中の汚れの再付着を防止、低減または除去する、品目への汚れの付着を低減または除去する、品目の白色度を維持または改善する、ならびに例えば、アッセイIIに記載するE-2ノネナールなどの悪臭を品目から防止、低減または除去するために、使用することができる。本発明のポリペプチドを含む洗剤組成物は、従来技術の問題を解決する。

10

【0613】

DNase活性を有する本発明のポリペプチドは、粉末および液体洗剤において有用であり、両タイプの洗剤で高い性能を示す。これは、こうした洗剤の組成物および条件が非常に多様であるため、驚くべきことであり、本発明のポリペプチドの広範な性能範囲を示すものである。

【0614】

本発明の一実施形態では、洗剤組成物は、配列番号7、8、9および10からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseおよび洗剤補助剤を含む。

20

【0615】

本発明の一実施形態では、洗剤組成物は、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも75%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有するDNaseおよび洗剤補助剤を含む。

30

【0616】

本発明の一実施形態では、洗剤補助成分は、以下：界面活性剤、ビルダー、凝集助剤、キレート化剤、移染防止剤、酵素、酵素安定剤、酵素阻害剤、触媒材料、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素供給源、事前形成された過酸（performed peracid）、ポリマー分散剤、泥汚れ除去／再付着防止剤、増白剤、セッケン泡抑制剤、染料、香料、構造弾性化剤、布地柔軟剤、キャリア、ヒドロトロップ、ビルターおよびコビルダー、布地色相剤、消泡剤、分散剤、加工助剤、および／または顔料からなる群から選択される。

40

【0617】

洗剤補助成分は、好ましくは、界面活性剤であってよい。DNaseを含む洗剤組成物中に界面活性剤を含有させる1つの利点は、洗浄性能が向上することである。一実施形態では、洗剤補助成分は、ビルダーである。別の実施形態では、洗剤補助成分は、泥汚れ除去／再付着防止剤である。

50

【0618】

一実施形態では、洗剤補助成分は、酵素である。洗剤組成物は、本発明のDNase以外に、以下に具体的に挙げるように、1種または複数種の酵素を含んでもよい。1種または複数種の酵素は、プロテアーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、アミラーゼ、カルボヒドラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ、マンナーゼ、アラビナーゼ、ガラクタナーゼ、キシラナーゼおよびオキシダーゼからなる群から選択してもよい。本発明の洗剤組成物に適した具体的な酵素は、以下に記載する。

【0619】

一実施形態では、洗剤組成物は、以下：アシネトバクター属 (*Acinetobacter* sp.)、アエロミクロビウム属 (*Aeromicrobium* sp.)、ブレバンジモナス属 (*Brevundimonas* sp.)、ミクロバクテリウム属 (*Microbacterium* sp.)、ミクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*)、シュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.)、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、およびステノトロホモナス属 (*Stenotrophomonas* sp.) からなる群から選択される細菌の、表面への付着を低減する、またはそれらが付着した表面から細菌を解離させることができる。

【0620】

洗濯品目中でのバイオフィーム増殖は、既述したように多くの生物に由来し得る。バイオフィーム中の、1つの特に多量の細菌は、ブレバンジモナス属 (*Brevundimonas*) に由来する。本発明のDNaseは、細菌の増殖を抑制すると共に、これらの細菌によって蓄積される悪臭、粘着性および再付着を低減する上で特に効果的である。本発明の一実施形態は、悪臭の低減ならびに粘着性および再付着の低減における、配列番号7、8、9および10からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseの使用に関する。一実施形態は、配列番号7、8、9および10からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseの洗濯での使用に関し、ここで、DNaseは、例えばブレバンジモナス属 (*Brevundimonas*) 由来の細菌の付着を低減する。

【0621】

本発明の一実施形態は、悪臭、粘着性および／または再付着の低減を目的とする、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%または100%の配列同一性を有するDNaseの使用に関する。本発明の一実施形態は、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71

、配列番号 74、配列番号 77、配列番号 80、配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116、配列番号 119、配列番号 122、配列番号 125、配列番号 128、配列番号 131、配列番号 134、配列番号 137、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 146、配列番号 149、配列番号 152、配列番号 155、配列番号 158、配列番号 161、配列番号 164、配列番号 167、配列番号 170、配列番号 173、配列番号 176、配列番号 179、配列番号 182、配列番号 185、配列番号 188、配列番号 191、配列番号 194 および配列番号 197 からなる群から選択される D N a s e、またはそれと少なくとも 70 %、例えば少なくとも 80 %、例えば少なくとも 85 %、例えば少なくとも 90 % もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e の洗濯での使用に関し、ここで、D N a s e は、例えばブレバンジモナス属 (B r e v u n d i m o n a s) 由来の細菌の付着を低減する。

10

【0622】

本発明の一実施形態では、表面は、生地表面である。生地は、綿、綿／ポリエステル、ポリエステル、ポリアミド、ポリアクリルおよび／または絹から製造されたものでよい。

【0623】

一実施形態は、生地を洗濯する方法に関し、これは、以下：

a) 以下：配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 65、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 77、配列番号 80、配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116、配列番号 119、配列番号 122、配列番号 125、配列番号 128、配列番号 131、配列番号 134、配列番号 137、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 146、配列番号 149、配列番号 152、配列番号 155、配列番号 158、配列番号 161、配列番号 164、配列番号 167、配列番号 170、配列番号 173、配列番号 176、配列番号 179、配列番号 182、配列番号 185、配列番号 188、配列番号 191、配列番号 194 および配列番号 197 に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドからなる群から選択される D N a s e、またはそれと少なくとも 70 %、例えば少なくとも 80 %、例えば少なくとも 85 %、例えば少なくとも 90 % もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e を含む洗浄液と生地を接触させるステップ；および

20

30

b) 任意選択で、生地をすすぐステップを含み、ここで、生地は、少なくとも 20 % のポリエステルを含む。

【0624】

洗剤組成物は、バー、均質錠剤、2つ以上の層を有する錠剤、1つまたは複数のコンパートメントを有するポーチ、通常のもしくは圧縮された粉末、顆粒、ペースト、ゲル、または通常の、圧縮もしくは濃縮液体として配合してもよい。洗剤組成物は、液体洗剤、粉末洗剤または顆粒状洗剤であってよい。

40

【0625】

本発明の D N a s e は、洗濯などのクリーニング工程での使用に好適である。本発明はさらに、品目を洗濯する方法に関し、この方法は、

a. D N a s e 活性を有する、配列番号 7、8、9 および 10 を含むポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも 70 %、例えば少なくとも 80 %、例えば少なくとも 85 %、例えば少なくとも 90 % もしくは 100 % の配列同一性を有する D N a s e を含む洗浄液、あるいはポリペプチドを含む洗剤組成物に品目を曝露するステップ；

b. 少なくとも 1 つの洗浄サイクルを完了するステップ；ならびに

50

c. 任意選択で、品目をすすぐステップを含み、ここで、品目は生地である。

【0626】

本発明は、さらに、品目を洗濯する方法に関し、この方法は、

a. DNase 活性を有する、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseを含む洗浄液、あるいはポリペプチドを含む洗剤組成物に品目を曝露するステップ；

10

20

b. 少なくとも1つの洗浄サイクルを完了するステップ；ならびに

c. 任意選択で、品目をすすぐステップを含み、ここで、品目は生地である。

【0627】

溶液のpHは、1~11の範囲、例えば5.5~11の範囲、例えば7~9の範囲、7~8の範囲または7~8.5の範囲である。

【0628】

洗浄液は、5℃~95℃の範囲、または10℃~80℃の範囲、10℃~70℃の範囲、10℃~60℃の範囲、10℃~50℃の範囲、15℃~40℃の範囲、または20℃~30℃の範囲の温度であってよい。一実施形態では、洗浄液の温度は、30℃である。

30

【0629】

本発明の一実施形態では、品目を洗濯する方法は、洗浄サイクルの完了後に洗浄液または洗浄液の一部を排出するステップをさらに含む。次に、洗浄液を後の洗浄サイクルまたは後のすすぎサイクルで再利用することができる。第1の洗浄サイクル、任意選択で第2または第3の洗浄サイクル中に、品目を洗浄液に曝露させてもよい。一実施形態では、品目を洗浄液に曝露した後すすぐ。水またはコンディショナを含む水で品目をすすぐことができる。

【0630】

本発明はさらに、本発明の方法に従って洗浄される品目にも関する。

【0631】

DNase 活性を有する、配列番号7、8、9および10を含むポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば90%の配列同一性を有するDNaseを含む洗剤組成物は、バイオフィルムを解離させる、もしくはそれを除去するか、またはバイオフィルム形成を防止するために使用することができる。

40

【0632】

DNase 活性を有する、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号

50

74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseを含む洗剤組成物は、バイオフィルムを解離させる、もしくはそれを除去するか、またはバイオフィルム形成を防止するために使用することができる。

【0633】

本発明のDNaseを洗浄液に添加してもよい。

【0634】

従って、本発明の一実施形態は、1種または複数種のアニオン性界面活性剤；プロテアーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、アミラーゼ、カルボヒドラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ、マンナーゼ、アラビナーゼ、ガラクタナーゼ、キシラナーゼ、およびオキシダーゼからなる群から選択される酵素；ならびに、以下：配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択されるDNase、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseを含む洗剤組成物に関する。

【0635】

一実施形態は、さらに、生地洗净方法に関し、これは、

a. DNaseを含む洗浄液または少なくとも1種のDNaseを含む洗剤組成物に生地を曝露するステップ；

b. 少なくとも1つの洗浄サイクルを完了するステップ；ならびに

c. 任意選択で、生地をすすぐステップ

を含み、ここで、DNaseは、配列番号7、8、9および10を含むポリペプチドからなる群から選択されるか、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseである。

【0636】

一実施形態は、さらに、生地洗净方法に関し、これは、

a. DNaseを含む洗浄液または少なくとも1種のDNaseを含む洗剤組成物に生地を曝露するステップ；

b. 少なくとも1つの洗浄サイクルを完了するステップ；ならびに

c. 任意選択で、生地をすすぐステップ

を含み、ここで、DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseである。

【0637】

別の実施形態は、本発明の方法に従って洗浄される生地に関する。

【0638】

洗剤液中のDNaseの濃度は、典型的には、0.00004~100ppm酵素タンパク質の範囲、例えば、0.00008~100の範囲、0.0001~100の範囲、0.0002~100の範囲、0.0004~100の範囲、0.0008~100の範囲、0.001~100ppm酵素タンパク質の範囲、0.01~100ppm酵素タンパク質の範囲、好ましくは0.05~50ppm酵素タンパク質の範囲、より好ましくは0.1~50ppm酵素タンパク質の範囲、より好ましくは0.1~30ppm酵素タンパク質の範囲、より好ましくは0.5~20ppm酵素タンパク質の範囲、最も好ましくは0.5~10ppm酵素タンパク質の範囲である。

【0639】

本発明のDNaseは、少なくとも0.002mgのDNaseタンパク質、例えば、少なくとも0.004mgのDNaseタンパク質、少なくとも0.006mgのDNaseタンパク質、少なくとも0.008mgのDNaseタンパク質、少なくとも0.01mgのDNaseタンパク質、少なくとも0.1mgのタンパク質、好ましくは少なくとも1mgのタンパク質、より好ましくは少なくとも10mgのタンパク質、さらに好ましくは少なくとも15mgのタンパク質、非常に好ましくは少なくとも20mgのタンパク質、最も好ましくは少なくとも25mgのタンパク質に対応する量で、洗剤組成物に添加してよい。従って、洗剤組成物は、少なくとも0.00008%のDNaseタンパク質、好ましくは少なくとも0.002%、0.003%、0.004%、0.005%、0.006%、0.008%、0.01%、0.02%、0.03%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%または1.0%のDNaseタンパク質を含み得る。

【0640】

本発明の洗剤に存在する酵素、例えばプロテアーゼは、通常安定剤、例えば、プロピレングリコールもしくはグリセロールなどのポリオール、糖もしくは糖アルコール、NaClもしくはKClなどの各種塩を用いて、安定化させてもよい。本発明に従って用いられるポリオール（または多価アルコール）は、2つ以上のヒドロキシル基を有するアルコール、例えば、多数のヒドロキシル基を有するアルコールである。ポリオールは、典型的に、10個未満の炭素、例えば、9、8、7、6、5、4、または3個の炭素を含む。分子量は、典型的に、500g/mol未満、例えば、400g/molまたは300g/molである。好適なポリオールの例として、限定されないが、グリセロール、（モノ、ジ、もしくはトリ）プロピレングリコール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール（例えば、PEG200-PEG800）、糖アルコール、ソルビトール、マンニトール

ル、エリスリトール、ズルシトール、イノシトール、キシリトールおよびアドニトールが挙げられる。本発明の洗剤に存在する D N a s e は、乳酸、ギ酸、ホウ酸、もしくはホウ酸誘導体、例えば、芳香族ホウ酸エステル、または 4-ホルミルフェニルボロン酸などのフェニルボロン酸誘導体、またはジ-、トリ-もしくはテトラペプチドアルデヒドなどのペプチドアルデヒドまたはアルデヒド類似体（形態 $B1-B^0-R$ （式中、 R は、 H 、 CH_3 、 CX_3 、 CHX_2 、または CH_2X （ $X=ハロゲン$ ））、 B^0 は、単一のアミノ酸残基（好ましくは、任意選択で置換された脂肪族もしくは芳香族側鎖）であり； $B1$ は、1 個もしくは複数個のアミノ酸残基（好ましくは、1、2 もしくは 3 個）から成り、任意選択で N 末端保護基を含む）、あるいは国際公開第 2009/118375 号パンフレット、国際公開第 98/13459 号パンフレットに記載されるもののいずれか）または R A S I、B A S I、W A S I（イネ、オオムギおよびコムギの二官能価 α アミラーゼ／サブチリシン阻害剤）または C I 2 もしくは S S I などのタンパク質タイプのプロテアーゼ阻害剤によって安定化させてもよい。組成物は、国際公開第 92/19709 号パンフレット、国際公開第 92/19708 号パンフレットおよび米国特許第 6,472,364 号明細書に記載されるように配合してもよい。一部の実施形態では、本明細書で使用される酵素は、下記のようなイオンを酵素に供給する完成組成物中の亜鉛（II）、カルシウム（II）および／またはマグネシウム（II）イオンの水溶性供給源、ならびに他の金属イオン（例えば、バリウム（II）、スカンジウム（II）、鉄（II）、マンガン（II）、アルミニウム（II）、スズ（II）、コバルト（II）、銅（II）、ニッケル（II）、およびオキソバナジウム（IV））の存在によって安定される。

【0641】

一実施形態では、ペプチドアルデヒドまたはケトンを用いてポリペプチドを安定化させる。好適なペプチドアルデヒドは、国際公開第 94/04651 号パンフレット、同第 95/25791 号パンフレット、同第 98/13458 号パンフレット、同第 98/13459 号パンフレット、同第 98/13460 号パンフレット、同第 98/13461 号パンフレット、同第 98/13462 号パンフレット、同第 2007/141736 号パンフレット、同第 2007/145963 号パンフレット、同第 2009/118375 号パンフレット、同第 2010/055052 号パンフレットおよび同第 2011/036153 号パンフレットに記載されている。本発明のポリペプチドは、国際公開第 97/07202 号パンフレットに開示される洗剤配合物に含有させてもよく、この文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0642】

別の実施形態では、ポリペプチドは、フェニルボロン酸誘導体を用いて安定化され、これは、式：

【化1】



を有する 4-ホルミルフェニルボロン酸（4-FPBA）である。

【0643】

洗剤組成物は、例えば、プロピレングリコール、グリセロール、4-ホルミルフェニルボロン酸およびホウ酸塩からなる群から選択されるものなどの 2 種以上の安定剤を含んでもよい。

【0644】

洗剤組成物は、例えば、プロピレングリコール、グリセロール、4-ホルミルフェニルボロン酸およびホウ酸塩からなる群から選択されるものなどの 2 種以上の安定剤を含んでもよい。

【0645】

安定剤は、好ましくは、0.001～約5.0wt%、0.01～約2.0wt%、0.1～約3wt%、または0.5～約1.5wt%の量で洗剤組成物中に存在する。

【0646】

液体洗剤組成物

本発明のDNaseはまた、以下：

a) 洗剤リットル当たり少なくとも0.002mg、好ましくは、少なくとも0.005mgの活性DNaseタンパク質（DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9および配列番号10からなるリストから選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseである）

b) 2wt%～60wt%の少なくとも1種の界面活性剤、および／または

c) 5wt%～50wt%の少なくとも1種のビルダー

を含む液体洗濯組成物などの液体洗濯組成物に配合してもよい。

【0647】

さらに、本発明のDNaseは、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase（DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseから選択される）、

b) 2wt%～60wt%の1種もしくは複数種の界面活性剤、および／または

c) 5wt%～50wt%の1種もしくは複数種のビルダー

を含む液体洗濯組成物などの液体洗濯組成物に配合してもよい。

【0648】

本発明の一態様は、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase（DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも

90%もしくは100%の配列同一性を有するDNaseから選択される)、

b) 2wt%~60wt%の1種もしくは複数種の界面活性剤、および／または

c) 5wt%~50wt%の1種もしくは複数種のビルダー

を含むが、但し、ポリペプチドが、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*) DNaseではない、液体洗濯組成物に関する。

【0649】

界面活性剤は、前述したように、ノニオン性、アニオン性および／または両性界面活性剤、好ましくは、アニオン性もしくはノニオン性界面活性剤から選択してよいが、両性界面活性剤を使用してもよい。一般に、漂白剤安定性界面活性剤が好ましい。好ましいアニオン性界面活性剤は、硫酸塩界面活性剤であり、とりわけ、アルキルエーテル硫酸塩、特に、C9~15アルコールエーテル硫酸、C12~15第1級アルコールエトキシレート、C8~C16エステル硫酸塩およびC10~C14エーテル硫酸塩、例えば、モノドデシルエステル硫酸塩である。アニオン性界面活性剤の非限定的な例としては、硫酸塩およびスルホン酸塩、特に、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS)、LASの異性体、分岐アルキルベンゼンスルホン酸塩 (BABS)、フェニルアルカンスルホン酸塩、 α -オレフィンスルホン酸塩 (AOS)、オレフィンスルホン酸塩、アルケンスルホン酸塩、アルカン-2, 3-ジイルビス (硫酸塩)、ヒドロキシアルカンスルホン酸塩およびジスルホン酸塩、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) などの硫酸アルキル (AS)、脂肪族アルコール硫酸塩 (FAS)、第1級アルコール硫酸塩 (PAS)、アルコールエーテル硫酸塩 (アルコールエトキシ硫酸塩または脂肪族アルコールエーテル硫酸塩としても知られるAESまたはEOSまたはFES)、第2級アルカンスルホン酸塩 (SAS)、パラフィンスルホン酸塩 (PS)、スルホン酸エステル、スルホン化脂肪酸グリセロールエステル、スルホン酸メチルエステル (MES) を含む α -スルホ脂肪酸メチルエステル (α -SFMeまたはSES)、アルキル-またはアルケニルコハク酸、ドデセニル/テトラデセニルコハク酸 (DTSA)、アミノ酸の脂肪酸誘導体、スルホコハク酸のジエステルおよびモノエステルまたは脂肪酸の塩 (セッケン)、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。

【0650】

アニオン性界面活性剤は、塩の形態で洗剤に添加するのが好ましい。これらの塩において好適なカチオンは、ナトリウム、カリウムおよびリチウムなどのアルカリ金属イオン、およびアンモニウム塩、例えば、(2-ヒドロキシエチル) アンモニウム、ビス (2-ヒドロキシエチル) アンモニウムおよびトリス (2-ヒドロキシエチル) アンモニウム塩である。ノニオン性界面活性剤の非限定的な例としては、アルコールエトキシレート (AEまたはAEO)、アルコールプロポキシレート、プロポキシ化脂肪族アルコール (PFA)、エトキシ化および／またはプロポキシ化脂肪酸アルキルエステルなどのアルコキシ化脂肪酸アルキルエステル、アルキルフェノールエトキシレート (APE)、ノニルフェノールエトキシレート (NPE)、アルキルポリグリコシド (APG)、アルコキシ化アミン、脂肪酸モノエタノールアミド (FAM)、脂肪酸ジエタノールアミド (FADA)、エトキシ化脂肪酸モノエタノールアミド (EFAM)、プロポキシ化脂肪酸モノエタノールアミド (PFAM)、ポリヒドロキシアルキル脂肪酸アミド、または、グルコサミンのN-アシルN-アルキル誘導体 (グルカミド、GA、もしくは脂肪酸グルカミド、FAGA)、ならびに商品名SPANおよびTWEENで入手可能な生成物、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。市販されているノニオン性界面活性剤としては、BASF製のPlurafac (商標)、Lutensol (商標) およびPluronic (商標) レンジ、Cognis製のDehypon (商標) シリーズならびにClariant製のGenapol (商標) シリーズがある。

【0651】

ビルダーは、リン酸塩、クエン酸ナトリウムビルダー、炭酸ナトリウム、ケイ酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム (ゼオライト) から選択するのが好ましい。好適なビル

10

20

30

40

50

ダーは、アルカリ金属またはアンモニウムリン酸塩、ポリリン酸塩、ホスホン酸塩、ポリリン酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、ホウ酸塩、クエン酸塩、およびポリカルボン酸塩である。クエン酸塩ビルダー、例えば、クエン酸およびその可溶性塩（特にナトリウム塩）は、ポリカルボン酸ビルダーである。クエン酸塩は、ゼオライト、B R I T E S I Lタイプなどのケイ酸塩、および／または層状ケイ酸塩ビルダーと組み合わせて使用することができる。ビルダーは、約0～65重量%、例えば、約5%～約50重量%の量で添加するのが好ましい。洗濯洗剤の場合、ビルダーの量は、典型的に、約40～65重量%、特に約50～65重量%、とりわけ、約20～50重量%である。ビルダーおよび／またはコビルダーは、特に、CaおよびMgとの水溶性錯体を形成するキレート化剤であってもよい。クリーニング洗剤に使用される当技術分野で公知のいずれのビルダーおよび／またはコビルダーを使用してもよい。ビルダーの非限定的な例としては、ゼオライト、ニリン酸塩（ピロリン酸塩）、三リン酸ナトリウム（STPまたはSTPP）などの三リン酸塩、炭酸ナトリウムなどの炭酸塩、メタケイ酸ナトリウムなどの可溶性ケイ酸塩、層状ケイ酸塩（例えば、Hoechst製SKS-6）、および（カルボキシメチル）イヌリン（CMI）、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。さらにビルダーの非限定的な例としては、クエン酸塩、アミノカルボン酸塩、アミノポリカルボン酸塩およびホスホン酸塩などのキレート剤、ならびにアルキルまたはアルケニルコハク酸が挙げられる。別の具体例としては、2, 2', 2''-ニトリロ三酢酸（NTA）、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）、イミノジコハク酸（IDS）、エチレンジアミン-N, N'-ジコハク酸（EDDS）、メチルグリシン-N, N-二酢酸（MGDA）、グルタミン酸-N, N-二酢酸（GLDA）、1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸、N-（2-ヒドロキシエチル）イミノ二酢酸（EDG）、アスパラギン酸-N-酢酸（ASMA）、アスパラギン酸-N, N-二酢酸（ASDA）、アスパラギン酸-N-モノプロピオン酸（ASMP）、イミノジコハク酸（IDA）、N-（スルホメチル）アスパラギン酸（SMAS）、N-（2-スルホエチル）アスパラギン酸（SEAS）、N-（スルホメチルグルタミン酸（SMGL）、N-（2-スルホエチル）-グルタミン酸（SEGL）、N-メチルイミノ二酢酸（MIDA）、セリン-N, N-二酢酸（SEDA）、イソセリン-N, N-二酢酸（ISDA）、フェニルアラニン-N, N-二酢酸（PHDA）、アントラニル酸-N, N-二酢酸（ANDA）、スルファニル酸-N, N-二酢酸（SLDA）、タウリン-N, N-二酢酸（TUDA）およびN'-（2-ヒドロキシエチル）エチレンジアミン-N, N, N'-三酢酸（HEDTA）、ジエタノールグリシン（DEG）、ならびにこれらの組み合わせおよびこれらの塩が挙げられる。

【0652】

本明細書での使用に好適なホスホン酸塩としては、1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸（HEDP）、エチレンジアミンテトラキス（メチレンホスホン酸）（EDTMPA）、ジエチレントリアミンペンタキス（メチレンホスホン酸）（DTMPAもしくはDTPMPAもしくはDTPMP）、ニトリロトリス（メチレンホスホン酸）（ATMPもしくはNTMP）、2-ホスホノブタン-1, 2, 4-トリカルボン酸（PBTC）、ヘキサメチレンジアミンテトラキス（メチレンホスホン酸）（HDTMP）が挙げられる。

【0653】

組成物は、例えば、約5%～約30%といった、0～50重量%の洗剤コビルダーを含含有してもよい。

【0654】

洗剤組成物は、コビルダーを単独で含んでも、または、例えばゼオライトビルダーといったビルダーと組み合わせて含んでもよい。コビルダーの非限定的な例としては、ポリアクリレートホモポリマーまたはポリ（アクリル酸）（PAA）もしくはコポリ（アクリル酸／マレイン酸）（PAA／PMA）などのそのコポリマーあるいはポリアスパラギン酸が挙げられる。

【0655】

さらなる例示的なビルダーおよび／またはコビルダーは、例えば、国際公開第2009／102854号パンフレット、米国特許第5,977,053号明細書に記載されている。

【0656】

好ましい一実施形態では、ビルダーは、クエン酸および／またはメチルグリシン-N，N-二酢酸（MGDA）および／またはグルタミン-N，N-二酢酸（GLDA）および／またはこれらの塩などの非リンベースのビルダーである。

【0657】

好ましいビルダーが、クエン酸塩および／またはメチルグリシン-N，N-二酢酸（MGDA）および／またはグルタミン-N，N-二酢酸（GLDA）および／またはこれらの塩を含む事例において、洗濯組成物は、リン酸塩を含有しなくてもよい。

【0658】

本発明の一実施形態は、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase（DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される）

b) 1重量%～15重量%の1種もしくは複数種の界面活性剤（界面活性剤は、LAS、AEOSおよび／もしくはSLESである）ならびに／または

c) HEDP、DTMPAもしくはDTPMPAから選択される、5重量%～50重量%の1種もしくは複数種のビルダーを含む液体洗濯組成物に関する。

【0659】

本発明の一実施形態は、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase（DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される）、

b) 1重量%～15重量%の少なくとも1種の界面活性剤（界面活性剤は、LAS、AEOSおよび／もしくはSLESである）ならびに／または

c) HEDP、DTMPAもしくはDTPMPAから選択される、5重量%～50重量%の少なくとも1種のビルダーを含む液体洗濯組成物に関する。

【0660】

液体洗剤組成物は、典型的には少なくとも20重量%で、且つ95%以下の水、例えば、70%以下の水、50%以下の水、40%以下の水、30%以下の水、または20%以下の水を含有し得る。これらに限定されないが、アルカノール、アミン、ジオール、エーテルおよびポリオールなどの他のタイプの液体を水性液体洗剤に含有させてもよい。水性液体洗剤は、0～30%の有機溶媒を含有し得る。液体洗剤は、非水性であってもよく、

10

20

30

40

50

その場合、含水率は、10%未満、好ましくは5%未満である。

【0661】

粉末組成物

洗剤組成物は、洗濯または食器洗浄用の顆粒洗剤に配合することもできる。本発明の一実施形態は、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase (DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10を含むポリペプチドから選択されるか、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseである)

b) 5wt%~50wt%のアニオン性界面活性剤、および／または

c) 1wt%~8wt%のノニオン性界面活性剤、および／または

d) カルボン酸塩、ゼオライト、リン酸塩ビルダー、カルシウム封鎖ビルダーもしくは錯化剤などの5wt%~40wt%のビルダーを含む顆粒洗剤組成物に関する。

【0662】

本発明の一実施形態は、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase (DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)、

b) 5wt%~50wt%のアニオン性界面活性剤、および／または

c) 1wt%~8wt%のノニオン性界面活性剤、および／または

d) カルボン酸塩、ゼオライト、リン酸塩ビルダー、カルシウム封鎖ビルダーもしくは錯化剤などの5wt%~40wt%のビルダーを含む顆粒洗剤組成物に関する。

【0663】

界面活性剤は、前述したように、ノニオン性、アニオン性および／または両性界面活性剤、好ましくは、アニオン性もしくはノニオン性界面活性剤から選択してよいが、両性界面活性剤を使用してもよい。一般に、漂白剤安定性界面活性剤が好ましい。好ましいアニオン性界面活性剤は、硫酸塩界面活性剤であり、とりわけ、アルキルエーテル硫酸塩、特にC9~15アルコールエーテル硫酸、C12~15第1級アルコールエトキシレート、C8~C16エステル硫酸塩およびC10~C14エステル硫酸塩、例えば、モノドデシルエステル硫酸塩である。アニオン性界面活性剤の非限定的な例としては、硫酸塩およびスルホン酸塩、とりわけ、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)、LASの異性体、分岐アルキルベンゼンスルホン酸塩(BABS)、フェニルアルカンスルホン酸塩、α-オレフィンスルホン酸塩(AOS)、オレフィンスルホン酸塩、アルケンスルホン酸塩、アルカン-2, 3-ジイルビス(硫酸塩)、ヒドロキシアルカンスルホン酸塩およびジスルホン酸塩、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)などの硫酸アルキル(AS)、脂肪族アルコール硫酸塩(FAS)、第1級アルコール硫酸塩(PAS)、アルコールエーテ

10

20

30

40

50

ル硫酸塩（アルコールエトキシ硫酸塩または脂肪族アルコールエーテル硫酸塩としても知られるAESまたはAEOSまたはFES）、第2級アルカンスルホン酸塩（SAS）、パラフィンスルホン酸塩（PS）、スルホン酸エステル、スルホン化脂肪酸グリセロールエステル、スルホン酸メチルエステル（MES）を含む α -スルホ脂肪酸メチルエステル（ α -SFMeまたはSES）、アルキル-またはアルケニルコハク酸、ドデセニル／テトラデセニルコハク酸（DTSA）、アミノ酸の脂肪酸誘導体、スルホコハク酸のジエステルおよびモノエステルまたは脂肪酸の塩（セッケン）、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。

【0664】

アニオン性界面活性剤は、塩の形態で洗剤に添加するのが好ましい。これらの塩中の好適なカチオンは、ナトリウム、カリウムおよびリチウムなどのアルカリ金属イオン、およびアンモニウム塩、例えば、（2-ヒドロキシエチル）アンモニウム、ビス（2-ヒドロキシエチル）アンモニウムおよびトリス（2-ヒドロキシエチル）アンモニウム塩である。

【0665】

ノニオン性界面活性剤の非限定的な例としては、アルコールエトキシレート（AEまたはAEO）、アルコールプロポキシレート、プロポキシ化脂肪族アルコール（PFA）、エトキシ化および／またはプロポキシ化脂肪酸アルキルエステルなどのアルコキシル化脂肪酸アルキルエステル、アルキルフェノールエトキシレート（APE）、ノニルフェノールエトキシレート（NPE）、アルキルポリグリコシド（APG）、アルコキシル化アミン、脂肪酸モノエタノールアミド（FAM）、脂肪酸ジエタノールアミド（FADA）、エトキシ化脂肪酸モノエタノールアミド（EFAM）、プロポキシ化脂肪酸モノエタノールアミド（PFAM）、ポリヒドロキシルアルキル脂肪酸アミド、または、グルコサミンのN-アシルN-アルキル誘導体（グルカミド、GA、もしくは脂肪酸グルカミド、FAGA）、ならびに商品名SPANおよびTWEENで入手可能な生成物、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。

【0666】

市販されているノニオン性界面活性剤としては、BASF製のPlurafac（商標）、Lutensol（商標）およびPluronic（商標）レンジ、Cognis製のDehypon（商標）シリーズならびにClariant製のGenapol（商標）シリーズがある。

【0667】

ビルダーは、クエン酸塩、好ましくは、ナトリウム塩および／またはゼオライトのように非リン酸塩であってもよい。ホスホン酸塩ビルダーは、前述したもののいずれであってもよい。

【0668】

ビルダーは、前述したように、リン酸塩およびクエン酸ナトリウムビルダー、炭酸ナトリウム、ケイ酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム（ゼオライト）から選択するのが好ましい。好適なビルダーは前述したとおりであり、アルカリ金属またはアンモニウムリン酸塩、ポリリン酸塩、ホスホン酸塩、ポリホスホン酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、ホウ酸塩、ポリヒドロキシルスルホン酸塩、ポリアセテート、カルボン酸塩、クエン酸塩、およびポリカルボン酸塩を含む。クエン酸塩ビルダー、例えば、クエン酸およびその可溶性塩（特にナトリウム塩）は、ポリカルボン酸塩ビルダーである。ビルダーは、約0～65重量%、例えば、約5重量%～約50重量%、例えば5～40重量%、例えば10～40重量%、例えば10～30重量%、例えば15～20重量%または例えば20～40重量%の量で添加するのが好ましい。ビルダーは、1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸（HEDP）、エチレンジアミンテトラ（メチレンホスホン酸）（EDTMPA）、ジエチレントリアミンペンタキス（メチレンホスホン酸）（DTMPAもしくはDTPMPA）、ジエチレントリアミンペンタ（メチレンホスホン酸）（DTPMP）、アミノトリス（メチレンホスホン酸）（ATMP）、2-ホスホノブタン-1, 2, 4-トリカルボン酸（PBTC）およびヘキサメチレンジアミンテトラ（メチレンホスホン酸）（HDTMP

10

20

30

40

50

）をはじめとするホスホン酸塩ビルダーであってもよい。好ましいホスホン酸塩としては、1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸（HEDP）および／またはジエチレントリアミンペンタキス（メチレンホスホン酸）（DTMPAもしくはDTPMPA）が挙げられる。ホスホン酸塩は、組成物の約0.01重量％～約10重量％、好ましくは、0.1重量％～約5重量％、より好ましくは0.5重量％～3重量％のレベルの量で添加するのが好ましい。

【0669】

好ましいビルダーが、クエン酸塩、炭酸塩および／またはアルミノケイ酸ナトリウム（ゼオライト）を含む事例において、洗濯組成物は、リン酸塩を含有しなくてもよい。

【0670】

洗剤は、0～30重量％、例えば、約1％～約20％などの漂白系を含有してもよい。クリーニング洗剤に用いられる、当技術分野で公知の成分を含むいずれの漂白系を使用してもよい。好適な漂白系成分としては、過酸化水素の供給源；過酸の供給源；ならびに漂白触媒または漂白促進剤が挙げられる。

【0671】

過酸化水素の供給源：好適な過酸化水素の供給源は、無機過酸塩基であり、こうしたものとして、過炭酸ナトリウムおよび過ホウ酸ナトリウム（通常、一水和物または四水和物）、過酸化水素-尿素（1／1）などのアルカリ金属塩が挙げられる。

【0672】

過酸の供給源：過酸は、（a）事前に形成された過酸として直接組み込むか、または（b）過酸化水素および漂白活性化剤から洗浄液中に *in situ* で形成する（過加水分解（*perhydrolysis*））か、または（c）過酸化水素とペルヒドロラーゼ（*perhydrolase*）および後者の好適な基質、例えばエステルから、洗浄液中に形成することができる。

【0673】

a）好適な事前に形成した過酸としては、これらに限定されないが、ペルオキシ安息香酸およびその環置換誘導体などのペルオキシカルボン酸、ペルオキシ- α -ナフトエ酸、ペルオキシフタル酸、ペルオキシラウリン酸、ペルオキシステアリン酸、 ϵ -フタルイミドペルオキシカブロン酸〔フタルイミドペルオキシヘキサノ酸（PAP）〕、およびオ-カルボキシベンザミドペルオキシカブロン酸；ジペルオキシドデカン二酸、ジペルオキシアゼライン酸、ジペルオキシセバシン酸、ジペルオキシブラシル酸、2-デシルジペルオキシブタン二酸、ならびにジペルオキシフタル酸、ジペルオキシイソフタル酸およびジペルオキシテレフタル酸などの脂肪族および芳香族ジペルオキシジカルボン酸；ペルオキシ-硫酸；ペルオキシニ硫酸；ペルオキシリン酸；ペルオキシケイ酸；ならびに前記化合物の混合物が挙げられる。上に挙げた過酸は、場合によっては、アルカリ金属塩（例えば、Oxone（登録商標））またはアルカリ土類金属塩などの好適な塩として添加するのが最適であることは理解されよう。

【0674】

b）好適な漂白活性化剤は、エステル、アミド、イミド、ニトリルまたは無水物のクラスに属するもの、ならびに適用可能であれば、それらの塩を含む。好適な例は、テトラアセチルエチレンジアミン（TAED）、4-〔（3, 5, 5-トリメチルヘキサノイル）オキシ〕ベンゼン-1-スルホン酸ナトリウム（ISONOBS）、4-（ドデカノイルオキシ）ベンゼン-1-スルホン酸ナトリウム（LOBS）、4-（デカノイルオキシ）安息香酸塩（DOBA）、4-（ノナノイルオキシ）ベンゼン-1-スルホン酸ナトリウム（NOBS）、および／または国際公開第98／17767号パンフレットに開示されているものである。対象の漂白活性化剤の特定のファミリーが欧州特許第624154号明細書に開示されており、そのファミリーの中でも、クエン酸アセチルトリエチル（ATC）が特に好ましい。ATCまたは短鎖トリグリセリド様トリアセチンは、環境にやさしいという利点を有する。さらに、クエン酸アセチルトリエチルおよびトリアセチンは、貯蔵に際して生成物の良

10

20

30

40

50

好な加水分解安定性を有しており、これは効果的な漂白活性化剤である。最後に、ATCは、過加水分解反応中に放出されたクエン酸塩がビルダーとして機能し得るため、多機能性である。

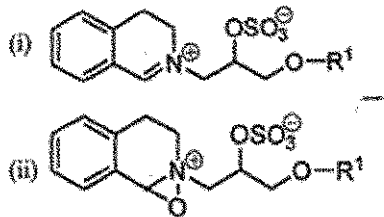
【0675】

漂白触媒および促進剤：漂白系は、さらに漂白触媒または促進剤を含んでもよい。本発明の組成物に使用することができる漂白触媒のいくつかの非限定的な例として、シュウ酸マンガン、酢酸マンガン、マンガン-コラーゲン、コバルト-アミン触媒およびマンガントリアザシクロノナン (MnTACN) 触媒が挙げられ；特に、1, 4, 7-トリメチル-1, 4, 7-トリアザシクロノナン (Me3-TACN) または1, 2, 4, 7-テトラメチル1, 4, 7-トリアザシクロノナン (Me4-TACN) とマンガンとの錯体、とりわけ、例えば、二核マンガン錯体 $[(Me_3-TACN)Mn(O)_3Mn(Me_3-TACN)](PF_6)_2$ 、および $[2, 2', 2''\text{-ニトリロトリス(エタン-1, 2-ジイラザニリリデン- κ N-メタニリリデン)トリフェノラト- κ 3O}]$ マンガン (III) などのMe3-TACNである。また、漂白触媒は、鉄またはコバルト錯体などの他の金属化合物であってもよい。

【0676】

過酸の供給源が含まれる一部の実施形態において、以下の式：

【化2】



(iii) およびこれらの混合物

(式中、各R1は、独立して、9～24個の炭素を含有する分岐アルキル基または11～24個の炭素を含有する直鎖アルキル基であり、好ましくは、各R1は、独立して、9～18個の炭素を含有する分岐アルキル基または11～18個の炭素を含有する直鎖アルキル基であり、より好ましくは、各R1は、独立して、2-プロピルヘプチル、2-ブチルオクチル、2-ペンチルノニル、2-ヘキシルデシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、オクタデシル、イソノニル、イソデシル、イソトリデシルおよびイソペンタデシルからなる群から選択される)

のうちの1つを有する有機漂白触媒または漂白促進剤を使用してもよい。

【0677】

他の例示的な漂白系は、例えば、国際公開第2007/087258号パンフレット、国際公開第2007/087244号パンフレット、国際公開第2007/087259号パンフレット、欧州特許第1867708号明細書 (ビタミンK) および国際公開第2007/087242号パンフレットに記載されている。好適な光漂白剤は、例えば、スルホン化亜鉛またはアルミニウムフタロシアニンであってよい。

【0678】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下：

a) 組成物グラム当たり少なくとも0.002mg、好ましくは、少なくとも0.005mgの活性DNase (DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9および配列番号10を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)

b) 10～50wt%のビルダー、および/または

c) 少なくとも1種の漂白成分 (漂白剤は、過酸化剤であり、漂白触媒は、マンガン化

合物である)

を含むクリーニング組成物にも関する。

【0679】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下；

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase (DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)、

b) 5~50wt%のビルダー、および／または

c) 少なくとも1種の漂白成分 (漂白剤は、過酸化物であり、漂白触媒は、マンガ化合物である)

を含むクリーニング組成物にも関する。

【0680】

酸素漂白剤は、好ましくは、過炭酸塩およびマンガ触媒、好ましくは1,4,7-トリメチル-1,4,7-トリアザシクロノナンまたは酢酸マンガ (III) 四水和物である。

【0681】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下：

a) 組成物グラム当たり少なくとも0.002ppmの活性DNase (DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9および配列番号10を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)

b) クエン酸、メチルグリシン-N, N-二酢酸 (MGDA) および／もしくはグルタミン酸-N, N-二酢酸 (GLDA) およびこれらの混合物から選択される、10~50wt%のビルダー、ならびに／または

c) 少なくとも1種の漂白成分 (漂白剤は、酸素漂白剤であり、漂白触媒は、マンガ化合物である)

を含むクリーニング組成物にも関する。

【0682】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下；

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase (DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列

番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)、

b) クエン酸、メチルグリシン-N, N-二酢酸(MGDA)および/もしくはグルタミン酸-N, N-二酢酸(GLDA)およびこれらの混合物から選択される、10~50wt%のビルダー、ならびに/または

c) 少なくとも1種の漂白成分(漂白剤は、酸素漂白剤であり、漂白触媒は、マンガン化合物である)

を含むクリーニング組成物にも関する。

【0683】

酸素漂白剤は、好ましくは、過炭酸塩およびマンガン触媒、好ましくは1, 4, 7-トリメチル-1, 4, 7-トリアザシクロノナンまたは酢酸マンガン(II)四水和物である。

【0684】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下：

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase(DNaseは、配列番号7、配列番号8、配列番号9および配列番号10を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)

b) クエン酸、メチルグリシン-N, N-二酢酸(MGDA)および/もしくはグルタミン酸-N, N-二酢酸(GLDA)およびこれらの混合物から選択される、10~50wt%のビルダー、ならびに/または

c) 0.1~40wt%、好ましくは0.5~30wt%の漂白成分(漂白成分は、過酸化物、好ましくは、過炭酸塩および金属含有漂白触媒、好ましくは1, 4, 7-トリメチル-1, 4, 7-トリアザシクロノナンまたは酢酸マンガン(II)四水和物である)を含むクリーニング組成物にも関する。

【0685】

一実施形態および既述の実施形態のいずれかによれば、本発明はさらに、以下；

a) 少なくとも0.002ppmの活性DNase(DNaseは、以下：配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197を含むポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するDNaseから選択される)、

b) クエン酸、メチルグリシン-N, N-二酢酸(MGDA)および/もしくはグルタミン酸-N, N-二酢酸(GLDA)およびこれらの混合物から選択される、10~50wt%のビルダー、ならびに/または

c) 0.1~40wt%、好ましくは0.5~30wt%の漂白成分(漂白成分は、過

10

20

30

40

50

酸化物、好ましくは、過炭酸塩および金属含有漂白触媒、好ましくは 1, 4, 7-トリメチル-1, 4, 7-トリアザシクロノナンまたは酢酸マンガニウム（II）四水和物である）を含むクリーニング組成物にも関する。

【0686】

洗剤組成物の選択には、生地ケアの場合、クリーニングする生地の種類、汚れの種類および／または程度、クリーニングが実施される温度、ならびに洗剤製品の配合の考慮が含まれ得る。以下に述べる成分は、具体的な機能性に従い概略的見出しにより分類するが、当業者には理解されるように、以下に記載する例示的な非限定的成分を含め、1つの成分が別の機能性を含む場合もあるため、これを限定として解釈すべきではない。

【0687】

ヒドロトロブ

クリーニング組成物は、0～10重量%、例えば約0～5重量%、例えば0.5%～約5%、または約3%～約5%のヒドロトロブを含んでもよい。洗剤に用いられる当技術分野において公知の任意のヒドロトロブを使用してよい。ヒドロトロブの非限定的な例としては、ベンゼンスルホン酸ナトリウム、p-トルエンスルホン酸ナトリウム（STS）、キシレンスルホン酸ナトリウム（XSS）、クメンスルホン酸ナトリウム（SCS）、シメンスルホン酸ナトリウム、アミノオキシド、アルコールおよびポリグリコールエーテル、ヒドロキシナフトエ酸ナトリウム、ヒドロキシナフタレンスルホン酸ナトリウム、エチルヘキシル硫酸ナトリウム、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。

【0688】

ポリマー

クリーニング組成物は、0.5～5%、2～5%、0.5～2%または0.2～1%などの0～10重量%のポリマーを含有する。洗剤において用いられる技術分野において公知であるいずれかのポリマーが利用され得る。ポリマーは、上記のとおりコビルダーとして機能し得、または、再汚染防止、繊維保護、汚染物遊離、移染防止、油脂クリーニングおよび／または消泡特性をもたらし得る。いくつかのポリマーは、上記の特性を2つ以上および／または下記モチーフを2つ以上有している場合がある。例示的なポリマーとしては、（カルボキシメチル）セルロース（CMC）、ポリ（ビニルアルコール）（PVA）、ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）、ポリ（エチレングリコール）またはポリ（エチレンオキシド）（PEG）、エトキシ化ポリ（エチレンイミン）、カルボキシメチルイヌリン（CMI）、および、PAAなどのポリカルボキシレート、PAA/PMA、ポリ-アスパラギン酸、および、ラウリルメタクリレート/アクリル酸コポリマー、疎水性修飾CMC（HM-CMC）およびシリコーン、テレフタル酸とオリゴマー系グリコールとのコポリマー、ポリ（エチレンテレフタレート）とポリ（オキシエテンテレフタレート）とのコポリマー（PET-POET）、PVP、ポリ（ビニルイミダゾール）（PVI）、ポリ（ビニルピリジン-N-オキシド）（PVPOまたはPVPNO）、ならびに、ポリビニルピロリドン-ビニルイミダゾール（PVPVI）が挙げられる。さらに例示的なポリマーとしては、スルホン化ポリカルボキシレート、ポリエチレンオキシドおよびポリプロピレンオキシド（PEO-PPO）およびジクアタニウムエトキシスルフェートが挙げられる。他の例示的なポリマーは、例えば、国際公開第2006/130575号パンフレットに開示されている。上記のポリマーの塩もまた予期される。

【0689】

布地色調剤

本発明のクリーニング組成物はまた、染料または顔料などの布地色調剤を含んでいてもよく、これは、洗剤組成物に配合された場合に、前記布地が前記洗剤組成物を含む洗浄液と接触させられる際に布地に付着し、これにより、可視光の吸収/反射を介して前記布地の色合いを変えることが可能である。蛍光性白色化剤は少なくともいくつかの可視光を放つ。対照的に、布地色調剤は、可視光スペクトルの少なくとも一部分を吸収することで表面の色合いを変える。好適な布地色調剤としては、染料および染料-クレイ複合体が挙げられ、また、顔料もまた挙げられ得る。好適な染料としては、微小分子染料および高分子

10

20

30

40

50

染料が挙げられる。好適な微小分子染料としては、例えば国際公開第2005/03274号パンフレット、国際公開第2005/03275号パンフレット、国際公開第2005/03276号パンフレットおよび欧州特許第1876226号明細書（本明細書において参照により援用される）に記載されている、Direct Blue、Direct Red、Direct Violet、Acid Blue、Acid Red、Acid Violet、Basic Blue、Basic VioletおよびBasic Red、または、これらの混合物の染料索引（C. I.）分類に属する染料からなる群から選択される微小分子染料が挙げられる。洗剤組成物は、約0.00003重量%～約0.2重量%、約0.00008重量%～約0.05重量%またはさらには約0.0001重量%～約0.04重量%の布地色調剤を含むことが好ましい。組成物は、0.0001重量%～0.2重量%の布地色調剤を含み得、これは、組成物が単位用量ポーチの形態である場合に特に好ましい場合がある。好適な色調剤はまた、例えば、国際公開第2007/087257号パンフレット、および国際公開第2007/087243号パンフレットに開示されている。

【0690】

酵素

本発明のクリーニング組成物は、例えばラッカーゼ、および／またはペルオキシダーゼといった、プロテアーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、アミラーゼ、カルボヒドラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ、マンナーゼ、アラビナーゼ、ガラクタナーゼ、キシラーゼ、オキシダーゼなどの1種または複数種の追加の酵素を含み得る。

【0691】

一般に、選択された酵素の特性は、選択された洗剤と適合性であるべきであり（すなわち、至適pH、他の酵素成分および非酵素成分との適合性など）、また、酵素は有効量で存在すべきである。

【0692】

セルラーゼ

好適なセルラーゼは、細菌性または真菌性由来のものを含む。化学的に修飾されたミュータントまたはタンパク質改変ミュータントが含まれる。好適なセルラーゼとしては、例えば、米国特許第4,435,307号明細書、米国特許第5,648,263号明細書、米国特許第5,691,178号明細書、米国特許第5,776,757号明細書および国際公開第89/09259号パンフレットに開示されている、フミコラ・インソレンス（*Humicola insolens*）、ミセリオフトラ・テルモフィラ（*Myceliophthora thermophila*）およびフザリウム・オキシスポルム（*Fusarium oxysporum*）から産生される真菌セルラーゼといった、バチルス属（*Bacillus*）、シュドモナス属（*Pseudomonas*）、フミコラ属（*Humicola*）、フザリウム属（*Fusarium*）、チエラピア属（*Thielavia*）、アクレモニウム属（*Acremonium*）由来のセルラーゼが挙げられる。

【0693】

特に好適なセルラーゼは、色の取り扱いに関する有益性を有するアルカリ性または中性セルラーゼである。このようなセルラーゼの例は、欧州特許第0,495,257号明細書、欧州特許第0,531,372号明細書、国際公開第96/11262号パンフレット、国際公開第96/29397号パンフレット、国際公開第98/08940号パンフレットに記載されているセルラーゼである。他の例は、国際公開第94/07998号パンフレット、欧州特許第0,531,315号明細書、米国特許第5,457,046号明細書、米国特許第5,686,593号明細書、米国特許第5,763,254号明細書、国際公開第95/24471号パンフレット、国際公開第98/12307号パンフレットおよび国際公開第99/001544号パンフレットに記載されているものなどのセルラーゼ変異体である。

【0694】

他のセルラーゼは、国際公開第2002/099091号パンフレットの配列番号2の1位～773位のアミノ酸配列に対して少なくとも97%同一性の配列を有するエンドーβ-1, 4-グルカナーゼ酵素、またはファミリー44キシログルカナーゼ（国際公開第2001/062903号パンフレットの配列番号2の40位～559位のアミノ酸配列に対して少なくとも60%同一性の配列を有するキシログルカナーゼ酵素である）。

【0695】

市販されているセルラーゼとしては、Celluzyme（商標）、およびCarezyme（商標）（Novozymes A/S）、Carezyme Premium（商標）（Novozymes A/S）、Celluclean（商標）（Novozymes A/S）、Celluclean Classic（商標）（Novozymes A/S）、Cellusoft（商標）（Novozymes A/S）、Whitezyme（商標）（Novozymes A/S）、Clazinase（商標）およびPuradax HA（商標）（Genencor International Inc.）およびKAC-500（B）（商標）（花王株式会社）が挙げられる。

【0696】

プロテアーゼ

好適なプロテアーゼは、細菌、真菌、植物、ウイルスもしくは動物由来、例えば、野菜または微生物由来のものを含む。微生物由来のものが好ましい。化学的に修飾されたミュータントまたはタンパク質改変ミュータントが含まれる。これは、セリンプロテアーゼまたはメタロプロテアーゼなどのアルカリ性プロテアーゼであってよい。セリンプロテアーゼは、例えば、S1ファミリー、例えば、トリプシン、またはスブチリシンなどのS8ファミリーのものであってよい。メタロプロテアーゼは、例えば、ファミリーM4などからのサーモリシン、またはM5、M7もしくはM8ファミリーのものなどの他のメタロプロテアーゼであってよい。

【0697】

「スブチラーゼ」という用語は、Siezen et al., Protein Engng. 4 (1991) 719-737およびSiezen et al. Protein Science 6 (1997) 501-523による、セリンプロテアーゼのサブグループを指す。セリンプロテアーゼは、活性部位にセリンを有することを特徴とするプロテアーゼのサブグループであり、これは、基質と一緒に共有結合付加体を形成する。スブチラーゼは、6つの下位区分、すなわち、スブチリシンファミリー、サーミターゼ（Thermitase）ファミリー、プロテイナーゼK（Proteinase K）ファミリー、ランチビオチック（Lantibiotic）ペプチダーゼファミリー、ケキシ（Kexin）ファミリーおよびピロリシン（Pyrolysin）ファミリーにさらに分類することができる。

【0698】

スブチラーゼの例は、米国特許第7,262,042号明細書および国際公開第2009/021867号パンフレットに記載されている、例えば、バチルス・レンツス（Bacillus lentus）、バチルス・アルカロフィルス（B. alkalophilus）、枯草菌（B. subtilis）、バチルス・アミロリケファシエンス（B. amyloliquefaciens）、バチルス・プミルス（Bacillus pumilus）およびバチルス・ギブソニ（Bacillus gibsonii）などのバチルス属（Bacillus）から得られるもの、ならびに国際公開第89/06279号パンフレットに記載されているスブチリシン・レンツス（subtilisin lentus）、スブチリシン（subtilisin）Novo、スブチリシン（subtilisin）Carlsberg、バチルス・リケニホルミス（Bacillus licheniformis）、スブチリシン（subtilisin）BNP'、スブチリシン（subtilisin）309、スブチリシン（subtilisin）147およびスブチリシン（subtilisin）168、ならびに（国際公開第93/18140号パンフレット）に記載されているプロテアーゼPD138である。その他の有用

なプロテアーゼの例は、国際公開第92/175177号パンフレット、国際公開第01/016285号パンフレット、国際公開第02/026024号パンフレットおよび国際公開第02/016547号パンフレットに記載されているものであり得る。トリプシン様プロテアーゼの例は、トリプシン（例えば、ブタまたはウシ由来）、ならびに国際公開第89/06270号パンフレット、国際公開第94/25583号パンフレットおよび国際公開第2005/040372号パンフレットに記載されているフザリウム属（*Fusarium*）プロテアーゼ、ならびに国際公開第2005/052161号パンフレットおよび国際公開第2005/052146号パンフレットに記載されているセルモナス（*Cellulomonas*）から得られるキモトリプシンプロテアーゼである。

【0699】

別の好ましいプロテアーゼは、国際公開第95/23221号パンフレットに記載されているバチルス・レンツス（*Bacillus lentus*）DSM5483からのアルカリ性プロテアーゼ、ならびに国際公開第92/21760号パンフレット、国際公開第95/23221号パンフレット、欧州特許第1921147号明細書および欧州特許第1921148号明細書に記載されているその変異体である。

【0700】

メタロプロテアーゼの例は、国際公開第2007/044993号明細書（*Genencort Int.*）に記載されている中性メタロプロテアーゼ、例えば、バチルス・アミロリケファシエンス（*Bacillus amyloliquefaciens*）から得られるものなどである。

【0701】

有用なプロテアーゼの例は、国際公開第92/19729号パンフレット、国際公開第96/034946号パンフレット、国際公開第98/20115号パンフレット、国際公開第98/20116号パンフレット、国際公開第99/011768号パンフレット、国際公開第01/44452号パンフレット、国際公開第03/006602号パンフレット、国際公開第2004/03186号パンフレット、国際公開第2004/041979号パンフレット、国際公開2007/006305号パンフレット、国際公開第2011/036263号パンフレット、国際公開第2011/036264号パンフレットに記載されている変異体であって、特に、BPN' 番号付けを用いて、以下の1つまたは複数の位置に置換を伴う変異体である：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および274。より好ましいスブチラーゼ変異体は、次の突然変異を有し得る：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（BPN' 番号付けを用いて）。

【0702】

有用なプロテアーゼの具体的例は、国際公開第92/19729号パンフレット、国際公開第96/034946号パンフレット、国際公開第98/20115号パンフレット、国際公開第98/20116号パンフレット、国際公開第99/011768号パンフレット、国際公開第01/44452号パンフレット、国際公開第03/006602号パンフレット、国際公開第04/03186号パンフレット、国際公開第04/041979号パンフレット、国際公開第07/006305号パンフレット、国際公開第11/036263号パンフレット、国際公開第11/036264号パンフレットに記載されている変異体であって、特に、下記の位置：3、4、9、15、24、27、42、55

10

20

30

40

50

、59、60、66、74、85、96、97、98、99、100、101、102、104、116、118、121、126、127、128、154、156、157、158、161、164、176、179、182、185、188、189、193、198、199、200、203、206、211、212、216、218、226、229、230、239、246、255、256、268および269の1つまたは複数に置換を伴う変異体であり、ここで、これらの位置は、国際公開第2016/001449号パンフレットの配列番号1に示されるバチルス・レンツス (*Bacillus Lentus*) プロテアーゼの位置に対応する。より好ましいスブチラーゼ変異体は、次の突然変異：S3T、V4I、S9R、S9E、A15T、S24G、S24R、K27R、N42R、S55P、G59E、G59D、N60D、N60E、V66A、N74D、N85S、N85R、G96S、G96A、S97G、S97D、S97A、S97S、S99E、S99D、S99G、S99M、S99N、S99R、S99H、S101A、V102I、V102Y、V102N、S104A、G116V、G116R、H118D、H118N、N120S、S126L、P127Q、S128A、S154D、A156E、G157D、G157P、S158E、Y161A、R164S、Q176E、N179E、S182E、Q185N、A188P、G189E、V193M、N198D、V199I、Y203W、S206G、L211Q、L211D、N212D、N212S、M216S、A226V、K229L、Q230H、Q239R、N246K、N255W、N255D、N255E、L256E、L256D、T268A、R269Hを有し得る。プロテアーゼ変異体は、国際公開第2016/001449号パンフレットの配列番号1に示されるバチルス・レンツス (*Bacillus Lentus*) プロテアーゼ (Savinase (登録商標))、国際公開第2016/001449号パンフレットの配列番号2に示されるバチルス・アミロリケニファシエンス (*Bacillus amylophilus*) プロテアーゼ (BPN') の変異体であるのが好ましい。プロテアーゼ変異体は、国際公開第2016/001449号パンフレットの配列番号1または配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有する。

【0703】

あるいは、プロテアーゼ変異体から選択されるプロテアーゼは、国際公開第2004/067737号パンフレットの配列番号1の171、173、175、179または180位に対応する1つまたは複数の位置に置換を含み、前記プロテアーゼ変異体は、国際公開第2004/067737号パンフレットの配列番号1と少なくとも75%、且つ100%未満の配列同一性を有する。

【0704】

好適な市販されているタンパク分解酵素としては、商品名：Alcalase (登録商標)、Duralase (商標)、Durazym (商標)、Relase (登録商標)、Relase (登録商標) Ultra、Savinase (登録商標)、Savinase (登録商標) Ultra、Primase (登録商標)、Polarzyme (登録商標)、Kannase (登録商標)、Liquanase (登録商標)、Liquanase (登録商標) Ultra、Ovozyme (登録商標)、Coronase (登録商標)、Coronase (登録商標) Ultra、Blaze、Blaze Evity (登録商標) 100T、Blaze Evity (登録商標) 125T、Blaze Evity (登録商標) 150T、Neutrased (登録商標)、Everlase (登録商標) および Esperase (登録商標) (Novozymes A/S) で販売されているもの、商品名：Maxatase (登録商標)、Maxacal (登録商標)、Maxapem (登録商標)、Purafect (登録商標)、Purafect Prime (登録商標)、Preferenz (商標)、Purafect MA (登録商標)、Purafect Ox (登録商標)、Purafect OxP (登録商標)、Puramax (登録商標)、Properase (登録商標)、Effectenz (商標)、FN2 (登録商標)、FN3 (登録商標)、FN4 (登録商標)、Excellase (登録商標)、Excellenz P1000 (商標)、Excellenz P12

50 (商標)、Eraser (登録商標)、Preferenz P100 (商標)、Purafect Prime (登録商標)、Preferenz P110 (商標)、Effectenz P1000 (商標)、Purafect (登録商標) (商標)、Effectenz P1050 (商標)、Purafect Ox (登録商標) (商標)、Effectenz P2000 (商標)、Purafast (登録商標)、Properase (登録商標)、Opticlean (登録商標) および Optimase (登録商標) (Danisco/DuPont)、Axapem (商標) (Gist-Brocades N.V.)、BLAP (米国特許第5352604号明細書の図29に示される配列) およびその変異体 (Henkel AG)、および KAP (バチルス・アルカロフィルス (*Bacillus alkalophilus*) スブチリシン) (花王株式会社製) で販売されているものが挙げられる。

10

【0705】

本発明のいくつかの態様は、DNase 活性を有するポリペプチドを含む洗剤、例えば、クリーニング組成物などの組成物に関し、ここで、DNase 活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194 および配列番号197 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択され、組成物は、さらに、下記の位置：3、4、9、15、24、27、42、55、59、60、66、74、85、96、97、98、99、100、101、102、104、116、118、121、126、127、128、154、156、157、158、161、164、176、179、182、185、188、189、193、198、199、200、203、206、211、212、216、218、226、229、230、239、246、255、256、268 および 269 の1つまたは複数に置換を含む、少なくとも0.01 ppmの1つまたは複数のプロテアーゼ変異体を含み、これらの位置は、国際公開第2011/036263号パンフレットの配列番号1に示されるプロテアーゼの位置に対応する。

20

30

【0706】

リパーゼおよびクチナーゼ

好適なリパーゼおよびクチナーゼは、細菌または真菌由来のものを含む。化学的に修飾されたミュータント酵素またはタンパク質改変ミュータント酵素が含まれる。例としては、欧州特許第258068号明細書および欧州特許第305216号明細書に記載されている、テルモマイセス属 (*Thermomyces*) 由来、例えば、*T. lanuginosus* (以前は *Fumicola lanuginosa*) と命名されていた) 由来のリパーゼ；例えば、*H. insolens* (といった *Fumicola* 属) 由来のクチナーゼ (国際公開第96/13580号パンフレット)、例えば、*P. alcaligenes* または *P. pseudoalcaligenes* (欧州特許第218272号明細書)、*P. cepacia* (欧州特許第331376号明細書)、シュードモナス属 (*P. sp.*) SD7

40

50

05株（国際公開第95/06720号パンフレットおよび国際公開第96/27002号パンフレット）、*P. ウィスコンシネンシス*（*P. wisconsinensis*）（国際公開第96/12012号パンフレット）といったシュードモナス属（*Pseudomonas*）（これらの一部は、現在、バークホルデリア属（*Burkholderia*）と改名されている）株由来のリパーゼ；GDSLタイプのストレプトマイセス（*Streptomyces*）リパーゼ（国際公開第2010/065455号パンフレット）、イネいもち病菌（*Magnaporthe grisea*）（国際公開第2010/107560号パンフレット）、シュードモナス・メンドシナ（*Pseudomonas mendocina*）由来のクチナーゼ（米国特許第5,389,536号明細書）、サーモビフィダ・フスカ（*Thermobifida fusca*）由来のリパーゼ（国際公開第2011/084412号パンフレット）、ジェオバシラス・ステアロサーモフィラス（*Geobacillus stearothermophilus*）リパーゼ（国際公開第2011/084417号パンフレット）、枯草菌（*Bacillus subtilis*）由来のリパーゼ（国際公開第2011/084599号パンフレット）、ならびにストレプトマイセス・グリセウス（*Streptomyces griseus*）（国際公開第2011/150157号パンフレット）およびストレプトマイセス・プリステナエスピラリス（*S. pristinaespiralis*）（国際公開第2012/137147号パンフレット）由来のリパーゼが挙げられる。

【0707】

他の例は、欧州特許第407225号明細書、国際公開第92/05249号パンフレット、国際公開第94/01541号パンフレット、国際公開第94/25578号パンフレット、国際公開第95/14783号パンフレット、国際公開第95/30744号パンフレット、国際公開第95/35381号パンフレット、国際公開第95/22615号パンフレット、国際公開第96/00292号パンフレット、国際公開第97/04079号パンフレット、国際公開第97/07202号パンフレット、国際公開第00/34450号パンフレット、国際公開第00/60063号パンフレット、国際公開第01/92502号パンフレット、国際公開第07/87508号パンフレットおよび国際公開第2009/109500号パンフレットに記載のものなどのリパーゼ変異体である。

【0708】

好ましい市販されているリパーゼ酵素としては、*Lipolase*（商標）、*Lipex*（商標）；*Lipolex*（商標）および*Lipoclean*（商標）（*Novozymes A/S*）、*Lumafast*（当初、*Genencor*から市販）および*Lipomax*（当初、*Gist-Brocades*から市販）が挙げられる。

【0709】

また別の例は、アシルトランスフェラーゼまたはペルヒドロラーゼと呼ばれこともあるリパーゼ、例えば、カンディダ・アンタラクティカ（*Candida antarctica*）リパーゼAとの相同体を有するアシルトランスフェラーゼ（国際公開第2010/111143号パンフレット）、マイコバクテリウム・スメグマチス（*Mycobacterium smegmatis*）由来のアシルトランスフェラーゼ（国際公開第2005/56782号パンフレット）、CE 7ファミリー由来のペルヒドロラーゼ（国際公開第2009/67279号パンフレット）、ならびに、*M. smegmatis*）ペルヒドロラーゼの変異体、特に、*Huntsman Textile Effects Pte Ltd*製の商品*Gentle Power Bleach*に使用されているS54V変異体（国際公開第10/100028号パンフレット）である。

【0710】

本発明のいくつかの態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む洗剤、例えば、クリーニング組成物などの組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号

10

20

30

40

50

53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択され、組成物は、さらに、以下：

a) 少なくとも0.01 ppmの1種または複数種のリパーゼを含む。

【0711】

アミラーゼ

本発明のDNaseと一緒に用いることができる、好適なアミラーゼは、 α -アミラーゼまたはグルコアミラーゼであってよく、細菌または真菌由来のいずれであってもよい。化学的に修飾されたミュータントまたはタンパク質改変ミュータントが含まれる。アミラーゼとしては、例えば、英国特許第1,296,839号明細書にさらに詳細に記載されているバチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) の特殊な系統といった、例えばバチルス属 (*Bacillus*) から得られる α -アミラーゼが挙げられる。

【0712】

好適なアミラーゼとしては、国際公開第95/10603号パンフレットに記載の配列番号2を有するアミラーゼ、またはその配列番号3に対して90%配列同一性を有する変異体が挙げられる。好ましい変異体は、国際公開第94/02597号パンフレット、国際公開第94/18314号パンフレット、国際公開第97/43424号パンフレットおよび国際公開第99/19467号パンフレットの配列番号4に記載の変異体、例えば、以下の1つまたは複数の位置に置換を伴う変異体である：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、および444。

【0713】

別の好適なアミラーゼとして、国際公開第02/10355号パンフレットに記載の配列番号6を有するアミラーゼ、または配列番号6に対して90%配列同一性を有する変異体が挙げられる。配列番号6の好ましい変異体は、181位および182位に欠失を有し、193位に置換を有するものである。

【0714】

好適な他のアミラーゼは、国際公開第2006/066594号パンフレットに記載の配列番号6に示されるバチルス・アミロリケファシエンス (*B. amyloliquefaciens*) から得られる α -アミラーゼの残基1~33と、国際公開第2006/066594号パンフレットに記載の配列番号4に示されるB. リケニホルミス (*B. licheniformis*) α -アミラーゼの残基36~483を含むハイブリッド α -アミラーゼまたはそれらの90%配列同一性を有する変異体である。このハイブリッド α -アミラーゼの好ましい変異体は、以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：G48、T49、G107、H156、A181、N190、M197、I201、A209およびQ264。国際公開第2006/066594号パンフレットに記載の配列番号6に示されるB. アミロリケファシエンス (*B. amyloliquefaciens*) から得られる α -アミラーゼの残基1~33と、配列番号4の残

基36～483を含むハイブリッドα-アミラーゼの最も好ましい変異体は、以下の置換を有するものである：

M197T；

H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S；または

G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F
+A209V+Q264S。

【0715】

好適なさらに別のアミラーゼは、国際公開第99／19467号パンフレットに記載の配列番号6を有するアミラーゼまたは配列番号6に対して90%配列同一性を有するその変異体である。配列番号6の好ましい変異体は、以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：R181、G182、H183、G184、N195、I206、E212、E216およびK269。特に好ましいアミラーゼは、R181およびG182位、またはH183およびG184位に欠失を有するものである。

【0716】

用いることができる別のアミラーゼは、国際公開第96／23873号パンフレットの配列番号1、配列番号3、配列番号2もしくは配列番号7を有するもの、または配列番号1、配列番号2、配列番号3もしくは配列番号7に対して90%配列同一性を有する変異体である。配列番号1、配列番号2、配列番号3もしくは配列番号7の好ましい変異体は、国際公開第96／23873号パンフレットの配列番号2を番号付けに用いて、以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：140、181、182、183、184、195、206、212、243、260、269、304および476。より好ましい変異体は、181、182、183および184から選択される2つの位置、例えば、181および182、182および183に欠失を有するものである。配列番号1、配列番号2もしくは配列番号7の最も好ましい変異体は、183および184位における欠失と、140、195、206、243、260、304および476の1つまたは複数の位置に置換を有するものである。

【0717】

用いることができる他のアミラーゼは、国際公開第2008／153815号パンフレットの配列番号2、国際公開第01／66712号パンフレットの配列番号10を有するアミラーゼ、または国際公開第2008／153815号パンフレットの配列番号2に対して90%配列同一性を有するその変異体、国際公開第01／66712号パンフレットの配列番号10に対して90%配列同一性を有する変異体である。国際公開第01／66712号パンフレットの配列番号10の好ましい変異体は、以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：176、177、178、179、190、201、207、211および264。

【0718】

さらに別の好適なアミラーゼは、国際公開第09／061380号パンフレットの配列番号2を有するアミラーゼまたはその配列番号2に対して90%配列同一性を有する変異体である。配列番号2の好ましい変異体は、C末端の切断および／または以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：Q87、Q98、S125、N128、T131、T165、K178、R180、S181、T182、G183、M201、F202、N225、S243、N272、N282、Y305、R309、D319、Q320、Q359、K444およびG475。配列番号2のより好ましい変異体は、以下の1つまたは複数の位置：Q87E、R、Q98R、S125A、N128C、T131I、T165I、K178L、T182G、M201L、F202Y、N225E、R、N272E、R、S243Q、A、E、D、Y305R、R309A、Q320R、Q359E、K444EおよびG475Kにおける置換、ならびに／または以下の位置：R180および／もしくはS181またはT182および／もしくはG183における欠失を伴うものである。配列番号2の最も好ましいアミラーゼ変異体は、以下の置換：

N 1 2 8 C + K 1 7 8 L + T 1 8 2 G + Y 3 0 5 R + G 4 7 5 K ;
N 1 2 8 C + K 1 7 8 L + T 1 8 2 G + F 2 0 2 Y + Y 3 0 5 R + D 3 1 9 T + G 4 7
5 K ;
S 1 2 5 A + N 1 2 8 C + K 1 7 8 L + T 1 8 2 G + Y 3 0 5 R + G 4 7 5 K ; または
S 1 2 5 A + N 1 2 8 C + T 1 3 1 I + T 1 6 5 I + K 1 7 8 L + T 1 8 2 G + Y 3 0
5 R + G 4 7 5 K

を有するものであり、変異体は、C末端切断されており、任意選択で、243位の置換ならびに／または180位および／もしくは181位の欠失をさらに含む。

【0719】

他の好適なアミラーゼは、国際公開第01／66712号パンフレットに記載の配列番号12を有する α -アミラーゼまたは配列番号12に対して少なくとも90%配列同一性を有する変異体である。好ましいアミラーゼ変異体は、国際公開第01／66712号パンフレットに記載の配列番号12の以下の1つまたは複数の位置に置換、欠失もしくは挿入を伴う変異体である：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。特に好ましいアミラーゼは、D183およびG184の欠失を有し、且つ、次の置換：R118K、N195F、R320KおよびR458Kを有する変異体、ならびに以下：M9、G149、G182、G186、M202、T257、Y295、N299、M323、E345およびA339の群から選択される1つまたは複数の位置に置換をさらに有する変異体であり、これらの位置に置換をさらに有する変異体が最も好ましい。

【0720】

他の例は、国際公開第2011／098531号パンフレット、国際公開第2013／001078号パンフレットおよび国際公開第2013／001087号パンフレットに記載されているものなどのアミラーゼ変異体である。

【0721】

市販されているアミラーゼは、Duramyl（商標）、Termamyl（商標）、Fungamyl（商標）、Stainzyme（商標）、Stainzyme Plus（商標）、Natalase（商標）、Liquozyme XおよびBAN（商標）（Novozymes A/Sから）、ならびにRapidase（商標）、Purastar（商標）／Effectenz（商標）、PoweraseおよびPreferenz S100（Genencor International Inc.／DuPontから）である。

【0722】

本発明のいくつかの態様は、DNase活性を有するポリペプチドを含む洗剤、例えば、クリーニング組成物などの組成物に関し、ここで、DNase活性を有するポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、

例えば70%、例えば80%、例えば少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択され、組成物は、さらに、以下：

a) 少なくとも0.01 ppmの1つまたは複数のアミラーゼ変異体を含み、ここで、変異体は、以下：

(i) 下記位置：9、26、30、33、82、37、106、118、128、133、149、150、160、178、182、186、193、195、202、203、214、231、256、257、258、269、270、272、283、295、296、298、299、303、304、305、311、314、315、318、319、320、323、339、345、361、378、383、419、421、437、441、444、445、446、447、450、458、461、471、482、484に1つまたは複数の置換を含み、これらの位置が、国際公開第2000/060060号パンフレットの配列番号2の位置に対応する、変異体；

(ii) 国際公開第96/023873号パンフレットの配列番号2と少なくとも90%の同一性を呈示し、183および184位に欠失を含む変異体；または

(iii) 国際公開第2008/112459号パンフレットの配列番号3と少なくとも95%の同一性を呈示し、下記位置：M202、M208、S255、R172および／もしくはM261の1つまたは複数の突然変異を含む変異体を含む。

【0723】

ペルオキシダーゼ／オキシダーゼ

本発明のペルオキシダーゼは、国際生化学分子生物学連合 (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) (IUBMB) の命名委員会 (Nomenclature Committee) により記載されている酵素分類EC1.11.1.7に含まれるペルオキシダーゼ酵素、またはそれから得られる、ペルオキシダーゼ活性を呈示するあらゆるいずれかの断片である。

【0724】

好適なペルオキシダーゼは、植物、細菌または真菌由来のものを含む。化学的に修飾されたミュータントまたはタンパク質改変ミュータントが含まれる。有用なペルオキシダーゼの例としては、例えば、ウシグソヒトヨタケ (*C. cinerea*) といったヒトヨタケ属 (*Coprinosis*) 由来のペルオキシダーゼ (欧州特許第179,486号明細書)、ならびに、国際公開第93/24618号パンフレット、国際公開第95/10602号パンフレットおよび国際公開第98/15257号パンフレットに記載されているものなどのその変異体が挙げられる。

【0725】

本発明のペルオキシダーゼはまた、クロロペルオキシダーゼ、ブロモペルオキシダーゼなどのハロペルオキシダーゼ酵素、およびクロロペルオキシダーゼまたはブロモペルオキシダーゼ活性を呈示する化合物も含む。ハロペルオキシダーゼは、ハロゲン化物イオンに対する特異性に従って分類される。クロロペルオキシダーゼ (EC1.11.1.10) は、塩化物イオンからの次亜塩素酸塩の形成を触媒する。

【0726】

一実施形態では、本発明のハロペルオキシダーゼは、クロロペルオキシダーゼである。好ましくは、ハロペルオキシダーゼは、バナジウムペルオキシダーゼ、すなわち、バナジン酸塩含有ハロペルオキシダーゼである。本発明の好ましい方法において、バナジン酸塩含有ハロペルオキシダーゼは、塩化物イオンの供給源と組み合わせる。

【0727】

ハロペルオキシダーゼは、多種の真菌、特に、暗色線菌科 (*dematiaceous hyphomycetes*) の真菌群、例えば、*C. フマゴ* (*C. fumago*) などのカルダリオマイセス属 (*Caldariomyces*)、アルテルナリア属 (*Alternaria*)、例えば、*C. ベルクローサ* (*C. verruculosa*) および *C. イ*

10

20

30

40

50

ナエクアリス (*C. inaequalis*) などのクルブラリア属 (*Curvularia*)、ドレクスレラ属 (*Drechslera*)、ウロクラジウム属 (*Ulocladium*) およびボトリチス属 (*Botrytis*) から単離されている。

【0728】

ハロペルオキシダーゼはまた、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、例えば、*P. ピロシニア* (*P. pyrrocinia*) およびストレプトマイセス属 (*Streptomyces*)、例えば、*S. オーレオファシエンス* (*S. aureofaciens*) などの細菌からも単離されている。

【0729】

好ましい実施形態では、ハロペルオキシダーゼは、クルブラリア属 (*Curvularia* sp.)、特に、クルブラリア・ベルクローサ (*Curvularia verruculosa*) およびクルブラリア・イナエクアリス (*Curvularia inaequalis*)、例えば、国際公開第95/27046号パンフレットに記載の *C. イナエクアリス* (*C. inaequalis*) CBS102.42; または国際公開第97/04102号パンフレットに記載の *C. ベルクローサ* (*C. verruculosa*) CBS147.63 もしくは *C. ベルクローサ* (*C. verruculosa*) CBS444.70; または国際公開第01/79459号パンフレットに記載のドレクスレラ・ハルトレヴィイ (*Drechslera hartlebii*)、国際公開第01/79458号パンフレットに記載のデンドリフィエラ・サリナ (*Dendryphiella salina*)、国際公開第01/79461号パンフレットに記載のファエオトリコニス・クロタリエ (*Phaeotrichoconis crotalarie*)、または国際公開第01/79460号パンフレットに記載のジェニクロスポリウム属 (*Geniculosporium* sp.) から得ることができる。

【0730】

本発明のオキシダーゼは、特に、酵素分類 EC1.10.3.2 に含まれるいずれかのラッカーゼ酵素、またはそれから得られる、ラッカーゼ活性を呈示するいずれかの断片、または類似の活性を呈示する化合物、例えば、カテコールオキシダーゼ (EC1.10.3.1)、*o*-アミノフェノールオキシダーゼ (EC1.10.3.4)、またはビルルビンオキシダーゼ (EC1.3.3.5) である。

【0731】

好ましいラッカーゼ酵素は、微生物由来の酵素である。酵素は、植物、細菌または真菌 (糸状真菌および酵母を含む) から得ることができる。

【0732】

真菌由来の好適な例としては、以下の株: アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、ニューロスポラ属 (*Neurospora*)、例えば、*N. クラッサ* (*N. crassa*)、ポドスポラ属 (*Podospora*)、ボトリチス属 (*Botrytis*)、コリビア属 (*Collybia*)、ツリガネタケ属 (*Fomes*)、レンチヌス (*Lentinus*)、ヒラタケ属 (*Pleurotus*)、カワラタケ属 (*Trametes*)、例えば、フルイカワラタケ (*T. villosa*) およびカワラタケ (*T. versicolor*)、リゾクトニア属 (*Rhizoctonia*)、例えば、*R. ソラニ* (*R. solani*)、ヒヨタケ属 (*Coprinopsis*)、例えば、ウシグソヒトヨタケ (*C. cinerea*)、ササクレヒトヨタケ (*C. comatus*)、ヒメヒトヨタケ (*C. friesii*)、およびヒメヒガサヒトヨタケ (*C. plicatilis*)、ナヨタケ属 (*Psathyrella*)、例えば、イタチタケ (*P. condelleana*)、ヒカゲタケ属 (*Panaeolus*)、例えば、ワライタケ (*P. papilionaceus*)、ミセリオフトラ属 (*Myceliophthora*)、例えば、*M. サーモフィラ* (*M. thermophila*)、シタリジウム属 (*Schytalidium*)、例えば、*S. サーモフィルム* (*S. thermophilum*)、ポリポルス属 (*Polyporus*)、例えば *P. ピンシツス* (*P. pinsitus*)、フレビア属 (*Phlebia*)、例えば、*P. ラジアータ* (*P. radiata*) (国際公開第92/

10

20

30

40

50

01046号パンフレット)、またはコリオルス属 (*Coriolus*)、例えば、*C. ヒルスツス* (*C. hirsutus*) (JP第2238885号公報) から得られるラッカーゼが挙げられる。

【0733】

細菌由来の好適な例としては、バチルス属 (*Bacillus*) の株から得られるラッカーゼが挙げられる。

【0734】

ヒトヨタケ属 (*Coprinopsis*) またはミセリオフトラ属 (*Myceliophthora*) 由来のラッカーゼ; 特に、国際公開第97/08325号パンフレットに開示のウシグソヒトヨタケ (*Coprinopsis cinerea*) から得られるラッカーゼ; または国際公開第95/33836号パンフレットに開示のミセリオフトラ・サーモフィラ (*Myceliophthora thermophila*) が好ましい。

【0735】

洗剤酵素は、1種または複数種の酵素を含有する個別の添加剤を加えることにより、または、これらの酵素のすべてを含む複合添加剤を加えることにより、洗剤組成物に含まれていてもよい。本発明の洗剤添加剤 (すなわち、個別の添加剤または複合添加剤) は、例えば、粒質物、液体、スラリーなどとして配合されることが可能である。好ましい洗剤添加剤配合物は、粒質物、特に非発塵性粒質物、液体、特に安定化された液体またはスラリーである。

【0736】

他の材料

本発明のクリーニング組成物において用いられる技術分野において公知であるいずれかの洗剤成分もまた利用され得る。他の任意の洗剤成分としては、単独もしくは組み合わせで、耐食剤、収縮防止剤、再汚染防止剤、しわ防止剤、殺菌剤、バインダ、腐食抑制剤、崩壊剤/分解剤、染料、酵素安定化剤 (ホウ酸、ホウ酸塩、CMC、および/または、プロピレングリコールなどのポリオールを含む)、クレイを含む布地コンディショナ、充填材/加工助剤、蛍光性白色化剤/光学増白剤、起泡増進剤、起泡 (セッケンの泡) 調節剤、香料、汚染物-懸濁剤、軟化剤、セッケン泡抑制剤、色あせ防止剤、および、ウィッキング剤が挙げられる。洗剤において用いられる技術分野において公知であるいずれかの処方成分が利用され得る。このような処方成分の選択は十分に当業者の技能の範囲内である。

【0737】

分散剤

本発明のクリーニング組成物はまた、分散剤を含有することが可能である。特に粉末洗剤が分散剤を含んでいてもよい。好適な水溶性有機材料としては、ホモ-またはコポリマー酸またはその塩が挙げられ、ここで、ポリカルボン酸は、2個以下の炭素原子によって相互に分離された少なくとも2つのカルボキシルラジカルを含む。好適な分散剤は、例えば、Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71, Marcel Dekker, Inc. に記載されている。

【0738】

移染防止剤

本発明のクリーニング組成物はまた、1種または複数種の移染防止剤を含み得る。好適な高分子移染防止剤としては、これらに限定されないが、ポリビニルピロリドンポリマー、ポリアミンN-オキシドポリマー、N-ビニルピロリドンおよびN-ビニルイミダゾールのコポリマー、ポリビニルオキサゾリドンおよびポリビニルイミダゾールまたはこれらの混合物が挙げられる。主題の組成物中に存在する場合、移染防止剤は、組成物の約0.0001%~約10%、約0.01%~約5%、または、さらには約0.1%~約3重量%のレベルで存在し得る。

【0739】

蛍光性白色化剤

本発明のクリーニング組成物はまた、好ましくは、蛍光性白色化剤または光学増白剤などのクリーニングされる物品の色合いを変え得る追加の成分を含有するであろう。存在する場合、増白剤は、約0.01%～約0.5%のレベルであることが好ましい。ランドリー洗剤組成物での使用に好適であれば、どんな蛍光性白色化剤を本発明の組成物に用いてもよい。最も一般的に用いられる蛍光性白色化剤は、ジアミノスチルベンスルホン酸誘導体、ジアリールピラゾリン誘導体およびビスフェニルジスチリル誘導体のクラスに属するものである。ジアミノスチルベンスルホン酸誘導体タイプの蛍光性白色化剤の例としては、以下：4,4'-ビス-(2-ジエタノールアミノ-4-アニリノ-s-トリアジン-6-イルアミノ)スチルベン-2,2'-ジスルホネート、4,4'-ビス-(2,4-ジアニリノ-s-トリアジン-6-イルアミノ)スチルベン-2,2'-ジスルホネート、4,4'-ビス-(2-アニリノ-4-(N-メチル-N-2-ヒドロキシエチルアミノ)-s-トリアジン-6-イルアミノ)スチルベン-2,2'-ジスルホネート、4,4'-ビス-(4-フェニル-1,2,3-トリアゾール-2-イル)スチルベン-2,2'-ジスルホネートおよびナトリウム5-(2H-ナフト[1,2-d][1,2,3]トリアゾール-2-イル)-2-[(E)-2-フェニルビニル]ベンゼンスルホネートのナトリウム塩が挙げられる。好ましい蛍光性白色化剤は、Ciba-Geigy AG, Basel, Switzerlandから市販されているTinopal DMSおよびTinopal CBSである。Tinopal DMSは、4,4'-ビス-(2-モルホリノ-4-アニリノ-s-トリアジン-6-イルアミノ)スチルベン-2,2'-ジスルホネートの二ナトリウム塩である。Tinopal CBSは、2,2'-ビス-(フェニル-スチリル)-ジスルホネートの二ナトリウム塩である。また、好ましい蛍光性白色化剤は、Paramount Minerals and Chemicals, Mumbai, India製の市販のParawhite KXである。Tinopal CBS-Xは、ジスチリルビスフェニルジスルホン酸二ナトリウムとしても知られている、4,4'-ビス-(スルホスチリル)-ビスフェニル二ナトリウム塩である。本発明における使用に好適な他の蛍光剤としては、1-3-ジアリールピラゾリンおよび7-アルキルアミノクマリンが挙げられる。

【0740】

好適な蛍光性増白剤レベルは、約0.01、0.05、約0.1、または、さらには約0.2重量%の下限レベルから、0.5またはさらには0.75重量%の上限レベルを含む。

【0741】

汚染物遊離ポリマー

本発明のクリーニング組成物はまた、綿およびポリエステル系布地などの布地からの汚染物の除去、特にポリエステル系布地からの疎水性汚染物の除去を補助する1種または複数種の汚染物遊離ポリマーを含み得る。汚染物遊離ポリマーは、例えば、ノニオン性またはアニオン性テレフタレート系ポリマー、ポリビニルカプロラクタムおよび関連するコポリマー、ビニルグラフトコポリマー、ポリエステルポリアミドであり得る(例えばChapter 7, Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71, Marcel Dekker, Inc.を参照のこと)。他のタイプの汚染物遊離ポリマーは、コア構造と、このコア構造に結合した複数のアルコキシレート基とを含む両親媒性アルコキシ化油脂クリーニングポリマーである。コア構造は、国際公開第2009/087523号パンフレット(本明細書において参照により援用されている)に詳述されているとおり、ポリアルキレンイミン構造またはポリアルカノールアミン構造を含み得る。さらに、ランダムグラフトコポリマーは、好適な汚染物遊離ポリマーである。好適なグラフトコポリマーは、国際公開第2007/138054号パンフレット、国際公開第2006/108856号パンフレットおよび国際公開第2006/113314号パンフレット(本明細書において参照により援用されている)により詳細に記載されている。他の汚染物遊離ポリマーは、欧州特許第1867808号明細書または国際公開第2003/040279号パンフレット(共に本明細

10

20

30

40

50

書において参照により援用されている)に記載されているものなどの変性セルロース誘導体などの特に置換セルロース系構造といった置換多糖類構造である。好適なセルロース系ポリマーとしては、セルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、セルロースアミドおよびこれらの混合物が挙げられる。好適なセルロース系ポリマーとしては、アニオン性変性セルロース、ノニオン性変性セルロース、カチオン性変性セルロース、両性イオン性変性セルロース、および、これらの混合物が挙げられる。好適なセルロース系ポリマーとしては、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシルエチルセルロース、ヒドロキシルプロピルメチルセルロース、エステルカルボキシメチルセルロースおよびこれらの混合物が挙げられる。

【0742】

再汚染防止剤

本発明のクリーニング組成物としてはまた、カルボキシメチルセルロース(CMC)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリオキシエチレンおよび／またはポリエチレングリコール(PEG)、アクリル酸のホモポリマー、アクリル酸とマレイン酸とのコポリマー、ならびに、エトキシ化ポリエチレンイミンなどの1種または複数種の再汚染防止剤が挙げられ得る。上記の汚染物遊離ポリマーに記載のセルロース系ポリマーは、再汚染防止剤としても機能し得る。

【0743】

レオロジー改質剤

本発明のクリーニング組成物は、粘度降下剤とは異なる、1種または複数種のレオロジー改質剤、構造化剤(structurant)または増粘剤を含んでもよい。粘度降下剤は、液体洗剤組成物の水性液体マトリックスにせん断減粘性を付与する、非ポリマー性結晶、ヒドロキシー機能材料、ポリマー性レオロジー改質剤からなる群から選択される。洗剤のレオロジーおよび粘性は、例えば、欧州特許第2169040号明細書に示すように、当分野で公知の方法により、改変および調節することができる。

【0744】

その他の好適な補助材としては、これらに限定されないが、収縮防止剤、しわ防止剤、殺菌剤、バインダ、キャリア、染料、酵素安定化剤、布地軟化剤、充填材、起泡調節剤、ヒドロトロップ、香料、顔料、セッケン泡抑制剤、溶剤、液体洗剤用構造化剤、および／または、構造弾性化剤が挙げられる。

【0745】

抗寄生体／ウイルス化合物

クリーニング組成物は、さらに、抗寄生体化合物を含んでもよく、これは、以下：ベンザゾール、例えば、アルベンダゾール、メベンダゾールおよびチアベンダゾール；アゾール、例えば、メトロニダゾールおよびチニダゾール；大環状化合物、例えば、アムホテリシンB、リファンピンおよびイベルメクチン；パモ酸ピランテル；ジエチルカルバマジン；ニコロサミド；プラジカンテル；メラルソプロ；およびエフロルニチンのうちの1つまたは複数であってよい。

【0746】

抗ウイルス化合物は、以下：ヌクレオシド類似体逆転写酵素阻害剤、例えば、アシクロビル、ジダノシン、スタブジン、ジドブジン、ラミブジン、アバカビル、エムトリシタビンおよびエンテカビル；脱殻阻害剤、例えば、アマンタジン、リマンタジンおよびプレコナリル；プロテアーゼ阻害剤、例えば、サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネルフィナビルおよびアンプレナビル；ザナミビル；オセルタミビル；およびリファンピンのうちの1つまたは複数であってよい。抗菌化合物は、以下：アミノグリコシド、例えば、ゲンタマイシン、カナマイシンおよびストレプトマイシン；β-ラクタム、例えば、ペニシリン、アンピシリンおよびイミペネム；セファロスポリン、例えば、セフトジウム、キノリン、例えば、シプロフロキサシン；マクロリド、例えば、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシンおよびテリスロマイシン；オキサゾリジノン、例えば、リネゾリド；アンサマイシン、例えば、リファマ

10

20

30

40

50

イシン；スルホンアミド；テトラサイクリン、例えば、ドキシサイクリン；グリコペプチド、例えば、バンコマイシン；スルフィソキサゾール、トリメトプリム、ノボビオシン、ダプトマイシンおよびリネゾリドのうちの1つまたは複数であってよい。

【0747】

抗真菌化合物は、以下：アゾール、例えば、ミコナゾール、ケトコナゾール、クロトリマゾール、エコナゾール、オモコナゾール、ビフォナゾール、ブトコナゾール、フェンチコナゾール、イソコナゾール、セルタコナゾール、スルコナゾール、チオコナゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール、イサブコナゾール、ラブコナゾール、ポサコナゾール、ポリコナゾール、テルコナゾールおよびアバファンギン；大環状化合物、例えば、ナタマイシン、リモシジン、フィリピン、ニスタチン、アンホテリシンB、カンジシン、ハマ

10

イシン；アリルアミン、例えば、テルビナフィン、ナフチフィンおよびブテナフィン；エキノカンジン、例えば、アンジデュラファンギン、カスポファンギンおよびミカファンギン；またはその他、例えば、ポリゴジアル、シクロピロックス、トルナフテート、安息香酸、ウンデシレン酸、フルシトシンおよびグリセオフルビンのうちの1つまたは複数であってよい。

【0748】

マイクロカプセル中へのDNaseの配合

本発明のDNaseは、マイクロカプセル、またはマイクロカプセルを含む液体洗剤に配合してもよい。本発明の液体クリーニング組成物は、少なくとも3重量%の合計濃度の界面活性剤および洗剤ビルダーと、酵素（DNaseであってよい）含有マイクロカプセルとを含んでよく、ここで、マイクロカプセルの膜は、1kDa超の分子量を有する多分岐ポリアミンの架橋によって生成される。半透膜を用いたマイクロカプセルにDNaseなどの酵素をカプセル化し、これらのカプセル内部の水活性を（液体洗剤への添加の前に）液体洗剤より高くすることによって、カプセルが洗剤に添加されると（部分的に）崩壊を被り（水が流れ出る）、これによって、カプセル内部に含まれる濃度および粘性がより高い酵素が残る。また、膜の崩壊によって、透過性の低下も起こり得る。

20

【0749】

これは、安定剤／ポリマー、特に膜を透過することができないものの添加によっても利用することができる。こうした崩壊およびその結果起こる粘性の増加は、カプセル内への敵対（hostile）成分（例えば、界面活性剤または隔離剤）の拡散を低減／妨害し、これによって、液体洗剤中のDNaseなどの酵素の貯蔵安定性を高める。また、酵素に対して感受性である液体洗剤中の成分（例えば、酵素の基質として作用する成分）も、酵素による分解から保護される。洗浄中、液体洗剤は、水によって希釈されるため、水活性が増加する。このとき、水は、カプセル内に拡散する（浸透）。カプセルは膨潤して、膜が酵素に対して透過性になるため、酵素がカプセルから流出できるようになるか、または単純に破裂することによって酵素を放出するかのいずれかである。このコンセプトは、液体洗剤中の敵対成分に対して本発明のDNaseなどの酵素を安定化する上で非常に効率的であり、その逆も、液体洗剤中の酵素感受性成分を酵素から保護する。

30

【0750】

酵素に対して感受性であり、酵素により分解され得る洗剤成分の例として、以下のものが挙げられる（括弧内は、関連酵素）：キサンタンゴム（キサンターゼ）、エステル結合を有するポリマー（リパーゼ）、水添ヒマシ油（リパーゼ）、香料（リパーゼ）、メチルエステルスルホン酸塩界面活性剤（リパーゼ）、セルロースおよびセルロース誘導体（例えば、CMC）（セルラーゼ）ならびにデキストリンおよびシクロデキストリン（アミラーゼ）。

40

【0751】

また、感受性洗剤成分を本発明のマイクロカプセル中にカプセル化し、これによって、安定化させることもできる。感受性洗剤成分は、貯蔵中に分解しやすい。このような洗剤成分としては、漂白化合物、漂白活性化剤、香料、ポリマー、ビルダー、界面活性剤などがある。

50

【0752】

一般に、本発明のマイクロカプセルを用いて、洗剤中の不適合性成分／化合物を分離することができる。

【0753】

洗剤へのマイクロカプセルの添加を用いて、洗剤製品の視覚的外観、例えば、不透明化作用（小型マイクロカプセル）またははっきりと見える粒子（大型マイクロカプセル）の作用に影響を与えることができる。また、マイクロカプセルは着色してもよい。

【0754】

マイクロカプセルを用いて、酵素製品の取り扱いおよび加工中の酵素ダストレベルを低減することができる。

【0755】

別途記載のない限り、本願全体を通して、パーセンテージは全て、重量パーセント（% w/w）として表示される。

【0756】

マイクロカプセル：マイクロカプセルは、典型的に、水と非混和性の連続体中に水滴を形成する、すなわち、典型的には、油中水型乳剤を調製した後、架橋剤の添加による界面重合によって膜を形成することにより生成される。最終的硬化の後、カプセルを回収し、さらにすすいでから、当技術分野で公知の方法により配合することができる。その後、カプセル配合物を洗剤に添加する。

【0757】

カプセル化しようとするペイロード、主要膜成分、および最終的追加成分は、水相中に存在する。連続体には、水滴を合体に対して安定化させる成分（乳化剤、乳剤安定剤、界面活性剤など）が存在し、連続体を介して架橋剤も添加される。

【0758】

乳剤は、当技術分野で公知の任意の方法、例えば、機械的攪拌、滴下方法、膜乳化法、マイクロフルイディクス、音波処理などによって調製することができる。いくつかの事例では、各相の単純な混合によって自動的に乳剤が得られ、これは往々にして自己乳化と呼ばれる。狭い粒度分布をもたらす方法の使用が有利である。

【0759】

典型的にはこれに続いて、架橋剤を、直接、またはより一般的には連続相に可溶性の溶媒中に架橋剤の溶液を調製することによって、乳剤に添加する。乳剤および架橋剤またはそれらの溶液の混合は、当技術分野で使用される従来の方法、例えば、単純な混合、またはインラインミキサーを用いて、乳剤および架橋剤溶液の流れを注意深く制御することによって実施することができる。

【0760】

いくつかの事例では、膜形成を完了するために、カプセルの硬化が必要である。硬化は、多くの場合、界面重合反応の停止を可能にする、ある程度の時間にわたってカプセルを単純に攪拌することである。別の事例では、膜形成は、反応クエンチャーの添加によって停止することができる。

【0761】

カプセルは、例えば、国際公開第99/01534号パンフレットに記載されているように、洗剤中の粒子の凝集を妨害または低減するために、成分を膜上で反応させることにより、後修飾してもよい。

【0762】

製造されたカプセルは、当技術分野で公知の方法、例えば、カプセル分散液の濾過、遠心分離、蒸留もしくはデカンテーションによって単離または濃縮することができる。

【0763】

得られたカプセルは、さらに、例えば、貯蔵、輸送および後の取り扱い、ならびに洗剤への添加について所望の特性を製品に付与するために、界面活性剤の添加によって配合することもできる。他のマイクロカプセル配合物質として、レオロジー改質剤、殺生物剤（

10

20

30

40

50

例えば、Proxel)、pH調節のための酸／塩基（マイクロカプセル内部も調節する）、および水活性調節のための水が挙げられる。

【0764】

カプセル形成工程は、以下のステップを含み得る：

- －初期水相および油相の調製、
- －油中水型乳剤の形成、
- －界面重合による膜形成、
- －任意選択の後修飾、
- －任意選択の単離および／または配合、
- －洗剤への添加。

10

【0765】

この工程は、バッチプロセスまたは連続プロセスもしくは半連続プロセスのいずれであってもよい。

【0766】

マイクロカプセルは、均一な膜が周囲を取り囲む微小な水性球体である。マイクロカプセル内部の材料は、コア、内部相、または充填物と呼ばれ、膜は、シェル、コーティング、または壁と呼ばれることがある。マイクロカプセルは、典型的に、 $0.5\mu\text{m}$ ～ 2mm メートルの直径を有する。好ましくは、マイクロカプセルの平均直径は、 $1\mu\text{m}$ ～ $1000\mu\text{m}$ の範囲であり、より好ましくは $5\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ の範囲、さらに好ましくは $10\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ の範囲、さらに好ましくは $50\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ の範囲、最も好ましくは $50\mu\text{m}$ ～ $200\mu\text{m}$ の範囲である。あるいは、マイクロカプセルの直径は、 $0.5\mu\text{m}$ ～ $30\mu\text{m}$ の範囲；または $1\mu\text{m}$ ～ $25\mu\text{m}$ の範囲である。マイクロカプセルの直径は、重合が完了した後、油相中で計測する。カプセルの直径は、周囲の化学的環境の水活性に応じて変動し得る。

20

【0767】

酵素のマイクロカプセル化は、界面重合によって達成することができ、この場合、重合反応物中の2つの反応体は、界面で遭遇し、急速に反応する。この方法の基本原理は、ポリアミンと酸誘導体、通常、酸ハロゲン化物（架橋剤として作用する）との反応である。ポリアミンは、実質的に水溶性である（遊離塩基形態の場合）のが好ましい。適切な条件下では、薄い柔軟な膜が界面に急速に形成される。重合を実施する1つの方法は、酵素およびポリアミンの水溶液を使用して、これを非水性溶媒（および乳化剤）で乳化した後、酸誘導体を含有する溶液を添加するものである。酵素溶液中には、反応の最中に形成された酸を中和するために、アルカリ剤が存在してもよい。ポリマー（ポリアミド）膜が、乳剤液滴の界面に直ちに形成される。マイクロカプセルのポリマー膜は、典型的に、カチオン性のものであるため、アニオン性の化合物に結合して／これと複合体を形成する。

30

【0768】

マイクロカプセルの直径は、乳剤液滴の粒径によって決定されるが、これは、例えば、攪拌速度によって制御される。

【0769】

乳剤：乳剤は、第2液相内の1つの液相の一過性または永続的分散液である。第2液体は、一般に、連続相と呼ばれる。乳剤の形成および安定化を助けるために、界面活性剤が一般に使用される。全ての界面活性剤が同様に乳剤を安定化できるわけではない。界面活性剤の種類および量は、特に乳剤の調製および物理的安定性、ならびに希釈およびさらなる処理の際の安定性に関して、最適な乳剤有用性のために選択する必要がある。物理的安定性とは、乳剤を分散液形態で維持することを指す。合体、凝集、容器壁への吸着、沈殿およびクリーム化などのプロセスは、物理的不安定性の形態であり、回避すべきである。好適な界面活性剤の例は、国際公開第97／24177号パンフレット、ページ19～21；および国際公開第99／01534号パンフレットに記載されている。

40

【0770】

乳剤は、分散液相が単純な均質液体である単純な乳剤か、または分散液相が、液相もし

50

くは固相の異種組み合わせである、より複雑な乳剤、例えば、二相乳剤もしくは多相乳剤のいずれかとしてさらに分類することができる。例えば、水相自体が乳化油相をさらに含有する、油中水型二相乳剤または多相乳剤を形成することができるが；このタイプの乳剤は、油中水中油型（ $o/w/o$ ）乳剤として規定され得る。あるいは、油中水型乳剤は、水相が、往々にして懸濁液－乳剤と呼ばれる分散固相を含有する場合、形成され得る。より複雑な他の乳剤を記載することができる。このような系を説明する上で特有の難しさのために、乳剤という用語は、乳剤の形態、または存在する相のタイプおよび数を必ずしも限定することなく、単純な乳剤および複雑な乳剤の両方を表すのに用いられる。

【0771】

ポリアミン：膜の剛性／柔軟性および透過性は、主として、ポリアミンの選択に影響される。本発明のポリアミンは、多分岐ポリアミンである。好ましくは第1級アミノ基で終わる各分枝は、膜ネットワークにおけるテザリング点の役割を果たし、これによって、本発明の好ましい特性がもたらされる。本発明の多分岐ポリアミンは、3つ以上の分岐点と、3つ以上の反応性アミノ基（架橋剤と反応することができる、すなわち第1級および第2級アミノ基）を有するポリアミンである。多分岐ポリアミンは、乳剤を調製する際に、出発材料として用いられ、他の出発材料から *in situ* で形成されない。魅力的な特性を達成するためには、ポリアミンの多分岐構造が出発材料として存在しなければならない。

10

【0772】

第1級アミンは、常に分枝の末端に位置することから、分岐点の数と第1級アミンの数の間には密接な関係がある：直鎖アミンは、2つの第1級アミンしか含まない可能性がある。仮定としてこのような直鎖ジアミンに導入された各分岐点により、1つまたは複数の第1級アミンが、導入された分枝の末端に導入されることが可能になるであろう。これに関連して、第1級アミノ基は、分枝の一部、すなわち分枝の終端として理解される。例えば、トリス（2-アミノエチル）アミンおよび1, 2, 3-プロパントリアミンはいずれも、1つの分岐点を有する分子として考えられる。ポリアミンは、少なくとも4つの第1級アミンを有するのが好ましい。分岐点は、脂肪族炭化水素鎖から、例えば、3, 3'-ジアミノベンジジンのように不飽和炭素結合から、またはN, N, N', N'-テトラキス-（2-アミノエチル）エチレンジアミンのように第3級アミノ基から導入することができる。

20

【0773】

分岐点の数以外に、反応性アミノ基の密集度も非常に重要である。例えば、N, N, N', N'-テトラキス-（1, 2-アミノドデシル）エチレンジアミンなどの物質は好適ではないであろう。酵素などのペプチドまたはタンパク質のいずれも膜形成には好適ではないであろう。従って、多分岐ポリアミンは、ペプチドまたはタンパク質ではない。

30

【0774】

反応性アミノ基は、多分岐ポリアミンの分子量の少なくとも15%、例えば、20%超、または25%超を占めるのが好ましい。好ましくは、多分岐ポリアミンの分子量は、少なくとも1 kDaであり；より好ましくは、多分岐ポリアミンの分子量は、少なくとも1.3 kDaである。

40

【0775】

多分岐ポリアミンは、3つ以上の分岐点と3個以上の反応性アミノ基とを有するポリエチレンジアミン（PEI）、およびその修飾物であり；ここで、反応性アミノ基は、PEIの分子量の少なくとも15%、例えば、20%超、または25%超を占める。好ましくは、PEIの分子量は、少なくとも1 kDaである。

【0776】

マイクロカプセルを調製するために、様々な多分岐ポリアミンの組み合わせを用いることができる。

【0777】

マイクロカプセルの有利な特性（例えば、酵素保存安定性、酵素漏出の低減、洗剤成分

50

流入の低減)は、分子量が1kDa未満の1種または複数種の低分子アミンを添加することによって改善することができる。低分子アミンは、好ましくは、実質的に水溶性であり(遊離塩基形態の場合)、エチレンジアミン、ヘキサメチレンジアミン、ヘキサジアミン、ジエチレントトラミン、エチレントトラミン、ジアミノベンゼン、ピペラジン、テトラメチレンペンタミンまたは、好ましくは、ジエチレントリアミン(DETA)などの材料であってよい。マイクロカプセルを調製する場合、低分子アミンは、低分子アミンと多分岐ポリアミンの合計含量の50重量%以下、好ましくは40重量%以下、30重量%以下、20重量%以下、10重量%以下、または5重量%以下の量で添加してよい。

【0778】

架橋剤：本発明で用いられる架橋剤は、アミンと反応して、共有結合を形成することができる、少なくとも2つの基／部位を有する分子である。

10

【0779】

架橋剤は、好ましくは油溶性であり、酸無水物または酸ハロゲン化物、好ましくは酸塩化物の形態であるものでよい。例えば、アジポイルクロリド、セバポイルクロリド、ドデカン二酸クロリド、フタロイルクロリド、テレフタロイルクロリド、イソフタロイルクロリド、またはトリメソイルクロリドであってよいが；好ましくは、架橋剤は、テレフタロイルクロリドまたはトリメソイルクロリドである。

【0780】

液体洗剤組成物は、マイクロカプセルを含んでもよく、従って、これは、液体および粉末洗剤、ならびにセッケンおよび洗剤バーなどのあらゆる形態の任意の洗剤組成物の一部を成し得る。

20

【0781】

前述のように、マイクロカプセルは、0.0001%~5%(w/w)の活性酵素タンパク質(AEP)；好ましくは0.001%~5%、より好ましくは0.005%~5%、より好ましくは0.005%~4%、より好ましくは0.005%~3%、より好ましくは0.005%~2%、さらに好ましくは0.01%~2%、および最も好ましくは0.01%~1%(w/w)の活性酵素タンパク質に対応する量で液体洗剤組成物に添加することができる。

【0782】

液体洗剤組成物は、固体(または気体)ではない物理的形態を有する。これは、注加適性液体、ペースト、注加適性ゲルもしくは非注加適性ゲルであってもよい。これは、等方性または構造化のいずれであってもよく、等方性であるのが好ましい。これは、自動洗浄機での洗浄または手洗いに有用な配合物であってもよい。これはまた、シャンプー、歯磨きペースト、またはハンドソープなどのパーソナルケア製品であってもよい。

30

【0783】

マイクロカプセルは、国際公開第2014/177709号パンフレットにさらに詳しく記載されており、この文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0784】

顆粒状の酵素の配合物

非発塵性粒質物は、例えば、米国特許第4,106,991号明細書および米国特許第4,661,452号明細書に開示の通りに製造することができ、任意選択で、当技術分野において公知の方法によりコーティングしてもよい。ワックス状コーティング材の例は、1000~20000の平均モル重量を有するポリ(エチレンオキシド)生成物(ポリエチレングリコール、PEG)；16~50個のエチレンオキシドユニットを有するエトキシ化ノニルフェノール；アルコールが12~20個の炭素原子を含有し、且つ、15~80個のエチレンオキシドユニットが存在するエトキシ化脂肪族アルコール；脂肪族アルコール；脂肪酸；ならびに、脂肪酸のモノーおよびジーおよびトリグリセリドである。流動床技術による用途に対して好適なフィルム形成性コーティング材の例は英国特許第1483591号明細書に記載されている。液体酵素調製物は、例えば、確立された方法に従って、プロピレングリコールなどのポリオール、糖質または糖質アルコール、乳酸ま

40

50

たはホウ酸を添加することにより安定化され得る。保護された酵素は、欧州特許第 2 3 8 , 2 1 6 号明細書に開示されている方法に従って調製され得る。

【0785】

D N a s e は、例えば、1 種または複数種の酵素を組み合わせた複合顆粒といった顆粒として配合してもよい。その場合、各酵素は、より多くの顆粒中に存在することになり、洗剤中への酵素のより均質な分布を確実にするであろう。これはまた、様々な粒径による多種酵素の物理的分離も抑制する。洗剤業界用の多酵素複合顆粒を製造する方法は、I P . c o m 開示 I P C O M 0 0 0 2 0 0 7 3 9 D に開示されている。

【0786】

複合顆粒の使用による酵素の配合の別の例が、国際公開第 2 0 1 3 / 1 8 8 3 3 1 号パンフレットに開示されており、これは、(a) 多酵素複合顆粒；(b) 1 0 w t 未満のゼオライト（無水物基準）；および (c) 1 0 w t 未満のリン酸塩（無水物基準）を含む洗剤組成物に関し、ここで、前記酵素複合顆粒は、1 0 ~ 9 8 w t % の水分シンク (m o i s t u r e s i n k) 成分を含み、組成物は、さらに、2 0 ~ 8 0 w t % の洗剤水分シンク (m o i s t u r e s i n k) 成分を含む。国際公開第 2 0 1 3 / 1 8 8 3 3 1 号パンフレットはまた、表面、好ましくは布地表面を処理および／またはクリーニングする方法にも関し、この方法は、(i) 前記表面を特許請求の範囲に記載され、また、本明細書に記載される水性洗浄液中の洗剤組成物と接触させるステップ、(i i) 表面をすすぎ、および／または乾燥させるステップを含む。

【0787】

本発明の一実施形態は、本発明の D N a s e を含む酵素顆粒／粒子に関する。顆粒は、コア、および任意選択で、コアを取り囲む 1 つまたは複数のコーティング（外側層）から構成される。典型的に、顆粒の顆粒／粒子サイズは、同等の球体直径（体積基準の平均粒度）として計測して、2 0 ~ 2 0 0 0 μm 、特に 5 0 ~ 1 5 0 0 μm 、1 0 0 ~ 1 5 0 0 μm または 2 5 0 ~ 1 2 0 0 μm である。

【0788】

コアは、充填材、繊維材（セルロースもしくは合成繊維）、安定剤、可溶化剤、懸濁剤、粘度調節剤、ライトスフィア (l i g h t s p h e r e s) 、可塑剤、塩、潤滑剤および芳香剤などの追加材料を含んでもよい。

【0789】

コアは、合成ポリマー、ワックス、脂肪、または炭水化物などの結合剤を含んでもよい。

【0790】

コアは、多価カチオンの塩、還元剤、抗酸化剤、過酸化物分解触媒および／または酸性緩衝剤成分を、典型的には均質なブレンドとして含んでもよい。

【0791】

コアは、酵素が内部に吸収される不活性粒子、または例えば、流動層コーティングにより、酵素が表面に塗布される不活性粒子から成るものでもよい。

【0792】

コアは、2 0 ~ 2 0 0 0 μm 、特に 5 0 ~ 1 5 0 0 μm 、1 0 0 ~ 1 5 0 0 μm または 2 5 0 ~ 1 2 0 0 μm の直径を有し得る。

【0793】

コアは、例えば、結晶化、沈殿、パンコーティング、流動層コーティング、流動層凝集、回転噴霧、押出、噴射、球形化、破碎方法、ドラム造粒、および／または高せん断造粒などの造粒技術を含む方法によって、成分のブレンドを造粒することにより調製することができる。

【0794】

コアを調製する方法は、Handbook of Powder Technology ; Particle size enlargement by C . E . Capes ; Volume 1 ; 1 9 8 0 ; Elsevierに見出すことができる。

【0795】

例えば、貯蔵安定性を向上させる、取り扱い中の粉塵形成を低減する、または顆粒を着色するために、酵素顆粒／粒子のコアを少なくとも1つのコーティングによって被覆してもよい。任意選択のコーティングとしては、塩コーティング、またはポリエチレングリコール（PEG）、メチルヒドロキシプロピルセルロース（MHP C）およびポリビニルアルコール（PVA）などの他の好適なコーティング材料が挙げられる。複数のコーティングを有する酵素顆粒の例は、国際公開第93／07263号パンフレットおよび国際公開第97／23606号パンフレットに示されている。

【0796】

コーティングは、コアの少なくとも0.1重量％、例えば、少なくとも0.5％、1％または5％などの量で塗布してよい。この量は、最大100％、70％、50％、40％または30％であってよい。

10

【0797】

コーティングは、厚さが少なくとも0.1 μm、特に少なくとも0.5 μm、少なくとも1 μmまたは少なくとも5 μmであるのが好ましい。特定の実施形態では、コーティングの厚さは、100 μm未満である。より具体的な実施形態では、コーティングの厚さは、60 μm未満である。さらに具体的な実施形態では、コーティングの合計厚さは、40 μm未満である。

【0798】

コーティングは、実質的に連続した層を形成することによって、コアユニットを包膜する必要がある。実質的に連続した層とは、それが包膜する／取り囲むコアユニットが、被覆されていない箇所がほとんどないか、または一切ないように、孔がほとんどないか、または全くないコーティングとして理解すべきである。層またはコーティングは、特に厚さが均一でなければならない。

20

【0799】

コーティングは、さらに、当技術分野で公知の他の材料、例えば、充填材、固着防止剤、顔料、染料、可塑剤および／または結合剤、例えば、二酸化チタン、カオリン、炭酸カルシウムもしくはタルクを含有することができる。

【0800】

塩コーティングは、少なくとも60重量w/w％、例えば、少なくとも65重量％、少なくとも70重量％、少なくとも75重量％、少なくとも80重量％、少なくとも85重量％、少なくとも90重量％、少なくとも95重量％または少なくとも99重量w/w％の塩を含み得る。

30

【0801】

塩は、塩を完全に溶解させた塩溶液、または微粒子が、10 μm未満もしくは5 μm未満のように、50 μm未満である、塩懸濁液から添加してもよい。

【0802】

塩コーティングは、単一の塩または3種以上の塩の混合物を含んでもよい。塩は、水溶性であり、特に20℃で100 gの水中で少なくとも0.1グラム、好ましくは、水100 g当たり少なくとも0.5 g、水100 g当たり少なくとも1 g、例えば、水100 g当たり少なくとも5 gの溶解度を有する。

40

【0803】

塩は、無機塩、例えば、硫酸塩、亜硫酸塩、リン酸塩、ホスホン酸塩、硝酸塩、塩化物もしくは炭酸塩の塩、またはクエン酸塩、マロン酸塩もしくは酢酸塩などの単純な有機酸（炭素数10未満、例えば、炭素数6以下）の塩であってもよい。これらの塩のカチオンの例は、アルカリもしくはアルカリ土類金属イオン、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、亜鉛もしくはアルミニウムの第一遷移金属のアンモニウムイオンまたは金属イオンである。アニオンの例としては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硫酸塩、亜硫酸塩、重亜硫酸塩、チオ硫酸塩、リン酸塩、一塩基リン酸塩、二塩基リン酸塩、次亜リン酸塩、ピロリン酸二水素、四ホウ酸塩、ホウ酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、メタケイ酸塩、クエン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、乳酸塩、ギ酸塩、酢酸塩

50

、酪酸塩、プロピオン酸塩、安息香酸塩、酒石酸塩、アスコルビン酸塩またはグルコン酸塩が挙げられる。特に、硫酸塩、亜硫酸塩、リン酸塩、ホスホン酸塩、硝酸塩、塩化物もしくは炭酸塩のアルカリもしくはアルカリ土類金属塩、またはクエン酸塩、マロン酸塩もしくは酢酸塩などの単純な有機酸の塩を使用することができる。

【0804】

コーティング中の塩は、20℃で60%超、特に、70%超、80%超もしくは85%超の定湿度を有するか、またはこうした塩の別の水和物形態（例えば、無水物）であってもよい。塩コーティングは、国際公開第00/01793号パンフレットまたは国際公開第2006/034710号パンフレットに記載されている通りであってもよい。

【0805】

好適な塩の具体的例としては、以下のものがある： NaCl （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=76\%$ ）、 Na_2CO_3 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=92\%$ ）、 NaNO_3 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=73\%$ ）、 Na_2HPO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=95\%$ ）、 Na_3PO_4 （ $\text{CH}_25^\circ\text{C}=92\%$ ）、 NH_4Cl （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=79.5\%$ ）、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=93.0\%$ ）、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=93.1\%$ ）、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=81.1\%$ ）、 KCl （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=85\%$ ）、 K_2HPO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=92\%$ ）、 KH_2PO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=96.5\%$ ）、 KNO_3 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=93.5\%$ ）、 Na_2SO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=93\%$ ）、 K_2SO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=98\%$ ）、 KHSO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=86\%$ ）、 MgSO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=90\%$ ）、 ZnSO_4 （ $\text{CH}_20^\circ\text{C}=90\%$ ）およびクエン酸ナトリウム（ $\text{CH}_25^\circ\text{C}=86\%$ ）。その他の例としては、 NaH_2PO_4 、 $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 CuSO_4 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ および酢酸マグネシウムが挙げられる。

【0806】

塩は、無水形態であってもよいし、または水和塩、すなわち国際公開第99/32595号パンフレットに記載されているものなど、結晶化の結合水を含む結晶塩水和物であってもよい。具体的な例としては、無水硫酸ナトリウム（ Na_2SO_4 ）、無水硫酸マグネシウム（ MgSO_4 ）、硫酸マグネシウム七水和物（ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）、硫酸亜鉛七水和物（ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）、第二リン酸水素ナトリウム七水和物（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）、硝酸マグネシウム六水和物（ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）、クエン酸ナトリウム二水和物および酢酸マグネシウム四水和物が挙げられる。

【0807】

好ましくは、塩は、例えば、流動層を用いて塩の溶液として適用する。

【0808】

従って、別の実施形態では、本発明は、顆粒を提供し、これは、以下：

(a) 本発明の DNase を含むコア、および

(b) 任意選択で、コアを取り囲む1つまたは複数の層からなるコーティングを含む。本発明のいくつかの態様は、顆粒に関し、これは、以下：

(a) DNase 活性を有するポリペプチドを含むコア（ポリペプチドは、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194 および配列番号197 に示されるポリペプチド、またはそれと少なくとも60%、例えば70%、例

10

20

30

40

50

例えば80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有するポリペプチドからなる群から選択される)

ならびに

(b) 任意選択で、コアを取り囲む1つまたは複数の層からなるコーティングを含む。

【0809】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] または [D/Q] [I/V] DHの1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有し、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

10

【0810】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] PQL、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] または [D/Q] [I/V] DHの1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有するが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*) DNaseではなく、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

20

【0811】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[D/M/L] [S/T] GYSR [D/N] (配列番号204) または ASXNRSG (配列番号205) の1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有し、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

【0812】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：[V/I] PL [S/A] NAWK (配列番号206) または NPQL (配列番号207) の1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有し、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

30

【0813】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有し、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

40

【0814】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここで、ポリペプチドは、モチーフ：P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) または [K/H/E] NAW (配列番号209) の1つもしくは複数を含有するポリペプチドと少なくとも80%の配列同一性を有するが、但し、ポリペプチドは、国際公開第2015/155351号パンフレットの配列番号2に示されるトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*) DNaseではなく、また、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

【0815】

本発明の一実施形態は、DNase活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここ

50

q) 配列番号 56 のポリペプチドと少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも

50

g g) 配列番号 104 のポリペプチドと少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % もしくは 100 % の配列同一性を有するポリペプチド、

xx) 配列番号155のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99

50

%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

y y) 配列番号158のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

z z) 配列番号161のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

a a a) 配列番号164のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

b b b) 配列番号167のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

c c c) 配列番号170のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

d d d) 配列番号173のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

e e e) 配列番号176のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

f f f) 配列番号179のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

g g g) 配列番号182のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

h h h) 配列番号185のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

i i i) 配列番号188のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

j j j) 配列番号191のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

k k k) 配列番号194のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド、

l l l) 配列番号197のポリペプチドと少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%もしくは100%の配列同一性を有するポリペプチド

からなる群から選択され、ここで、顆粒は、前記ポリペプチドを含むコアとコーティングを含み、任意選択で、ポリペプチドは、モチーフ：[E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S]、[T/D/S] [G/N] P Q L、[G/T] Y [D/S] [R/K/L]、[F/L/Y/I] A [N/R] D [L/I/P/V]、C [D/N] T [A/R] または [D/Q] [I/V] D Hの1つまたは複数を含む。

[0816]

本発明の一実施形態は、D N a s e 活性を有するポリペプチドを含む顆粒に関し、ここ

10

20

30

40

50

で、ポリペプチドは、以下：配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 53、配列番号 56、配列番号 59、配列番号 62、配列番号 65、配列番号 68、配列番号 71、配列番号 74、配列番号 77、配列番号 80、配列番号 83、配列番号 86、配列番号 89、配列番号 92、配列番号 95、配列番号 98、配列番号 101、配列番号 104、配列番号 107、配列番号 110、配列番号 113、配列番号 116、配列番号 119、配列番号 122、配列番号 125、配列番号 128、配列番号 131、配列番号 134、配列番号 137、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 146、配列番号 149、配列番号 152、配列番号 155、配列番号 158、配列番号 161、配列番号 164、配列番号 167、配列番号 170、配列番号 173、配列番号 176、配列番号 179、配列番号 182、配列番号 185、配列番号 188、配列番号 191、配列番号 194 および配列番号 197 に示されるポリペプチドと少なくとも 60%、例えば 70%、例えば 80%、例えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 98%、例えば少なくとも 99% の配列同一性を有し、顆粒は、ポリペプチドを含むコアとコーティングを含む。

10

【0817】

洗剤の配合

洗剤成分は、水溶性ポーチ中のコンパートメントによって互いに物理的に隔離することができる。これによって、成分同士のマイナスの貯蔵相互作用を回避することができる。また、コンパートメント各々の異なる溶解プロフィールによって、洗浄溶液中の選択した成分の溶解を遅延させることもできる。

20

【0818】

洗剤組成物は、単位用量製品の形態を採ってもよい。単位用量製品は、再使用不可能な容器への単回用量のパッケージングである。これは、洗濯用洗剤で使用されることが多くなっている。洗剤の単位用量製品は、1回の洗浄に使用する量の洗剤のパッケージング（例えば、水溶性フィルムから製造されたポーチ中の）である。

【0819】

ポーチは、例えば水との接触に先だってポーチからの組成物の漏れが防止される、組成物の保持に好適であれば如何なる形態、形状および材料のものであることも可能である。ポーチは、内部容積を有する水溶性フィルム製のものである。前記内部容積は、ポーチのコンパートメントに分離されていることが可能である。好ましいフィルムは、フィルムまたはシートに形成される好ましくはポリマーである高分子材料である。好ましいポリマー、コポリマーまたはその誘導体は、ポリアクリレート、および、水溶性アクリレートコポリマー、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ナトリウムデキストリン、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マルトデキストリン、ポリメタクリレート、最も好ましくはポリビニルアルコールコポリマーおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）から選択される。好ましくは、フィルム中のポリマーのレベルは、例えばPVAで少なくとも約60%である。好ましい平均分子量は、典型的には約20,000～約150,000であろう。フィルムはまた、ポリアクチドおよびポリビニルアルコール（Chris Craft In. Prod. Of Gary, Ind., USから市販されている商品名M8630で知られている）などの加水分解により分解性で、水溶性ポリマーのブレンドと、グリセロール、エチレングリセロール、プロピレングリコール、ソルビトールおよびこれらの混合物などの可塑剤とを含むブレンド組成物であってよい。ポーチは、水溶性フィルムにより分離された固体ランドリークリーニング組成物または部分成分および／または液体クリーニング組成物または部分成分を含んでいることが可能である。液体成分用のコンパートメントは、固形分を含有するコンパートメントとは組成が異なっていることが可能である（米国特許出願公開第2009/0011970号明細書を参照）。

30

40

【0820】

50

固形洗濯石鹸

本発明のD N a s eは、固形洗濯石鹸に添加して、ランドリー、布地および／または生地の手洗いのために用いることができる。「固形洗濯石鹸」という用語は、洗濯石鹸、固形石鹸、複合化粧石鹸、合成化粧石鹸および洗剤石鹸を含む。固形石鹸の種類は一般に、それらが含有する界面活性剤の種類が異なり、固形洗濯石鹸という用語は、脂肪酸由来の石鹸および／または合成石鹸を含むものを包含する。固形洗濯石鹸は、室温で固体の物理的形態をしており、液体、ジェルまたは粉末ではない。固形という用語は、時間が経過しても有意に変化しない物理的形態として定義する。すなわち、固形物（例えば、固形洗濯石鹸）が容器内に配置されていれば、固形物が変化して、それが配置されている容器を充填することはない。固形洗濯石鹸は、典型的に、棒状であるが、丸や楕円形などの別の形状をしていてもよい。

10

【0821】

固形洗濯石鹸は、1つまたは複数の酵素、ペプチドアルデヒド（またはハイドロサルファイト付加物もしくはヘミアセタール付加物）などのプロテアーゼ阻害剤、ホウ酸、ホウ酸塩、ホウ砂および／またはフェニルボロン酸誘導体、例えば、4-ホルミルフェニルホウ酸、1種または複数種の石鹸もしくは合成界面活性剤、グリセリンなどのポリオール、脂肪酸、クエン酸、酢酸および／もしくはギ酸などのpH制御化合物、ならびに／または一価カチオンおよび有機アニオンの塩を含みうるが、ここで、一価カチオンは例えば、 Na^+ 、 K^+ もしくは NH_4^+ であってよく、また、有機アニオンは、例えば、ギ酸塩、酢酸塩、クエン酸塩もしくは乳酸塩であってよく、従って、一価カチオンと有機アニオンの塩は、例えば、ギ酸ナトリウムであってよい。

20

【0822】

固形洗濯石鹸はまた、EDTAおよびHEDPのような錯化剤、香料および／または別の種類の充填材、界面活性剤、例えば、アニオン系合成界面活性剤、ビルダー、ポリマー系汚れ放出剤、洗剤キレート剤、安定剤、充填材、染料、着色剤、移染防止剤、アルコキシル化ポリカーボネート、泡抑制剤、組織化剤、結合剤、浸出剤、漂白活性化剤、泥汚れ除去剤、再付着防止剤、ポリマー系分散剤、増白材、布柔軟剤、香料および／または当分野では公知のその他の化合物を含んでもよい。

【0823】

固形洗濯石鹸は、限定するものではないが、ミキサー、プロッダー（plodder）（例えば、2段式真空プロッダー）、押出機、カッター、ロゴスタンパー、冷却トンネルおよびラッピング装置などの従来の固形洗濯石鹸製造設備において処理してよい。本発明は、いずれかの単一の方法で固形洗濯石鹸を製造することに限定されない。本発明のプレミックスを工程の様々な段階で石鹸に添加してもよい。例えば、石鹸、D N a s e、任意選択で1種または複数種の別の酵素、プロテアーゼ阻害剤、ならびに一価カチオンと有機アニオンの塩を含有するプレミックスを調製した後、混合物をプロッド（plod）する。D N a s eと任意選択の別の酵素は、例えば、液状で、プロテアーゼ阻害剤と同時に添加してもよい。混合ステップおよびプロッドステップ以外に、この方法は、粉碎、押出、切断、スタンピング、冷却および／またはラッピングのステップをさらに含んでもよい。

30

【0824】

医薬組成物および使用

本発明は、さらに、D N a s e活性を有するポリペプチドと医薬補助成分を含む医薬組成物にも関し、ここで、ポリペプチドは、D N a s e活性を有する。補助成分は、医薬組成物に好適な任意の賦形剤であってよい。補助剤／賦形剤は、当業者が選択することができる。医薬組成物はさらに、配列番号8、9、10および11を含むポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチド、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するD N a s eを含む。医薬組成物は、医療デバイスなどの表面上のバイオフィルムを解離もしくは除去するか、またはバイオフィルム形成を防止するために使用することができる。

40

【0825】

使用は、患者に接触可能な前記デバイスの表面の少なくとも一部が、本発明のD N a s

50

eを含む医薬組成物でコーティングされていることを特徴とする留置医療デバイスであってもよい。

【0826】

デバイスは、中心静脈カテーテル、血管内カテーテル、尿道カテーテル、ヒックマン（Hickman）カテーテル、腹膜透析カテーテル、気管内カテーテルなどのカテーテル、またはデバイスが人工心臓弁である場合、心臓ペースメーカ、動静脈シャント、強膜バックス、人工関節、鼓膜換気チューブ、気管切開チューブ、ボイスプロテゼ、人工陰茎、人工尿道括約筋、合成恥骨脛スリング、縫合糸、骨アンカー、骨ねじ、眼内レンズ、コンタクトレンズ、子宮内避妊器具、大動脈大腿動脈移植片、血管移植片、ニードル、ルアーロック（Luer-Lock）コネクタ、ニードルレスコネクタまたは手術器具であってよい。

10

【0827】

医薬組成物は、液体、ローション、クリーム、スプレー、ゲルまたは軟膏として配合することができる。

【0828】

医薬組成物は、動物患者への投与用であってよい。動物患者は、哺乳動物患者であってよい。哺乳動物患者は、ヒトであってよい。

【0829】

本発明を以下のパラグラフにまとめる：

1. 品目からバイオフィルムを防止、低減または除去するための、DNase活性を有するポリペプチドの使用であって、ポリペプチドが、以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択されるか、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するDNaseであり、ここで、品目が生地である、使用。

20

2. 品目の粘着性を防止、低減または除去するためのパラグラフ1に記載の使用。

3. 品目の汚れを前処理するためのパラグラフ1または2のいずれかに記載の使用。

4. 洗浄サイクル中の汚れの再付着を防止、低減または除去するためのパラグラフ1～3のいずれかに記載の使用。

30

5. 品目への汚れの付着を防止、低減または除去するためのパラグラフ1～4のいずれかに記載の使用。

40

6. 品目の白色度を維持または改善するための先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

7. ポリペプチドが、パラグラフ45～54に記載のポリペプチドである、先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

8. 品目から悪臭を低減または除去する、先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

9. 悪臭が、E-2ノネナールを原因とする、先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

10. 濡れた生地に存在するE-2ノネナールの量を低減または除去する、先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

50

11. 乾いた生地に存在するE-2ノネナールの量を低減または除去する、先行するパラグラフのいずれかに記載の使用。

12. 以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194および配列番号197からなる群から選択される、デオキシリボヌクレアーゼ（DNase）活性を有するポリペプチド、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するDNase、および洗剤補助成分を含む、洗剤組成物。

13. ポリペプチドが、バチルス属（*Bacillus* sp.）またはパエニバチルス属（*Paenibacillus*）から得られる、パラグラフ12に記載の洗剤組成物。

14. 配列番号7、8、9もしくは10のポリペプチドが、それぞれバチルス属（*Bacillus*）sp-62451、バチルス・ホリコシー（*Bacillus horikoshii*）またはパエニバチルス属（*Paenibacillus*）sp-18057から得られ、配列番号11が、バチルス属（*Bacillus*）sp-62520から得られ、配列番号12が、バチルス属（*Bacillus*）sp-62520から得られ、配列番号13が、バチルス・ホリコシー（*Bacillus horikoshii*）から得られ、配列番号14が、バチルス・ホリコシー（*Bacillus horikoshii*）から得られ、配列番号15が、バチルス属（*Bacillus*）sp-16840から得られ、配列番号16が、バチルス属（*Bacillus*）sp-16840から得られ、配列番号17が、バチルス属（*Bacillus*）sp-62668から得られ、配列番号18が、バチルス属（*Bacillus*）sp-13395から得られ、配列番号19が、バチルス・ホルネッキアエ（*Bacillus horneckiae*）から得られ、配列番号20が、バチルス属（*Bacillus*）sp-11238から得られ、配列番号21が、バチルス・シービー（*Bacillus cibi*）から得られ、配列番号22が、バチルス属（*Bacillus*）sp-18318から得られ、配列番号23が、バチルス・アイドリエンシス（*Bacillus idriensis*）から得られるか、または以下のうちの1つである、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ビブリッセア・フラボビレンス（*Vibrissia flavovirens*）から得られ、配列番号86に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム・ジクロモスポルム（*Acremonium dichromosporum*）から得られ、配列番号140に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バツカクキン科（*Clavicipitaceae*）sp-70249から得られ、配列番号176に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ペニシリウム・レチクスポルム（*Penicillium reticulisporum*）から得られ、配列番号107に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ピクニジオフォーラ cf. ディスペラ（*Pycnidiophora cf. dispersa*）から得られ、配列番号167に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase

10

20

30

40

50

e 活性を有するポリペプチドは、メタポコニア・スクラスポリア (*Metapochonia suchlasporia*) から得られ、配列番号 131 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2007 から得られ、配列番号 137 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、セトスフェリア・ロストラタ (*Setosphaeria rostrata*) から得られ、配列番号 89 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、サロクラジウム属 (*Sarocladium* sp.) XZ2014 から得られ、配列番号 143 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、メタリジウム属 (*Metarhizium* sp.) HNA15-2 から得られ、配列番号 146 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、エンドフラグミエラ・バルディナ (*Endophragmiella valdina*) から得られ、配列番号 92 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、フミコロプシス・セファロスポリオイデス (*Humicolopsis cephalosporioides*) から得られ、配列番号 182 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、コリネスポラ・カッシイコーラ (*Corynespora cassiicola*) から得られ、配列番号 95 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、パラフォーマ属 (*Paraphoma* sp.) XZ1965 から得られ、配列番号 98 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、クルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*) から得られ、配列番号 104 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アクレモニウム属 (*Acremonium* sp.) XZ2414 から得られ、配列番号 149 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、イサリア・テヌイペス (*Isaria tenuipes*) から得られ、配列番号 152 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、ローソエラ・インターメディア (*Roussoeella intermedia*) から得られ、配列番号 188 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、シタリジウム・チルシナタム (*Scytalidium circinatum*) から得られ、配列番号 155 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、セトフェオスフェリア属 (*Setophaeosphaeria* sp.) から得られ、配列番号 158 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アルテルナリア属 (*Alternaria* sp.) XZ2545 から得られ、配列番号 116 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、アルテルナリア属 (*Alternaria*) から得られ、配列番号 119 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、メタリジウム・レピジオタエ (*Metarhizium lepidiotae*) から得られ、配列番号 158 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、プレオスポラ目 (*Pleosporales*) から得られ、配列番号 191 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase 活性を有するポリペプチドは、フェオスフェリア属 (*Phaeosphaeria* sp.) から得られ、配列番号 194 に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本

10

20

30

40

50

発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ディディモスフェリア・フチリス (*Didymosphaeria futileis*) から得られ、配列番号197に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・ビエトナメンシス (*Bacillus vietnamensis*) から得られ、配列番号59に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・ファジンポエンシス (*Bacillus hwajinpoensis*) から得られ、配列番号62に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、キサントアン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) J から得られ、配列番号56に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・インディカス (*Bacillus indicus*) から得られ、配列番号68に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られ、配列番号71に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・ルシフェレンシス (*Bacillus luciferensis*) から得られ、配列番号74に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・マリスフラビ (*Bacillus marisflavi*) から得られ、配列番号77に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、スポロルミア・フィメタリア (*Sporormia fimetaria*) から得られ、配列番号164に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ダルジニア・フィッサ (*Daldinia fissa*) から得られ、配列番号134に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) から得られ、配列番号83に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ウェステルディケラ属 (*Westerdykella* sp.) AS85-2 から得られ、配列番号179に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、モニリニア・フルクチコーラ (*Monilinia fructicola*) から得られ、配列番号101に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から得られ、配列番号185に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) から得られ、配列番号110に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、キサントアン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) D から得られ、配列番号170に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、バチルス・アルギコーラ (*Bacillus algicola*) から得られ、配列番号53に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、キサントアン・アルカリン・コミュニティ (*Xanthan alkaline community*) O から得られ、配列番号173に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。本発明の一態様では、DNase活性を有するポリペプチドは、シタリディウム・サーモフィルム (*Scytalidium thermophilum*) から得られ、配列番号128に示されるポリペプチドを含むか、またはそれからなる。

10

20

30

40

50

15. ポリペプチドが、パラグラフ45～54に記載のポリペプチドである、先行するパラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

16. 洗剤補助成分が、以下：界面活性剤、ビルダー、凝集助剤、キレート化剤、移染防止剤、酵素、酵素安定剤、酵素阻害剤、触媒材料、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素の供給源、事前形成された過酸（*performed peracid*）、ポリマー分散剤、泥汚れ除去／再付着防止剤、増白剤、セッケン泡抑制剤、染料、香料、構造弾性化剤、布地柔軟剤、キャリア、ヒドロトロップ、ビルターおよびコビルダー、布地色相剤、消泡剤、分散剤、加工助剤、および／または顔料からなる群から選択される、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

17. 組成物が、以下：プロテアーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、アミラーゼ、カルボヒドラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ、マンナーゼ、アラビナーゼ、ガラクタナーゼ、キシラナーゼおよびオキシダーゼからなる群から選択される1種または複数種の酵素をさらに含む、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

18. 酵素が、動物、植物または微生物由来のプロテアーゼである、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

19. プロテアーゼが、化学的に修飾されているか、またはタンパク質改変されている、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

20. プロテアーゼが、セリンプロテアーゼまたはメタロプロテアーゼ、好ましくはアルカリ微生物プロテアーゼまたはトリプシン様プロテアーゼである、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

21. プロテアーゼが、以下：バチルス属（*Bacillus*）、例えば、スブチリシン・ノボ（*Novo*）、スブチリシン・カールスバーグ（*Carlsberg*）、スブチリシン309、スブチリシン147、スブチリシン168、ウシ由来のトリプシン、ブタ由来のトリプシン、およびフサリウム（*Fusarium*）プロテアーゼからなる群から選択される、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

22. 洗剤組成物が、以下：アシネトバクター属（*Acinetobacter* sp.）、アエロミクロビウム属（*Aeromicrobium* sp.）、ブレバンジモナス属（*Brevundimonas* sp.）、ミクロバクテリウム属（*Microbacterium* sp.）、ミクロコッカス・ルテウス（*Micrococcus Luteus*）、シュドモナス属（*Pseudomonas* sp.）、表皮ブドウ球菌（*Staphylococcus epidermidis*）、およびステノトロホモナス属（*Stenotrophomonas* sp.）からなる群から選択される細菌の、表面への付着を低減する、またはそれらが付着した表面から細菌を解離させることができる、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

23. 表面が、生地表面である、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

24. 生地が、綿、綿／ポリエステル、ポリエステル、ポリアミド、ポリアクリルおよび／または絹から製造されたものである、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

25. 洗剤組成物が、バー、均質錠剤、2つ以上の層を有する錠剤、1つまたは複数のコンパートメントを有するポーチ、通常または圧縮粉末、顆粒、ペースト、ゲル、または通常、圧縮もしくは濃縮液体である、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

26. 組成物が、液体洗剤、粉末洗剤または顆粒状洗剤である、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

27. 品目を洗濯する方法であって、以下：

- a. パラグラフ45～54に記載のポリペプチドを含む洗浄液またはパラグラフ12～26のいずれかに記載の洗剤組成物に、品目を曝露するステップ；
- b. 少なくとも1つの洗浄サイクルを完了するステップ；および
- c. 任意選択で品目をすすぐステップ

10

20

30

40

50

を含み、

ここで、上記品目は生地である、方法。

28. 洗浄液のpHが、1～11の範囲である、パラグラフ27に記載の方法。
29. 洗浄液のpHが、5.5～11の範囲、例えば、7～9の範囲、7～8の範囲または7～8.5の範囲である、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
30. 洗浄液の温度が、5℃～95℃の範囲、または10℃～80℃の範囲、10℃～70℃の範囲、10℃～60℃の範囲、10℃～50℃の範囲、15℃～40℃の範囲または20℃～30℃の範囲である、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
31. 洗浄液の温度が、30℃である、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
32. 方法が、洗浄サイクルの完了後に洗浄液または洗浄液の一部を排出するステップをさらに含む、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
33. 第1洗浄サイクル、および任意選択で第2または第3洗浄サイクル中に、品目を洗浄液に曝露する、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
34. 洗浄液に曝露した後、品目をすすぐ、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
35. 水またはコンディショナを含む水で品目をすすぐ、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
36. 品目の粘性が低減される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
37. パラグラフ45～54に記載のポリペプチドまたはパラグラフ12～26のいずれかに記載の洗剤組成物で、品目に存在する汚れを前処理する、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
38. 汚れの再付着が低減される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
39. 品目に対する汚れの付着が低減または除去される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
40. 品目の白色度が維持または改善される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
41. 品目から悪臭が低減または除去される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
42. 悪臭が、E-2ノネナールを原因とする、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
43. 濡れた、もしくは乾いた生地に存在するE-2ノネナールの量が低減または除去される、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
44. 洗浄液中のポリペプチドの濃度が、洗浄液1リットル当たり、少なくとも1mgのDNaseタンパク質、例えば、少なくとも5mgのタンパク質、好ましくは少なくとも10mgのタンパク質、より好ましくは少なくとも15mgのタンパク質、さらに好ましくは少なくとも20mgのタンパク質、非常に好ましくは少なくとも30mgのタンパク質、最も好ましくは少なくとも40mgのタンパク質である、先行する方法パラグラフのいずれかに記載の方法。
45. 以下：
- a. 配列番号2、4もしくは6の成熟型ポリペプチドと少なくとも60%の配列同一性を有するポリペプチド、または以下：配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配

10

20

30

40

50

列番号 161、配列番号 164、配列番号 167、配列番号 170、配列番号 173、配列番号 176、配列番号 179、配列番号 182、配列番号 185、配列番号 188、配列番号 191、配列番号 194 および配列番号 197 に示されるポリペプチドと少なくとも 80% の配列同一性を有するポリペプチド；

b. 低度の緊縮条件下で、

i. 配列番号 1 の成熟型ポリペプチドコード配列、または

ii. (i) もしくは (ii) の完全長相補体

とハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド；

c. 配列番号 1、3 もしくは 5；または配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 33、配列番号 35、配列番号 37、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 45、配列番号 47、配列番号 49、配列番号 51、配列番号 54、配列番号 57、配列番号 60、配列番号 63、配列番号 66、配列番号 69、配列番号 72、配列番号 75、配列番号 78、配列番号 81、配列番号 84、配列番号 87、配列番号 90、配列番号 93、配列番号 96、配列番号 99、配列番号 102、配列番号 105、配列番号 108、配列番号 111、配列番号 114、配列番号 117、配列番号 120、配列番号 123、配列番号 126、配列番号 129、配列番号 132、配列番号 135、配列番号 138、配列番号 141、配列番号 144、配列番号 147、配列番号 150、配列番号 153、配列番号 156、配列番号 159、配列番号 162、配列番号 165、配列番号 168、配列番号 171、配列番号 174、配列番号 177、配列番号 180、配列番号 183、配列番号 186、配列番号 189、配列番号 192、配列番号 195 の成熟型ポリペプチドコード配列と少なくとも 80% の配列同一性を有するポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド

d. 1 つまたは複数の位置に置換、欠失および／もしくは挿入を含む、配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドの変異体、または 1 つまたは複数の位置に置換、欠失および／もしくは挿入を含む、配列番号 8、9 もしくは 10 の成熟型ポリペプチドの変異体；ならびに

e. DNase 活性を有する (a)、(b)、(c)、または (d) のポリペプチドの断片

からなる群から選択される DNase 活性を有するポリペプチド。

46. 配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドまたは配列番号 8、9 もしくは 10 の成熟型ポリペプチドに対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有する、パラグラフ 45 に記載のポリペプチド。

47. 低度の緊縮条件、低度－中度の緊縮条件、中度の緊縮条件、中度－高度の緊縮条件、高度の緊縮条件、または極めて高度の緊縮条件下で、

i. 配列番号 1 の成熟型ポリペプチドコード配列、または

ii. (i) もしくは (ii) の完全長相補体

にハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる、パラグラフ 45 または 46 に記載のポリペプチド。

48. 配列番号 1、3 もしくは 5 またはの成熟型ポリペプチドコード配列に対して、少なくとも 60%、例えば、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチドによってコードされる、パラグラフ 45～47 のいずれかに記載のポリペプチド。

49. 配列番号 8、9 もしくは 10 または配列番号 2、4 もしくは 6 の成熟型ポリペプチドを含むか、またはこれから構成される、パラグラフ 45～48 のいずれかに記載のポリペプチド。

50. 1つまたは複数の位置に置換、欠失、および／または挿入を含む、配列番号8、9もしくは10の成熟型ポリペプチドの変異体である、パラグラフ45～49のいずれかに記載のポリペプチド。

51. 断片がDNase活性を有する配列番号2、4もしくは6の断片、または断片がDNase活性を有する配列番号9の断片である、パラグラフ50に記載のポリペプチド。

52. パラグラフ45～51のいずれかに記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

53. 発現宿主において、ポリペプチドの産生を指令する1つまたは複数の制御配列に作動可能にリンクされたパラグラフ52に記載のポリヌクレオチドを含む、核酸構築物または発現ベクター。

54. ポリペプチドの産生を指令する1つまたは複数の制御配列に作動可能にリンクされたパラグラフ52～53に記載のポリヌクレオチドを含む、組換え宿主細胞。

55. パラグラフ45～51のいずれかに記載のポリペプチドを生成する方法であって、その野生型形態でポリペプチドを産生する細胞を、ポリペプチドの産生を促す条件下で培養するステップを含む、方法。

56. ポリペプチドを回収するステップをさらに含む、パラグラフ55に記載の方法。

57. DNase活性を有するポリペプチドを生成する方法であって、ポリペプチドの産生を促す条件下で、パラグラフ56に記載の宿主細胞を培養するステップを含む、方法。

58. ポリペプチドを回収するステップをさらに含む、パラグラフ57に記載の方法。

59. パラグラフ52に記載のポリヌクレオチドに作動可能にリンクされたタンパク質をコードする遺伝子を含む組換え宿主細胞を、タンパク質の産生を促す条件下で培養するステップを含むタンパク質の生成方法であって、遺伝子が、プロペプチドをコードするポリヌクレオチドに対して外来性である、方法。

60. タンパク質を回収するステップをさらに含む、パラグラフ59に記載の方法。

61. パラグラフ45～51のいずれかに記載のポリペプチドを含む全ブロス配合物または細胞培養組成物。

62. パラグラフ27～44のいずれかに記載の方法に従って洗濯される品目。

63. DNase活性を有するポリペプチドと、医薬補助成分とを含む医薬組成物であって、ポリペプチドが、細菌供給源から得られる医薬組成物。

64. DNase活性を有するポリペプチドが、バチルス属 (*Bacillus* sp.) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) から得られる、パラグラフ63に記載の医薬組成物。

65. DNase活性を有するポリペプチドが、バチルス属 (*Bacillus*) sp-62451、バチルス・ホリコシー (*Bacillus horikoshii*) またはパエニバチルス属 (*Paenibacillus*) sp-18057から得られる、パラグラフ63～64に記載の医薬組成物。

66. ポリペプチドが、パラグラフ45～51のいずれかに記載のポリペプチドである、パラグラフ63～65のいずれかに記載の医薬組成物。

67. 組成物が、歯磨きペースト、液体歯磨き剤、うがい薬、トローチまたは歯肉マッサージ軟膏として配合される、パラグラフ63～66のいずれかに記載の医薬組成物。

68. 抗細菌化合物、抗寄生体化合物、抗真菌化合物および抗ウイルス化合物などの1種または複数種の抗菌化合物をさらに含む、パラグラフ63～66のいずれかに記載の医薬組成物。

69. 患者に接触可能なデバイスの表面の少なくとも一部が、パラグラフ63～68のいずれかに記載の医薬組成物でコーティングされていることを特徴とする留置医療デバイス。

70. 前記デバイスが、中心静脈カテーテル、血管内カテーテル、尿道カテーテル、ヒックマン (*Hickman*) カテーテル、腹膜透析カテーテル、気管内カテーテルなどのカテーテル、またはデバイスが人工心臓弁である場合、心臓ペースメーカ、動静脈シャント、強膜バックル、人工関節、鼓膜換気チューブ、気管切開チューブ、ボイスプロテーゼ、人工陰茎、人工尿道括約筋、合成恥骨脛スリング、縫合糸、骨アンカー、骨ねじ、眼内レ

10

20

30

40

50

ンズ、コンタクトレンズ、子宮内避妊器具、大動脈大腿動脈移植片、血管移植片、ニードル、ルアーロック (Luer-Lock) コネクター、ニードルレスコネクターまたは手術器具である、パラグラフ 69 に記載のデバイス。

71. パラグラフ 45 ~ 51 のいずれかに記載のポリペプチドを生成する方法であって、ポリペプチドの産生を促す条件下で、パラグラフ 54 に記載の宿主細胞を培養するステップを含む、方法。

72. ポリペプチドを回収するステップをさらに含む、パラグラフ 71 に記載の方法。

73. 対象の第2ポリペプチド；好ましくは対象の酵素；より好ましくは対象の分泌酵素；さらに好ましくはヒドロラーゼ、イソメラーゼ、リガーゼ、リアーゼ、オキシドレダクターゼ、またはトランスフェラーゼをコードするポリヌクレオチドをさらに含み；分泌酵素は、 α -ガラクトシダーゼ、 α -グルコシダーゼ、アミノペプチダーゼ、アミラーゼ、アスパラギナーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、 β -キシロシダーゼ、カルボヒドラーゼ、カルボキシペプチダーゼ、カタラーゼ、セロビオヒドロラーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、クチナーゼ、シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、エンドグルカナーゼ、エステラーゼ、緑色蛍光タンパク質、グルカノトランスフェラーゼ、グルコアミラーゼ、インベルターゼ、ラッカーゼ、リパーゼ、マンノシダーゼ、ムタナーゼ、オキシダーゼ、ペクチン分解酵素、ペルオキシダーゼ、フィターゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、タンパク質分解酵素、リボヌクレアーゼ、トランスグルタミナーゼ、またはキシラナーゼであるのが最も好ましい、パラグラフ 54 に記載の組換え宿主細胞。

74. 対象の第2ポリペプチドが、宿主細胞に対して異種または相同性である、パラグラフ 73 に記載の組換え宿主細胞。

75. 真菌宿主細胞；好ましくは、糸状真菌宿主細胞；より好ましくは、アクレモニウム属 (*Acremonium*)、アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、アウレオバシジウム属 (*Aureobasidium*)、ブエルカンデラ属 (*Bjerkandera*)、セリポリオプシス属 (*Ceriporiopsis*)、クリソスポリウム属 (*Chrysosporium*)、コプリヌス属 (*Coprinus*)、コリオルス属 (*Coriolus*)、クリプトコッカス属 (*Cryptococcus*)、フィリバシジウム属 (*Filibasidium*)、フザリウム属 (*Fusarium*)、フミコラ属 (*Humicola*)、マグナポルテ属 (*Magnaporthe*)、ムコール属 (*Mucor*)、ミセリオフトラ属 (*Myceliophthora*)、ネオカリマスチクス属 (*Neocallimastix*)、ニューロスポラ属 (*Neurospora*)、パエシロマイセス属 (*Paecilomyces*)、ペニシリウム属 (*Penicillium*)、ファネロケーテ属 (*Phanerochaete*)、フレビア属 (*Phlebia*)、ピロマイセス属 (*Piromyces*)、プレウロツス属 (*Pleurotus*)、シゾフィルム属 (*Schizophyllum*)、タラロマイセス属 (*Talaromyces*)、テルモアスクス属 (*Thermoascus*)、チエラビア属 (*Thielavia*)、トリポクラジウム属 (*Tolypocladium*)、トラメテス属 (*Trametes*)、またはトリコデルマ属 (*Trichoderma*) 細胞；最も好ましくは、アスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・フォエティダス (*Aspergillus foetidus*)、アスペルギルス・フミガーツス (*Aspergillus fumigatus*)、アスペルギルス・ジャポニクス (*Aspergillus japonicus*)、アスペルギルス・ニズランス (*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*)、ヤケイロタケ (*Bjerkandera adusta*)、セリポリオプシス・アネイリナ (*Ceriporiopsis aneirina*)、セリポリオプシス・カレギエア (*Ceriporiopsis caregieia*)、セリポリオプシス・ギルベスセンス (*Ceriporiopsis gilvescens*)、セリポリオプシス・パンノシンタ (*Ceriporiopsis pannocinta*)、セリポリ

10

20

30

40

50

オブシス・リブロサ (*Ceriporiopsis rivulosa*)、セリポリオブ
 シス・スブルファ (*Ceriporiopsis subrufa*)、セリポリオブシス
 ・スベルミスボラ (*Ceriporiopsis subvermispora*)、ク
 リソスポリウム・イノプス (*Chrysosporium inops*)、クリソスポリ
 ウム・ケラチノフィルム (*Chrysosporium keratinophilum*)
)、クリソスポリウム・ルクノウェンス (*Chrysosporium lucknow
 ense*)、クリソスポリウム・メルダリウム (*Chrysosporium merd
 arium*)、クリソスポリウム・パンニコラ (*Chrysosporium pann
 icola*)、クリソスポリウム・クイーンズランジウム (*Chrysosporium
 queenslandicum*)、クリソスポリウム・トロピウム (*Chrysospo
 rium tropicum*)、クリソスポリウム・ゾナツム (*Chrysospori
 um zonatum*)、コプリヌス・シネレウス (*Coprinus cinereus*
)、クリオルス・ヒルスツス (*Coriolus hirsutus*)、フザリウム・バ
 クテリジオイデス (*Fusarium bactridioides*)、フザリウム・セ
 レアリス (*Fusarium cerealis*)、フザリウム・クロークウェレンス (*F
 usarium crookwellense*)、フザリウム・クルモルム (*Fusa
 rium culmorum*)、フザリウム・グラミネアルム (*Fusarium gra
 minearum*)、フザリウム・グラミヌム (*Fusarium graminum*)
 、フザリウム・ヘテロスポルム (*Fusarium heterosporum*)、フザ
 リウム・ネグンディ (*Fusarium negundi*)、フザリウム・オキシスポル
 ム (*Fusarium oxysporum*)、フザリウム・レチクラツム (*Fusar
 ium reticulatum*)、フザリウム・ロゼウム (*Fusarium rose
 um*)、フザリウム・サムブシヌム (*Fusarium sambucinum*)、フザ
 リウム・サルコクロウム (*Fusarium sarcochroum*)、フザリウム・
 スポロトリキオイデス (*Fusarium sporotrichioides*)、フザ
 リウム・スルフレウム (*Fusarium sulphureum*)、フザリウム・トル
 ロスム (*Fusarium torulosum*)、フザリウム・トリコテシオイデス (*F
 usarium trichothecioides*)、フザリウム・ベネナツム (*F
 usarium venenatum*)、フミコラ・インソレンス (*Humicola i
 nsolens*)、フミコラ・ラヌギノサ (*Humicola lanuginosa*)
 、ムコール・ミエヘイ (*Mucor miehei*)、ミセリオフトラ・テルモフィラ (*M
 yceliophthora thermophila*)、ニューロスポラ・クラッサ
 (*Neurospora crassa*)、ペニシリウム・プルプロゲヌム (*Penic
 illium purpurogenum*)、ファネロケーテ・クリソスポリウム (*Ph
 anerochaete chrysosporium*)、フレビア・ラジアタ (*Phl
 ebia radiata*)、プレウロツス・エリンギイ (*Pleurotus eryn
 gii*)、チエラビア・テルレストリス (*Thielavia terrestris*)
 、トラメテス・ビロサ (*Trametes villosa*)、トラメテス・ベルシコロ
 ル (*Trametes versicolor*)、トリコデルマ・ハルジアヌム (*Tri
 choderma harzianum*)、トリコデルマ・コニンギイ (*Trichode
 rma koningii*)、トリコデルマ・ロンギブラキアツム (*Trichode
 rma longibrachiatum*)、トリコデルマ・レエセイ (*Trichod
 erma reesei*)、またはトリコデルマ・ビリデ (*Trichoderma vi
 ride*) 細胞である、パラグラフ 73 または 74 に記載の組換え宿主細胞。

76. 細菌宿主細胞；好ましくは、原核宿主細胞；より好ましくは、グラム陽性宿主細胞
 ；さらに好ましくは、バチルス属 (*Bacillus*)、クロストリジウム属 (*Clos
 tridium*)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、ゲオバチルス属
 (*Geobacillus*)、ラクトバチルス属 (*Lactobacillus*)、ラク
 トコッカス属 (*Lactococcus*)、オセアノバチルス属 (*Oceanobaci
 llus*)、スタフィロコッカス属 (*Staphylococcus*)、ストレプトコッ

10

20

30

40

50

カス属 (*Streptococcus*)、またはストレプトマイセス属 (*Streptomyces*) ; ならびに最も好ましくは、バチルス・アルカロフィルス (*Bacillus alkalophilus*)、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*)、バチルス・ブレビス (*Bacillus brevis*)、バチルス・シルクランス (*Bacillus circulans*)、バチルス・クラウシイ (*Bacillus clausii*)、バチルス・コアグラランス (*Bacillus coagulans*)、バチルス・フィルムス (*Bacillus firmus*)、バチルス・ラウツス (*Bacillus lautus*)、バチルス・レンツス (*Bacillus lentus*)、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*)、バチルス・メガテリウム (*Bacillus megaterium*)、バチルス・プミルス (*Bacillus pumilus*)、バチルス・ステアロテルモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*)、枯草菌 (*Bacillus subtilis*)、およびバチルス・チューリングエンシス (*Bacillus thuringiensis*) 宿主細胞である、パラグラフ 73 または 74 に記載の組換え宿主細胞。

77. パラグラフ 71 ~ 72 のいずれかに記載の対象の第 2 ポリペプチドを生成する方法であって、対象の第 2 ポリペプチドの産生を促す条件下で、パラグラフ 73 ~ 76 のいずれかに記載の宿主細胞を培養するステップを含む、方法。

78. 対象の第 2 ポリペプチドを回収するステップをさらに含む、パラグラフ 77 に記載の方法。

79. 洗剤補助成分が、界面活性剤である、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

80. 洗剤補助成分が、ビルダーである、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

81. 洗剤補助成分が、泥汚れ除去 / 再付着防止剤である、先行する組成物パラグラフのいずれかに記載の洗剤組成物。

82. 組成物が液体洗剤組成物であり、これは、合計濃度が少なくとも 3 重量%の界面活性剤および洗剤ビルダー、ならびに洗剤酵素含有マイクロカプセルを含み、ここで、マイクロカプセルの膜は、1 kDa 超の分子量を有する多分岐ポリアミンの架橋によって生成される、パラグラフ 12 ~ 26 に記載の洗剤組成物。

83. 多分岐ポリアミンの反応性アミノ基が、分子量の少なくとも 15 重量%を占める、パラグラフ 79 ~ 82 のいずれかに記載の洗剤組成物。

84. マイクロカプセルが、架橋剤として酸塩化物を用いることにより生成される、パラグラフ 79 ~ 83 のいずれかに記載の洗剤組成物。

85. マイクロカプセルの直径が、少なくとも 50 マイクロメートル、またはそれ以上である、パラグラフ 79 ~ 84 のいずれかに記載の洗剤組成物。

86. マイクロカプセルが、少なくとも 1 重量%の活性酵素を含有する、パラグラフ 79 ~ 85 のいずれかに記載の洗剤組成物。

87. ポリオールなどのアルコールをさらに含む、パラグラフ 79 ~ 86 のいずれかに記載の洗剤組成物。

88. 界面活性剤が、アニオン性界面活性剤である、パラグラフ 79 ~ 87 のいずれかに記載の洗剤組成物。

89. 液体洗濯組成物である、パラグラフ 79 ~ 88 のいずれかに記載の洗剤組成物。

90. 90 重量%未満の水を含有する、パラグラフ 79 ~ 89 のいずれかに記載の洗剤組成物。

91. 洗剤酵素が、DNase 活性を有するポリペプチド、プロテアーゼ、アミラーゼ、リパーゼ、セルラーゼ、マンナーゼ、ペクチナーゼ、またはオキシドレダクターゼである、パラグラフ 79 ~ 90 のいずれかに記載の洗剤組成物。

92. プロテアーゼが、メタロプロテアーゼまたはアルカリセリンプロテアーゼ、例えば、スブチリシンである、パラグラフ 79 ~ 91 のいずれかに記載の洗剤組成物。

10

20

30

40

50

93. DNase活性を有するポリペプチドが、請求項45～51のいずれかに記載のポリペプチドである、パラグラフ79～92のいずれかに記載の洗剤組成物。

94. マイクロカプセルが、架橋剤として酸塩化物を用いる界面重合によって生成される、パラグラフ79～93のいずれかに記載の洗剤組成物。

95. 多分岐ポリアミンが、ポリエチレンイミンである、パラグラフ79～94のいずれかに記載の洗剤組成物。

96. マイクロカプセルが、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、または Zn^{2+} の難溶性塩などの Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、または Zn^{2+} イオンの供給源を含む、パラグラフ79～95のいずれかに記載の洗剤組成物。

【0830】

アッセイおよび洗剤組成物

洗剤組成物

以下に挙げる洗剤組成物を本発明の酵素と組み合わせて使用することができる。

【0831】

Biotex black (液体)

5～15%アニオン性界面活性剤、<5%ノニオン性界面活性剤、香料、酵素、DMDMおよびヒダントイン。

【0832】

Ariel Sensitive White & Colorの組成物 (液体洗剤組成物)

水、アルコールエトキシ硫酸塩、アルコールエトキシレート、アミノオキシド、クエン酸、C12～18抜頭 (topped) パーム核脂肪酸、プロテアーゼ、グリコシダーゼ、アミラーゼ、エタノール、1,2-プロパンジオール、ギ酸ナトリウム、塩化カルシウム、水酸化ナトリウム、シリコン乳剤、トランス-硫酸化EHDQ (成分は、降順で記載する)。

【0833】

WFK IEC-Aモデル洗剤の組成物 (粉末)

成分：直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム8.8%、エトキシ化脂肪族アルコールC12～18 (7 EO) 4.7%、ナトリウムセッケン3.2%、消泡DC2-4248S3.9%、ケイ酸アルミニウムナトリウムゼオライト4A 28.3%、炭酸ナトリウム11.6%、アクリル酸およびマレイン酸からのコポリマーのナトリウム塩 (Sokalan CP5) 2.4%、ケイ酸ナトリウム3.0%、カルボキシメチルセルロース1.2%、Dequest 2066 2.8%、光学増白剤0.2%、硫酸ナトリウム6.5%、プロテアーゼ0.4%。

【0834】

モデル洗剤Aの組成物 (液体)

成分：12%LAS、11%AEO Biosoft N25-7 (NI)、7%AEO S (SLES)、6%MPG (モノプロピレングリコール)、3%エタノール、3%TEA、2.75%ココアセッケン、2.75%ダイズセッケン、2%グリセロール、2%水酸化ナトリウム、2%クエン酸ナトリウム、1%ナトリウムホルミエート (formiate)、0.2%DTMPAおよび0.2%PCA (パーセンテージは全てw/wである)

【0835】

Ariel Actiliftの組成物 (液体)

成分：5～15%アニオン性界面活性剤；<5%ノニオン性界面活性剤、ホスホン酸塩、セッケン；酵素、光学増白剤、ベンズイソチアゾリノン、メチルイソチアゾリノン、香料、 α -イソメチルイオノン、シトロネロール、ゲラニオール、リナロール。

【0836】

Ariel Actilift Colour & Styleの組成物 (液体)

成分：5～15%アニオン性界面活性剤；<5%ノニオン性界面活性剤、ホスホン酸塩、セッケン；酵素、香料、ベンズイソチアゾリノン、メチルイソチアゾリノン、 α -イソメチルイオノン、ブチルフェニルメチルプロピオナール、シトロネロール、ゲラニオール

10

20

30

40

50

、リナロール。

【0837】

Persil Small & Mightyの組成物（液体）

成分：15～30%のアニオン性界面活性剤、ノニオン性界面活性剤、5～15%のセッケン、<5%のポリカルボキシレート、香料、ホスホン酸塩、光学増白剤。

【0838】

Persil 2 in 1 with Comfort Passion Flower Powder

硫酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ベントナイト、炭酸ナトリウム過酸化水素化物、ケイ酸ナトリウム、ゼオライト、水、クエン酸、T A E D、C I 1 2 ～ 1 5 パレス（P a r e t h）- 7、ステアリン酸、香料、ナトリウムアクリル酸／MAコポリマー、セルロースゴム、加工トウモロコシデンプン、塩化ナトリウム、エチドロン酸四ナトリウム、カルシウムナトリウムE D T M P、アニリノモルホリノトリアジニルアミノスチルベンゼンスルホン酸二ナトリウム、重炭酸ナトリウム、フェニルプロピルエチルメチコン、ブチルフェニルメチルプロピオナール、ステアリン酸グリセリル、炭酸カルシウム、ポリアクリル酸ナトリウム、α-イソメチルイオノン、ジステリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、セルロース、プロテアーゼ、リモネン、P E G - 7 5、二酸化チタン、デキストリン、スクロース、ポリアリーールスルホン酸ナトリウム、C I 1 2 4 9 0、C I 4 5 1 0 0、C I 4 2 0 9 0、チオ硫酸ナトリウム、C I 6 1 5 8 5。

【0839】

Persil Biological Powder

スクロース、ソルビトール、ケイ酸アルミニウム、ポリオキシメチレンメラミン、ポリアリーールスルホン酸ナトリウム、C I 6 1 5 8 5、C I 4 5 1 0 0、リパーゼ、アミラーゼ、キサンタンゴム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、C I 1 2 4 9 0、ジステリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、C I 4 2 0 9 0、マンナナーゼ、C I 1 1 6 8 0、エチドロン酸、四ナトリウムE D T A。

【0840】

Persil Biological Tablets

炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム過酸化水素化物、重炭酸ナトリウム、ゼオライト、水、ケイ酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、セルロース、T A E D、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ヘミセルロース、リグニン、ラウリルグルコシド、ナトリウムアクリル酸／MAコポリマー、ベントナイト、塩化ナトリウム、香料、エチドロン酸四ナトリウム、硫酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ジメチコン、アニリノモルホリノトリアジニルアミノスチルベンゼンスルホン酸二ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸、トリメチルシロキシケイ酸、炭酸カルシウム、セルロース、P E G - 7 5、二酸化チタン、デキストリン、プロテアーゼ、加工トウモロコシデンプン、スクロース、C I 1 2 4 9 0、ポリアリーールスルホン酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アミラーゼ、カオリン。

【0841】

Persil Colour Care Biological Powder

スブチリシン、イミダゾリジノン、ヘキシルシンナマル、スクロース、ソルビトール、ケイ酸アルミニウム、ポリオキシメチレンメラミン、C I 6 1 5 8 5、C I 4 5 1 0 0、リパーゼ、アミラーゼ、キサンタンゴム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、C I 1 2 4 9 0、ジステリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、C I 4 2 0 9 0、マンナナーゼ、C I 1 1 6 8 0、エチドロン酸、四ナトリウムE D T A。

【0842】

Persil Colour Care Biological Tablets

重炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ゼオライト、水、ケイ酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、セルロースゴム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ラウリルグル

10

20

30

40

50

コシド、塩化ナトリウム、ナトリウムアクリル酸／MAコポリマー、香料、チオグリコール酸ナトリウム、PVP、硫酸ナトリウム、エチドロン酸四ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ジメチコン、ベントナイト、ドデシルベンゼンスルホン酸、トリメチルシロキシケイ酸、炭酸カルシウム、セルロース、PEG-75、二酸化チタン、デキストリン、プロテアーゼ、加工トウモロコシデンプン、スクロース、チオ硫酸ナトリウム、アミラーゼ、CI 74160、カオリン。

【0843】

Persil Dual Action Capsules Bio

MEAードデシルベンゼンスルホン酸塩、MEAー水添ヤシ脂肪酸塩、C12～15パレスー7、ジプロピレングリコール、水、エチドロン酸四ナトリウム、ポリビニルアルコール、グリセリン、アジリジン、エトキシシ化ホモポリマー、プロピレングリコール、香料、ジエチレントリアミンペンタメチレンホスホン酸ナトリウム、ソルビトール、MEAー硫酸塩、エタノールアミン、スブチリシン、グリコール、ブチルフェニルメチルプロピオナール、ボロン酸、(4-ホルミルフェニル)、ヘキシルシンナマル、リモネン、リナールール、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、 α -イソメチルイオノン、ゲラニオール、アミラーゼ、ポリマーブルー着色剤(Polymeric Blue Colourant)、ポリマーイエロー着色剤(Polymeric Yellow Colourant)、タルク、塩化ナトリウム、ベンズイソチアゾリノン、マンナナーゼ、安息香酸デナトニウム。

【0844】

Persil 2 in 1 with Comfort Sunshiny Days Powder

硫酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ベントナイト、炭酸ナトリウム過酸化水素化物、ケイ酸ナトリウム、ゼオライト、水、クエン酸、TAED、C12～15パレスー7、香料、ステアリン酸、ナトリウムアクリル酸／MAコポリマー、セルロースゴム、加工トウモロコシデンプン、塩化ナトリウム、エチドロン酸四ナトリウム、カルシウムナトリウムEDTMP、アニリノモルホリノトリアジニルアミノスチルベンゼンスルホン酸二ナトリウム、重炭酸ナトリウム、フェニルプロピルエチルメチコン、ブチルフェニルメチルプロピオナール、ステアリン酸グリセリル、炭酸カルシウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ゲラニオール、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、セルロース、プロテアーゼ、PEG-75、二酸化チタン、デキストリン、スクロース、ポリアリールスルホン酸ナトリウム、CI 12490、CI 45100、CI 42090、チオ硫酸ナトリウム、CI 61585。

【0845】

Persil Small & Mighty 2 in 1 with Comfort Sunshiny Days

水、C12～15パレスー7、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、プロピレングリコール、水添ヤシ脂肪酸ナトリウム、トリエタノールアミン、グリセリン、TEAー水添ヤシ脂肪酸ナトリウム、香料、塩化ナトリウム、ポリクオタニウム-10、PVP、ポリマーピンク着色剤(Polymeric Pink Colourant)、硫酸ナトリウム、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、ブチルフェニルメチルプロピオナール、スチレン／アクリレートコポリマー、ヘキシルシンナマル、シトロネロール、オイゲノール、ポリビニルアルコール、酢酸ナトリウム、イソプロピルアルコール、ポリマーイエロー着色剤(Polymeric Yellow Colourant)、ラウリル硫酸ナトリウム。

【0846】

Persil Small & Mighty Bio

水、MEAードデシルベンゼンスルホン酸塩、プロピレングリコール、ラウレス硫酸ナトリウム、C12～15パレスー7、TEAー水添ヤシ脂肪酸塩、MEAークエン酸塩、エトキシシ化アジリジンホモポリマー、MEAーエチドロン酸塩、トリエタノールアミン

10

20

30

40

50

、香料、アクリレートコポリマー、ソルビトール、MEA-硫酸塩、亜硫酸ナトリウム、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、ブチルフェニルメチルプロピオナール、スチレン／アクリレートコポリマー、シトロネロール、硫酸ナトリウム、ペプチド、塩、発酵（工程）からの糖、スブチリシン、グリセリン、ボロン酸、（4-ホルミルフェニル）、ゲラニオール、ペクチン酸リアーゼ、アミラーゼ、ラウリル硫酸ナトリウム、マンナナーゼ、CI 42051。

【0847】

Persil Small & Mighty Capsules Biological

MEA-ドデシルベンゼンスルホン酸塩、MEA-水添ヤシ脂肪酸塩、C12～15パレスー7、ジブロピレングリコール、水、グリセリン、ポリビニルアルコール、香料、エトキシ化アジリジンホモポリマー、ジエチレントリアミンペンタメチレンホスホン酸ナトリウム、プロピレングリコール、ソルビトール、MEA-硫酸塩、エタノールアミン、スブチリシン、グリオール、ブチルフェニルメチルプロピオナール、ヘキシルシンナマル、デンプン、ボロン酸、（4-ホルミルフェニル）、リモネン、リナルール、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、 α -イソメチルイオノン、ゲラニオール、アミラーゼ、タルク、ポリマーブルー着色剤（Polymeric Blue Colourant）、塩化ナトリウム、ベンズイソチアゾリノン、安息香酸デナトニウム、ポリマーイエロー着色剤（Polymeric Yellow Colourant）、マンナナーゼ。

【0848】

Persil Small & Mighty Capsules Colour Care

MEA-ドデシルベンゼンスルホン酸塩、MEA-水添ヤシ脂肪酸塩、C12～15パレスー7、ジブロピレングリコール、水、グリセリン、ポリビニルアルコール、香料、エトキシ化アジリジンホモポリマー、ジエチレントリアミンペンタメチレンホスホン酸ナトリウム、プロピレングリコール、MEA-硫酸塩、エタノールアミン、PVP、ソルビトール、ブチルフェニルメチルプロピオナール、スブチリシン、ヘキシルシンナマル、デンプン、リモネン、リナルール、ボロン酸、（4-ホルミルフェニル）、 α -イソメチルイオノン、ゲラニオール、タルク、ポリマーブルー着色剤（Polymeric Blue Colourant）、安息香酸デナトニウム、ポリマーイエロー着色剤（Polymeric Yellow Colourant）。

【0849】

Persil Small & Mighty Colour Care

水、MEA-ドデシルベンゼンスルホン酸塩、プロピレングリコール、ラウレス硫酸ナトリウム、C12～15パレスー7、TEA-水添ヤシ脂肪酸塩、MEA-クエン酸塩、エトキシ化アジリジンホモポリマー、MEA-エチドロン酸塩、トリエタノールアミン、香料、アクリレートコポリマー、ソルビトール、MEA-硫酸塩、亜硫酸ナトリウム、グリセリン、ブチルフェニルメチルプロピオナール、シトロネロール、硫酸ナトリウム、ペプチド、塩、発酵（工程）からの糖、スチレン／アクリレートコポリマー、スブチリシン、ボロン酸、（4-ホルミルフェニル）、ゲラニオール、ペクチン酸リアーゼ、アミラーゼ、ラウリル硫酸ナトリウム、マンナナーゼ、CI 61585、CI 45100。

【0850】

Fairy Non Bioの組成物（液体）

成分：15～30%アニオン性界面活性剤、5～15%ノニオン性界面活性剤、セッケン、ベンズイソチアゾリノン、メチルイソチアゾリノン、香料。

【0851】

モデル洗剤Tの組成物（粉末）

成分：11%LAS、2%AS/AEOS、2%セッケン、3%AEO、15.15%炭酸ナトリウム、3%ケイ酸ナトリウム、18.75%ゼオライト、0.15%キレート剤、2%クエン酸ナトリウム、1.65%AA/MAコポリマー、2.5%CMCおよび0.5%SRP（パーセンテージは全てw/wである）。

【0852】

10

20

30

40

50

モデル洗剤 X の組成物（粉末）

成分：16.5%のLAS、15%のゼオライト、12%の二ケイ酸ナトリウム、20%の炭酸ナトリウム、1%のソカラン、35.5%の硫酸ナトリウム（パーセンテージは全てw/wである）。

【0853】

Ariel Actilift Colour & Style の組成物（粉末）

成分：5～30%アニオン性界面活性剤、<5%ノニオン性界面活性剤、ホスホン酸塩、ポリカルボキシレート、ゼオライト；酵素、香料、ヘキシルシンナマル。

【0854】

Ariel Actilift の組成物（粉末）

成分：5～15%アニオン性界面活性剤、酸素系漂白剤、<5%ノニオン性界面活性剤、ホスホン酸塩、ポリカルボキシレート、ゼオライト、光学増白剤、酵素、香料、ブチルフェニルメチルプロピオナール、クマリン、ヘキシルシンナマル。

【0855】

Persil Megaperls の組成物（粉末）

成分：15～30%の下記成分：アニオン性界面活性剤、酸素系漂白剤およびゼオライト、5%未満の下記成分：ノニオン性界面活性剤、ホスホン酸塩、ポリカルボキシレート、セッケン、その他の成分：香料、ヘキシルシンナマル、サリチル酸ベンジル、リナロール、光学増白剤、酵素およびシトロネロール。

【0856】

Grain Liquid, Original:

成分：水、アルコールエトキシ硫酸塩、ジエチレングリコール、アルコールエトキシレート、エタノールアミン、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ナトリウム脂肪酸、ポリエチレンイミンエトキシレート、クエン酸、ボラックス（Borax）、ナトリウムクメンスルホン酸塩、プロピレングリコール、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ジプロピルエチルテトラミン、水酸化ナトリウム、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ジメチコン、アミラーゼ、プロテアーゼ、Liquitint（商標）、水添ヒマシ油、芳香剤。

【0857】

Tide Liquid, Original:

成分：直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、プロピレングリコール、クエン酸、水酸化ナトリウム、ボラックス、エタノールアミン、エタノール、アルコール硫酸塩、ポリエチレンイミンエトキシレート、ナトリウム脂肪酸、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、プロテアーゼ、ジエチレングリコール、ラウレスー9、アルキルジメチルアミンオキシド、芳香剤、アミラーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、DTPA、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ポリエチレングリコール4000、マンナナーゼ、Liquitint（商標）Blue、ジメチコン。

【0858】

Liquid Tide, Free and Gentle:

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、プロピレングリコール、ボラックス、エタノール、直鎖アルキルベンゼンスルホンナトリウム、塩、ポリエチレンイミンエトキシレート、ジエチレングリコール、トランス硫酸化およびエトキシル化ヘキサメチレンジアミン、アルコールエトキシレート、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、MEA塩、ギ酸ナトリウム、アルキル硫酸ナトリウム、DTPA、アミンオキシド、ギ酸カルシウム、二ナトリウムジアミノスチルベン、ジスルホン酸塩、アミラーゼ、プロテアーゼ、ジメチコン、ベンズイソチアゾリノン。

【0859】

Tide Coldwater Liquid, Fresh Scent:

水、アルコールエトキシ硫酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、エタノールアミン、クエン酸、ボラックス（Borax

10

20

30

40

50

)、硫酸アルコール、水酸化ナトリウム、ポリエチレンイミン、エトキシレート、ナトリウム脂肪酸、エタノール、プロテアーゼ、ラウレスー9、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ラウラミンオキシド、ナトリウムクメン、スルホン酸塩、芳香剤、DTPA、アミラーゼ、二ナトリウム、ジアミノスチルベン、ジスルホン酸塩、ギ酸ナトリウム、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸カルシウム、ポリエチレングリコール4000、マンナナーゼ、ペクチナーゼ、Liquitint (商標) Blue、ジメチコン。

【0860】

Tide TOTALCARE (商標) Liquid, Cool Cotton:

水、アルコールエトキシ硫酸塩、プロピレングリコール、ナトリウム脂肪酸、塩化ラウトリモニウム、エタノール、水酸化ナトリウム、クメンスルホン酸ナトリウム、クエン酸、エタノールアミン、ジエチレングリコール、シリコーンポリエーテル、ボラックス、芳香剤、ポリエチレンイミンエトキシレート、プロテアーゼ、ラウレスー9、DTPA、ポリアクリルアミドクオタニウム塩化物、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸ナトリウム、Liquitint (商標) Orange、ジプロピルエチレンテトラアミン、ジメチコン、セルラーゼ。

【0861】

Liquid Tide Plus Bleach Alternative (商標), Vivid White and Bright, Original and Clean Breeze:

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、アルキル硫酸ナトリウム、MEAクエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、MEA塩、プロピレングリコール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミン エトキシレート、エタノール、ナトリウム脂肪酸、エタノールアミン、ラウラミンオキシド、ボラックス、ラウレスー9、DTPA、クメンスルホン酸ナトリウム、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ナトリウム塩、硫酸アルコール、水酸化ナトリウム、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、芳香剤、アミラーゼ、プロテアーゼ、マンナナーゼ、ペクチナーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ベンズイソチアゾリノン、Liquitint (商標) Blue、ジメチコン、ジプロピルエチルテトラアミン。

【0862】

Liquid Tide HE, Original Scent:

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、MEAクエン酸塩、アルキル硫酸ナトリウム、アルコールエトキシレート、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、MEA塩、ナトリウム脂肪酸、ポリエチレンイミンエトキシレート、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ボラックス、ポリエチレンイミン、エトキシレートプロポキシレート、エタノール、クメンスルホン酸ナトリウム、芳香剤、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、マンナナーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ラウラミンオキシド、Liquitint (商標) Blue、ジメチコン／ポリジメチルシリコーン。

【0863】

Tide TOTALCARE HE Liquid, renewing Rain:

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、アルコールエトキシレート、クエン酸、エタノールアミン、ナトリウム脂肪酸、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、水酸化ナトリウム、ボラックス、ポチエチレンイミンエトキシレート、シリコーンポリエーテル、エタノール、プロテアーゼ、クメンスルホン酸ナトリウム、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ラウレスー9、芳香剤、アミラーゼ、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、マンナナーゼ、Liquitint (商標) Orange、ジメチコン、ポリアクリルアミドクオタニウム塩化物、セルラーゼ、ジプロピルエチルテトラアミン。

【0864】

T i d e L i q u i d H E F r e e :

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、ジエチレングリコール、クエン酸モノエタノールアミン、ギ酸ナトリウム、プロピレングリコール、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、エタノールアミン、エタノール、ポリエチレンイミンエトキシレート、アミラーゼ、ベンズイソチアゾリン、ボラックス、ギ酸カルシウム、クエン酸、ジエチレントリアミン五酢酸ナトリウム、ジメチコン、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ラウレスー9、マンナナーゼ、プロテアーゼ、クメンスルホン酸ナトリウム、ナトリウム脂肪酸。

【0865】

T i d e C o l d w a t e r H E L i q u i d , F r e s h S c e n t :

10

水、アルコールエトキシ硫酸塩、MEAクエン酸塩、硫酸アルコール、アルコールエトキシレート、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩MEA、ナトリウム脂肪酸、ポリエチレンイミンエトキシレート、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ボラックス、ポリエチレンイミンエトキシレートプロポキシレート、エタノール、クメンスルホン酸ナトリウム、芳香剤、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、プロテアーゼ、マンナナーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ラウラミンオキシド、Liquitint (商標) Blue、ジメチコン。

【0866】

T i d e f o r C o l d w a t e r H E F r e e L i q u i d :

20

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、MEAクエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：ナトリウム塩、アルコールエトキシレート、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：MEA塩、ナトリウム脂肪酸、ポリエチレンイミンエトキシレート、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、ボラックス、プロテアーゼ、ポリエチレンイミンエトキシレートプロポキシレート、エタノール、クメンスルホン酸ナトリウム、アミラーゼ、クエン酸、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ジメチコン。

【0867】

T i d e S i m p l y C l e a n & F r e s h :

30

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩ナトリウム/MEA塩、プロピレングリコール、ジエチレングリコール、ギ酸ナトリウム、エタノール、ボラックス、ナトリウム脂肪酸、芳香剤、ラウラミンオキシド、DTPA、ポリエチレンアミンエトキシレート、ギ酸カルシウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ジメチコン、テトラミン、Liquitint (商標) Blue。

【0868】

T i d e P o d s , O c e a n M i s t , M y s t i c F o r e s t , S p r i n g M e a d o w :

40

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、C12~16パレスー9、プロピレングリコール、アルコールエトキシ硫酸塩、水、ポリエチレンイミンエトキシレート、グリセリン、脂肪酸塩、PEG-136ポリ酢酸ビニル、エチレンジアミンジコハク酸塩、モノエタノールアミンクエン酸塩、亜硫酸水素ナトリウム、ジエチレントリアミン五酢酸ナトリウム、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸カルシウム、マンナナーゼ、エキシログルカナゼ、ギ酸ナトリウム、水添ヒマシ油、ナタラーゼ、色素、テルマミル、スブチリシン、ベンズイソチアゾリン、香料。

【0869】

T i d e t o G o :

脱イオン水、ジプロピレングリコールブチルエーテル、アルキル硫酸ナトリウム、過酸化水素、エタノール、硫酸マグネシウム、アルキルジメチルアミンオキシド、クエン酸、水酸化ナトリウム、トリメトキシ安息香酸、芳香剤。

【0870】

50

Tide Strain Release Liquid:

水、アルキルエトキシレート、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、過酸化水素、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、エタノールアミン、ジスチリルビフェニルジスルホン酸二ナトリウム、テトラブチルエチリジンビスフェノール、F & D C Yellow 3、芳香剤。
【0871】

Tide Strain Release Powder:

過炭酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、ポリアクリル酸ナトリウム、水、アルキルベンゼンスルホン酸塩、DTPA、ポリエチレングリコール、パルミチン酸ナトリウム、アミラーゼ、プロテアーゼ、加工デンプン、F & D C Blue 1、芳香剤。
【0872】

10

Tide Strain Release, Pre Treater Spray:

水、アルキルエトキシレート、MEAホウ酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、プロピレングリコール、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、塩化カルシウム酵素、プロテアーゼ、エタノールアミン、ベンズイソチアゾリノン、アミラーゼ、クエン酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、芳香剤。
【0873】

Tide to Go Stain Eraser:

水、アルキルアミンオキシド、ジプロピレングリコールフェニルエーテル、過酸化水素、クエン酸、エチレンジアミンジコハク酸ナトリウム塩、アルキル硫酸ナトリウム、芳香剤。
【0874】

20

Tide boost with Oxi:

重炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、過炭酸ナトリウム、アルコールエトキシレート、塩化ナトリウム、マレイン酸／アクリル酸コポリマー、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、硫酸ナトリウム、着色剤、ジエチレントリアミン五酢酸ナトリウム塩、水和アルミノケイ酸塩（ゼオライト）、ポリエチレングリコール、アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、パルミチン酸ナトリウム、デンプン、水、芳香剤。
【0875】

Tide Strain Release boost Duo Pac:

30

液体部分と粉末部分が充填されている、ポリビニルアルコールポーチフィルム：
【0876】

液体成分：ジプロピレングリコール、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、水、グリセリン、Liquitint（商標）Orange、粉末成分：過炭酸ナトリウム、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、炭酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、マレイン酸／アクリル酸コポリマー、水、アミラーゼ、ポリエチレングリコール、パルミチン酸ナトリウム、加工デンプン、プロテアーゼ、グリセリン、DTPA、芳香剤。
【0877】

Tide Ultra Stain Release:

40

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ナトリウム／MEA塩、MEAクエン酸塩、プロピレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレート、エタノール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンプロポキシエトキシレート、ナトリウム脂肪酸、プロテアーゼ、ボラックス、クメンスルホン酸ナトリウム、DTPA、芳香剤、アミラーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、ギ酸カルシウム、ギ酸ナトリウム、グルコナーゼ、ジメチコン、Liquitint（商標）Blue、マンナナーゼ。
【0878】

Ultra Tide with a Touch of Downy（登録商標）Powdered Detergent, April Fresh／Clean Breeze／A

50

p r i l E s s e n c e :

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ベントナイト、水、過炭酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ケイ酸塩、アルキル硫酸塩、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、D T P A、ポリエチレングリコール 4 0 0 0、シリコン、エトキシレート、芳香剤、ポリエチレンオキシド、パルミチン酸、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、プロテアーゼ、L i q u i t i n t (商標) R e d、F D & C B l u e 1、セルラーゼ。

【 0 8 7 9 】

U l t r a T i d e w i t h a T o u c h o f D o w n y C l e a n B r e e z e :

10

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、M E A クエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：ナトリウム／M E A 塩、プロピレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレート、エタノール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミン、プロポキシエトキシレート、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、硫酸アルコール、ジメチコン、芳香剤、ボラックス、ナトリウム脂肪酸、D T P A、プロテアーゼ、亜硫酸水素ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、アミラーゼ、グルコナーゼ、ヒマシ油、ギ酸カルシウム、M E A、スチレンアクリレートコポリマー、ギ酸ナトリウム、L i q u i t i n t (商標) B l u e。

【 0 8 8 0 】

U l t r a T i d e w i t h D o w n y S u n B l o s s o m :

20

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、M E A クエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：ナトリウム／M E A 塩、プロピレングリコール、エタノール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンプロポキシエトキシレート、ポリエチレンイミンエトキシレート、硫酸アルコール、ジメチコン、芳香剤、ボラックス、ナトリウム脂肪酸、D T P A、プロテアーゼ、亜硫酸水素ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、アミラーゼ、ヒマシ油、ギ酸カルシウム、M E A、スチレンアクリレートコポリマー、プロパンアンミウムプロパンアミド、グルコナーゼ、ギ酸ナトリウム、L i q u i t i n t (商標) B l u e。

【 0 8 8 1 】

U l t r a T i d e w i t h D o w n y A p r i l F r e s h / S w e e t D r e a m :

30

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、M E A クエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：ナトリウム／M E A 塩、プロピレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレート、エタノール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンプロポキシエトキシレート、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、硫酸アルコール、ジメチコン、芳香剤、ボラックス、ナトリウム脂肪酸、D T P A、プロテアーゼ、亜硫酸水素ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、アミラーゼ、グルコナーゼ、ヒマシ油、ギ酸カルシウム、M E A、スチレンアクリレートコポリマー、プロパンアミニウムプロパンアミド、ギ酸ナトリウム、L i q u i t i n t (商標) B l u e。

【 0 8 8 2 】

40

U l t r a T i d e F r e e P o w d e r e d D e t e r g e n t :

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、アルキル硫酸塩、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、水、ポリアクリル酸ナトリウム、ケイ酸塩、エトキシレート、過炭酸ナトリウム、ポリエチレングリコール 4 0 0 0、プロテアーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、シリコン、セルラーゼ。

【 0 8 8 3 】

U l t r a T i d e P o w d e r e d D e t e r g e n t , C l e a n B r e e z e / S p r i n g L a v e n d e r / m o u n t a i n S p r i n g :

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、硫酸ナトリウム、過炭酸ナトリウム、水、ポリアクリル酸ナトリウム、ケ

50

イ酸塩、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、エトキシレート、ポリエチレングリコール4000、芳香剤、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、パルミチン酸、プロテアーゼ、シリコーン、セルラーゼ。

【0884】

Ultra Tide HE (high Efficiency) Powdered Detergent, Clean Breeze:

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、水、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、アルキル硫酸塩、ポリアルキル硫酸ナトリウム、ケイ酸塩、過炭酸ナトリウム、エトキシレート、ポリエチレングリコール4000、芳香剤、DTPA、パルミチン酸、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、プロテアーゼ、シリコーン、セルラーゼ。

10

【0885】

Ultra Tide Coldwater Powdered Detergent, Fresh Scent:

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、過炭酸ナトリウム、アルキル硫酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、水、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、ポリアクリル酸ナトリウム、ケイ酸塩、エトキシレート、ポリエチレングリコール4000、DTPA、芳香剤、ナタラーゼ、パルミチン酸、プロテアーゼ、二ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸塩、FD&C Blue 1、シリコーン、セルラーゼ、アルキルエーテル硫酸塩。

20

【0886】

Ultra Tide with bleach Powdered Detergent, Clean Breeze:

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、過炭酸ナトリウム、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、アルキル硫酸塩、水、ケイ酸塩、ポリアクリル酸ナトリウム、エトキシレート、ポリエチレングリコール4000、芳香剤、DTPA、パルミチン酸、プロテアーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、シリコーン、FD&C Blue 1、セルラーゼ、アルキルエーテル硫酸塩。

【0887】

Ultra Tide with Febreeze Freshness (商標) Powdered Detergent, Spring Renewal:

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、過炭酸ナトリウム、アルキル硫酸塩、水、ポリアクリル酸ナトリウム、ケイ酸塩、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、エトキシレート、ポリエチレングリコール4000、DTPA、芳香剤、セルラーゼ、プロテアーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、シリコーン、FD&C Blue 1。

30

【0888】

Liquid Tide Plus with Febreeze Freshness - Sport HE Active Fresh:

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、MEAクエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ナトリウム塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：MEA塩、アルコールエトキシレート、ナトリウム脂肪酸、プロピレングリコール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレートプロポキシレート、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、エタノール、クメンスルホン酸ナトリウム、ボラックス、芳香剤、DTPA、亜硫酸水素ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、マンナナーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ラウラミンオキシド、Liquitint (商標) Blue、ジメチコン／ポリジメチルシリコーン。

40

【0889】

Tide Plus Febreeze Freshness Spring & Rene

50

w a l :

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：ナトリウム／MEA塩、MEAクエン酸塩、プロピレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレート、芳香剤、エタノール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンプロポキシエトキシレート、プロテアーゼ、硫酸アルコール、ボラックス、ナトリウム脂肪酸、DTPA、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、MEA、マンナナーゼ、グルコナーゼ、ギ酸ナトリウム、ジメチコン、Liquitint（商標）Blue、テトラミン。

【0890】

Liquid Tide Plus with Febreeze Freshness, Sport HE Active Victory Fresh:

10

水、アルコールエトキシ硫酸ナトリウム、MEAクエン酸塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、ナトリウム塩、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩：MEA塩、アルコールエトキシレート、ナトリウム脂肪酸、プロピレングリコール、ジエチレングリコール、ポリエチレンイミンエトキシレートプロポキシレート、ジクオタニウムエトキシ硫酸塩、エタノール、クメンスルホン酸ナトリウム、ボラックス、芳香剤、DTPA、亜硫酸水素ナトリウム、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、マンナナーゼ、セルラーゼ、ギ酸ナトリウム、ギ酸カルシウム、ラウラミンオキシド、Liquitint（商標）Blue、ジメチコン／ポリジメチルシリコン。

【0891】

Tide Vivid White + Bright Powder, Original:

20

炭酸ナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩、過炭酸ナトリウム、ノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩、アルキル硫酸塩、水、ケイ酸塩、ポリアクリル酸ナトリウムエトキシレート、ポリエチレングリコール4000、芳香剤、DTPA、パルミチン酸、プロテアーゼ、ジアミノスチルベンジスルホン酸二ナトリウム、シリコン、FD&C Blue 1、セルラーゼ、アルキルエーテル硫酸塩。

【0892】

HEY SPORT TEX WASH Detergent

水、ドデシルベンゼンスルホンサウーレ（dodecylbenzenesulfon saeure）、ラウレスー11、peg-75、ラノリン、プロピレングリコール、変性アルコール、ダイズカリウム（potassium soyate）、水酸化カリウム、ココアンホジ酢酸二ナトリウム、エチレンジアミン三酢酸ココサルキル（cocosalkyl）アセトアミド、香料、リシノール酸亜鉛、塩化ナトリウム、ベンズイソチアゾリノン、メチルイソチアゾリノン、ci16255、ベンジルアルコール。

30

【0893】

Tide、Ariel、GainおよびFairyと称する製品は、Procter & Gambleにより供給される市販の製品である。Persilと称する製品は、Unilever and Henkelにより供給される市販の製品である。Hey Sportと称する製品は、Hey Sportにより供給される市販の製品である。

【0894】

40

【表 1】

成分	量(重量%)
アニオン性洗浄性界面活性剤(例えば、アルキルベンゼンスルホン酸塩、アルキルエトキシ化硫酸塩、および混合物など)	その8重量%～15重量%)
ノニオン性洗浄性界面活性剤(例えば、アルキルエトキシ化アルコールなど)	0.5重量%～4重量%
カチオン性洗浄性界面活性剤(例えば、第4アンモニウム化合物など)	0～4重量%
その他の洗浄性界面活性剤(例えば、双性イオン性洗浄性界面活性剤、両性界面活性剤およびこれらの混合物など)	0重量%～4重量%
カルボン酸ポリマー(例えば、マレイン酸およびアクリル酸のコポリマーなど)	1重量%～4重量%
ポリエチレングリコールポリマー(例えば、ポリ酢酸ビニル側鎖を含むポリエチレングリコールポリマーなど)	0.5重量%～4重量%
ポリエステル汚れ遊離ポリマー(例えば、Repel-o-tex fromおよび/または Texcareポリマーなど)	0.1～2重量%
セルロース系ポリマー(例えば、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロースおよびこれらの組み合わせなど)	0.5重量%～2重量%
その他のポリマー(例えば、アミンポリマー、移染防止ポリマー、ヘキサメチレンジアミン誘導体ポリマー、およびこれらの混合物など)	0重量%～4重量%
ゼオライトビルダーおよびリン酸塩ビルダー(例えば、ゼオライト4Aおよび/またはトリポリリン酸ナトリウムなど)	0重量%～4重量%
その他のビルダー(例えば、クエン酸ナトリウムおよび/またはクエン酸など)	0重量%～3重量%
炭酸塩(例えば、炭酸ナトリウムおよび/または重炭酸ナトリウムなど)	15重量%～30重量%

【 0 8 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 2】

ケイ酸塩(例えば、ケイ酸ナトリウムなど)	0重量%～10重量%	10
充填剤(例えば、硫酸ナトリウムおよび/またはバイオフィラーなど)	10重量%～40重量%	
入手可能な酸素の供給源(例えば、過炭酸ナトリウムなど)	10重量%～20重量%	
漂白活性化剤(例えば、テトラアセチルエチレンジアミン (TAED) および/またはノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩 (NOBS)など	2重量%～8重量%	
漂白触媒(例えば、オキサジリジニウム系漂白触媒および/または遷移金属漂白触媒など)	0重量%～0.1重量%	20
その他の漂白剤(例えば、還元漂白剤および/または事前形成された過酸など)	0重量%～10重量%	
キレート剤(例えば、エチレンジアミン-N'N'-ジコハク酸 (EDDS) および/またはヒドロキシエタンニリン酸 (HEDP)など	0.2重量%～1重量%	
光漂白剤(例えば、亜鉛および/またはアルミニウムスルホン化フタロシアニンなど)	0重量%～0.1重量%	
色相剤(例えば、ダイレクトバイオレット99、アシッドレッド52、アシッドブルー80、ダイレクトバイオレット9、ソルベントバイオレット13およびこれらの任意の組み合わせなど)	0重量%～1重量%	30
増白剤(例えば、増白剤15および/または増白剤49など)	0.1重量%～0.4重量%	
プロテアーゼ(例えば、Savinase、Savinase Ultra、Purafect、FN3、FN4およびこれらの任意の組み合わせなど)	0.1重量%～0.4重量%	
アミラーゼ(例えば、Termamyl、Termamyl ultra Natalase、Optisize、Stainzyme、Stainzyme Plus、およびこれらの任意の組み合わせなど)	0.05重量%～0.2重量%	

10

20

30

40

【0896】

50

【表 3】

セルラーゼ(例えば、Carezymeおよび/またはCellucleanなど)	0.05 重量 % ～ 0.2重量%
リパーゼ(例えば、L Lipex、Lipolex、Lipocleanおよびこれらの任意の 組み合わせなど)	0.2～1重量%
その他の酵素(例えば、キシログルカナーゼ、クチナーゼ、ペクチン酸リア ーゼ、マンナナーゼ、漂白酵素など)	0 重量 % ～ 2 重 量%
布地柔軟剤(例えば、モンモリロナイト粘土および/またはポリジメチルシロ キサン (PDMS)など)	0 重量 % ～ 4 重 量%
凝集剤(例えば、ポリエチレンオキシドなど)	0 重量 % ～ 1 重 量%
セッケン泡抑制剤(例えば、シリコーンおよび/または脂肪酸など)	0重量%～0.1重 量%
香料(例えば、香料マイクロカプセル、噴霧式香料、デンプン被包香料ア コード、香料添加ゼオライト、およびこれらの任意の組み合わせなど)	0.1重量%～1重 量%
審美剤(例えば、着色リング状セッケンおよび/または着色斑点/ヌードルな ど)	0 重量 % ～ 1 重 量%
その他	残部

10

20

30

【 0 8 9 7 】

40

50

【表 4】

成分	量
カルボキシ基含有ポリマー(約60質量%～約70質量%のアクリル酸ベースのモノマー(A);および約30質量%～約40質量%のスルホン酸基含有モノマー(B)を含む);ここで、平均分子量は、国際公開第2014032269号パンフレットに記載されているように、約23,000～約50,000であり、約25,000～約38,000の範囲であるのが好ましい。	約 0.5重量%～ 約 1.5重量%
アミラーゼ(Stainzyme Plus(R)、14 mg活性酵素/gの酵素活性を有する)	約 0.1 重量%～ 約 0.5重量%
アニオン性洗浄性界面活性剤(例えば、アルキルベンゼンスルホン酸塩、アルキルエトキシ化硫酸塩、およびこれらの混合物など)	約 8重量%～約 15重量%
ノニオン性洗浄性界面活性剤(例えば、アルキルエトキシ化アルコールなど)	約0.5重量%～4 重量%
カチオン性洗浄性界面活性剤(例えば、第4アンモニウム化合物など)	約0重量%～約4 重量%
その他の洗浄性界面活性剤(例えば、双性イオン性洗浄性界面活性剤、両性界面活性剤およびこれらの混合物など)	約0重量%～4重 量%
カルボン酸ポリマー(例えば、マレイン酸およびアクリル酸のコポリマーなど)	約1重量%～約4 重量%
ポリエチレングリコールポリマー(例えば、ポリ酢酸ビニル側鎖を含むポリエチレングリコールポリマーなど)	約0重量%～約4 重量%
ポリエステル汚れ遊離ポリマー(例えば、Repel-O-tex(R)および/または Texcare(R)ポリマーなど)	約 0.1 重量%～ 約 2重量%
セルロース系ポリマー(例えば、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロースおよびこれらの組み合わせなど)	約 0.5 重量%～ 約 2重量%

10

20

30

【 0 8 9 8 】

40

50

【表 5】

その他のポリマー(例えば、アミンポリマー、移染防止ポリマー、ヘキサメチレンジアミン誘導体ポリマー、およびこれらの混合物など)	約0重量%～約4重量%
ゼオライトビルダーおよびリン酸塩ビルダー(例えば、ゼオライト4Aおよび/またはトリポリリン酸ナトリウムなど)	約0重量%～約4重量%
その他のビルダー(例えば、クエン酸ナトリウムおよび/またはクエン酸など)	約0重量%～約3重量%
炭酸塩(例えば、炭酸ナトリウムおよび/または重炭酸ナトリウムなど)	約15 t%～約30重量%
ケイ酸塩(例えば、ケイ酸ナトリウムなど)	約0重量%～約10重量%
充填剤(例えば、硫酸ナトリウムおよび/またはバイオフィラーなど)	約10重量%～約40重量%
入手可能な酸素の供給源(例えば、過炭酸ナトリウムなど)	約10重量%～約20重量%
漂白活性化剤(例えば、テトラアセチルエチレンジアミン (TAED) および/またはノナノイルオキシベンゼンスルホン酸塩 (NOBS)など)	約2重量%～約8重量%
漂白触媒(例えば、オキサジリジニウム系漂白触媒および/または遷移金属漂白触媒など)	約0重量%～約0.1重量%
その他の漂白剤(例えば、還元漂白剤および/または事前形成された過酸など)	約0重量%～約10重量%
キレート剤(例えば、エチレンジアミン-N'N'-ジコハク酸 (EDDS) および/またはヒドロキシエタンニリン酸 (HEDP)など)	約0.2重量%～約1重量%
光漂白剤(例えば、亜鉛および/またはアルミニウムスルホン化フタロシアニンなど)	約0重量%～約0.1重量%
色相剤(例えば、ダイレクトバイオレット99、アシッドレッド52、アシッドブルー80、ダイレクトバイオレット9、ソルベントバイオレット13およびこれらの任意の組み合わせなど)	約0重量%～約0.5重量%
増白剤(例えば、増白剤15および/または増白剤49など)	約0.1重量%～約0.4重量%
プロテアーゼ(例えば、Savinase、Polarzyme、Purafect、FN3、FN4およびこれらの任意の組み合わせなど、典型的には、約20 mg～約100mgの活性酵素/gを有する)	約0.1重量%～約1.5重量%

10

20

30

40

【0899】

50

【表 6】

アミラーゼ(例えば、Termamyl(R)、Termamyl Ultra(R)、Natalase(R)、Optisize HT Plus(R)、Powerase(R)、Stainzyme(R)およびこれらの任意の組み合わせなど、典型的には、約10 mg～約50 mgの活性酵素/gを有する)	約0.05重量%～約0.2重量%
セルラーゼ(例えば、Carezyme(R)、Celluzyme(R) および/または Celluclean(R)など、典型的には、10 mg～50 mgの活性酵素/gを有する)	約0.05重量%～0.5重量%
リパーゼ(例えば、Lipex(R)、Lipolex(R)、Lipoclean(R)およびこれらの任意の組み合わせなど、典型的には、約10 mg～約50 mgの活性酵素/gを有する)	約0.2重量%～約1重量%
その他の酵素(例えば、xyloglucanase(例:Whitezyme(R))、クチナーゼ、ペクチン酸リアーゼ、マンナーゼ、漂白酵素など、典型的には、約10 mg～約50 mgの活性酵素/gを有する)	0重量%～2重量%
布地柔軟剤(例えば、モンモリロナイト粘土および/またはポリジメチルシロキサン (PDMS)など)	0重量%～15重量%
凝集剤(例えば、ポリエチレンオキシドなど)	0重量%～1重量%
セッケン泡抑制剤(例えば、シリコーンおよび/または脂肪酸など)	0重量%～0.1重量%
香料(例えば、香料マイクロカプセル、スプレー式香料、デンプン被包香料アコード、香料充填ゼオライト、およびこれらの任意の組み合わせなど)	0.1重量%～1重量%
審美剤(例えば、着色リング状セッケンおよび/または着色斑点/ヌードルなど)	0重量%～1重量%
その他	残部

10

20

30

【0900】

酵素レベルは全て、洗剤組成物100g当たりのrug活性酵素タンパク質として表される。界面活性剤成分は、BASF, Ludwigshafen, Germany (Lutensol (登録商標)); Shell Chemicals, London, UK; Stepan, Northfield, ILL, USA; Huntsman, Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA; Clariant, Sulzbach, Germany (Praepagen (登録商標)) から入手することができる。

40

【0901】

トリポリリン酸ナトリウムは、Rhodia, Paris, Franceから入手することができる。ゼオライトは、Industrial Zeolite (UK) Ltd, Grays, Essex, UKから入手することができる。クエン酸およびクエン酸ナトリウムは、Jungbunzlauer, Basel, Switzerlandから入手することができる。NOBSは、Eastman, Batesville, Ark., USAにより供給されるノナノイルオキシベンゼンスルホン酸ナトリウムである。

【0902】

TAEDは、Peractive (登録商標) という商品名で、Clariant G

50

mbH, Sulzbach, Germanyにより供給されるテトラアセチルエチレンジアミンである。

【0903】

炭酸ナトリウムおよび重炭酸ナトリウムは、Solvay, Brussels, Belgiumから入手することができる。

【0904】

ポリアクリレート、ポリアクリレート／マレエートコポリマーは、BASF, Ludwigshafen, Germanyから入手することができる。

【0905】

Repel-O-Tex（登録商標）は、Rhodia, Paris, Franceから入手することができる。

10

【0906】

Texcare（登録商標）は、Clariant, Sulzbach, Germanyから入手することができる。過炭酸ナトリウムおよび炭酸ナトリウムは、Solvay, Houston, Tex., USAから入手することができる。

【0907】

エチレンジアミン-N, N'-ジコハク酸のナトリウム塩、(S, S)異性体(EDDS)は、Octel, Ellesmere Port, UKにより供給された。

【0908】

ヒドロキシエタンジリン酸塩(HEDP)は、Dow Chemical, Midland, Mich., USAにより供給された。

20

【0909】

酵素：Savinase（登録商標）、Savinase（登録商標）Ultra、Stainzyme（登録商標）Plus、Lipex（登録商標）、Lipolex（登録商標）、Lipoclean（登録商標）、Celluclean（登録商標）、Carezyme（登録商標）、Natalase（登録商標）、Stainzyme（登録商標）、Stainzyme（登録商標）Plus、Termamyl（登録商標）、Termamyl（登録商標）ultra、およびMannaway（登録商標）は、Novozymes, Bagsvaerd, Denmarkから入手することができる。

【0910】

酵素：Purafect（登録商標）、FN3、FN4およびOptisizeは、Genencor International Inc., Palo Alto, California, USから入手することができる。

30

【0911】

Direct violet 9および99は、BASF DE, Ludwigshafen, Germanyから入手することができる。Solvent violet 13は、Ningbo Lixing Chemical Co., Ltd. Ningbo, Zhejiang, Chinaから入手することができる。増白剤は、Ciba Specialty Chemicals, Basel, Switzerlandから入手することができる。

40

【0912】

別に記載のない限り、パーセンテージは全て、重量基準で計算する。別に記載のない限り、パーセンテージおよび比は全て、全組成物に基づいて計算する。本明細書全体を通して付与されるあらゆる最大数値限界は、より低い数値限界が明記されているものとして、こうしたより低い数値限界を全て包含することを理解すべきである。本明細書全体を通して付与されるあらゆる最小数値限界は、より高い数値限界が明記されているものとして、こうしたより高い数値限界を全て包含することになる。本明細書全体を通して付与されるあらゆる数値範囲は、こうしたより狭い数値範囲が本明細書に明記されているものとして、こうしたより広い数値範囲に含まれるより狭い数値範囲を全て包含することになる。

【0913】

50

洗浄アッセイ

L a u n d e r - O - M e t e r (L O M) モデル洗浄システム

L a u n d e r - O - M e t e r (L O M) は、20以下の異なる洗浄条件を同時にテストするために適用することができる中規模モデル洗浄システムである。LOMは、基本的に、大きな温度制御ウォーターバスであり、その内部に、回転する20個の密閉された金属ビーカを備える。各ビーカは、1つの小さな洗浄機を構成し、実験の間、各々が、テストしようとする特定の洗剤／酵素系の溶液を、テスト対象の汚れた布地および汚れていない布地と一緒に含む。機械的ストレスは、ウォーターバス内で回転させるビーカにより、ならびにビーカ内に金属ボールを導入することにより達成される。

【0914】

LOMモデル洗浄システムは、主に、欧州洗浄条件での洗剤および酵素の中規模テストに使用されている。LOM実験において、汚れに対するバラストの比や洗浄液に対する布地の比などの係数は、変動し得る。このように、LOMは、AMSAおよびミニ洗浄などの小規模実験と、フロントローダ式洗浄機を用い、より多くの時間がかかる実物実験とをつなげる役割を果たす。

【0915】

M i n i L a u n d e r - O - M e t e r (M i n i L O M) モデル洗浄システム

M i n i L O M は、L a u n d e r - O - M e t e r (L O M) の改良された小型洗浄システムであり、20以下の異なる洗浄条件を同時にテストするために適用することができる中規模モデル洗浄システムである。LOMは、基本的に、大きな温度制御ウォーターバスであり、その内部に、回転する20個の密閉された金属ビーカを備える。各ビーカは、1つの小さな洗浄機を構成し、実験の間、各々は、テストしようとする特定の洗剤／酵素系の溶液を、テスト対象の汚れた布地および汚れていない布地と一緒に含む。機械的ストレスは、ウォーターバス内で回転させるビーカにより、ならびにビーカ内に金属ボールを導入することにより達成される。

【0916】

LOMモデル洗浄システムは、主に、欧州洗浄条件での洗剤および酵素の中規模テストに使用されている。LOM実験において、汚れに対するバラストの比や洗浄液に対する布地の比などの係数は、変動し得る。このように、LOMは、AMSAおよびミニ洗浄などの小規模実験と、フロントローダ式洗浄機を用い、より多くの時間がかかる実物実験とをつなげる役割を果たす。

【0917】

m i n i L O M の場合、洗浄は、S t u a r t ローテータ内に配置した50ml試験チューブ中で実施する。

【0918】

T e r g - O - t i m e t e r (T O M) 洗浄アッセイ

T e r g - O - M e t e r (T O M) は、12以下の異なる洗浄条件を同時にテストするために適用することができる中規模モデル洗浄システムである。TOMは、基本的に、大きな温度制御ウォーターバスであり、その中に浸漬させた12個以下の開放金属ビーカを備える。各ビーカは、1つの小さなトップローダ式洗浄機を構成し、実験の間、それらの各々は、特定の洗剤／酵素系の溶液と、その性能をテストする対象の汚れた布地および汚れていない布地を含有する。機械的ストレスは、回転攪拌アームによって達成され、このアームは、各ビーカ内の液体を攪拌する。TOMビーカには蓋がないので、洗浄中のオンライン情報のためにTOM実験およびアッセイ中にサンプルを抜き取ることが可能である。

【0919】

TOMモデル洗浄システムは、主に、米国またはLA/AP洗浄条件での洗剤および酵素の中規模テストに使用されている。TOM実験において、汚れに対するバラストの比や洗浄液に対する布地の比などの係数は、変動し得る。このように、TOMは、AMSAおよびミニ洗浄などの小規模実験と、トップローダ式洗浄機を用い、より多くの時間がかか

10

20

30

40

50

る実物実験とをつなげる役割を果たす。

【0920】

設備：12個のスチール製ビーカと、500または1200mLの洗剤溶液容量を有するビーカにつき1つの回転アームとを備えるウォーターバス。温度範囲は、5～80℃である。ウォーターバスには、脱イオン水を充填しなければならない。回転速度は、70～120rpm/分以下に設定することができる。

【0921】

Terg-O-Tometerの温度を設定し、ウォーターバス内の回転を開始する。温度が調節される（誤差は、+/-0.5℃）のを待つ。ビーカは全て清浄であり、微量の以前のテスト材料を含まないものとする。

【0922】

所望の量の洗剤、温度および水硬度を有する洗浄溶液をバケツ中に調製する。10分間の磁気攪拌の間に洗剤を溶解させる。洗浄溶液は、調製後30～60分以内に使用すべきである。

【0923】

800mLの洗浄溶液をTOMビーカに添加する。洗浄溶液を120rpmで攪拌した後、任意選択で、1種または複数種の酵素をビーカに添加する。布切れ、続いてバラスト負荷をビーカに導入する。布切れとバラストをビーカに添加したとき、時間測定を開始する。布切れを20分間洗浄した後、攪拌を停止する。続いて、洗浄負荷をTOMビーカから篩に移して、常温の水道水ですすぐ。汚れた布切れをバラスト負荷から分ける。汚れた布切れは、5分間水を流しながら、常温の水道水を含む5Lビーカに移す。バラスト負荷は、次の不活性化のために、分けたままにしておく。布切れを手で穏やかに絞って排水し、紙で覆ったトレイの上に置く。もう1枚の布を布切れの上に置く。布切れを一晩乾燥させた後、本明細書に記載するColor Eyeを用いた色の強度の計測などの分析に付す。

【0924】

酵素アッセイ

アッセイI：DNase活性のテスト

DNase活性をDNase Test Agar with Methyl Green (BD, Franklin Lakes, NJ, USA)で決定したが、これは、供給業者のマニュアルに従って調製した。手短には、21gの寒天を500mLの水に溶解させた後、121℃で15分間オートクレーブ処理した。オートクレーブ処理した寒天をウォーターバス中で48℃に温度調節した後、20mLの寒天をペトリ皿に注ぎ込み、室温でのインキュベーションにより凝固させた。凝固した寒天プレート上に、5μLの酵素溶液を添加し、斑点状の酵素溶液周辺の無色領域としてDNase活性を観察した。

【0925】

アッセイII

Eノーズを用いた、生地のエ-2ノネナールの分析。

【0926】

生地に付いた悪臭の存在をテストする一方法は、E-2ノネナールが、ランドリーの悪臭に寄与することから、この化合物を悪臭のマーカーとして用いるものである。

【0927】

E-2ノネナールの溶液を5cm×5cmの布切れに添加してから、布切れをGC分析用の20mLガラスバイアル中に配置して、バイアルにキャップをする。40℃で20分のインキュベーション後に、Alpha M.O.S. France製のHeracles II Electronic nose (2FIDを有する二重カラムガスクロマトグラフィー、カラム1：MXT5およびカラム2：MXT1701)により、キャップしたバイアルからの5mLヘッドスペースを分析する。

【実施例】

【0928】

10

20

30

40

50

方法

PCR、クローニング、ヌクレオチドの連結などの一般的方法は、当業者にはよく知られており、例えば、以下の文献に見出すことができる：“Molecular cloning: A laboratory manual”, Sambrook et al. (1989), Cold Spring Harbor lab., Cold Spring Harbor, NY; Ausubel, F M. et al. (eds.); “Current protocols in Molecular Biology”, John Wiley and Sons, (1995); Harwood, C. R., and Cutting, S M. (eds.); “DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II”, D. N. Glover ed. (1985); “Oligonucleotide Synthesis”, M. J. Gait ed. (1984); “Nucleic Acid Hybridization”, B. D. Hames & S. J. Higgins eds (1985); “A Practical Guide To Molecular Cloning”, B. Perbal, (1984)。

10

【0929】

実施例1．細菌性DNaseのクローニングおよび発現

DNaseは、標準的微生物学的単離技術により環境サンプルから単離した細菌株から得た。16Sリボソーム遺伝子のDNA配列決定に基づいて、株を同定し、分類系統を付与した(表1)。

20

【0930】

30

40

50

【表 7】

表 1:

株	供給元の国	成熟タンパク質 配列番号
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62520	米国	11
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62520	米国	12
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	米国	13
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	デンマーク	14
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-16840	中国	15
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-16840	米国	16
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62668	米国	17
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-13395	デンマーク	18
バチルス・ホルネッキアエ(<i>Bacillus horneckiae</i>)	トルコ	19
バチルス・シービー(<i>Bacillus cibi</i>)	日本	21
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-18318	日本	22
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-11238	ネパール	20
バチルス・アイドリエンシス(<i>Bacillus idriensis</i>)	南極大陸	23
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62451	米国	8
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	日本	9
パエニバチルス属(<i>Paenibacillus</i>)sp-18057	ニュージーランド	10

【0931】

染色体DNAは、Qiagen (Hilden, Germany) 製のDNeasy Blood & Tissue Kitを用いて、個々の株の純粋な培養物から単離した後、Illumina技術を用いた全ゲノム配列決定に付した。ゲノム配列決定、続くリードのアセンブリおよび遺伝子探索（すなわち、遺伝子機能のアノテーション）は、当業者には周知であり、サービスは、市販のものを購入することができる。

【0932】

ゲノム配列は、PFAMデータベースファミリーPF14040およびPF07510 (R. D. Finn et al. Nucleic Acids Research (2014), 42:D222-D230) からの推定DNaseについて分析し、この分析によって、推定DNaseをコードする16の遺伝子を同定した後、これらをクローニングし、組換えにより枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に発現させた。PF07510は、DUF1524ドメインに対応する。

【0933】

DNaseをコードする遺伝子をPCRにより増幅し、調節エレメント、アフィニティ精製タグ、および枯草菌 (*B. subtilis*) ゲノムへの組換えのための相同性領域と融合させた。線状組込み構築物は、SOE-PCR融合生成物 (Horton, R. M., Hunt, H. D., Ho, S. N., Pullen, J. K. and Pease

, L. R. (1989) Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes, gene splicing by overlap extension Gene 77:61-68) であり、これは、強力なプロモータおよびクロラムフェニコール耐性マーカーと一緒に、2つの枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 染色体領域同士の遺伝子の融合により作製された。SOE PCR法は、特許出願国際公開第2003/095658号パンフレットにも記載されている。

【0934】

遺伝子は、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) α アミラーゼ遺伝子 (amyL)、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*) α -アミラーゼ遺伝子 (amyQ)、および安定化配列を含むバチルス・チューリンゲンシス (*Bacillus thuringiensis*) cryIIIAプロモータからのプロモータからなる三重プロモータ系 (国際公開第99/43835号パンフレットに記載されている通り) の制御下で発現させた。

【0935】

遺伝子は、天然分泌シグナルに代わる、バチルス・クラウシイ (*Bacillus clausii*) 分泌シグナルをコードする (アミノ酸配列: MKKPLGKIVASTALLISVAFSSSIASA (配列番号24) をコードする) DNAと融合させた。さらに、発現構築物により、6個の連続したヒスチジン残基から成るカルボキシー末端ポリヒスチジンテールの付加が達成される。

【0936】

SOE-PCR生成物を枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に形質転換し、ペクチン酸リアーゼ遺伝子座への相同組換えによって染色体に組み込んだ。続いて、組み込まれた発現構築物を含有する組換え枯草菌 (*Bacillus subtilis*) クローンを液体培地中で増殖させた。培養ブ罗斯を遠心分離 (20000×g、20分) した後、沈殿物から上清を注意深くデカントして、酵素の精製のために使用するか、あるいは、滅菌濾過上清をアッセイに直接使用した。

【0937】

実施例2. MiniLOM液体洗剤

ランドリー特異的細菌株の単離

ランドリーから単離したブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) の1株を本実施例で使用した。ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas*) 種を試験中に単離し、試験では、15、40および60℃でそれぞれ洗浄した後、ランドリー中の細菌多様性を調べた。試験は、デンマークの家庭から収集したランドリーについて行った。各々の洗浄について、20gのランドリー品目 (ティータオル、タオル、皿拭き用ふきん、よだれ掛け、Tシャツ脇部分、Tシャツ襟部分、ソックス) を4:3:2:2:1:1:1の範囲で使用した。洗浄は、15、40および60℃でLaundr-O-Meter (LOM) により実施した。15および40℃での洗浄の場合、Ariel Sensitive White & Colorを使用し、60℃で洗浄の場合にはWFK IEC-A*モデル洗剤を使用した。Ariel Sensitive White & Colorは、5.1gを計量し、水道水を1000mlまで添加した後、5分間攪拌することにより調製した。WFK IEC-A*モデル洗剤 (WFK Testgewebe GmbHから入手可能である) は、5gを計量し、水道水を1300mlまで添加した後、15分間攪拌することにより調製した。洗浄は、15、40および60℃でそれぞれ1時間ずつ実施した後、15℃の水道水で20分間のすすぎを2回行った。

【0938】

15、40および60℃でそれぞれ洗浄した後直ちにランドリーを取り出した。20gのランドリーに、ストマッカーバッグ中で、0.9% (w/v) NaCl (1.06404; Merk, Darmstadt, Germany) を0.5% (w/w) tween

10

20

30

40

50

80と共に1:10希釈を達成するように添加した。中間の速度で2分間ストマッカー (Stomacher) を用いて、混合物を均質化した。均質化後、10倍希釈物を0.9% (w/v) NaCl中で調製した。30℃で好氣的に5~7日間インキュベートしたトリプシンダイズ寒天 (Tryptone Soya Agar) (TSA) (CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 上で細菌を数えた。酵母およびカビの増殖を抑制するために、0.2%ソルビン酸 (359769, Sigma) および0.1%シクロヘキシミド (18079; Sigma) を添加した。細菌コロニーを計数可能なプレートから選択して、TSA上で2回再ストリークすることにより精製した。長期貯蔵のために、精製済み単離物を-80℃の20% (w/v) グリセロールを含有するTSB (49779; Sigma) 中で保存した。

10

【0939】

バイオフィルムの付いた布切れの調製

ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) を、30℃のトリプシンダイズ寒天 (Tryptone Soya Agar) (TSA) (pH7.3) (CM0131; Oxoid, Basingstoke, UK) 上で2~5日間事前に増殖させた。単一コロニーから、ループ一杯分 (loop-full) を10mLのTSBに移した後、振盪 (240rpm) しながら、30℃で1日インキュベートした。増殖後、遠心分離 (Sigma Laboratory Centrifuge 6K15) (21℃、3000gで、7分) によりブレブンディモナス属 (*Brevundimonas*) 種をペレット化してから、水で2倍希釈した10mLのTSBに再懸濁させた。分光光度計 (POLARstar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Germany) を用いて、600nmでの光学密度 (OD) を計測した。水で2倍希釈した新鮮なTSBに0.03のOD_{600nm}まで接種してから、1.6mLを12ウェルポリスチレン平底マイクロプレート (3512; Corning Incorporated, Corning, NY, USA) の各ウェルに添加し、そこに、滅菌ポリエステルWFK 30Aの丸い布切れ (直径2cm) を配置した。インキュベーション (振盪 (100rpm) しながら、15℃で24時間) 後、布切れを0.9% (w/v) NaClで2回すすいだ。

20

【0940】

洗浄実験

計量後、硬度15° dHの水を含む水に洗剤を溶解させて、液体モデル洗剤Aの洗浄液を調製した。モデル洗剤Aの使用量は、3.33g/Lであった。顔料汚れ (Pigmentschmutz 09V, wfk, Krefeld, Germany) (0.7g/L) を洗浄液に添加した。DNase (0.5ppm) を洗浄液に添加した。対照として、DNaseを含まない洗浄液を作製した。洗浄液 (10mL) を50mLの試験チューブに添加し、チューブ中に、ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) バイオフィルムの付いた5枚のすすぎ済布切れと5枚の滅菌ポリエステル (WFK 30A) 布切れを配置した。試験チューブをStuartローテータ (MiniLOM) 内に30℃で1時間配置した。布切れを水道水で2回すすいだ後、ろ紙上で一晚乾燥させた。Color Eye (Macbeth Color Eye 7000反射分光光度計) を用いて、色差 (L値) を計測した。計測は、入射光においてUVなしで実施し、CIE Lab色空間からのL値を抽出した。色差 (L値、L*) は、L*=0で最も暗い黒、またL*=100で最も明るい白を示す。データは、デルタL値として表し、これは、DNaseを用いて洗浄した布切れのL値からDNaseなしで洗浄した布切れのL値を差し引いたものを意味する。

30

40

【0941】

50

【表 8】

表2 配列番号9のバチルス・ホリコシー(*Bacillus horikoshii*)および近縁の相同体由来のDNaseのディープクリーニング効果

宿主名	L-値	ΔL
	モデル洗剤 A	モデル洗剤 A
酵素なし	83.59	n/a
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	88.50	4.91
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62520	92.77	3.50
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62520	93.17	3.90
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	93.41	4.14
バチルス・ホリコシー(<i>Bacillus horikoshii</i>)	93.28	4.01
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-16840	93.74	4.47
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-16840	92.47	3.20
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62668	92.95	3.68
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-13395	92.31	3.04
バチルス・ホルネツキアエ(<i>Bacillus horneckiae</i>)	90.01	0.74

10

20

【0942】

【表 9】

表3 配列番号8のバチルス属(*Bacillus*)sp-62451および近縁の相同体由来のDNaseのディープクリーニング効果

宿主名	L-値	ΔL
	モデル洗剤 A	モデル洗剤 A
酵素なし	83.59	n/a
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-62451	88.71	5.13
バチルス・シービー(<i>Bacillus cibi</i>)	91.80	2.53
バチルス属(<i>Bacillus</i>)sp-18318	92.91	3.64
バチルス・アイドリエンシス(<i>Bacillus idriensis</i>)	92.41	3.14

30

40

【0943】

50

【表 10】

表4 配列番号10のパエニバチルス属(Paenibacillus)sp-18057由来のDNaseのディープクリーニング効果

宿主名	L-値	ΔL
	モデル洗剤 A	モデル洗剤 A
酵素なし	83.59	n/a
パエニバチルス属(Paenibacillus)sp-18057	88.82	5.24

10

【0944】

表2、3および4は、試験した全てのDNaseが、「ディープクリーニング」効果を有することを示し、これは、これらが、液体洗剤中のバイオフィルムまたはバイオフィルム布切れの成分を破壊、低減もしくは除去することを意味する。

【0945】

以下に、DNase活性を有する別のポリペプチドである、ベンゾナーゼ（配列番号7）のクリーニング効果を示す。

【0946】

20

【表 11】

表5ベンゾナーゼ(配列番号7)のディープクリーニング

洗剤	DNase濃度 (ppm)	L-値	L-値 _{DNaseを含む} - L-値 _{DNaseなし}
酵素なし	0	83.5	n/a
ベンゾナーゼ	0.5	88.1	4.6

30

【0947】

表5は、ベンゾナーゼDNaseも液体洗剤中でディープクリーニング効果を有することを示している。

【0948】

実施例3．粉末洗剤を用いたMiniLOM洗浄

ランドリー特異的細菌株の単離

ランドリーから単離したブレブンディモナス属(Brevundimonas sp.)の1株を本実施例で使用した。ブレブンディモナス属(Brevundimonas sp.)は、試験中に単離し、試験では、15、40および60℃でそれぞれ洗浄した後、ランドリー中の細菌多様性を調べた。試験は、デンマークの家庭から収集したランドリーについて行った。各々の洗浄について、20gのランドリー品目（ティータオル、タオル、皿拭き用ふきん、よだれ掛け、Tシャツ脇部分、Tシャツ襟部分、ソックス）を4：3：2：2：1：1：1の範囲で使用した。洗浄は、15、40または60℃でLaundry-O-Meter (LOM)により実施した。15および40℃での洗浄の場合、Ariel Sensitive White & Colorを使用し、60℃で洗浄の場合にはWFK IEC-A*モデル洗剤を使用した。Ariel Sensitive White & Colorは、5.1gを計量し、水道水を1000mlまで添加した後、5分間攪拌することにより調製した。WFK IEC-A*モデル洗剤(WFK Testgewebe GmbHから入手可能)は、5gを計量し、水道水を1300mlまで添

40

50

加した後、15分間攪拌することにより調製した。洗浄は、15、40および60℃でそれぞれ1時間ずつ実施した後、15℃の水道水で20分間のすすぎを2回行った。

【0949】

15、40および60℃でそれぞれ洗浄した後直ちにランドリーをサンプリングした。20グラムのランドリーに、ストマッカーバッグ中で、0.9% (w/v) NaCl (1.06404; Merk, Darmstadt, Germany) を0.5% (w/w) tween 80で1:10希釈を達成するように添加した。ストマッカー (Stomacher) を用い、中間速度で2分間混合物を均質化した。均質化後、10倍希釈物を0.9% (w/v) NaCl中で調製した。30℃で好氣的に5~7日間インキュベートしたトリプトンダイズ寒天 (TSA: Tryptone Soya Agar) (CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 上で細菌を数えた。酵母およびカビの増殖を抑制するために、0.2%ソルビン酸 (359769, Sigma) および0.1%シクロヘキシミド (18079; Sigma) を添加した。細菌コロニーを計数可能なプレートから選択して、TSA上で2回再ストリークすることにより精製した。長期貯蔵のために、20% (w/v) グリセロールを含有するTSB (49779; Sigma) 中で、精製済み単離物を-80℃で保存した。

【0950】

バイオフィルムの付いた布切れの調製

ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) を、30℃のトリプトンダイズ寒天 (TSA: Tryptone Soya Agar) (pH 7.3) (CM0131; Oxoid Ltd, Basingstoke, UK) 上で2~5日間事前に増殖させた。単一コロニーから、ルーパー杯分 (loop-full) を10mLのTSBに移した後、振盪 (240 rpm) しながら、30℃で1日インキュベートした。増殖後、遠心分離 (Sigma Laboratory Centrifuge 6K15) (21℃、3000gで、7分) によりブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) をペレット化してから、水で2倍希釈した10mLのTSBに再懸濁させた。分光光度計 (POLARstar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Germany) を用いて、600nmで光学密度 (OD) を計測した。水で2倍希釈した新鮮なTSBに0.03のOD_{600nm}まで接種してから、1.6mLを12ウェルポリスチレン平底マイクロプレート (3512; Corning Incorporated, Corning, NY, USA) の各ウェルに添加し、そこに、滅菌ポリエステルWFK30Aの丸い布切れ (直径2cm) を配置した。インキュベーション (振盪 (100 rpm) しながら、15℃で24時間) 後、布切れを0.9% (w/v) NaClで2回すすいだ。

【0951】

洗浄実験

漂白剤なしの粉末モデル洗剤Tおよび漂白剤を含む粉末モデル洗剤Tの洗浄液は、洗剤を計量し、硬度15° dHの水を含む水に溶解させることによって調製した。漂白剤なしのモデル洗剤Tおよび漂白剤モデル洗剤を含むモデル洗剤Tの添加は、5.30g/Lであった。漂白剤なしのモデル洗剤Tおよび漂白剤を含むモデル洗剤TのAEO Biosoft N25-7 (NI) (0.16g/L) 成分は個別に添加した。顔料汚れ (Pigmentschmutz 09V, wfk, Krefeld, Germany) (0.7g/L) を洗浄液に添加した。DNase (0.5 ppm) を洗浄液に添加した。対照として、DNaseを含まない洗浄液を作製した。洗浄液 (10mL) を50mLの試験チューブに添加し、チューブ中に、ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) バイオフィルムの付いた5枚のすすぎ済布切れと5枚の滅菌ポリエステル (WFK30A) 布切れを配置した。試験チューブをStuartローテータ (MiniLOM) 内に30℃で1時間配置した。布切れを水道水で2回すすいだ後、ろ紙上で一晚乾燥させた。Color Eye (Macbeth Color Eye 7000反射分光光度計) を用いて、色差 (L値) を計測した。計測は、入射光においてUVなしで実施し、C

IE Lab 色空間からの L 値を抽出した。色差 (L 値、L*) は、L* = 0 で最も暗い黒、また L* = 100 で最も明るい白を示す。データは、デルタ L 値として表し、これは、DNase を用いて洗浄した布切れの L 値から DNase なしで洗浄した布切れの L 値を差し引いたものを意味する。

【0952】

【表12】

表6

宿主名	ΔL	L-値	ΔL
	漂白剤なしのモデル洗剤 T	漂白剤を含むモデル洗剤 T	漂白剤を含むモデル洗剤 T
酵素なし	n/a	83.49	n/a
バチルス属 (Bacillus)sp-62451	4.47	87.01	3.51
バチルス・ホリコシー (Bacillus horikoshii)	3.61	85.58	2.08
パエニバチルス (Paenibacillus)sp-18057	4.82	87.40	3.91

【0953】

実施例4．細菌性 DNase のクローニングおよび発現

DNase は、標準的微生物学的単離技術により環境サンプルまたは混合細菌集団から単離した細菌株から得た。16S リボソーム遺伝子の DNA 配列決定に基づいて、単離した純粋な株を同定し、分類系統を付与した (表7)。

【0954】

【表 13】

表 7:

株または集団	供給元の国	成熟 タンパク質 配列番号
バチルス・アルギコーラ(<i>Bacillus algicola</i>)	デンマーク	53
キサントラン・アルカリン・コミュニティ (<i>Xanthan alkaline community</i>)J	米国	56
キサントラン・アルカリン・コミュニティ (<i>Xanthan alkaline community</i>)D	スペイン	170
パエニバチルス・ムシラギノサス (<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>)3016	中国 SWISSPROT:H6NAU2	65
バチルス・ビエトナメンシス (<i>Bacillus vietnamensis</i>)	ヒマラヤ	59
バチルス・ファジンポエンシス (<i>Bacillus hwajinpoensis</i>)	デンマーク	62
キサントラン・アルカリン・コミュニティ (<i>Xanthan alkaline community</i>)O	デンマーク	173
バチルス・インディカス(<i>Bacillus indicus</i>)	米国	68
バチルス・マリスフラビ(<i>Bacillus marisflavi</i>)	米国	71
バチルス・ルシフェレンシス (<i>Bacillus luciferensis</i>)	米国	74
バチルス・マリスフラビ(<i>Bacillus marisflavi</i>)	米国	77
バチルス属(<i>Bacillus</i> sp.)SA2-6	インド UNIPROT:A0A0M2T1U6	80
サーモビスポラ・ビスポラ (<i>Thermobispora bispora</i>)DSM 43833	ドイツ SWISSPROT:D6Y838	161

【0955】

染色体DNAは、Qiagen (Hiden, Germany)製のDNeasy Blood & Tissue Kitを用いて、個々の株の純粋な培養物、またはキサントラン・アルカリン・コミュニティ(Xanthan alkaline community) J、DおよびOの場合には混合培養集団のいずれかから単離した後、Illumina技術を用いた全ゲノム配列決定に付した。ゲノム配列決定、続くリードのアセンブリおよび遺伝子探索(すなわち、遺伝子機能のアノテーション)は、当業者には周知であり、サービスは、市販のものを購入することができる。

【0956】

10

20

30

40

50

株：パエニバチルス・ムシラギノサス (*Paenibacillus mucilaginosus*) 3016、バチルス属 (*Bacillus* sp.) SA2-6およびサーモビスポラ・ビスポラ (*Thermobispora bispora*) DSM 42833のゲノム配列は、Genbankデータベースにおいてそれぞれアクセッション番号 NC_016935.1、NZ_LAYY000000000.1およびNC_014165.1で一般に入手可能である。

【0957】

ゲノム配列は、PFAMデータベースファミリーPF14040およびPF07510 (R. D. Finn et al. *Nucleic Acids Research* (2014), 42:D222-D230) からの推定DNaseについて分析し、この分析によって、推定DNaseをコードする29の遺伝子が同定され、続いて、これらをクローニングし、組換えにより枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に発現させた。PF07510は、DUF1524ファミリーに対応する。

【0958】

DNaseをコードする遺伝子は、PCRにより増幅するか、または、パエニバチルス・ムシラギノサス (*Paenibacillus mucilaginosus*) 3016、バチルス属 (*Bacillus* sp.) SA2-6およびサーモビスポラ・ビスポラ (*Thermobispora bispora*) の場合には、合成遺伝子として配列させた後、調節エレメント、アフィニティ精製タグ、および枯草菌 (*B. subtilis*) ゲノムのpel遺伝子座への組換えのための相同性領域と融合させた。線状組込み構築物は、SOE-PCR融合生成物 (Horton, R. M., Hunt, H. D., Ho, S. N., Pullen, J. K. and Pease, L. R. (1989) *Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes, gene splicing by overlap extension* *Gene* 77:61-68) であり、これは、強力なプロモータおよびクロラムフェニコール耐性マーカーと一緒に、2つの枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 染色体領域同士の遺伝子の融合により作製された。SOE PCR法は、特許出願：国際公開第2003/095658号パンフレットにも記載されている。

【0959】

遺伝子は、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) αアミラーゼ遺伝子 (amyL)、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*) α-アミラーゼ遺伝子 (amyQ)、および安定化配列を含むバチルス・チューリンゲンシス (*Bacillus thuringiensis*) cryIIIAプロモータからのプロモータからなる三重プロモータ系 (国際公開第99/43835号パンフレットに記載されている通り) の制御下で発現させた。

【0960】

遺伝子は、天然分泌シグナルに代わる、バチルス・クラウシイ (*Bacillus clausii*) 分泌シグナルをコードする (アミノ酸配列：MKKPLGKIVASTALLISVAFSSSIASA (配列番号24) をコードする) DNAと融合させた。さらに、発現構築物により、6個の連続したヒスチジン残基から成るカルボキシー末端ポリヒスチジnteールの付加が達成される。

【0961】

SOE-PCR生成物を枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に形質転換し、ペクチン酸リアーゼ遺伝子座への相同組換えによって染色体に組み込んだ。続いて、組み込まれた発現構築物を含有する組換え枯草菌 (*Bacillus subtilis*) クローンを液体培地中で増殖させた。培養ブロスと遠心分離 (20000×g、20分) した後、沈殿物から上清を注意深くデカントして、酵素の精製のために使用するか、あるいは、滅菌濾過上清をアッセイに直接使用した。

【0962】

10

20

30

40

50

実施例5．真菌性DNaseのクローニングおよび発現株

TIANGEN (TIANGEN Biotech Co. Ltd., Beijing, China) から購入した大腸菌 (*Escherichia coli*) Top-10 株を用いて、発現ベクターを増殖させた。ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドと相同性を有するポリペプチドをコードする遺伝子の相同発現のために、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) MT3568 株を使用した。A. オリゼー (*A. oryzae*) MT3568 は、A. オリゼー (*A. oryzae*) JAL355 (国際公開第02/40694号パンフレット) の amdS (アセタミダーゼ) 破壊遺伝子誘導体であり、この誘導体において、pyrG 遺伝子による A. オリゼー (*A. oryzae*) アセタミダーゼ (amdS) 遺伝子を破壊することにより、pyrG 栄養要求性が回復された。

【0963】

培地

YPM 培地組成：10 g の酵母エキス、20 g の Bacto-ペプトン、20 g のマルトース、および 1000 ml までの脱イオン水。

10 g の Bacto-トリプトン、5 g の酵母エキス、10 g の塩化ナトリウム、15 g の Bacto-寒天、および 1000 ml までの脱イオン水から構成される LB プレート。

1 g の Bacto-トリプトン、5 g の酵母エキス、10 g の塩化ナトリウム、および 1000 ml までの脱イオン水から構成される LB 培地。

COVE スクロースプレートは、342 g のスクロース、20 g の寒天粉末、20 ml の COVE 塩溶液、および 1 リットルまでの脱イオン水から構成された。

培地は、15 psi で 15 分間のオートクレーブ処理により滅菌した。次に、培地を 60 °C まで冷却してから、10 mM アセトアミド、15 mM CsCl、Triton X-100 (50 µl / 500 ml) を添加した。

単離用 COVE-2 プレート／チューブ：30 g / L のスクロース、20 ml / L の COVE 塩溶液、10 mM アセトアミド、30 g / L のノーブル寒天 (Difco, Ca # 214220)。

26 g の $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、26 g の KCl、26 g の KH_2PO_4 、50 ml の COVE 微量金属溶液、および 1000 ml までの脱イオン水から構成される COVE 塩溶液。
0.04 g の $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 、0.4 g の $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 、1.2 g の $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.7 g の $MnSO_4 \cdot H_2O$ 、0.8 g の $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 、10 g の $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、および 1000 ml までの脱イオン水から構成される COVE 微量金属溶液。

【0964】

1000 ml の蒸留水に 42.05 g の「DNase Test Agar Base w/メチルグリーン」(HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. India) を懸濁させることによってメチルグリーン DNA 試験寒天プレートを作製した後、オートクレーブ処理により滅菌した。

【0965】

実施例6．真菌性DNaseのクローニング、発現および発現

DNase は、標準的微生物学的単離技術により環境サンプルから単離した真菌株から得た。DNA 配列決定に基づいて、株を同定し、分類系統を付与した (表6)。

【0966】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表 6:

ドナー生物名	供給元の国	成熟 タンパク質 配列番号
シタリジウム・チルシナタム(<i>Scytalidium circinatum</i>)	中国	155
メタリジウム属(<i>Metarhizium</i> sp.)HNA15-2	中国	146
フミコロプシス・セファロスボリオイデス(<i>Humicolopsis cephalosporioides</i>)	アルゼンチン	182
アルテルナリア属(<i>Alternaria</i> sp.)XZ2545	中国	116
アルテルナリア属(<i>Alternaria</i> sp.)	中国	119
コリネスポラ・カッシイコーラ(<i>Corynespora cassiicola</i>)	中国	95
クルブラリア・ルナータ(<i>Curvularia lunata</i>)	中国	104
エンドフラグミエラ・バルディナ(<i>Endophragmiella valdina</i>)	中国	92
セトフェオスフェリア属(<i>Setophaeosphaeria</i> sp.)	中国	113
セトスフェリア・ロストラタ(<i>Setosphaeria rostrate</i>)	中国	89
パラフォーマ属(<i>Paraphoma</i> sp.)XZ1965	中国	98
メタポコニア・スクラスボリア(<i>Metapochonia suchlasporia</i>)	中国	131
アクレモニウム属(<i>Acremonium</i> sp.) XZ2007	中国	137
アクレモニウム属(<i>Acremonium</i> sp.)XZ2414	中国	149
イサリア・テヌイペス(<i>Isaria tenuipes</i>)	中国	152
メタリジウム・レピジオタエ(<i>Metarhizium lepidiotae</i>)	中国	158
サロクラジウム属(<i>Sarocladium</i> sp.)XZ2014	中国	143
ディディモスフェリア・フチリス(<i>Didymosphaeria futilis</i>)	中国	197
ピクニジオフォーラ cf. ディスベラ(<i>Pycnidophora</i> cf. <i>dispera</i>)	中国	167
プレオスポラ目(<i>Plecosporales</i>)	中国	191
フェオスフェリア属(<i>Phaeosphaeria</i> sp.)	中国	194
ローソエラ・インターメディア(<i>Roussoella intermedia</i>)	中国	188
モニリニア・フルクチコーラ(<i>Monilinia fructicola</i>)	オーストラリア	101
ウェステルディケラ属(<i>Westerdykella</i> sp.)AS85-2	中国	179
スポロミア・フィメタリア(<i>Sporormia fimetaria</i>)	中国	164
カエトミウム・サーモフィルム var. サーモフィルム(<i>Chaetomium thermophilum</i> var. <i>thermophilum</i>)	英国	125
ダルジニア・フィッサ(<i>Daldinia fissa</i>)	中国	134
シタリディウム・サーモフィルム(<i>Scytalidium thermophilum</i>)	中国	128

【0967】

QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hiden, Germany) によって、個々の株(表6)から染色体DNAを単離した。Illumina技術を用いた全ゲノム配列決定のために、5 μgの染色体DNAを送った。これらの株からゲノムDNAを単離した後、標準的方法により、または市販のサービスを購入して、ゲノム配列を決定し、アセンブリングおよびアノテーションを行った。

【0968】

ゲノム配列は、PFAMデータベースファミリーDUF1524 (R. D. Finn et al. Nucleic Acids Research 42:D222-D230

）からの推定DNaseについて分析した。この分析によって、推定DNaseをコードする29の遺伝子が同定され、続いて、これらをクローニングし、組換えによりアスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) に発現させた。

【0969】

これらの29の遺伝子は、前述の単離した真菌ゲノムDNAからPCRにより増幅した。精製したPCR生成物は、製造者の指示に従って、INFUSION (商標) CF Dry-down Cloning Kit (Clontech Laboratories, Inc., Mountain View, CA, USA) との連結により、発現ベクターpCaHj505にクローニングした。連結混合物を用いて、大腸菌 (*E. coli*) TOP-10ケミカルコンピテントセル (「株」に記載されている) を形質転換した。DNaseを含有する正しいコロニーを選択し、DNA配列決定 (SinoGenoMax Company Limited, Beijing, Chinaによる) によって確認した。ml当たり100 μ gのアンピシリンを添加した3mlのLB培地中で、DNaseを含むコロニーを一晩培養した。Qiagen Spin Miniprepキット (Cat. 27106) (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) を用いて、製造者の指示に従い、プラスミドDNAを精製した。SignalPプログラムv. 3 (Nielsen et al., 1997, Protein Engineering 10: 1-6) を用いて、シグナルペプチド、それに応じて成熟型ポリペプチドを予測した。

【0970】

国際公開第95/02043号パンフレットに従って、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) MT3568のプロトプラストを調製した。100 μ lのプロトプラストをそれぞれ、DNaseを含む2.5~10 μ gの各アスペルギルス属 (*Aspergillus*) 発現ベクターならびに250 μ lの60%PEG4000、10mM CaCl₂、および10mM Tris-HCl pH7.5と混ぜ、穏やかに混合した。混合物を37℃で30分間インキュベートし、プロトプラストを選択のためにCOVEスクロースプレート上に広げた。37℃で4~7日間のインキュベーション後、4つの形質転換体の胞子を3mlのYPM培地中にインキュベートした。30℃で3日の培養後、Novex (登録商標) 4~20% Tris-Glycine Gel (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA) を用いたSDS-PAGEにより培養ブ罗斯を分析して、それぞれ推定される成熟ポリペプチドサイズを有する組換えDNaseを最大量産生する形質転換体を同定した。

【0971】

アスペルギルス属 (*Aspergillus*) 形質転換体により産生されるDNaseの加水分解活性を、メチルグリーンDNA試験寒天プレートを用いて調べた。様々な形質転換体、または緩衝剤 (負の対照) からの培養ブ罗斯の20 μ lアリコート直径3mmの穿孔に配分し、37℃で1時間インキュベートした。次に、ホスホリパーゼ活性に対応する、孔周辺の白色ゾーンの存在または非存在についてプレートを調べた。単一コロニーを単離するために、これらの2つの基準に基づいて、最良の形質転換体の胞子を再単離用のCOVE-2プレート上に広げた。次に、胞子形成まで、単一コロニーをCOVE-2チューブ上に広げた。最もよく発現された形質転換体からの胞子を、80rpmでの攪拌下、温度30℃で、3日間振盪フラスコ内の2400mlのYPM培地中で培養した。0.2 μ mフィルタ装置を用いたろ過により、培養ブ罗斯を回収した。ろ過した発酵ブ罗斯を酵素特性決定のために使用した。

【0972】

実施例7. 金属イオンアフィニティクロマトグラフィー (IMAC) による組換えDNaseの精製

実施例7で回収した培養ブ罗斯を硫酸アンモニウム (80%飽和) で沈殿させた。沈殿物を50mlの20mM PBS pH7.0に再溶解させた後、0.45 μ mフィルタを介してろ過した。ろ過した粗タンパク質溶液を20mM PBS pH7.0で平衡させた

50mlセルフパックNiセファロースエクセルアフィニティカラム (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) に適用した。線形0~0.5Mイミダゾール勾配でタンパク質を溶離した。Mini-PROTEAN TGX Stain-Free 4-15% Precast Gel (Bio-Rad Laboratories, CA, United States) を用いたSDS-PAGEにより、画分を分析した。pH8.0、40℃のBD Difco (商標) DNase Test Agar with Methyl Green (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, United States) で、画分のDNase活性を評価した。組換えタンパク質バンドを含有し、且つ正の活性を示す画分をプールした。次に、プールした溶液を限外ろ過により濃縮した。

10

【0973】

実施例8：疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC) による組換えDNaseの精製

実施例7で回収した培養ブロス硫酸アンモニウム (80%飽和) で沈殿させた。沈殿物を50mlの20mM PBS pH7.0に再溶解させてから、最終濃度が1.8Mになるように硫酸アンモニウムを再度添加した。粗タンパク質溶液を0.45μmフィルタでろ過した後、20mM PBS pH7.0および1.8M硫酸アンモニウム緩衝液で平衡させた20mlプレパックHiPrep Phenyl HP 16/10カラム (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) に適用した。線形1.8M~0M硫酸アンモニウム勾配でタンパク質を溶離した。Mini-PROTEAN TGX Stain-Free 4-15% Precast Gel (Bio-Rad Laboratories, CA, United States) を用いたSDS-PAGEにより、画分を分析した。pH8.0、40℃のBD Difco (商標) DNase Test Agar with Methyl Green (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, United States) で、画分のDNase活性を評価した。組換えタンパク質バンドを含有し、且つ正の活性を示す画分をプールした。次に、プールした溶液を限外ろ過により濃縮した。

20

【0974】

実施例9：DNaseのクローニング、発現および発酵

様々な供給源から得られた真菌株からDNaseをクローニングした。ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.) は、デンマークで単離され、コペンハーゲン大学 (University of Copenhagen) から受け取ったが、これは、成熟型ポリペプチド配列番号83の供給源である。ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*) は、日本の土壌サンプルから単離したが、これは、配列番号110の成熟型ポリペプチドの供給源である。トリコデルマ・リーセイ (*Trichoderma reesei*) 株RUT-C30は、ラトガース大学 (Rutgers University) から取得したが、これは、ATCC (マナサス、バージニア州、米国) からATCC56765として入手可能であり、配列番号122の成熟型ポリペプチドの供給源である。ネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) 株CBS117265は、CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre (ユトレヒト、オランダ) から購入したが、これは、配列番号185の成熟型ポリペプチドの供給源である。これらの株からゲノムDNAを単離し、ゲノム配列を決定し、標準的方法により、または市販のサービスを購入して、アセンブリングおよびアノテーションを行った。NUC1__Aドメインを有する推定DNaseについて、アノテーション付きのゲノムを検索した。配列番号82、109、121、および184を有する予測ペプチドが、NUC1__Aドメインを有することが判明し、配列番号81、108、120、および183で、これらをコードする対応するDNA配列を、ピレノカエトプシス属 (*Pyrenochaetopsis* sp.)、ペニシリウム・ケルセトルム (*Penicillium quercetorum*)、トリコデルマ・リーセイ (*Trichoderma reesei*) およびネオサルトリア・マッサ (*Neosartorya massa*) から単離したゲノムDNAからPCR増幅した

30

40

50

後、アスペルギルス属 (*Aspergillus*) 発現ベクター pMStr57 (国際公開第04/032648) にクローニングした。発現ベクターにクローニングされた NUC1__A コード遺伝子の配列を確認し、発現構築物をアスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*) MT3568 (国際公開第11/057140号パンフレット) に形質転換した。プロトプラストからの再生中に、形質転換体をアセトアミド上で選択した後、選択に従って再単離した (Christensen et al., 1988, *Biotechnology* 6, 1419-1422 および国際公開第04/032648号パンフレット)。組換え DNase の産生のために、各 DNase について単一のアスペルギルス属 (*Aspergillus*) 形質転換体を選択し、150ml の DAP-4C-1 培地を含む 500ml のバッフル付きフラスコ内で形質転換体を培養した (国際公開第12/103350号パンフレット)。150RPM、30℃の回転テーブル上で培養物を4日間振盪させた。培養ブロスに0.22μm フィルタに通過させて、細胞材料から分離した。

【0975】

実施例10：組換え DNase のクロマトグラフィー精製

ろ過したサンプルの pH を pH7.5 前後に調節してから、1.8M 硫酸アンモニウムを添加した。サンプルを Akta Explorer 上の 5ml HiTrap (商標) Phenyl (HS) カラムに塗布した。ロードする前に、5カラム体積 (CV) の 50mM HEPES+1.8M AMS pH7 中でカラムを平衡させた。非結合材料を除去するために、カラムを 5CV の 50mM HEPES+1.8M AMS pH7 で洗浄した。50mM HEPES+20% イソプロパノール pH7 を用いて、標的タンパク質をカラムから 10ml ループ中に溶出させた。ループから、3CV の 50mM HEPES+100mM NaCl pH7.0 で平衡させておいた脱塩カラム (HiPrep (商標) 26/10 Desalting) にサンプルをロードした。標的タンパク質を 50mM HEPES+100mM NaCl pH7.0 で溶出させた後、クロマトグラムに基づいて関連画分を選択し、プールした。流量は、5ml/分であった。280nm での吸光度を測定することにより、最終サンプル中のタンパク質濃度を推定した。

【0976】

実施例11．系統樹の構築

NUC1 ドメインは、DNase 活性を有する本発明のポリペプチドを包含し、NUC1__A ドメインならびにクレードなどのクラスターを含む。

【0977】

PFAM (PF07510, Pfam version 30.0 Finn (2016). *Nucleic Acids Research, Database Issue* 44: D279-D285) に定義されているように、DUF1524 ドメインを含むポリペプチド配列の系統樹を構築した。系統樹は、少なくとも1つの DUF1524 ドメインを含む成熟型ポリペプチド配列の多重アラインメントから構築した。MUSCLE アルゴリズムバージョン 3.8.31 (Edgar, 2004. *Nucleic Acids Research* 32 (5): 1792-1797) を用いて配列をアラインメントし、系統樹は、FastTree version 2.1.8 (Price et al., 2010, *PloS one* 5 (3)) を用いて構築し、iTOL (Letunic & Bork, 2007. *Bioinformatics* 23 (1): 127-128) を用いて視覚化した。

【0978】

DUF1524 ドメインから成るポリペプチドは、数個のモチーフを含み、1例は、B. シービー (B. cibi) (配列番号 21) の 87~91 位に対応する位置に位置する [E/D/H] H [I/V/L/F/M] X [P/A/S] (配列番号 200) である。H88 は、DUF1524 の触媒活性に関与した触媒残基、および HXXP モチーフの一部である。残基 N128 (配列番号 21) は、触媒金属イオンと結合することが予測される。本発明のポリペプチドが含むと考えられる別のモチーフは、[T/D/S] [G/N

〕 P Q L（配列番号 198）であり、ここで、Q は、H X X P モチーフの骨格の安定化に関与する。また別のモチーフは、配列番号 21 の 28 ～ 31 位に対応する [G / T] Y [D / S] [R / K / L]（配列番号 199）であり、ここで、R 31 は、以下に記載するように、G Y S クレードの触媒モチーフの一部である。

【 0979 】

D U F 1524 のポリペプチドを個別のサブクラスターに分離し、モチーフ：[F / L / Y / I] A [N / R] D [L / I / P / V]（配列番号 201）を含むサブクラスターをファミリー N U C 1 として示した。このモチーフは、配列番号 21 の 110 ～ 114 位に対応する位置に位置している。このドメインに特徴的な別のモチーフは、C [D / N] T [A / R]（配列番号 202）であり、これは、（配列番号 21）の 43 ～ 46 位に対応する位置に位置している。

【 0980 】

N U C 1 __ A ドメインの作製

上に定義したように、N U C 1 ドメインを含むポリペプチド配列から系統樹を構築した。系統樹は、少なくとも 1 つの N U C 1 ドメインを含む成熟型ポリペプチド配列の多重アラインメントから構築した。M U S C L E アルゴリズムバージョン 3.8.31（Edg ar, 2004. N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h 32（5）：1792－1797）を用いて配列をアラインメントし、系統樹は、F a s t T r e e v e r s i o n 2.1.8（P r i c e e t a l., 2010, P l o S o n e 5（3））を用いて構築し、i T O L（L e t u n i c & B o r k, 2007. B i o i n f o r m a t i c s 23（1）：127－128）を用いて視覚化した。N U C 1 のポリペプチドは、少なくとも個別のサブクラスターに分類することができ、その際、N U C 1 __ A を明示した。この亜群に特徴的なモチーフは、参照ポリペプチド（配列番号 21）のアミノ酸 85 ～ 88 に対応するモチーフ [D / Q] [I / V] D H（配列番号 203）である。配列番号 21 の 85 位に対応する位置の D は、触媒金属イオン補因子の結合に関与することが予測される。

【 0981 】

系統樹の作製

上に定義されているように、N U C 1 __ A を含むポリペプチド配列の系統樹を構築した。系統樹は、少なくとも 1 つの N U C 1 __ A ドメインを含む成熟型ポリペプチド配列の多重アラインメントから構築した。M U S C L E アルゴリズムバージョン 3.8.31（Edg ar, 2004. N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h 32（5）：1792－1797）を用いて配列をアラインメントし、系統樹は、F a s t T r e e v e r s i o n 2.1.8（P r i c e e t a l., 2010, P l o S o n e 5（3））を用いて構築し、i T O L（L e t u n i c & B o r k, 2007. B i o i n f o r m a t i c s 23（1）：127－128）を用いて視覚化した。N U C 1 __ A ポリペプチドは、複数の個別のサブクラスター、またはクレードに分類することができ、その際、以下に挙げるクレードを明示した。各クレードについての個別のモチーフを以下に詳しく記載する。

【 0982 】

（a）G Y S クレード

G Y S クレードは、D N a s e 活性を有する N U C 1 __ A ポリペプチド、主としてバチルス属（b a c i l l u s）の細菌クラスを含む。このクレードのポリペプチドは、数個のモチーフを含み、1 例は、配列番号 21 の 125 ～ 133 位に対応する、A S X N R S K G（配列番号 205）であり、ここで、R（配列番号 21 の 129 位に対応する）は、G Y S クレードに十分に保存されている。このモチーフは、タンパク質の表面上に位置し、DNA 結合に関与すると推定される。N（配列番号 21 の 128 位に対応する）は、触媒金属イオン結合に関与すると予測される。G Y S クレード内のモチーフに関する別の例は、配列番号 21 の 26 ～ 32 位に対応する、[D / M / L] [S / T] G Y S R [D / N]（配列番号 204）である。配列番号 21 の 31 位に対応する位置に位置する R は、

GY Sクレードの触媒モチーフの一部である。このクレードに含まれる本発明のポリペプチドのアラインメントを図1に示す。

【0983】

(b) NAWKクレード

このクレードは、DNase活性を有すると共に、主として、特にクロイボタケ綱 (*D o t h i d e o m y c e t e s*) のクラスに由来する真菌性DNaseを含むポリペプチドを含む。このクレードのポリペプチドは、1つまたは複数のモチーフを含み、そうしたモチーフの例として、[V/I] P L [S/A] NAWK (配列番号206) およびNPQL (配列番号207) がある。このクレードに含まれる本発明のポリペプチドのアラインメントを図2に示す。

【0984】

(c) KNAWKクレード

このクレードのポリペプチドは、主として、例えば、フンタマカビ綱 (*S o r d a r i o m y c e t e s*) 分類群などの真菌供給源に由来するポリペプチドを含む。このクレードのポリペプチドは、1つまたは複数のモチーフを含む。そうしたモチーフの例として、P [Q/E] L [W/Y] (配列番号208) があり、これは、カルシウム結合に関与すると予測される。別のモチーフは、[K/H/E] NAW (配列番号209) である。

【0985】

隠れマルコフモデル (Hidden Markov Model) (HMM) :

隠れマルコフモデルを形成する戦略は以下に記載する通りである。実験により確認された機能性NUC1__Aエンドヌクレアーゼのポリペプチド配列を、HMMERソフトウェアパッケージ (<http://hmmerr.org> から入手可能; プロフィールHMMの背後にある理論は、以下に記載されている: R. Durbin, S. Eddy, A. Krogh, および G. Mitchison, *Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids*, Cambridge University Press, 1998; Krogh et al., 1994; J. Mol. Biol. 235: 1501-1531) を用いて、HMMERから入手可能なユーザガイド (Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Va., <http://hmmerr.org>) に従い分析した。隠れマルコフ (Markov) モデルは、タンパク質の分類を目的とするいくつかのデータベースで使用されており、論評については、Bateman A and Haft D H (2002) *Brief Bioinform* 3; 236-245を参照されたい。HMMER *hmmbuild* ソフトウェアプログラムの出力は、入力配列を特性決定するプロフィール隠れマルコフモデル (プロフィールHMM) である。ユーザガイドに記載されているように、プロフィールHMMは、多重配列アラインメントのコンセンサスの統計的記述である。これらは、アミノ酸 (またはヌクレオチド) の位置特異的スコア、挿入もしくは欠失の開始および伸長についての位置特異的スコアを使用する。他のプロフィールに基づく方法と比較して、HMMは、形式的確率基準を有する。多数のタンパク質ファミリーについてのプロフィールHMMは、PFAMデータベース (Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Va.) で一般に入手可能である。

【0986】

プロフィールHMMは、以下のようにして構築した。

【0987】

ステップ1. 配列アラインメントの構築

デフォルトパラメータを有するMUSCLEアルゴリズムバージョン3.8.31 (Edgar, R. C. (2004). *Nucleic Acids Research*, 32 (5), 1792-1797) を用いて、以下: 配列番号8、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列

番号23、配列番号53、配列番号56、配列番号59、配列番号62、配列番号65、配列番号68、配列番号71、配列番号74、配列番号77、配列番号80、配列番号83、配列番号86、配列番号89、配列番号92、配列番号95、配列番号98、配列番号101、配列番号104、配列番号107、配列番号110、配列番号113、配列番号116、配列番号119、配列番号122、配列番号125、配列番号128、配列番号131、配列番号134、配列番号137、配列番号140、配列番号143、配列番号146、配列番号149、配列番号152、配列番号155、配列番号158、配列番号161、配列番号164、配列番号167、配列番号170、配列番号173、配列番号176、配列番号179、配列番号182、配列番号185、配列番号188、配列番号191、配列番号194、配列番号197に示されるポリペプチドをアラインメントし、この多重配列アラインメントから、ソフトウェアプログラムhmmbuildバージョン3.1b2 (<http://hmmerr.org>から入手可能)を用いてHMMを構築した。hmmbuildは、MUSCLEにより作製された多重配列アラインメントファイルを読み取り、新たなプロファイルHMMを構築し、プロファイルHMMをHMMERプロファイルファイルにセーブする。プロファイルHMMは、HMMERプロファイルファイルに完全に記述され、このファイルは、HMMをパラメータ化するために用いられる全ての確率を含む。NUC1__AポリペプチドのセットについてのプロファイルHMM。

【0988】

ステップ2. 構築されたプロファイルHMMの特異性および感受性の試験

デフォルト設定を有するhmmsearchバージョン3.1b2ソフトウェアプログラムを用いて、プロファイルHMMを評価した。このプログラムは、プロファイルHMMを読み取り、有意に類似する配列マッチについて配列ファイルを検索する。検索された配列ファイルは、DUF1524のアノテーション付きUniProt配列(Pfam DUF1524、信頼(Trusted)ドメインカットオフ21.2PfamファミリーPF07510、データベースバージョン30.0UniProtアノテーション付き1412配列)を全て含んだ。検索の間、データベースのサイズ(Zパラメータ)を10億に設定した。このサイズ設定は、現在のデータベースに対する有意なE値が、しばらくの間有意なままであることを確実にする。hmmsearch domT信頼(Trusted)カットオフは、157.0に設定した。

【0989】

プロファイルHMMと共に、hmmsearchを用いたhmmer検索によって、64NUC1__A実験活性エンドヌクレアーゼのアラインメントから、157.0の信頼(Trusted)ドメインカットオフを超えるUniProtにおいてマッチした2966配列が得られ；これらは全て、PfamドメインDUF1524とマッチし、全て、NUC1__Aモチーフ[D/Q][I/V]DHを含んだ。この結果は、NUC1__Aファミリーのメンバーが、有意な配列類似性を有することを示している。157の信頼(Trusted)ドメインカットオフを用いたhmmer検索を使用して、NUC1__Aを他のタンパク質から分離した。

【0990】

実施例12：洗浄アッセイ：

バイオフィーム布切れの調製

ポリエステル布切れにブレブディモナス属(*Brevundimonas* sp.)を2日間にわたり増殖させることによって、バイオフィーム布切れを調製した。バイオフィーム布切れを水で2回すすぎ、空気流の下で1時間乾燥させた後、小さな円形に切り抜き、後の使用のために4℃で保存した。

【0991】

洗浄実験

切り抜いたバイオフィーム布切れをディーブウェル96フォーマットプレートに配置した。96ウェルプレートハミルトン(Hamilton)ロボット内に配置し、次の条件を用いた洗浄シミュレーションプログラムに供した：振盪速度：1000rpmで30

10

20

30

40

50

秒。洗浄サイクルの時間：振盪しながら30分；温度30℃；洗浄液の量（合計）：ウェル当たり0.5mL。（490洗浄液+10μLのサンプル）。WT DNaseの洗浄性能のスクリーニングのために、硬度15°dHの水に溶解させたモデル洗剤A（3.3g/L）を使用した。続いて、0.7g汚れ/L（WFK09V顔料汚れ）の濃度に達するまで汚れを添加した。96ウェルプレートに各酵素サンプルで充填し、ロボットによりプログラムを開始した。DNaseは、濃度0.05ppmで試験した。ブランクは、酵素を添加しないバイオフィーム布切れから構成された。洗浄シミュレーションサイクルの完了後、切り抜いた布切れを洗浄液から取り出し、ろ紙上で乾燥させた。乾燥させた布切れを走査のために白い紙の上に固定した。走査画像は、さらにソフトウェアカラーアナライザーと共に使用した。各サンプルは、カラーアナライザーソフトウェア分析から、強度測定値を有することになり、これを用いて、酵素なしのブランクの強度を差し引くことにより、デルタ強度（再発光）を算出する。70を超える値は、ヒトの肉眼で見える。

【0992】

KNAWについてのデータ

【0993】

【表15】

表7

	REM 酵素なし	REM 酵素を含む	ΔREM
トリコデルマ・リーセイ (<i>Trichoderma reesei</i>) 配列番号 122	285	372	87
カエトミウム・サーモフィ ルム var.(<i>Chaetomium</i> <i>thermophilum</i> var.) 配列番号 125	285	382	97
シタリディウム・サーモフ ィルム(<i>Scytalidium</i> <i>thermophilum</i>) 配列番号 128	285	356	71
ダルジニア・フィッサ (<i>Daldinia Fissa</i>) 配列番号 134	285	391	106

【0994】

NAWKについてのデータ

【0995】

【表 16】

表 8

	REM 酵素なし	REM 酵素を含む	ΔREM
ピレノカエトプシス属 (<i>Pyrenochaetopsis</i> sp.) 配列番号 83	285	393	108
モニリニア・フルクチコーラ (<i>Monilinia fructicola</i>) 配列番号 101	285	385	100

10

【0996】

NUC1__Aについてのデータ

【0997】

20

【表 17】

表 9

	REM 酵素なし	REM 酵素を含む	ΔREM
スポロルミア・フィメタリア (<i>Sporormia fimetaria</i>) 配列番号 164	285	378	93
ネオサルトリア・マッサ (<i>Neosartorya massa</i>)配 列番号 185	285	383	98

30

【0998】

実施例 13. MiniOM 液体洗剤

ランドリー特異的細菌株の単離

40

ランドリーから単離したブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) の 1 株を本実施例で使用した。ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) は、試験中に単離し、試験では、15、40 および 60℃ でそれぞれ洗浄した後、ランドリー中の細菌多様性を調べた。試験は、デンマークの家庭から収集したランドリーについて行った。各々の洗浄について、20 g のランドリー品目 (ティータオル、タオル、皿拭き用ふきん、よだれ掛け、T シャツ脇部分、T シャツ襟部分、ソックス) を 4 : 3 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 の範囲で使用した。洗浄は、15、40 または 60℃ で Laundry-O-Meter (LOM) により実施した。15 および 40℃ での洗浄の場合、Ariel Sensitive White & Colour を使用し、60℃ で洗浄の場合には WFK IEC-A* モデル洗剤を使用した。Ariel Sensitive

50

White & Colourは、5.1gを計量し、水道水を1000mlまで添加した後、5分間攪拌することにより調製した。WFK IEC-A*モデル洗剤(WFK Testgewebe GmbHから入手可能)は、5gを計量し、水道水を1300mlまで添加した後、15分間攪拌することにより調製した。洗浄は、15、40および60℃でそれぞれ1時間ずつ実施した後、15℃の水道水で20分間のすすぎを2回行った。

【0999】

15、40および60℃でそれぞれ洗浄した後直ちにランドリーをサンプリングした。20グラムのランドリーに、ストマッカーバッグ中で、0.9% (w/v) NaCl (1.06404; Merk, Darmstadt, Germany) を0.5% (w/w) tween 80と共に1:10希釈を達成するように添加した。ストマッカー (Stomacher) を中間速度で2分間用いて、混合物を均質化した。均質化後、10倍希釈物を0.9% (w/v) NaCl中で調製した。30℃で好氣的に5~7日間インキュベートしたトリプトンダイズ寒天(TSA: Tryptone Soya Agar) (CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 上で細菌を数えた。酵母およびカビの増殖を抑制するために、0.2% ソルビン酸 (359769, Sigma) および0.1% シクロヘキシミド (18079; Sigma) を添加した。細菌コロニーを計数可能なプレートから選択して、TSA上で2回再ストリークすることにより精製した。長期貯蔵のために、20% (w/v) グリセロールを含有するTSB (49779; Sigma) 中で、精製済み単離物を-80℃で保存した。

【1000】

バイオフィルムの付いた布切れの調製

ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) を、30℃のトリプトンダイズ寒天 (TSA: Tryptone Soya Agar) (pH 7.3) (CM0131; Oxoid, Basingstoke, UK) 上で2~5日間事前に増殖させた。単一コロニーから、ルーパー杯分 (loop-full) を10mLのTSBに移した後、振盪 (240 rpm) しながら、30℃で1日インキュベートした。増殖後、遠心分離 (Sigma Laboratory Centrifuge 6K15) (21℃、3000gで、7分) によりブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) をペレット化してから、水で2倍希釈した10mLのTSBに再懸濁させた。分光光度計 (POLARstar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Germany)) を用いて、600nmでの光学密度 (OD) を計測した。水で2倍希釈した新鮮なTSBに0.03のOD_{600nm}まで接種してから、1.6mLを12ウェルポリスチレン平底マイクロプレート (3512; Corning Incorporated, Corning, NY, USA) の各ウェルに添加し、そこに、滅菌ポリエステルWFK 30Aの丸い布切れ (直径2cm) を配置した。インキュベーション (振盪 (100 rpm) しながら、15℃で24時間) 後、布切れを0.9% (w/v) NaClで2回すすいだ。

【1001】

洗浄実験

液体モデル洗剤Aの洗浄液は、洗剤を計量し、硬度15° dHの水を含む水に溶解させることによって調製した。液体モデル洗剤Aの添加は、3.33g/Lであった。顔料汚れ (Pigmentschmutz 09V, wfk, Krefeld, Germany) (0.7g/L) を洗浄液に添加した。DNase (0.5 ppm) を洗浄液に添加した。対照として、DNaseを含まない洗浄液を作製した。洗浄液 (10mL) を50mLの試験チューブに添加し、チューブ中に、ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) バイオフィルムの付いた5枚のすすぎ済布切れと5枚の滅菌ポリエステル (WFK 30A) 布切れを配置した。試験チューブをStuartローテータ (MiniLOM) 内に30℃で1時間配置した。布切れを水道水で2回すすいだ後、ろ紙上で一晚乾燥させた。Color Eye (Macbeth Color Eye 7000反射分光光度計) を用いて、色差 (L値) を計測した。計測は、入射光においてUVなしで

実施し、CIE Lab色空間からのL値を抽出した。色差（L値、L*）は、L*＝0で最も暗い黒、またL*＝100で最も明るい白を示す。データは、デルタL値として表し、これは、DNaseを用いて洗浄した布切れのL値から、DNaseなしで洗浄した布切れのL値を差し引いたものを意味する。

【1002】

【表18】

表 10 miniLOM での DNases によるポリエステル上に樹立したバイオフィルムのディープクリーニング

宿主名	L-値	ΔL
	モデル洗剤 A	モデル洗剤 A
酵素なし	88.09	0
ビブリッセア・フラボビレンス (<i>Vibressea flavovirens</i>) (配列番号 86)	83.48	4.61
ペニシリウム・レクタスポルム (<i>Penicillium reticulisporum</i>) (配列番号 107)	88.00	4.41

【1003】

実施例 14．粉末洗剤を用いた MiniLOM 洗浄

ランドリー特異的細菌株の単離

ランドリーから単離したブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) の 1 株を本実施例で使用した。ブレブンディモナス属 (*Brevundimonas* sp.) は、試験中に単離し、試験では、15、40 および 60℃ でそれぞれ洗浄した後、ランドリー中の細菌多様性を調べた。試験は、デンマークの家庭から収集したランドリーについて行った。各々の洗浄について、20 g のランドリー品目（ティータオル、タオル、皿拭き用ふきん、よだれ掛け、Tシャツ脇部分、Tシャツ襟部分、ソックス）を 4：3：2：2：1：1：1 の範囲で使用した。洗浄は、15、40 または 60℃ で Laundry-O-Meter (LOM) により実施した。15 および 40℃ で洗浄の場合、Ariel Sensitive White & Colour を使用し、60℃ で洗浄の場合には、WFK IEC-A*モデル洗剤を使用した。Ariel Sensitive White & Colour は、5.1 g を計量し、水道水を 1000 ml まで添加した後、5 分間攪拌することにより調製した。WFK IEC-A*モデル洗剤 (WFK Testgewebe GmbH から入手可能) は、5 g を計量し、水道水を 1300 ml まで添加した後、15 分間攪拌することにより調製した。洗浄は、15、40 および 60℃ でそれぞれ 1 時間ずつ実施した後、15℃ の水道水で 20 分間のすすぎを 2 回行った。

【1004】

15、40 および 60℃ でそれぞれ洗浄した後直ちにランドリーをサンプリングした。20 グラムのランドリーに、ストマッカーバッグ中で、0.9% (w/v) NaCl (1.06404; Merk, Darmstadt, Germany) を 0.5% (w/w) tween 80 と共に 1：10 希釈を達成するように添加した。中間速度で 2 分間ストマッカー (Stomacher) を用いて、混合物を均質化した。均質化後、10 倍希釈物を 0.9% (w/v) NaCl 中で調製した。30℃ で好氣的に 5～7 日間インキュベートしたトリプトンダイズ寒天 (TSA: Tryptone Soya Agar) (CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 上で細菌を

数えた。酵母およびカビの増殖を抑制するために、0.2%ソルビン酸（359769, Sigma）および0.1%シクロヘキシミド（18079; Sigma）を添加した。細菌コロニーを計数可能なプレートから選択して、TSA上で2回再ストリークすることにより精製した。長期貯蔵のために、20%（w/v）グリセロールを含有するTSB（49779; Sigma）中で、精製済み単離物を-80℃で保存した。

【1005】

バイオフィルムの付いた布切れの調製

ブレブンディモナス属（*Brevundimonas* sp.）を、30℃のトリプトンダイズ寒天（TSA: Tryptone Soya Agar）（pH 7.3）（CM0131; Oxoid, Basingstoke, UK）上で2~5日間事前に増殖させた。単一コロニーから、ループ一杯分（loop-full）を10mLのTSBに移した後、振盪（240 rpm）しながら、30℃で1日インキュベートした。増殖後、遠心分離（Sigma Laboratory Centrifuge 6K15）（21℃、3000 gで、7分）によりブレブンディモナス属（*Brevundimonas* sp.）をペレット化してから、水で2倍希釈した10mLのTSBに再懸濁させた。分光光度計（POLARstar Omega（BMG Labtech, Ortenberg, Germany））を用いて、600 nmでの光学密度（OD）を計測した。水で2倍希釈した新鮮なTSBに0.03のOD_{600 nm}まで接種してから、1.6 mLを12ウェルポリスチレン平底マイクロプレート（3512; Corning Incorporated, Corning, NY, USA）の各ウェルに添加し、そこに、滅菌ポリエステルWFK 30 Aの丸い布切れ（直径2 cm）を配置した。インキュベーション（振盪（100 rpm）しながら、15℃で24時間）後、布切れを0.9%（w/v）NaClで2回すすいだ。

【1006】

洗浄実験

漂白剤なしの粉末モデル洗剤Tおよび漂白剤を含む粉末モデル洗剤Tの洗浄液は、洗剤を計量し、硬度15° dHの水を含む水に溶解させることによって調製した。漂白剤なしの洗剤Tおよび漂白剤モデル洗剤を含むモデル洗剤Tの添加は、5.30 g/Lであった。漂白剤なしのモデル洗剤Tおよび漂白剤を含むモデル洗剤TのAEO Biosoft N25-7（NI）（0.16 g/L）成分は個別に添加した。顔料汚れ（Pigmentschmutz 09V, wfk, Krefeld, Germany）（0.7 g/L）を洗浄液に添加した。DNase（0.5 ppm）を洗浄液に添加した。対照として、DNaseを含まない洗浄液を作製した。洗浄液（10 mL）を50 mLの試験チューブに添加し、チューブ中に、ブレブンディモナス属（*Brevundimonas* sp.）バイオフィルムの付いた5枚のすすぎ済布切れと5枚の滅菌ポリエステル（WFK 30 A）布切れを配置した。試験チューブをStuartローター（MiniLOM）内に30℃で1時間配置した。布切れを水道水で2回すすいだ後、ろ紙上で一晚乾燥させた。Colour Eye（Macbeth Colour Eye 7000反射分光光度計）を用いて、色差（L値）を計測した。計測は、入射光においてUVなしで実施し、CIE Lab色空間からのL値を抽出した。色差（L値、L*）は、L*=0で最も暗い黒、またL*=100で最も明るい白を示す。データは、デルタL値として表し、これは、DNaseを用いて洗浄した布切れのL値から、DNaseなしで洗浄した布切れのL値を差し引いたものを意味する。

【1007】

10

20

30

40

50

【表 19】

表 11 miniLOM でのビブリスセア・フラボビレンス(*Vibressea flavovirens*)DNases によるバイオフィルムのディープクリーニング.

洗剤	生地の種類	汚れ (g/L)	DNase濃度 (ppm)	L-値	L-値 _{DNaseを含む} － L-値 _{DNaseなし}
漂白剤なしの モデル洗剤 T	ポリエステル	0.7	0	85.58	
漂白剤なしの モデル洗剤T	ポリエステル	0.7	0.5	82.39	3.19
漂白剤を含む モデル洗剤T	ポリエステル	0.7	0	85.62	
漂白剤を含む モデル洗剤T	ポリエステル	0.7	0.5	84.95	0.67

10

20

30

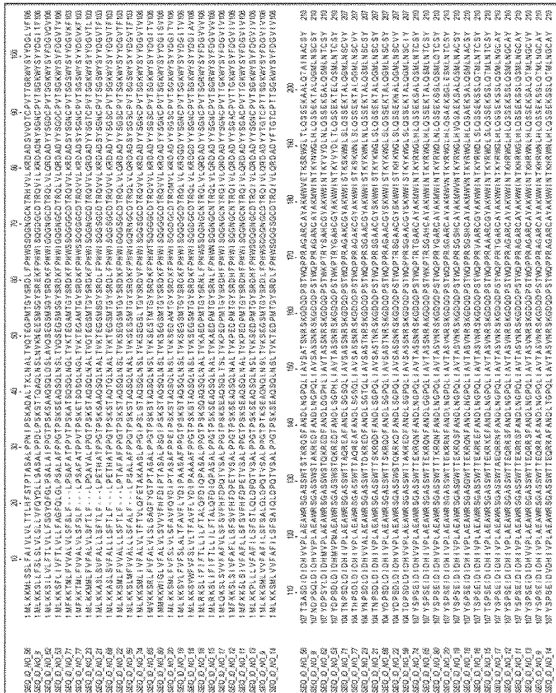
40

50

【図面】
【図 1】

图 1

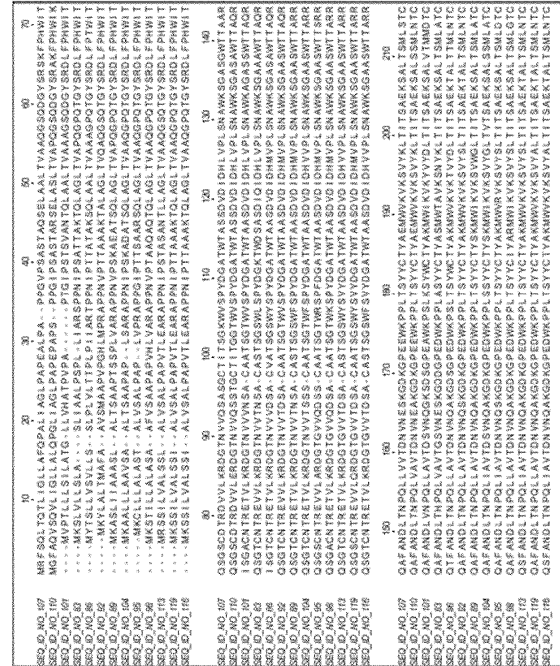
GYSクレードアラインメント



【図 2】

图2

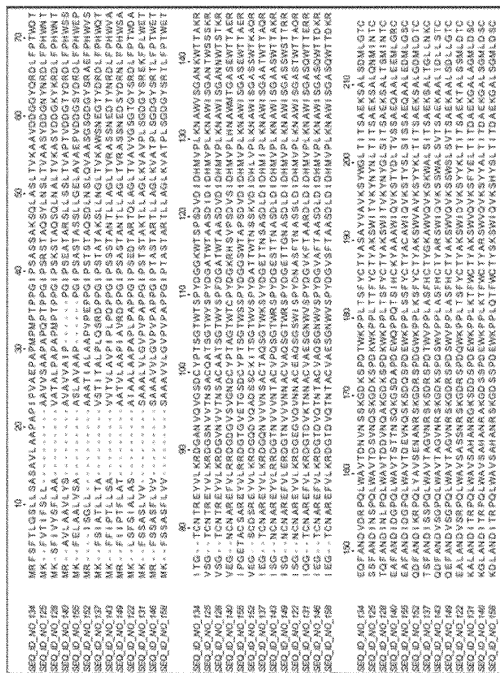
NAWKクレードのポリペプチドのアライメント



【図 3】

图 3

KNAWクレードのポリペプチドのアライメント



【配列表】

0007540876000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10

(31)優先権主張番号 PA201500617

(32)優先日 平成27年10月7日(2015.10.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

デンマーク(DK)

(31)優先権主張番号 PA201500618

(32)優先日 平成27年10月7日(2015.10.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

デンマーク(DK)

弁理士 中村 和広

(72)発明者 モーデン ゲアマンスン

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 クラウス ゴリ

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 ヘンレク エム. ゲアツーハンスン

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 マーリ アン ストリンゲア

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 イェスパ セーロモン

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 トマス ホー. ブリガ

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 ニゴライ スポスベア

デンマーク国, 2 8 8 0 バグスバエルト, クロシェイバイ 3 6

(72)発明者 スン ティエンチー

中華人民共和国, 베이징 1 0 0 0 8 5, 하이ディエン ディストリクト, シンシー ロード シ
ャンティー ゾーン 1 4, チャイナ ヘッドクォーターズ

合議体

審判長 長井 啓子

審判官 福井 悟

審判官 荒木 英則

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 0 8 7 0 1 1 (WO, A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N15/00-90

C07K1/00-19/00

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / B I O S I S / E M B A S E / W P

I D S / W P I X (S T N)

U n i P r o t / G e n e S e q

P u b m e d