[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl[7]
C11D 3/386
C11D 3/39

[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 98810237.4

[43]公开日 2000年12月13日

[11]公开号 CN 1276826A

[22]申请日 1998.6.10 [21]申请号 98810237.4
[30]优先权
[32]1997.8.14 [33]EP [31]97870120.9
[86]国际申请 PCT/US98/12024 1998.6.10
[87]国际公布 WO99/09131 英 1999.2.25
[85]进入国家阶段日期 2000.4.14
[71]申请人 普罗格特－甘布尔公司
地址 美国俄亥俄州
[72]发明人 J·L·P·贝蒂奥尔
M·S·肖维尔 A·C·贝克
C·A·J·K·托恩

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 马崇德 杨九昌

权利要求书1页 说明书78页 附图页数0页

[54]发明名称 含有甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂的洗涤剂组合物

[57]摘要

本发明涉及洗涤剂组合物，其含有甘露聚糖酶、疏水漂白剂和过氧化氢源，以提供杰出的洗涤和增白性能。

ISSN1008-4274

权　利　要　求　书

1. 一种洗涤剂组合物，其含有甘露聚糖酶、疏水漂白活性剂和过氧化氢源。

2. 权利要求 1 的洗涤剂组合物，其中所述甘露聚糖酶以按总组合物重量计 0.0001％-2％，优选 0.0005％-0.5％，更优选 0.001％-0.02％的含量存在。

3. 权利要求 1-2 之一的洗涤剂组合物，其中疏水漂白活性剂以按总组合物重量计 0.01％-20％，优选 0.25％-15％，更优选 0.5％-10％的含量存在。

4. 权利要求 1-3 之一的洗涤剂组合物，其中所述过氧化氢源选自过硼酸盐或过碳酸盐，优选过碳酸盐。

5. 上述任一权利要求的洗涤剂组合物，其中所述疏水漂白活性剂选自壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS)、壬酰氨基己酸氧基苯磺酸盐(NACA-OBS)。

6. 上述任一权利要求的洗涤剂组合物，其还含有选自阳离子表面活性剂、螯合剂和/或其混合物的另一种洗涤剂组分。

7. 用洗涤剂组合物洗涤织物的方法，所述洗涤剂组合物含有甘露聚糖酶、疏水漂白剂和过氧化氢源，以提供杰出洗涤，尤其对食品和化妆品污渍，和增白性能效果。

8. 用洗涤剂组合物洗涤餐具的方法，所述洗涤剂组合物含有甘露聚糖酶、疏水漂白剂和过氧化氢源，以提供杰出洗涤，尤其对食品和化妆品污渍。

说　明　书

含有甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂的洗涤剂组合物

发明领域

本发明涉及含有甘露聚糖酶（mannanase）、过氧化氢源和疏水漂白活性剂的洗涤剂组合物。

发明背景

洗涤剂产品的性能由许多因素判断，包括去污能力和避免污垢或污垢的分解产物再沉积到在洗涤过程中的制品上的能力。因此，目前洗涤剂组合物包括满足了某些特殊需要的活性组分的复杂组合。具体说，目前的洗涤剂配方通常包括表面活性剂、漂白剂和洗涤剂酶。

事实上，含有疏水漂白活性剂和过氧化氢源的漂白体系是现有技术中已知的以提供明显的增白、清洁和去除油腻污渍效果，例如化妆品和食品油腻污渍。

食品和化妆品污渍/污垢代表了大部分与消费者有关的污渍/污垢，通常含有食品添加剂，例如增稠剂/稳定剂。事实上，水胶体胶和乳化剂通常用作食品添加剂。术语“胶”表示一组工业使用的多糖(长链聚合物)或它们的衍生物，它们在热或冷水中水合形成粘性溶液、分散液或凝胶。胶分类成天然的和改性的。天然胶包括海藻提取物、植物提取物、由种子或根得到的胶和由微生物发酵得到的胶。改性的(半合成)胶包括纤维素和淀粉衍生物和某些合成胶，例如低级甲氧基果胶、丙二醇藻酸盐、和羧基甲基和羟基丙基瓜耳胶(Gums in Encyclopedia Chemical Technology 4th Ed.12 卷，842-862 页，J. Baird, Kelco division of Merck)。还参见 Carbohydrate Chemistry for Food Scientists(Eagan Press-1997)，R. L. Whistler and J. N. BeMiller,第 4 章，63-89 页和 Direct Food Additives in Fruit Processing P. Laslo, Bioprinciples and Applications,第 1 卷，第 II 章，313-325 页(1996)Technomie publishing. 这些胶的部分，例如瓜耳胶(E412)、角豆胶(E410)被单独或结合地广泛用于食品应用(Gums in ECT 4th Ed.第 12 卷，842-862 页，J. Baird, Kelco division of Merck)。

在这些食品和化妆品污渍中使用的瓜耳胶由豆类植物 Cyamopsis

tetragonoloba 的种子胚乳得到. 由双子叶种子提取的瓜耳胶(也称为瓜耳糖)由 1-4,b-D-甘露吡喃糖基单元骨架组成, 在调味品和冷冻食品和化妆品中用作增稠剂(H. -D. Belitz. Food Chemistry, 第243页,English version of the second edition, Springer-verlag, 1987, ISBN 0-387-15043-9(US))&(Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, R. L. Wilstler, eagan press, 1977, ISBN 0-913250-92-9)& (Industrial Gum, second editions, R. L. Whistler 308 页, Academic Press, 1973, ISBN, 0-12-74-6252-x). 角豆胶(也称为角豆树胶或 St Jon's bread)也用于食品工业, 由在地中海区域种植的常绿的种子提取。角豆胶与瓜耳胶的结构的差异仅在于较少数目的 D-半乳糖基侧链, 具有相同的 1-4,b-D-甘露吡喃糖基骨架。在豆类种子中, 水溶性半乳甘露聚糖是主要的贮存碳水化合物, 在某些情况下, 至多占总干重量的 20%。半乳甘露聚糖具有连接于甘露糖残基的 O-6 的α-半乳糖, 在甘露糖残基的 O-2 和 O-3 上还可酰基化成各种程度。

人们已知这些水胶体胶对纤维素物质具有非常高的亲和力, 是难以除去的, 即使用现代的漂白剂.

如上所述, 人们仍需要配制洗涤剂组合物, 它提供杰出的洗涤性能, 尤其对化妆品和食品污渍, 和杰出的增白性能。该目的可通过配制含有甘露聚糖酶和含有疏水漂白活性剂和过氧化氢源的漂白体系的洗涤剂组合物满足。

我们惊奇地发现由于提供时显的洗涤和去除油腻污渍效能的疏水漂白活性剂漂白体系和降解残余水胶体胶的甘露聚糖酶的协同效果, 该组合物提供了杰出的洗涤和增白。漂白剂-酶混合体系提供了杰出的洗涤和增白效果, 尤其是对于化妆品和食品污渍.

我们还发现通过加入阳离子表面活性剂、螯合剂和/或它们的混合物改善了本发明的洗涤剂组合物的性能.

甘露聚糖酶已在若干芽孢杆菌属生物中识别. 例如 Talbot 等的 Appl. Environ. Microbiol., 56 卷, No.11,3505-3510 页(1990)描述了一种由嗜热脂肪芽孢杆菌得到的二聚体形式的β-甘露聚糖酶,它具有162kDa的分子量和5.5-7.5的最佳pH.Mendoza等的World J. Micobio Boitech., 第 10 卷, no.5, 551-555(1994)描述了由枯

草芽孢杆菌得到的 MW 为 38kDa，最佳活性在 pH5.0/55℃和 pl 为 4.8 的β-甘露聚糖酶。J0304706 公开了由芽孢杆菌属得到的具有用凝胶过滤法测定的 MW 为 37+/-3kDa，最佳 pH 为 8-10 和 pl 为 5.3-5.4 的β-甘露聚糖酶。J63056289 描述了制备碱性的、热稳定的β-甘露聚糖酶，它水解例如甘露聚糖的β-1,4-D-甘露吡喃糖苷键，产生甘露低聚糖。J63036774 涉及芽孢杆菌微生物 FERM P-8856，它在碱性 pH 下产生β-甘露聚糖酶和β-甘露糖苷酶。一种来自解淀粉芽孢杆菌用于漂白纸浆的纯化的甘露聚糖酶和它们的制备方法在 WO97/11164 中公开。WO91/18974 描述了一种在极限 pH 和温度下活泼的半纤维素酶，例如葡聚糖酶、木聚糖酶或甘露聚糖酶和它们的制备方法。WO94/25576 描述了由 Aspergillus aculeatusCBS 101.43 得到的显示甘露聚糖酶活性的酶，它可用于各种用途，其中植物或藻类细胞壁物质的降解和改性是合乎需要的。WO93/24622 公开了由 Trichoderma reesie 分离的用于漂白木素纤维素纸浆的甘露聚糖酶。

然而，至今人们仍未认识到甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂体系在洗涤剂组合物中的协同结合以提供杰出的增白和杰出的洗涤性能。

发明概述

本发明涉及含有甘露聚糖酶、疏水漂白活性剂和过氧化氢源的洗涤剂组合物，这些组合物提供杰出的洗涤性能，尤其对于化妆品和食品污渍，和杰出的增白性能。

发明的详细描述

漂白剂在洗涤剂领域中是已知的以提供除去油腻污渍。人们已知现代化妆品和食品组合物含有越来越多的添加剂，例如用作增稠剂的水胶体胶。甘露聚糖、瓜耳胶和角豆用于许多化妆品和食品组合物(参见 Industrial Gum, 第 2 版, R. L. Whistler, p308, Academic Press, 1973, ISBN, 0-12-74- 6252-x)。人们发现这些水胶体胶对纤维素物质具有非常高的亲和力。

人们发现含有水胶体胶的污渍难以除去，即使是在现代漂白剂的帮助下。尽管不打算限制于理论，但我们相信漂白体系漂白和除去含有水胶体胶的化妆品和食品污渍的效率的降低是因为水胶体胶粘合织物上的油腻污渍。我们惊奇地发现与含有疏水漂白活性剂的漂白体系结合使用甘露聚糖酶产生有效的洗涤和增白效果。事实上，我们发

现含有含有疏水漂白活性剂的漂白体系漂白和除去油腻污渍，甘露聚糖酶降解残余水胶体胶，它随后被常规洗涤剂组分，例如表面活性剂容易地除去。使用该漂白剂-酶混合体系提供杰出的洗涤性能，尤其对于化妆品和食品污渍，和杰出的增白性能。

甘露聚糖酶

本发明的洗涤剂组合物的基本组分是甘露聚糖酶.

包含在本发明中的是如下三种甘露聚糖分解酶:EC3.2.1.25:β-甘露糖苷酶，EC3.2.1.78:内-1,4-β-甘露糖苷酶，下文称为“甘露聚糖酶”和EC3.2.1. 100:1,4-β-甘露生物糖苷酶(IUPAC分类-酶命名法，1992 ISBN 0-12-227165-3 Academic Press)。

本发明的洗涤剂组合物更优选含有称为甘露聚糖酶的β-1,4-甘露糖苷酶(E.C. 3.2.1.78)。术语“甘露聚糖酶”或“半乳甘露聚糖酶”表示根据现有技术官方地定义的甘露聚糖酶，它称为甘露聚糖内-1,4-β-甘露糖苷酶，并另外称为β-甘露聚糖酶和内-1,4-甘露聚糖酶，并催化在甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖中1,4-β-D-甘露糖苷键的随机水解反应。

甘露聚糖酶(EC 3.2.1.78)尤其构成一组多糖酶，它降解甘露聚糖，表示能够断裂含有甘露糖单元的多糖链的酶，即能够断裂在甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖中的糖苷键的酶。甘露聚糖是含有由β-1,4-连接的甘露糖组成的骨架的多糖；葡甘露聚糖是含有或多或少改变β-1,4-连接的甘露糖和葡萄糖的骨架的多糖；半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖是带有α-1,6-连接的半乳糖侧链的甘露聚糖和半乳甘露聚糖。这些化合物可被乙酰基化。

半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖的降解通过完全或部分除去半乳糖侧链而变得容易。此外，乙酰基化的甘露聚糖、葡甘露聚糖、半乳甘露聚糖半乳葡甘露聚糖的降解通过完全或部分脱乙酰基化而变得容易。乙酰基可通过碱或甘露聚糖乙酰酯酶除去。由甘露聚糖酶或甘露聚糖酶和α-半乳糖苷酶和/或甘露聚糖乙酰酯酶的混合物释放的低聚物可进一步降解以从β-甘露糖苷酶和/或β-葡糖苷酶释放游离麦芽糖。

甘露聚糖酶已在若干芽孢杆菌属生物中识别。例如 Talbot 等的 Appl. Environ. Microbiol., 56 卷, No.11, 3505-3510 页(1990)

描述了一种由嗜热脂肪芽孢杆菌得到的二聚体形式的β-甘露聚糖酶，它具有162kDa的分子量和5.5-7.5的最佳pH.Mendoza等的World J. Micobio Boitech.，第10卷，No.5，551-555(1994)描述了由枯草芽孢杆菌得到的MW为38kDa，最佳活性在pH5.0/55℃和pl为4.8的β-甘露聚糖酶。JP-0304706公开了由杆菌属得到的具有用凝胶过滤法测定的MW为373kDa，最佳pH为8-10和pl为5.3-5.4的β-甘露聚糖酶。JP-63056289描述了制备碱性的、热稳定的β-甘露聚糖酶，它水解例如甘露聚糖的β-1,4-D-甘露吡喃糖苷键，产生甘露低聚糖。JP-63036774涉及芽孢杆菌属微生物FERM P-8856，它在碱性pH下产生β-甘露聚糖酶和β-甘露糖苷酶。JP-08051975公开了由亲碱芽孢杆菌属AM-001得到的碱性β-甘露聚糖酶。一种来自解淀粉芽孢杆菌的用于漂白纸浆和纸的纯甘露聚糖酶和它们的制备方法在WO97/11164中公开。WO91/18974描述了一种在极限pH和温度下活泼的半纤维素酶，例如葡聚糖酶、木聚糖酶或甘露聚糖酶。WO94/25576描述了由Aspergillus aculeatus CBS 101.43得到的显示甘露聚糖酶活性的酶，它可用于降解和改性植物或藻类细胞壁物质。WO93/24622公开了由Trichoderma reseei分离的用于漂白木素纤维素纸浆的甘露聚糖酶。能够降解含有甘露聚糖的半纤维素的半纤维素酶在WO91/18974中描述和由解淀粉芽孢杆菌得到的纯甘露聚糖酶在WO97/11164中公开。

该甘露聚糖酶尤其是如下定义的碱性甘露聚糖酶，最优选由细菌来源得到的甘露聚糖酶。本发明的洗衣洗涤剂组合物尤其含有碱性甘露聚糖酶，其选自由菌株Bacillus agaradherens和/或枯草芽孢杆菌菌株168，基因yght得到的甘露聚糖酶。

术语“碱性甘露聚糖酶”是指包含在7-12，优选7.5-10.5的一定pH范围中具有其最大活性的至少10%，优选至少25%，更优选至少40%的酶活性的酶。

本发明的洗涤剂组合物最优选含有由Bacillus agaradherens得到的碱性甘露聚糖酶，所述甘露聚糖酶是：

i)由Bacillus agaradherens，NCIMB40482制备的多肽，或

ii)含有如SEQ ID NO:2的位置32-343中所示的氨基酸序列的多肽或

iii)在i)和ii)中定义的多肽的类似物，它至少70%与所述多肽同

种，或通过置换、缺失或附加一种或多种氨基酸由所述多肽得到，或与相对纯形式的所述多肽产生的多克隆抗体呈免疫反应。

本发明还包括具有甘露聚糖酶活性的分离的多肽，其选自：

(a)编码有甘露聚糖酶活性多肽的多核苷酸分子，其含有如 SEQ ID NO:1 中由核苷酸 97-核苷酸 1029 所示的核苷酸序列；

(b)(a)的种同种物；

(c)多核苷酸分子，它编码具有甘露聚糖酶活性、与 SEQ ID NO:2 由氨基酸残基 32-氨基酸残基 343 的氨基酸序列至少 70% 相同的多肽；

(d)与(a)、(b)或(c)互补的分子；和

(e)与(a)、(b)、(c)或(d)的退化核苷酸序列。

含有编码本发明的甘露聚糖酶的多核苷酸分子(DNA 序列)的质粒 pSJ1678被转化为大肠杆菌菌株，它由本发明人根据 Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microganisms for the Purpose of Precedure at the Deutsche Sammlung von Midroorganismsn und Zelkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Federal Republic of Germany, 1998 年 5 月 18 日寄存，寄存号 DSM12180.

第二种最优选的酶是由枯草芽孢杆菌菌株 168 得到的甘露聚糖酶，该甘露聚糖酶：

i)由 SEQ ID No. 5 中所示的 DNA 序列或所述序列的类似物的编码部分编码和/或

ii)含有 SEQ ID NO:6 中所示的氨基酸序列的多肽或

iii)ii)中定义的多肽的类似物，它至少 70% 与所述多肽同种，或通过置换、缺失或附加一种或多种氨基酸由所述多肽得到，或与相对所述多肽产生的纯形式的多克隆抗体免疫反应。

本发明还包括具有甘露聚糖酶活性的分离的多肽，其选自：

(a)编码多肽的多核苷酸分子，所述多肽具有甘露聚糖酶活性，并含有如 SEQ ID NO:5 中所示的核苷酸序列；

(b)(a)的种同种物；

(c)多核苷酸分子，它编码具有甘露聚糖酶活性，与 SEQ ID NO:6 的氨基酸序列至少 70% 相同的多肽；

(d)与(a)、(b)或(c)互补的分子；和

(e)与(a)、(b)、(c)或(d)的退化（简并）核苷酸序列。

定义

在进一步详细讨论本发明之前，首先定义如下术语：

术语“正同种物(ortholog)”(或“种同种物”)表示由一个种获得的多肽或蛋白质，该种与由不同种获得的类似多肽或蛋白质具有同种性。

术语“副同种物(paralog)”表示由特定种获得的多肽或蛋白质，该种与由相同种获得的不同多肽或蛋白质具有同种性。

术语“表达载体”表示直链或环状的DNA分子，它含有编码感兴趣的多肽的片段，它操作连接于提供其转录的附加片段。该附加片段可包括启动子和终止子序列，可选择性地包括一种或多种复制起源、一种或多种可选择标志、增强子、加A信号等。表达载体通常由质粒或病毒DNA得到，或可同时含有两种元素。本发明的表达载体可以是任何表达载体，它可方便地进行重组DNA过程，载体的选择通常取决于载体所引入的宿主细胞。因此，载体可以是自主复制载体，即载体作为额外染色体实体存在，它的复制与染色体复制无关，例如质粒。此外，载体可以是这样的载体，当它引入宿主细胞时，它被整合入宿主细胞基因组中,与所整合的染色体一起复制。

用于本发明的与多肽或蛋白质表达有关的术语“重组表达”或“重组地表达”根据现有技术的标准定义定义，蛋白质的重组表达通常通过使用上述表达载体进行。

当用于多核苷酸分子时，术语“分离的”表示多核苷酸由其天然基因环境中取出，因而没有其它无关或不需要的编码序列，是适合用于基因工程蛋白质生产系统的形式。该分离的分子是由它们的天然环境分离的物质，包括cDNA和基因组克隆。本发明的分离的DNA分子没有与其正常缔合的其它基因，但可包括天然产生的5'和3'非翻译区，例如启动子和终止子。缔合区域的识别对于本领域技术人员是显然的(参见例如，Dynan 和 Tijan，Nature316:774-78,1985)。

此外，术语“分离的多核苷酸”还可称为“克隆的多核苷酸”。当用于蛋白质/多肽时，术语“分离的”表示在非其天然环境的条件下发现的蛋白质。在优选的形式中，分离的蛋白质基本上没有其它蛋白质，尤其是其它同种蛋白质(即“同种杂质”(见下文))。优选以大

于 40% 的纯度形式，更优选大于 60% 的纯度形式提供蛋白质．更优选的是，优选以高纯形式，即由 SDS-PAGE 测定的大于 80% 的纯度，更优选大于 95% 纯度，和最优选大于 99% 纯度提供蛋白质．

此外，术语“分离的蛋白质/多肽”也可称为“纯化的蛋白质/多肽”。

术语“同种杂质”表示任何杂质(例如本发明的多肽之外的其它多肽)，它由其中原始得到本发明的多肽的同种细胞产生。

在用于本文特定微生物源时术语“由……得到”表示由特定源或由其中插入了来自该源的基因的细胞得到的多核苷酸和/或多肽。

当用于 DNA 片段时术语“操作连接”表示排列片段使得它们为其所需的用途一致运行，例如转录在启动子开始，通过编码片段进行到终止子。

术语“多核苷酸”表示由 5'读到 3'端的脱氧核苷酸或核苷酸的单链或双链聚合物．多核苷酸包括 RNA 和 DNA，可由天然来源分离，体外合成或由天然和合成分子的结合制备。

术语“多核苷酸分子的互补”表示与参考序列相比具有互补碱基序列和相反取向的多核苷酸分子。例如序列 5'ATGCACGGG3'与 5'CCCGTGCAT3'互补。

术语“退化的核苷酸序列”表示一种包括一种或多种简并密码子(与编码多肽的参考多核苷酸分子相比)的核苷酸序列。简并的密码子含有核苷酸的不同三联体，但编码相同的氨基酸残基(即 GAU 和 GAC 三联体均编码 Asp)。

术语“启动子”表示含有 DNA 序列的基因的一部分，它提供 RNA 聚合酶的结合和转录的起始．启动子序列通常，但并不总是在基因的 5'非编码区域中发现。

术语“分泌信号序列”表示 DNA 序列，它编码多肽(“分泌多肽”)，作为较大多肽的组分，通过在其中合成的细胞的分泌途径指导较大多肽。在通过分泌途径转换时，较大多肽通常断裂以除去分泌肽。

如何使用本发明的序列以得到其它相关序列：

本发明公开的涉及编码本发明的甘露聚糖酶的多核苷酸序列的序列信息可用作工具以鉴定其它同种甘露聚糖酶。例如，聚合酶链反应(PCR)可用于放大编码由各种微生物源，尤其是不同芽孢杆菌属得

到的其它同种甘露聚糖酶的序列。

用于活性试验的方法

具有甘露聚糖酶活性的本发明的多肽可根据现有技术中已知的标准试验方法测试甘露聚糖酶活性，例如通过将所测试的溶液施用于在含有0.2%AZCL半乳甘露聚糖(角豆胶)的胶板上打出的4mm直径孔中，即由Mega zyme公司(网址：http://www.megazyme.com/Purchase/index.html)作为CatNo.1-AZGMA以每3克US$110.00得到的用于内-1,4-β-D-甘露聚糖酶试验的底物。

多核苷酸:

本发明的分离的多核苷酸在至少中等约束条件下将杂交于SEQ ID NO 1或与其互补的序列的类似大小区域。

本发明的多核苷酸在如下所述的至少中等约束条件，但优选在高约束条件下杂交于含有SEQ ID NO:1的位置97-1029中所示的全部序列的变性双链DNA探针或具有至少约100碱基对长度的SEQ ID NO:1的亚序列的任何探针。在核苷酸探针和同种DNA或RNA序列之间的中等或高约束下用于测定杂交的合适实验条件包括在5xSSC(氯化钠/柠檬酸钠，Sambrook等，1989)中预浸泡含有DNA片段或RNA的过滤器以杂交10分钟，在5xSSC，5xDenhardt's溶液(Sambrook等，1989)，0.5%SDS和100μg/ml变性超声处理的鲑精子DNA(Sambrook等，1989)溶液中将过滤器预杂交，随后在含有浓度为10ng/ml的随机引物(Feinberg，A. P.和Vogelstein B.(1983) Anal. Biochem. 132:6-13)，32P-dCTP标记(比活高于1x109cpm/μg)探针的相同溶液在约45℃下杂交12小时。过滤器随后在至少60℃(中等约束)，更优选至少65℃(中等/高约束)，还要优选至少70℃(高约束)和最优选至少75℃(非常高约束)下在2xSSC，0.5%SDS中洗涤两次。

在这些条件下低聚核苷酸探针杂交的分子用x-射线胶片检测。

如上所述，本发明的分离的多核苷酸包括DNA和RNA，用于分离DNA和RNA的方法是现有技术中已知的，感兴趣的DNA和RNA编码基因可在基因库或DNA文库中通过现有技术中的已知方法克隆。

编码具有本发明的甘露聚糖酶活性的多肽的多核苷酸随后通过例如杂交或PCR鉴定和分离。

本发明还提供由不同细菌菌株(正同种物或副同种物)得到的配

对多肽和多核苷酸。尤其感兴趣的是由革兰氏阳性亲碱菌株，包括芽孢杆菌的种得到的甘露聚糖酶多肽。

具有本发明的甘露聚糖酶活性的多肽的种同种物可用本发明提供的信息和组分结合常规克隆技术克隆。例如本发明的 DNA 序列可使用由表达蛋白质的细胞类型得到的染色体 DNA 克隆。DNA 的合适来源可通过用本文公开的序列设计的探针通过探测 RNA 印迹确定，随后由正细胞系的染色体 DNA 制备文库，编码具有甘露聚糖酶活性的多肽的本发明的 DNA 序列随后可通过各种方法分离，例如通过用本发明的说明书和权利要求书中公开的序列设计的探针或基于公开的序列的一组或多组退化探针探测。本发明的 DNA 序列还可用聚合酶链反应或 PCR(Mullis, US4683202)，使用根据本文公开的序列设计的引物克隆。在其它方法中，DNA 文库可用于转化或转染宿主细胞，感兴趣的 DNA 的表达可由相对于由 B. agaradherens, NCIMB 40482 克隆的、且如 Materials and Methods 和实施例 1 中所述表达和纯化的甘露聚糖酶产生的抗体（单克隆或多克隆）或通过与具有甘露聚糖酶活性的多肽有关的活性试验检测。

克隆到大肠杆菌 DSM 12180 中存在的质粒 pSJ1678 中的 DNA 序列和/或本发明的类似 DNA 序列的甘露聚糖酶编码部分可由产生甘露聚糖降解活性的酶的细菌种 Bacillus agaradherens 的菌株，优选菌株 NCIMB40482，或本文描述的其它或相关生物克隆。

此外，类似序列可根据可由大肠杆菌 DSM 12180(它被认为与所附的 SEQ ID NO:1 相同)中存在的质粒得到的 DNA 序列，例如其亚序列构成，和/或通过引入核苷酸置换构成，所述置换不产生由 DNA 序列编码的甘露聚糖酶的其它氨基酸序列，但它相应于产生酶所需的宿主生物的密码子选择，或通过引入核苷酸置换构成，所述置换可产生不同氨基酸序列(即本发明的甘露聚糖降解酶的变种)。

多肽:

SEQ ID NO:2 的氨基酸 nos. 32-343 的序列是成熟甘露聚糖酶序列。

本发明还提供甘露聚糖酶多肽，它与 SEQ ID NO:2 和其种同种物(副同种物或正同种物)的多肽基本上同种。用于本文的术语“基本上同种”表示具有 70%，优选至少 80%，更优选至少 85%，最优选至

少 90% 与 SEQ ID NO:2 或其正同种物或副同种物的氨基酸 nos. 32-343 中所示的序列相同的多肽。该多肽更优选至少 95%，最优选 98%或更高与 SEQ ID NO:2 或其正同种物或副同种物的氨基酸 nos. 32-343 中所示的序列相同。序列同一性百分数由常规方法测定，例如用现有技术中已知的计算机程序，例如在 GCG 程序包中提供的 GAP(Program Manual for the Wisconsin Package, Version8, 1994 年 8 月，Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711)，如 Needleman, S. B. and Wunsch, C. D.(1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-453 中所公开，列为本文参考文献。GAP 用如下设置进行多肽序列比较:GAP 产生妨碍 3.0，GAP 延伸妨碍 0.1。

多肽分子的序列同一性由类似方法测定,GAP 用如下设置进行 DNA 序列比较:GAP 产生妨碍 5.0，GAP 延伸妨碍 0.3。

本发明的酶制剂优选由微生物，优选由细菌、archea 或真菌得到，尤其由细菌，例如属于芽孢杆菌属，优选亲碱芽孢杆菌菌株的细菌得到，其可选自种 Bacillus agaradherens 和十分相关的芽孢杆菌种，其中所有种优选与基于排列的 16S rDNA 序列的 Bacillus agaradherens 至少 95%，更优选至少 98% 同种。基本上同种的蛋白质和多肽其特征为具有一种或多种氨基酸置换、缺失或附加。这些改变优选是次要性质的，即保守氨基酸置换(参见表 2)和不明显影响蛋白质或多肽折叠或活性的其它置换；少量缺失，通常 1-约 30 氨基酸；和少量 N 或 C-端延伸，例如 N-端甲硫氨酸残基，至多约 20-25 个残基的小接头肽或有助于纯化的小延伸(亲和标签)，例如多组氨酸束，蛋白质 A(Nilsson 等，EMBO J.4:1075, 1985; Nilsson 等，Methods Enzymol. 198:3, 1991)。参见 Ford 等，Protein Expression and Purification 2: 95-107,1991,列为本文参考文献。DNA 编码的亲和标签由商业提供者得到(例如 Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ; New England Biolabs, Beverly, MA)。然而，即使上述改变优选是次要性质的，但该改变也可以是较大性质的，例如多达 300 个氨基酸或更多的较大多肽作为 N-或 C-端延伸融合到本发明的甘露聚糖酶多肽。

表 1

保守氨基酸置换

碱性	:	精氨酸、赖氨酸、组氨酸
酸性	:	谷氨酸、天冬氨酸
极性	:	谷氨酸盐、天冬氨酸盐
疏水	:	亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸
芳香	:	苯基丙氨酸、色氨酸、酪氨酸
少量	:	甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、甲硫氨酸

除了 20 种标准氨基酸之外，非标准氨基酸(例如 4-羟基脯氨酸、6-N-甲基赖氨酸、2-氨基异丁基酸、异缬氨酸和 a-甲基丝氨酸)可用于置换本发明的多肽的氨基酸残基。限制数目的非保守氨基酸、未用基因密码编码的氨基酸和非天然氨基酸可置换氨基酸残基。“非天然氨基酸”在蛋白质合成后被改性和/或在其侧链中具有与标准氨基酸不同的化学结构。非天然氨基酸可化学合成，或优选商业上得到，其包括哌可酸、噻唑烷羧酸、脱氢脯氨酸、3-和 4-甲基脯氨酸和 3,3-二甲基脯氨酸。

在本发明的甘露聚糖酶多肽中的基本氨基酸可根据现有技术中已知的方法确定，例如定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085, 1989)。在后一技术中，在分子中的每个残基上引入单个丙氨酸突变，测试得到的突变体分子的生物活性(即甘露聚糖酶活性)以确定对分子活性起关键作用的氨基酸残基。还参见 Hilton 等，J. Biol. Chem. 271:4699-4708, 1966. 酶的活性部位或其它生物相互作用还可通过结构的物理分析测定，如通过以下技术，如核磁共振、结晶照相术、电子衍射或光亲和标记，与假定的接触部分氨基酸的突变结合测定。参见例如 de Vos 等，Science 255:306-312, 1992;Smith 等，J. Mol. Biol. 224:899-904, 1992; Wlodaver 等，FEBS Lett. 309:59-64, 1992. 基本氨基酸的同一性还可由具有与本发明的多肽相关的多肽的同种物的分析推断。

多次氨基酸置换可用诱变、重组和/或混乱随后通过有关的扫描技术的已知方法制备和测试，例如由 Reidhaar-Olson and Sauer(Science 241:53-57, 1988), Bowie and Sauer(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-2156, 1989), WO 95/17413 或

WO95/22625 中所述。简而言之，这些作者公开了如下方法，在多肽中同时随机化两个或多个位置，或重组/混乱不同突变(WO95/ 17413, WO95/22625)，随后选择官能多肽，然后序列测定诱变的多肽以测定在每个位置上可允许的置换的谱。可使用的其它方法包括噬菌体显示(例如 Lowman 等，Biochem. 30:10832-10837,1991; Ladner 等,US5223409; Huse WO92/06204)和定区域诱变(Derbyshire 等，Gene 46:145,1986;Ner 等，DNA 7: 127,1988)。

上述诱变/混乱方法可与高生产量、自动扫描方法结合以检测在宿主细胞中克隆的、诱变的多肽的活性。编码活性多肽的诱变 DNA 分子可由宿主细胞回收，用现代设备迅速进行序列化。这些方法能够迅速测定在感兴趣的多肽中单个氨基酸残基的重要性，并可用于未知结构的多肽。使用上述方法，本领域技术人员可鉴定和/或制备与 SEQ ID NO:2 的残基 32-343 基本上同种的各种多肽，保持野生型蛋白质的甘露聚糖酶活性。

蛋白质制备：

本发明的蛋白质和多肽，包括全长度蛋白质、其片段和融合蛋白质，可根据常规技术在基因工程宿主细胞中制备。合适的宿主细胞是那些细胞类型的，它可用外源 DNA 转化或转染，在培养基中生长，包括细菌、真菌细胞，和培养的高级真核细胞。优选细菌细胞，尤其是革兰氏阳性生物的培养细胞，尤其优选由芽孢杆菌属得到的革兰氏阳性细胞，例如由枯草芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌、短芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、灿烂芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和 Bacillus agaradherens，尤其是 Bacillus agarad herens 得到的细胞。

用于操纵克隆的 DNA 分子和在各种宿主细胞中引入外源 DNA 的技术由 Sambrook 等，Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd, Cold Spring harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY,1989; Ausubel 等，(eds.)，Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987; 和“枯草芽孢杆菌和其它革兰氏阳性细菌”，Sonensheim 等，1993，American Society for Microbiology, Washington D. C.公开，列为本文参考文献。通常编码本发明的甘露聚糖酶的 DNA 序列被操作连接于由于

其表达所需的其它基因元素，通常包括在表达载体中的转录启动子和终止子。该载体还通常含有一种或多种可选择的标志和一个或多个复制源，虽然本领域的技术人员将认识到在某些体系中，可选择的标志可在分离的载体上提供，外源 DNA 的复制可通过整合到宿主细胞基因组中提供。启动子、终止子、可选择的标志、载体和其它元素的选择是本领域技术人员的日常设计事务，许多该元素在文献中描述和可通过商业供应商得到。

为指示多肽进入宿主细胞的分泌途径，在表达载体中提供分泌信号序列(也称为前导序列、前原序列或前序列)。分泌的信号序列可以是多肽序列或可由另一个分泌的蛋白质得到或从头合成。各种合适的分泌信号序列在现有技术中是已知的，参见“枯草芽孢杆菌和其它革兰氏细菌”，Sonensheim 等，1993，American Society for Microbiology, Washington D. C.;和 Cutting, S. M.(eds)“芽孢杆菌属的分子生物方法”，John Wiley and Sons, 1990 进一步描述了尤其适用于芽孢杆菌宿主细胞分泌的合适分泌信号序列。分泌信号序列以正确的阅读框架中连接于 DNA 序列，分泌信号序列通常定位于 5'至编码感兴趣的多肽的 DNA 序列，尽管某些信号序列可定位于感兴趣的 DNA 序列其它位置(参见例如 Welch 等，US5037743; Holland 等，US5143830)。

转化或转染的宿主细胞根据常规方法在含有营养素和所选择的宿主细胞生长所需的其它组分的培养基介质中培养。各种合适的培养基，包括已知成分的培养基和复合培养基在现有技术中是已知的，通常包括碳源、氮源、基本氨基酸、维生素和矿物质。培养基还可根据需要包括组分，如生长因子或血清。生长介质通常将通过，例如药物选择，依据含有外源加入的 DNA 的细胞选择，或根据在基本营养素中的缺陷选择，所述缺陷通过在表达载体中带有的或共同转染到宿主细胞的可选择标志互补。

蛋白质分离：

当表达的重组多肽分泌时，多肽可由生长培养基中纯化。表达的宿主细胞优选在多肽纯化之前从培养基中回收(例如通过离心)。

当表达的重组多肽不是由宿主细胞分泌时，宿主细胞优选断裂，多肽释放入含水“提取物”中，这是该纯化技术的第一阶段。表达宿

主细胞优选在细胞断裂之前由培养基中回收（例如通过离心）。

细胞分裂可通过常规技术进行，例如通过溶菌酶消化或通过高压向分子施力。参见(Robert K. Scobes,“蛋白质纯化”，第 2 版，Springer-Verlag)，进一步描述了该细胞分裂技术。

不管表达的重组多肽(或嵌合多肽)是否被分泌，它可用分级和/或常规纯化方法和介质纯化。

硫酸铵沉淀和酸或促溶剂提取可用于试样的分级。举例的纯化步骤可包括羟基磷灰石、尺寸排除、FPLC 和逆相高效液相色谱。合适的阳离子交换介质包括衍生的糊精、琼脂糖、纤维素、聚丙烯酰胺、特制氧化硅等。PEI、DEAE、QAE 和 Q 衍生物是优选的，尤其优选 DEAE Fast-Flow Sepha rose(Pharmacia, Piscataway, NJ)。举例的色谱介质包括用苯基、丁基或辛基衍生的介质，例如 Phenyl-Sepharose FF(Pharmacia), Toyopearl butyl 650(Toso Haas, Montgomeryville, PA), Octyl-Sepharose(Pharmacia)等；或聚丙烯酸树脂，例如 Amberchrom CG 71(Toso Haas)等。合适的固体载体包括玻璃细珠、氧化硅基树脂、纤维素树脂、琼脂糖细珠、交联琼脂糖细珠、聚苯乙烯细珠、交联聚丙烯酰胺树脂等，它们在其使用条件下是不溶解的。这些载体可用反应基团改性，这样能够通过氨基、羧基、巯基、羟基和/或碳水化合物部分连接蛋白质。偶合化学方法的实例包括溴化氰活化、N-羟基琥珀酰亚胺活化、环氧化物活化、巯基活化、酰肼活化和用于碳化二亚酰胺偶合化学的羧基和氨基衍生物。这些和其它固体介质是现有技术中已知的和广泛使用的，可由商业供应商获得。

具体方法的选择是途径设计问题，部分地由所选择的载体性质决定。参见例如 Affinity Chromatography: Principles & Methods. Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988.

本发明的多肽或其片段还可通过化学合成制备，本发明的多肽可以是单体或多体、糖基化或非糖基化的；pegylated 或 non-pegylated；和可包括或不包括最初的甲硫氨酸氨基酸残基。

基于本文公开的序列信息，可克隆编码本发明的甘露聚糖酶和包含 SEQ ID No1 中所示的 DNA 序列，至少从位置 97-位置 1029 的 DNA 序列的全长度 DNA 序列。

克隆通过现有技术中已知的标准技术进行，例如

· 由芽孢杆菌属菌株，尤其是菌株 B. agaradherens, NCIMB 40482 制备基因组文库；

· 在合适的底物板上平板接种该文库；

· 通过使用基于 SEQ ID No1 的探针的标准杂交技术识别含有本发明的多核苷酸序列的克隆；或

· 使用基于 SEQ ID No1 的序列信息的引物通过反向 PCR 策略由所述 Bacillus agaradherens NCIMB 40482 基因组文库识别克隆。参见 M. J. MCPherson 等（“PCR A practical approach” Information Press Ltd, Oxford England)进一步详细描述反向 PCR。

根据本文公开的序列信息(SEQ ID No1, SEQ ID No2)，通过类似的策略，使用由相关微生物的基因组文库，尤其由种芽孢杆菌的其它菌株，例如芽孢杆菌的亲碱种产生的基因组文库分离编码本发明的同种甘露聚糖酶的同种多核苷酸序列对于本领域的技术人员只是日常的工作。

此外，编码本发明的甘露聚糖或半乳甘露聚糖降解酶的 DNA 可根据已知的方法方便地由合适来源，例如任何上述的生物，通过使用基于由大肠杆菌 DSM 12180 中存在的质粒得到的 DNA 序列制备的合成的低聚核苷酸探针克隆。

因此，本发明的多核苷酸分子可由大肠杆菌 DSM 12180 分离，其中通过例如上述克隆得到的质粒被沉积。同样，本发明涉及菌株大肠杆菌 DSM12180 的分离的基本上纯的生物培养物。在本发明中，术语“酶制剂”是指由单一种类的微生物得到的常规酶发酵产物，可分离和纯化，该制剂通常含有许多不同的酶活性；或单组分酶的混合物，优选通过使用常规重组技术由细菌或真菌种得到的酶，该酶已被发酵和可能分别分离和纯化，它可由不同种类得到，优选真菌或细菌种类；或微生物的发酵产物，该微生物作为表达重组甘露聚糖酶的宿主细胞，但该微生物同时产生其它酶，例如果胶降解酶、蛋白酶或纤维素酶，是该微生物天然产生的发酵产物，即通过相应天然产生的微生物常规产生的酶复合物。

制备本发明酶制剂的方法，该方法包括培养微生物，例如在产生酶所允许的条件下能够产生甘露聚糖酶的野生型菌株，和由培养物回

收酶。培养可使用常规发酵技术进行，例如在振荡烧瓶或带有搅拌的发酵器中培养以确保生长介质的充分通气，诱导甘露聚糖酶产生。生长介质可含有常规 N-源，例如胨，酵母提取物或酪蛋白氨基酸、降低量的常规 C-源，例如葡萄糖或蔗糖，和诱导物，例如瓜耳胶或角豆胶。回收可使用常规技术进行，例如通过离心或过滤分离生物物质和上清液，如果感兴趣的酶是细胞间的，回收上清液或细胞分裂，也许随后如 EP406314 中所述或如 WO97/15660 中所述通过结晶进一步纯化。

免疫交叉反应活性：

用于测定免疫交叉反应活性的多克隆抗体可通过使用纯甘露聚糖酶制备。更具体地说，相对本发明的甘露聚糖酶的抗血清可根据 N. Axelsen 等在“定量免疫电泳手册”，Blackwell Scientific Publication, 1973, 第 23 章或 A. Johnstone 和 R. Thorpe, “免疫化学实践”, Blackwell Scientific Publica tion, 1982, (更具体地是 27-31 页)中所述的方法通过免疫兔子(或其它啮齿类)产生。纯化的免疫球蛋白可由抗血清通过例如盐沉淀(硫酸铵)，随后通过透析和离子交换色谱法，例如在 DEAE-Sephadex 中得到。蛋白质的免疫化学表征可采用 Outcherlony 双扩散分析(O. Ouchterlony 在“实验免疫学手册”(D.M. Weir, Ed)Blackwell Scientific Publication, 1967, 655-706 页)、通过交叉免疫电泳法(上述 N. Axelsen 等，第 3 和 4 章)或通过火箭（rocket）免疫电泳法(Axelsen 等，第 2 章)进行。

产生本发明的酶或酶制剂的细菌的有用实例是革兰氏阳性细菌，优选由芽孢杆菌/乳杆菌亚门得到，优选来自种芽孢杆菌的菌株，更优选 Bacillus agaradherens 的菌株，尤其是菌株 Bacillus agaradherens, NCIMB40482。

本发明包括具有上述性质的分离的甘露聚糖酶，它没有同种杂质和使用常规重组技术产生。

甘露聚糖酶催化活性(ManU)的测定

比色试验：底物：在 0.1M 对羟苯甘氨酸缓冲液，pH10.0 中的由角豆胶得到的 0.2% AZCL-半乳甘露聚糖(Megazyme, 澳大利亚)。试验在带有搅拌和温度控制在 40℃的热混合器上在 Eppendorf Micro 管 1.5ml 中进行。用 0.05ml 酶培养 0.750ml 底物 20 分钟，通过以

15000rpm 离心 4 分钟停止。在 1cm 小杯中在 600nm 下测量上清液的颜色。在 1cm 中一个 ManU(甘露聚糖酶单位)得到 0.24(绝对值)。

得到 BACILLUS AGARADHERENS 甘露聚糖酶 NCIMB40482

菌株

Bacillus agaradherens NCIMB40482 含有编码 DNA 序列的甘露聚糖酶。

大肠杆菌菌株:准备大肠杆菌 SJ2 细胞(Diderichsen, B., Wedsted, U., Hede gaard, L., Jensen, B. R., Sjoholm, C. (1990) 克隆 aldB,它编码α-乙酰乙酸脱羧酶、短芽孢杆菌得到的胞外酶, J. Bacteriol., 172,4315-4321),如上所述,用由 BIO-RAD 得到的 Gene Pulser™电穿孔器如供应商所述通过电穿孔转化。

枯草芽孢杆菌 PL2306.该菌株是带有分裂 apr 和 npr 基因枯草芽孢杆菌 DN 1885 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjoholm, C. (1990)克隆 aldB,它编码α-乙酰乙酸脱羧酶、短芽孢杆菌得到的胞外酶, J. Bacteriol., 172,4315-4321),它在已知枯草芽孢杆菌纤维素酶基因的转录单位中分裂,产生纤维素酶负细胞。分裂基本上如 Eds. A. L. Sonenshein, J. A. Hoch and Richard Losick(1993),“枯草芽孢杆菌和其它革兰氏阳性细胞”, American Society for microbiology,第 618 页中所述进行。

如 Yasbin, R. E., Wilson, G. A.和 Young, F. E.(1975)“在枯草芽孢杆菌的溶原性菌株中的转化和转染:在感受态细胞中选择引入原噬菌体的证明”, J. Bacteriol. 121:296-304 中所述制备感受态细胞并转化。

质粒

pSJ1678(在 WO94/19454 中详细描述,列为本文参考文献)。

pMOL944:该质粒是主要含有在枯草芽孢杆菌,卡那霉素抗性基因中可使质粒繁殖的元素,且还具有强启动子和由地衣芽孢杆菌 ATCC14580 的 amyL 基因克隆的信号肽的 pUB110 衍生物。信号肽含有 SacII 位置,使得它方便地克隆编码与信号肽融合的蛋白质成熟部分的 DNA。这导致前蛋白质的表达,它指向细胞的外部。

通过如下简单描述的常规基因工程技术构成质粒。

pMOL944 的构成：

pUB110 质粒(McKenzie, T. 等, 1986, "质粒" 15:93-103)用单一限制酶 NcoI 消化，由编码质粒 pDN1981(P. L. Jorgensen 等，1990, "基因"，96，37-41 页)的 amyL 启动子放大的 PCR 片段用 NcoI 消化，插入 NcoI 消化的 pUB110 中得到质粒 pSJ2624。

所使用的两种 PCR 引物具有如下序列：

#LWN5494 5'-GTCGCCGGGGCGGCCGCTATCAATTGGTAACTGTATC TCAGC-3'

#LWN5495 5'-GTCGCCCGGGAGCTCTGATCAGGTACCAAGCTTGTCGA C CTGCAGAATGAGGCAGCAAGAAGAT-3'

引物#LWN5495 插入质粒的 NotI 位。

质粒 pSJ2624 随后用 SacI 和 NotI 消化，由编码 pDN1981 的 amyL 启动子放大的新 PCR 片段用 SacI 和 NotI 消化，将该 DNA 片段插入 SacI-NotI 消化的 pSJ2624 得到质粒 pSJ2670。

该克隆代替用相同启动子但在相反方向克隆的第一 amyL 启动子，用于 PCR 放大的两种引物具有如下序列：

#LWN5938 5'-GTCGGCGGCCGCTGATCACGTACCAAGCTTGTCGACCTG CAGAAGAGGCAGCAAGAAGAT-3'

#LWN5939 5'-GTCGGAGCTCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC-3'

质粒 pSJ2670 用限制酶 PstI 和 BclI 消化，由编码碱性淀粉酶 SP722(在 WO95/26397 中公开，列为本文参考文献)的克隆 DNA 序列放大的 PCR 片段用 PstI 和 BclI 消化并插入得到质粒 pMOL944。用于 PCR 放大的两种引物具有如下序列：

LWN7864 5'-AACAGCTGATCACGACTGATCTTTTAGCTTGGCAC-3'

#LWN7901 5'-AACTGCAGCCGCGGCACATCATAATGGGACAAATGGG-3'

引物 # LWN7901 在质粒的 SacII 位插入。

<u>来自 Bacillus agaradherens 的甘露聚糖酶基因的克隆</u>

基因组 DNA 制备：

菌株 Bacillus agaradherensNCIMB40482 如 WO/01532 中所述在液体介质中繁殖。在 30℃和 300rpm 培养 16 小时后，收获细胞，通过 Pitcher 等(Pitcher, D. G., Saunders, N. A. Owen, R. J. (1989) "用硫氰酸胍快速提取细菌基因组 DNA", Lett. Appl. Microbiol., 8, 151-156)描述的方法分离基因组 DNA。

基因组文库构造:

基因组 DNA 用限制酶 Sau3A 部分消化，在 0.7% 琼脂糖凝胶上通过电泳法进行尺寸分级。尺寸在 2-7kb 之间的片段在 DEAE-纤维素纸上通过电泳法分离(Dretzen, G. Bellard, M., Sassone-Corsi, P., Chambon, P. (1981)“从琼脂糖和丙烯酰胺凝胶中回收 DNA 片段的可靠方法” Anal. biochem., 112, 295-298)。

将分离的 DNA 片段连接到 BamHI 消化的 pSJ1678 质粒 DNA 中，连接混合物用于转化大肠杆菌 SJ2。

正克隆的识别:

如上所述构造的大肠杆菌 DNA 文库在含有 0.2% AZCL-半乳甘露聚糖(Megazyme)和 9μg/ml 氯霉素的 LB 琼脂平板上扫描并在 37℃培养过夜。表达甘露聚糖酶活性的克隆显示兰色扩散孔环，由这些克隆之一得到的质粒 DNA 在 1ml 整夜培养的肉汤(细胞在含有 9μg/ml 氯霉素的 TY 中在 37℃下培养，并以 250rpm 振荡)中通过 Qiagen 质粒自旋 preps 分离。

该克隆(MB525)进一步用克隆的 Sau3ADNA 片段的 DNA 序列化测定表征，DNA 序列化使用 Tag 脱氧末端循环序列测定设备(Perkin-Elmer, USA)荧光剂标志的终止剂和用作引物的合适的低核苷酸通过“引物步行”（primerwalking）进行。

序列数据的分析根据 Devereux 等(1984)“核酸研究”，12, 387-395 中所述进行，编码甘露聚糖酶的序列在 SEQ ID No1 中显示，衍生的蛋白质序列在 SEQ ID No.2 中显示。

在枯草芽孢杆菌中甘露聚糖酶的亚克隆和表达:

编码本发明的 DNA 序列的甘露聚糖酶是用由如下两种低聚核苷酸组成的 PCR 引物组放大的 PCR:

甘露聚糖酶，上，SacII

5'-CATTCTGCAGCCGCGGCAGCAAGTACAGGCTTTTATGTTGATGG-3'

甘露聚糖酶，下，NotI

5'-GACGACGTACAAGCGGCCGCGCTATTTCCCTAACATGATGATATTT TCG-3'

加下划线的是限制位 SacII 和 NotII。

如上所述由 B. agaradherensNCIMB40482 分离的染色体 DNA 在使用 Amplitaq DNA 聚合酶(Perkin Elmer)的 PCR 反应中根据制造商

的教导用作模板。PCR 反应在含有 200μM 的各种 dNTP、2.5 单位的 AmpliTaq 聚合酶(Perkin-Elmer, Cetus, USA)和 100pmol 各种引物的 PCR 缓冲液(10mM Tris-HCl, pH8.3, 50mM KCl, 1.5mM 氯化镁, 0.01%(w/v)明胶)中建立。

PCR 反应用 DNA 热循环器(Landgraf, Germany)进行。在 94℃培养 1 分钟，随后使用在 94℃变性 30 秒，在 60℃复性 1 分钟和在 72℃延伸 2 分钟的循环方式进行 30 次 PCR 循环。在 0.7%琼脂糖凝胶(NuSieve, FMC)中用电泳法分析放大产物的 5μl 等分液。DNA 片段尺寸 1.4kb 的外观表示基因片段的合适放大。

PCR 片段的亚克隆

上述产生的 PCR 产物的 45μl 等分液根据制造商的教导用 QlAquick PCR 纯化设备(Qiagen, USA)纯化，纯化的 DNA 在 50μl 10mM Tris-HCl, pH8.5 中洗脱。

5μg pMOL944 和 25μl 纯化的 PCR 片段用 SacII 和 NotI 消化，在 0.8%低凝胶温度的琼脂糖(SeaPlaque GTG, FMC)凝胶中电泳，从凝胶中切除相关的片段，根据制造商的教导用 QlAquick 凝胶提取设备(Qiagen, USA)纯化。分离的 PCRDNA 片段随后连接于 SacII-NotI 消化和纯化的 pMOL944。连接用 0.5μg 各种 DNA 片段、1U 的 T4DNA 连接酶和 T4 连接酶缓冲液(Boeh ringer Mannheim, Germany)在 16℃进行过夜。

连接混合物用于转化感受态枯草芽孢杆菌 PL2306，转化的细胞在 LBPG-10μg/ml 卡那霉素平板上进行平板接种。在 37℃培养 18 小时后，在平板上可看见克隆，通过由过夜培养肉汤分离的质粒 DNA 分析若干克隆。

一种该正克隆在上述所用的琼脂平板中重新划线(restreak)几次，该克隆称为 MB594。克隆 MB594 在 TY-10μg/ml 卡那霉素在 37℃生长过夜，第二天根据制造商用于枯草芽孢杆菌质粒制备方法的教导用 Qiaprep Spin Plasmid Miniprep Kit #27106 用 1ml 细胞从细胞中分离质粒。该 DNA 经 DNA 序列化，显示其相应于甘露聚糖酶的成熟部分，即所附的 SEQ ID NO:3 的位置 94-1404。衍生的成熟蛋白质在 SEQ ID NO:4 中显示。它显示由 SEQ ID NO:1 的序列编码的甘露聚糖酶的 3'端由于用于 PCR 的低引物的设计改变为 SEQ ID NO:3 中所示的

序列。得到的氨基酸序列示于 SEQ ID NO:4 中，它显示 SEQ ID NO:2 的 C 端(SHHVREIGVQFSAADNS SGQTALYVDNVTLR)改变为 SEQ ID NO:4 的 D 端(IIMLGK)。

培养基:

TY(如 Ausubel, F. M.等(eds.)“Current protocols in Molecular Biology”.John Wiley and Sons, 1995 中所述)。

LB 琼脂(如 Ausubel, F. M.等(eds.)“Current protocols in Molecular Biolo gy”.John Wiley and Sons, 1995 中所述)。

LBPG 是用 0.5% 葡萄糖和 0.05M 磷酸钾,pH7.0 补充的 LB 琼脂(如上所述)

BPX 培养基在 EP0506780(WO91/09129)中描述。

由 Bacillus agaradherens 得到的甘露聚糖酶的表达、纯化和表征

如上述 Materials and Methods 中所述得到的克隆 MB594 在 500ml 双挡板振荡烧瓶中在含有 10μg/ml 卡那霉素的 25x200mlBPX 培养基中在 37℃和 300rpm 下生长 5 天。

收集 6500ml 克隆 MB594 的振荡烧瓶培养液(批号#9813)，pH 调节到 5.5. 在搅拌过程中加入 146ml 阳离子试剂(C521)和 292ml 阴离子试剂(A130)进行絮凝。通过用 Sorval RC 3B 离心器在 6℃以 9000rpm 离心 20 分钟分离絮凝的物质，上清液用 Whatman 玻璃过滤器 GF/D 和 C 澄清，最终用 filtron 切去 10kDa 浓缩。用氢氧化钠将 750ml 浓缩物调节至 pH7.5，澄清溶液用于阴离子交换色谱法，使用由 50mmolTris,pH7.5 平衡的 900ml Q-Sepharose 柱。用氯化钠梯度洗脱甘露聚糖酶活性结合物。

纯酶在 SDS-PAGE 中得到单一带，分子量为 38kDa，甘露聚糖酶的氨基酸序列，即翻译的 DNA 序列示于 SEQ ID No.2 中.

动力学常数测定:

底物:角豆胶和还原蔗糖分析(PHBAH)。

由 Sigma 得到的角豆胶(G-0753)。

动力学测定用不同浓度的角豆胶，在 40℃在 pH10 培养进行 20 分钟

Kcat:467 每秒

Km:0.08g/l

MW:38kDa

pI(等电点):4.2

甘露聚糖酶的温度最佳值为 60℃.

pH 活性曲线显示最大活性在 pH8-10 之间.

DSC 差示扫描量热计得到在 pH7.5 在 Tris 缓冲液中的熔点为 77℃,显示该酶是非常热稳定的。

用由角豆胶得到的 0.2% AZCL-半乳甘露聚糖作为底物和如上所述在 40℃下培养测定的洗涤剂相容能力显示与常规液体洗涤剂的杰出的相容性和与常规粉末洗涤剂良好的相容性.

枯草芽孢杆菌甘露聚糖酶 168 的获得

表征和纯化枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶如下:

用已知芽孢杆菌属β-甘露聚糖酶基因序列(Mendoza 等, Biochemica et Bio physica Acta 1243:552-554, 1995)搜索枯草芽孢杆菌基因组的同种物。其产物尚属未知的 ydhT 的编码区域显示 58% 类似于已知芽孢杆菌β-甘露聚糖酶。如下低核苷酸用于放大编码假定的β-甘露聚糖酶的成熟部分的序列:5'-GCT CAA TTG GCG CAT ACT GTG TCG CCT TGT-3'和 5'-GAC GGA TCC CGG ATT CAC TCA ACG ATT GGC G-3'. 由枯草芽孢杆菌菌株 1A95 得到的总基因组用作模板使用上述引物放大 ydhT 成熟区域。PCR 用 GENE-AMP PCR Kit 用 AMPLITAQ DNA 聚合酶(Perkin Elmer, Applier Biosystems, Foster City, CA)进行。首先在 95℃熔化 5 分钟, 随后进行 25 个循环的如下程序:在 95℃熔化 1 分钟, 在 55℃复性 2 分钟, 在 72℃延伸 2 分钟。在最后循环后, 反应在 72℃保持 10 分钟以完成延伸, PCR 产物用 QlAquick PCR 纯化设备(Qiagen, Chatsworth, CA)纯化。

由枯草芽孢杆菌菌株 1A95 放大的 ydhT 成熟区域按如下方法插入表达载体 pPG1524(先前描述)中。放大的 1028bp 片段用 Mfe I 和 BamH I 消化, 表达载体 pPG1527 用 EcoR I 和 BamH I 消化。限制产物用 QlAquick PCR 纯化设备(Qiagen, Chatsworth, CA)纯化。两个片段用 T4DNA 连接酶连接(13 小时, 16℃), 用于转化感受态大肠杆菌菌株 DH5-α。为制备 DNA 培养氨苄青霉素抗性克隆。DNA 随后用限制分析表征. 质粒 pPG3200 含有 ydhT 基因的成熟区域, 质粒 pPG3200 随后用于转化感受态枯草芽孢杆菌菌株 PG632(Saunders 等, 1992).

挑选 7 个卡那霉素抗性枯草芽孢杆菌克隆和 1 个 PG632 对照克

隆，在用 1ml25％maltrin、120μl 10mM 氯化锰和 20μl 50mg/ml 卡那霉素补充的 20ml 20/20/5 培养基(20g/l 胰胨、20g/l 酵母提取物和 5g/l 氯化钠)中生长．克隆在 250ml 以 250rpm 振荡的挡板烧瓶中在 37℃下生长过夜以表达蛋白质．细胞以 14000rpm 自旋 15 分钟，各 1μl 上清液用 99μl 的 50mM 乙酸钠(pH6.0)稀释，1μl 该稀释液根据制造商的教导用内-1,4-β-甘露聚糖酶 β-Mannazyme Tabs(Megazyme, Ireland)分析．在 Beckman DU640 分光光度计在 590nm 测定吸光率，克隆 7 显示 1.67 的最高吸光率，PG632 对照在 590nm 未显示吸光率．

上清液在 10-20％Tris-甘氨酸凝胶(Novex, San Diego, Ca)中通过 SDS-PAGE 分析以证实 38kDa 的所预期的蛋白质尺寸．试样制备如下，ydhT 克隆 7 和 PG632 上清液的 500μl 试样用 55.5μl100％三氯乙酸(Sigma)沉淀，用 100μl5％三氯乙酸洗涤，重新悬浮于 50μlTris-甘氨酸 SDS 试样缓冲液(Novex)中，沸腾 5 分钟。1μl 每种试样在凝胶中在 30mA 下电泳 90 分钟，对 ydhT 克隆 7 在 38kDa 观察到大的蛋白质带。

枯草芽孢杆菌 ydhT 克隆 7 的 10 升发酵在 B. Braun Biostat C 发酵器中进行，发酵条件如下，细胞在类似于 20/20/5 的富培养基中在 37℃下生长 18 小时．在发酵试验结束时，涂去细胞，用切向流过滤体系浓缩上清液至 1 升，在浓缩上清液中的β-甘露聚糖酶的最终收率测定为 3g/l。

由发酵上清液纯化β-甘露聚糖酶按如下进行:在 4℃将 500ml 上清液在 10000rpm 离心 10 分钟，离心的上清液在 4℃在两个 4 升 10mM 磷酸钾(pH7.2)变换容器中通过 Spectrapor 12000-14000mol.wt.切断膜(Spectrum)透析过夜。透析的上清液在 4℃在 10000rpm 下离心 10 分钟．200mlQ Sepharose 快速流动(Pharmacia)离子交换柱用 1 升 10mM 磷酸钾(pH7.2)在 20℃下平衡，在柱中负载 300ml 上清液。收集两个流过馏分 210ml(试样 A)和 175ml(试样 B)，两个馏分如上进行分析，只是试样用 199μl 50mM 乙酸钠(pH6.0)稀释，它们分别显示.38 和.52 的吸光率．2μl 每种试样加入 8μlTris-甘氨酸 SDS 试样缓冲液(Novex,CA)中，沸腾 5 分钟。生成的试样在 10-20％在 Tris-甘氨酸凝胶(Novex,Ca)中在 30mA 下电泳 90 分钟，在每种试样中存在

相应于 38kDa 的主要光带，占总蛋白质的 95% 以上。根据制造商的教导用牛血清蛋白作为标准对两种试样进行 BCA 蛋白质试验(Pierce)，试样 A 和试样 B 分别含有 1.3mg/ml 和 1.6mg/mlβ-甘露聚糖酶.蛋白质的鉴定通过离子喷雾质谱和 N-端氨基酸序列分析进行确认。

纯化的β-甘露聚糖酶试样如下用于表征酶活性。所有试验使用上述的内-1,4-β-甘露聚糖酶β-Mannazyme Tabs(Megazyme Ireland)。在 pH 范围 3.0-9.0 的活性在 50mM 柠檬酸盐磷酸盐缓冲液中进行，对于 pH9.5 的活性测定，采用 50mM CAPSO(Sigma)，而对于 pH10.0-11.0 范围，则采用 50mMCAPS 缓冲液。枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶的最佳 pH 为 pH6.0-6.5.温度活性曲线在 50mM 柠檬酸盐磷酸盐(pH6.5)中进行，该酶在 40-45℃显示最佳活性。在低于 15℃和高于 80℃时枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶保持明显的活性。根据制造商的指导，用内-1,4-β-甘露聚糖酶β-Mannazyme Tabs(Megazyme Ireland)测定的对于β-1,4-半乳甘露聚糖的比活为 160 000 μmol/min.mgβ-甘露聚糖酶。枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶的核苷酸和氨基酸序列示于 SEQ ID NO5 和 6 中。

甘露聚糖酶优选以按组合物重量计 0.0001%-2%，更优选 0.0005%-0.1%，最优选 0.001%-0.02% 纯酶的含量加入本发明的组合物中。

本发明的酶，除了含有催化域的酶核之外，还含有纤维素结合域(CBD)，酶的纤维素结合域和酶核(催化活性域)是操作连接的。纤维素结合域(CBD)可作为编码酶的整体部分存在，或来自其它源的 CBD 可引入酶，于是形成酶杂交。在本文中，术语“纤维素结合域”可理解为如由 Peter Tomme 等，“纤维素结合域:分类和性质”，在“不溶性碳水化合物的酶降解”，John N. Saddler and Michael H. Penner(Eds),ACS Symposium Series, No. 618, 1996 中所定义。该定义将超过 120 种纤维素结合域分成 10 个家族(I-X)，说明 CBD 存在于各种酶，例如纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、乙酰基酯酶和壳多糖酶之中。CBD 还在藻，例如作为非水解多糖结合蛋白质的红藻 Porphyra purpurea 中发现，参见 Tomme 等的以上引证的文献。然而，大多数 CBD 来自纤维素酶和木聚糖酶，CBD 在

蛋白质的 N 和 C 端或在中间。酶杂种在现有技术中是已知的，例如参见 WO90/00609 和 WO95/16782，可通过将 DNA 构造转化入宿主细胞和生长宿主细胞以表达融合基因来制备，所述 DNA 构造含有至少一个通过或不通过接头连接于编码甘露聚糖酶的 DNA 序列的编码纤维素结合域的 DNA 片段。酶杂种可由下式描述：

CBD-MR-X

其中 CBD 是相应于至少纤维素结合域的氨基酸序列的 N-端或 C-端区域；MR 是中间区域连接部分，并且可以是键，或优选约 2-约 100 个碳原子，更优选 2-40 个碳原子的短连接链；或是优选约 2-约 100 个氨基酸，更优选 2-40 个氨基酸；和 X 是本发明的酶的 N-端或 C-端区域。

上述酶可以是任何合适的来源，例如植物、动物、细菌、真菌和酵母来源。来源还可以是嗜温或嗜极限条件(extremophilic)(嗜冷、冷营养、嗜热、嗜压、嗜碱、嗜酸、嗜卤素等)。这些酶的纯或不纯的形式都能使用。目前，在通常实际中经蛋白质/基因工程技术改性野生类型酶以最佳化它们在本发明的洗涤组合物中的性能效率。例如可设计变体以增加酶与该组合物中通常遇到的组分的相容性。此外，可设计变体使得酶变体的最佳 pH、漂白剂或螯合剂稳定性、催化活性等能够适应特定的洗涤应用。

在漂白剂稳定性的情况下尤其应注意氨基酸对氧化的敏感性，和对于表面活性剂相容能力应注意表面电荷。这种酶的等电点可通过某些带电荷的氨基酸的置换改性，例如增加等电点会有助于改善与阴离子表面活性剂的相容性。酶的稳定性可进一步通过产生例如附加盐桥改善，以及强化金属结合位置以增加螯合剂稳定性。

漂白体系

本发明的一种主要组分是在漂白体系中的疏水漂白活性剂，其中使用漂白活性剂的漂白体系还包含作为一种主要组分的过氧漂白剂，它在水溶液中能够释放过氧化氢。

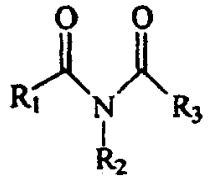
我们惊奇地发现甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂的结合显示了改善的总体洗涤、对各种类型的污渍/污垢的杰出的洗涤和改善的增白性能效果。

人们通常认为漂白活性剂受到过氢氧化物阴离子的亲核攻击形

成过氧羧酸，所述过氢氧化物阴离子由通过过氧漂白剂析出的过氧化氢产生。该反应通常称为过水解。

本发明的洗涤剂组合物包括漂白剂，例如过氧化氢，颗粒尺寸为400-800 微米的 PB1、PB4 和过碳酸盐，优选过碳酸盐。这些漂白剂组分可包括一种或多种氧漂白剂和，根据所选择的漂白剂，一种或多种漂白活性剂。如果存在的话，氧漂白化合物通常以约 1%-约 25%的含量存在。

过氧化氢释放剂可以与漂白活性剂，例如壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS，在 US4412934 中描述)、3,5-三甲基己醇氧基苯磺酸盐(ISONOBS,在 EP120591 中描述)或 N-壬酰基-6-氨基己酸苯酚磺酸酯(NACA-OBS，在 WO 94/28106 中描述)结合使用，它们被过水解以形成作为活性漂白物质的过酸，得到改善的漂白效果。它们的酸形式也可以使用，例如在我们的未审申请 USSN 08/136626 中描述的过氧琥珀酸的壬基酰胺、过氧己二酸的壬基酰胺或壬酰基氧基苯过酸。其它合适的疏水漂白活性剂是在 Procter & Gamble 的未审的专利申请 US№60/022786(1996 年 7 月 30 日申请)和№60/028122 (1996 年 10 月 15 日申请)中公开的下式的不对称无环亚酰胺漂白活性剂：



其中 R_1 是 C_7-C_{13} 直链或支链饱和或不饱和烷基、R_2 是 C_1-C_8 直链或支链饱和或不饱和烷基和 R_3 是 C_1-C_4 直链或支链饱和或不饱和烷基。用于本发明的优选漂白活性剂是壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS，在 US4412934 中描述)、3,5-三甲基己醇氧基苯磺酸盐(ISONOBS,在 EP120591 中描述)和 N-壬酰基-6-氨基己酸苯酚磺酸酯(NACA-OBS，在 WO94/28106 中描述)

用于本发明的洗涤剂组合物中其它漂白剂，包括过氧酸和含有漂白活性剂和过氧漂白化合物的漂白体系，如 WO95/27773 描述的 N-酰基内酰胺漂白剂和我们未审的申请 PCT/US95/07823USSN 描述的某些

漂白活性剂。

疏水漂白活性剂通常以按总组合物重量计 0.01%-20%，优选 0.25%-15%，更优选 0.5%-10%的含量存在。

洗涤剂组分

本发明的洗涤剂组合物必须含有至少一种其它洗涤剂组分。这些附加的组分的具体性质和它们的加入量将根据组合物的物理形式和所使用的洗涤操作的性质决定。

本发明的洗涤剂组合物优选还含有选自阳离子表面活性剂、螯合剂和/或它们的混合物的洗涤剂组分。

在优选实施方案中，本发明涉及含有甘露聚糖酶和疏水漂白剂的洗衣洗涤剂组合物(实施例 1-6)。在第二实施方案中，本发明涉及餐具洗涤组合物(实施例 7-9)。

本发明的洗涤组合物可以是液体、膏状、凝胶、块、片、喷雾剂、泡沫、粉末或颗粒。颗粒组合物还可以是“致密”形式，液体组合物可以是“浓缩”形式。

本发明的组合物可配制成例如手工和机洗餐具洗涤组合物、手工和机器洗衣洗涤组合物，其包括洗衣添加剂组合物和适用于脏织物的浸泡和/或预处理的组合物和适用于家庭硬表面清洁操作的组合物。

当配制为用于手洗餐具方法的组合物时，本发明的组合物优选含有表面活性剂和优选选自有机聚合化合物、增泡剂、II 族金属离子、溶剂、增溶剂和附加的酶的其它洗涤剂化合物。

当配制为用于机洗洗衣方法的组合物时，本发明的组合物优选同时含有表面活性剂和助洗剂化合物和附加的一种或多种的洗涤剂组分，其优选选自有机聚合物、漂白剂、附加的酶、抑泡剂、分散剂、钙皂分散剂、污垢悬浮剂和抗再沉淀剂和腐蚀抑制剂。洗衣组合物还可含有作为附加洗涤剂组分的柔软剂。当配制为洗衣洗涤剂组合物时，含有甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂漂白体系的该组合物可提供织物洗涤、去污、白度保持、染料转移抑制和消毒作用。

本发明的组合物还可用作固体或液体形式的洗涤剂添加剂产物。该添加剂产物用来补充或增强常规洗涤剂组合物的性能，并可在洗涤过程的任何阶段加入。

根据需要，本发明的洗衣洗涤剂组合物的密度为在 20℃下测定

400-1200 克/升，优选 500-950 克/升组合物。

本发明组合物的“致密”形式用密度可最好反映，对于组合物，受无机填料盐的量影响；无机填料盐是粉末形式的洗涤剂组合物的常规组分；在常规洗涤剂组合物中，填料盐以基本量存在，通常为按总组合物重量计 17-35%。在致密组合物中，填料盐以按组合物重量计不超过总组合物 15%，优选不超过 10%，最优选不超过 5% 的量存在。本发明组合物中的无机填料盐例如是指碱金属和碱土金属的硫酸盐和氯化物。优选的填料盐是硫酸钠。

本发明的液体洗涤剂组合物也可以是“浓缩形式”的，在这种情况下，与常规液体洗涤剂相比，本发明的液体洗涤剂组合物将含有较低量的水。浓缩液体洗涤剂的含水量按洗涤剂组合物重量计通常为低于 40%，更优选低于 30%，最优选低于 20%。

用于本发明的合适洗涤剂化合物选自如下描述的化合物。

表面活性剂体系

本发明的洗涤剂组合物通常含有表面活性剂体系，其中表面活性剂可选自非离子和/或阴离子和/或阳离子和/或两性和/或两性离子和/或半极性表面活性剂。本发明的洗涤剂组合物优选将含有阳离子表面活性剂。我们惊奇地发现该含有阳离子表面活性剂的组合物提供较好的洗涤和增白性能。

表面活性剂通常以按重量计 0.1%-60% 的量存在。在本发明的洗涤剂组合物中，更优选加入量为按重量计 1%-35%，最优选按重量计 1%-30%。

表面活性剂优选配制成与组合物中存在的酶组分相容。在液体或凝胶组合物中，表面活性剂最优选配制成使其促进，或至少不破坏任何酶在这些组合物中的稳定性。

用于本发明的优选表面活性剂体系含有一种或多种本发明描述的用作表面活性剂的非离子和/或阴离子表面活性剂。

烷基苯酚的聚氧乙烯、聚氧丙烯和聚氧丁烯缩合物适合用作本发明表面活性剂体系的非离子表面活性剂，其中优选聚氧乙烯缩合物。这些化合物包括具有含约 6-约 14 个碳原子，优选约 8-约 14 个碳原子的直链或支链构型的烷基的烷基苯酚与烯化氧的缩合产物。在优选实施方案中，环氧乙烷以每摩尔烷基苯酚等于约 2-约 25 摩尔，更优

选约 3-约 15 摩尔环氧乙烷的量存在。商业上可得到的这种类型的非离子表面活性剂包括由 GAF 公司出售的 Igepal™ CO-630，由 Rohm & Haas 公司出售的 Triton™ X-45、X-114、X-100 和 X-102。这些表面活性剂通常称为烷基苯酚烷氧基化物(例如烷基苯酚乙氧基化物)。

伯和仲脂族醇与约 1-约 25 摩尔的环氧乙烷的缩合产物适合用作本发明的非离子表面活性剂体系的非离子表面活性剂。脂族醇的烷基链可以是直链或支链的，伯或仲，通常含有约 8-约 22 个碳原子。优选的是具有含约 8-约 20 个碳原子，更优选含约 10-约 18 个碳原子的烷基的醇与每摩尔醇约 2-约 10 摩尔环氧乙烷的缩合产物。在所述缩合产物中每摩尔醇存在约 2-约 7 摩尔环氧乙烷，最优选 2-5 摩尔环氧乙烷。商业上可得到的这种类型的非离子表面活性剂的实例包括 Tergitol™15-S-9(C_{11}-C_{15} 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物)、Tergitol™24-L-6 NMW(具有窄分子量分布的 C_{12}-C_{14} 伯醇与 6 摩尔环氧乙烷的缩合产物)，均由联合碳化公司出售；Neodol™45-9(C_{14}-C_{15} 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™23-3(C_{12}-C_{13} 直链醇与 3.0 摩尔环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™45-7(C_{14}-C_{15} 直链醇与 7 摩尔环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™45-5(C_{14}-C_{15} 直链醇与 5 摩尔环氧乙烷的缩合产物)，均由壳牌化学公司出售、Kyro™EOB(C_{13}-C_{15} 醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物)，由 Procter & Gamble 出售；和 Genapol LA 030 或 050(C_{12}-C_{14} 醇与 3 或 5 摩尔环氧乙烷的缩合产物)，由 Hoechst 销售。这些产物的优选 HLB 范围为 8-11，最优选 8-10。

还可用作本发明的表面活性剂体系的非离子表面活性剂是在 1986 年 1 月 21 日颁布的 Llenado 的 US4565647 中公开的烷基多糖，其含有约 6-约 30 个碳原子，优选约 10-约 16 个碳原子的疏水基团和多糖，例如多糖苷，亲水基团含有约 1.3-约 10，优选约 1.3-约 3，最优选约 1.3-约 2.7 糖单元。可以使用任何含有 5 或 6 个碳原子的还原糖类，例如葡萄糖，半乳糖和半乳糖基可用于替代葡糖基(疏水基选择性地连接在 2-、3-、4-等位置，从而得到相对于葡糖苷或半乳糖苷的葡萄糖或半乳糖)。内糖键可在例如加入的糖单元的一个位置和先前的糖单元的 2-、3-、4-和/或 6-位置之间。

优选的烷基多糖苷具有下式：

$$R^2O(C_nH_{2n}O)_t(\text{糖基})_x$$

其中 R^2 选自烷基、烷基苯基、羟基烷基、羟基烷基苯基和它们的混合物，其中烷基含有约 10-约 18，优选约 12-约 14 个碳原子；n 是 2 或 3，优选 2；t 是 0-约 10，优选 0，x 是约 1.3-约 10，优选约 1.3-约 3，最优选约 1.3-约 2.7. 糖基优选由葡萄糖得到。为制备这些化合物，首先形成醇或烷基多乙氧基醇，随后与葡萄糖或葡萄糖源反应形成葡糖苷(连接在 1-位)。其它的糖基可随后连接在其 1-位和先前的糖单元 2-、3-、4-和/或 6-位之间，优选主要在 2-位。

环氧乙烷与通过缩合环氧丙烷与丙二醇形成的疏水基团的缩合产物也适合用作本发明的附加非离子表面活性剂体系。这些化合物的疏水部分优选具有约 1500 至约 1800 的分子量，并显示水不溶解性。在该疏水部分中加入聚氧乙烯基团将增加分子总体的水溶解性，产物的液体特征保持至聚氧乙烯含量为缩合产物总重量的约 50% 这一点，这相当于缩合至多约 40 摩尔的环氧乙烷。这种类型的化合物的实例包括某些商业上可获得的 Plurafac™ LF404 和 Pluronic™表面活性剂，均由 BASF 销售。

同样适合用作本发明的非离子表面活性剂体系的非离子表面活性剂是环氧乙烷与通过环氧丙烷和乙二胺反应得到的产物的缩合产物。这些产物的疏水基团由乙二胺和过量环氧丙烷的反应产物组成，通常有约 2500 至约 3000 的分子量。该疏水基团与环氧乙烷缩合至使得缩合产物含有按重量计约 40%-约 80% 的聚氧乙烯和具有约 5000-约 11000 的分子量的程度。这种类型的非离子表面活性剂的实例包括某些商业上可获得的 Tetronic™化合物，由 BASF 销售。

优选用作本发明的表面活性剂体系的非离子表面活性剂是烷基苯酚的聚环氧乙烷缩合物，伯和仲脂族醇与约 1-约 25 摩尔环氧乙烷的缩合产物、烷基多糖和它们的混合物。最优选含有 3-15 乙氧基的 C_8-C_{14} 烷基苯酚乙氧基化物和含有 2-10 个乙氧基的 C_8-C_{18} 醇乙氧基化物(优选平均 C_{10})和它们的混合物。

更优选的非离子表面活性剂是下式多羟基脂肪酸酰胺表面活性剂：

$$R^2-C(O)-N(R^1)-Z$$

其中 R^1 是 H，或 R^1 是 C_{1-4} 烃基、2-羟基乙基、2-羟基丙基或它们的混合物，R^2 是 C_{5-31} 烃基，和 Z 是具有至少 3 个与链直接连接的羟基的直

链烃基链的多羟基烃基，或它们的烷氧基化衍生物。优选 R^1 是甲基，R^2 是直链 C_{11-15} 烷基或 C_{16-18} 烷基或烯基，例如椰子油烷基或它们的混合物，和 Z 通过在还原胺化反应中由还原糖，例如葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖得到。

可使用的合适的阴离子表面活性剂是直链烷基苯磺酸盐、烷基酯磺酸盐表面活性剂，其包括 C_8-C_{20} 羧酸(即脂肪酸)的直链酯，该酯已根据“美国石油化学会志”，52(1975)第 323-329 页中的方法用气态三氧化硫磺化。合适的原料将包括由动物脂、棕榈油等得到的天然脂肪物质。

尤其用于洗衣应用的优选的烷基酯磺酸盐表面活性剂包括结构式如下的烷基酯磺酸盐表面活性剂：

$$R^3-CH(SO_3M)-C(O)-OR^4$$

其中 R^3 是 C_8-C_{20} 烃基，优选烷基或它们的混合物，R^4 是 C_1-C_6 烃基，优选烷基或它们的混合物，M 是阳离子，它与烷基酯磺酸形成水溶性盐。合适的成盐阳离子包括金属，例如钠、钾和锂，和取代或未取代的铵阳离子，例如单乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺。优选 R^3 是 C_{10}-C_{16} 烷基，和 R^4 是甲基、乙基或异丙基。尤其优选的是其中 R^3 是 C_{10}-C_{16} 烷基的甲基酯磺酸盐。

其它合适的阴离子表面活性剂包括烷基硫酸盐表面活性剂，它是式 $ROSO_3M$ 的水溶性盐或酸，其中 R 优选是 C_{10}-C_{24} 烃基，优选含有 C_{10}-C_{20} 烷基部分的烷基或羟基烷基，更优选 C_{12}-C_{18} 烷基或羟基烷基，M 是 H 或阳离子，例如碱金属阳离子(例如钠、钾、锂)、或铵或取代的铵(如甲基-、二甲基-和三甲基-铵阳离子和季铵阳离子，例如四甲基铵和二甲基哌啶鎓阳离子和由烷基胺，例如乙胺、二乙胺、三乙胺得到的季铵阳离子和它们的混合物等)。对于低洗涤温度(例如低于约 50℃)，通常优选 C_{12}-C_{16} 的烷基链，对于较高洗涤温度(例如高于约 50℃)优选 C_{16-18} 烷基链。

适用于洗涤用途的其它阴离子表面活性剂也可以包括在本发明的洗涤剂组合物中。它们可以包括皂盐(包括，例如钠、钾、铵和取代的铵盐，例如单-、二-和三乙醇胺盐)、C_8-C_{22} 伯或仲烷烃磺酸盐、C_8-C_{24} 烯烃磺酸盐、在例如 GB1082179 中描述的通过磺化碱土金属柠檬酸盐的裂解产物制备的磺化多羧酸、C_8-C_{24} 烷基聚乙二醇醚硫酸盐

(含有至多 10 摩尔环氧乙烷)；烷基甘油磺酸盐、脂肪酰基甘油磺酸盐、脂肪油酰基甘油硫酸盐、烷基苯酚环氧乙烷醚硫酸盐、石蜡烃磺酸盐、烷基磷酸盐、羟乙磺酸盐，例如，酰基羟乙磺酸盐、N-酰基牛磺酸盐、烷基琥珀酰胺酸盐和磺基琥珀酸盐、磺基琥珀酸盐单酯(尤其是饱和和不饱和 C_{12}-C_{18} 单酯)和磺基琥珀酸盐二酯(尤其是饱和和不饱和 C_6-C_{12} 二酯)、酰基肌氨酸盐、烷基多糖的硫酸盐，例如烷基聚葡糖苷硫酸盐(下文描述的非离子未硫酸化的化合物)，支链伯烷基硫酸盐和烷基多乙氧基羧酸盐，例如式 $RO(CH_2CH_2O)_k-CH_2COO^-M^+$，其中，R 是 C_8-C_{22} 烷基，k 是 1-10 整数，M 是水溶性的成盐阳离子。树脂酸和氢化树脂酸也是合适的，例如松香、氢化松香、和存在于妥尔油或由其得到的树脂酸和氢化树脂酸。

其它实例在《表面活性剂和洗涤剂》(第 I 和 II 卷，Schwartz，Perry 和 Berch)中描述。各种这类表面活性剂还一般描述在 1975 年 12 月 30 日颁布的 Laughlin 等的 US3929678，第 23 栏第 58 行至第 29 栏第 23 行中(列为本文参考文献)。

如果包括的话，本发明的洗衣洗涤剂组合物通常含有按重量计约 1%-约 40%，优选约 3%-约 20% 这类阴离子表面活性剂。

包括其烷基烷氧基硫酸盐表面活性剂的十分优选的阴离子表面活性剂是式 $RO(A)_mSO_3M$ 的水溶性盐或酸，其中 R 是未取代的 C_{10}-C_{24} 烷基或含有 C_{10}-C_{24} 烷基部分的羟基烷基，优选 C_{12}-C_{20} 烷基或羟基烷基，更优选 C_{12}-C_{18} 烷基或羟基烷基，A 是乙氧基或丙氧基单元，m 大于零，通常约 0.5 至约 6 之间，更优选约 0.5 至约 3 之间，M 是 H 或阳离子，其可以是金属阳离子(例如钠、钾、锂、钙、镁等)、铵或取代的铵阳离子。本发明仔细考虑烷基乙氧基硫酸盐和烷基丙氧基硫酸盐。取代的铵阳离子的具体实例包括甲基-、二甲基-、三甲基-铵阳离子和季铵阳离子，例如四甲基铵和二甲基哌啶鎓阳离子和由烷基胺，例如乙胺、二乙胺、三乙胺，它们的混合物得到的阳离子等。举例性的表面活性剂是 C_{12}-C_{18} 烷基多乙氧基化(1.0)硫酸盐(C_{12}-$C_{18}E(1.0)M$)、C_{12}-C_{18} 烷基多乙氧基化(2.25)硫酸盐(C_{12}-$C_{18}E(2.25)M$)、C_{12}-C_{18} 烷基多乙氧基化(3.0)硫酸盐(C_{12}-$C_{18}E(3.0)M$)和 C_{12}-C_{18} 烷基多乙氧基化(4.0)硫酸盐(C_{12}-$C_{18}E(4.0)M$)，其中 M 通常选自钠和钾。

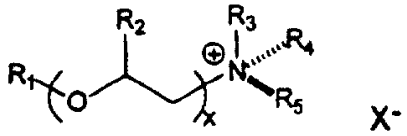
本发明的洗涤剂组合物还可含有阳离子、两性、两性离子和半极性表面活性剂以及除上文已描述的之外的非离子和/或阴离子表面活性剂。

适用于本发明洗涤剂组合物的阳离子洗涤表面活性剂是含有一个长链烃基的物质。该阳离子表面活性剂的实例包括铵表面活性剂，例如烷基三甲基铵卤化物，和具有下式的表面活性剂：

$$[R^2(OR^3)_y][R^4(OR^3)_y]_2R^5N^+X^-$$

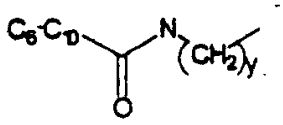
其中 R^2 是在烷基链中含有约 8-约 18 个碳原子的烷基或烷基苄基，每个 R^3 选自 $-CH_2CH_2-$、$-CH_2CH(CH_3)-$、$-CH_2CH(CH_2OH)-$、$-CH_2CH_2CH_2-$和它们的混合物；每个 R^4 是选自 C_1-C_4 烷基、C_1-C_4 羟基烷基、由连接两个 R^4 基团形成的苄基环结构、$-CH_2CHOH-CHOHCOR^6CHOHCH_2OH$，其中 R^6 是任何己糖或分子量低于约 1000 的己糖聚合物，和当 y 不是 0 时，为氢；R^5 与 R^4 相同或是烷基链，其中 R^2 加 R^5 的碳原子总数不超过约 18；每个 y 是 0-约 10，y 值的总和为 0-约 15；和 X 是任何相容的阴离子。

适用于本发明的季铵表面活性剂具有如下式(I)：



式 I

其中 R1 是短链烷基(C6-C10)或如下式(II)的烷基酰氨基烷基：



式 II

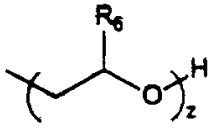
y 是 2-4，优选 3，

其中 R2 是 H 或 C1-C3 烷基，

其中 x 是 0-4，优选 0-2，最优选 0，

其中 R3、R4 和 R5 是相同或不同的，可以是短链烷基(C1-C3)或如下式 III 的烷氧基化烷基，

其中 X^- 是抗衡离子，优选卤化物，例如氯化物或甲基硫酸根，



式 III

R6 是 C_1-C_4 和 z 是 1 或 2.

优选的季铵表面活性剂是由式 I 定义的化合物，其中

R_1 是 C_8、C_{10} 或它们的混合物，x=0，

R_3，R_4=CH_3 和 R_5=CH_2CH_2OH。

更优选的阳离子表面活性剂是用于本发明组合物的具有下式的水溶性季铵化合物：

$$R_1R_2R_3R_4N^+X^- \qquad (i)$$

其中 R_1 是 C_8-C_{16} 烷基，每个 R_2、R_3 和 R_4 分别是 C_1-C_4 烷基、C_1-C_4 羟基烷基、苄基和-$(C_2H_4O)_xH$，其中 x 是 2-5，X 是阴离子。不超过一个的 R_2、R_3 或 R_4 应是苄基。

R_1 的优选烷基链长度是 C_{12}-C_{15}，尤其是其中烷基是由椰子油或棕榈核脂肪得到的或由烯烃合成或 OXO 醇合成方法得到的链长的混合物。R_2、R_3 和 R_4 的优选基团是甲基和羟基乙基，阴离子 X 可以选自卤化物、甲基硫酸根、乙酸根和磷酸根离子。

用于本发明的合适的式(i)季铵化合物的实例包括：

椰子油三甲基铵氯化物或溴化物；

椰子油甲基二羟基乙基铵氯化物或溴化物；

癸基三乙基铵氯化物；

癸基二甲基羟基乙基铵氯化物或溴化物；

C_{12-15} 二甲基羟基乙基铵氯化物或溴化物；

椰子油二甲基羟基乙基铵氯化物或溴化物；

十四烷基三甲基铵甲基硫酸盐；

十二烷基二甲基苄基铵氯化物或溴化物；

十二烷基二甲基(氧亚乙基)$_4$铵氯化物或溴化物；

胆碱酯(式(i)化合物，其中 R_1 是 CH_2-CH_2-O-C(O)-C_{12-14} 烷基和 R_2、R_3 和 R_4 是甲基)；

二烷基咪唑啉[式(i)化合物]。

用于本发明的其它阳离子表面活性剂还描述在 1980 年 10 月 14 日颁布的 Cambre 的 US4228044 和 EP000224 中。

典型的阳离子织物柔软组分包括水溶性季铵织物柔软活性物质或它们相应的胺前体，最常用的是含有二个长链烷基链的氯化铵或甲基硫酸盐。

其中优选的阳离子柔软剂包括如下：

1)二动物脂二甲基氯化铵(DTDMAC)；

2)二氢化动物脂二甲基氯化铵；

3)二氢化动物脂二甲基甲基硫酸铵；

4)二硬脂基二甲基氯化铵；

5)二油基二甲基氯化铵；

6)二棕榈基羟基乙基甲基氯化铵；

7)硬脂基苄基二甲基氯化铵；

8)动物脂基三甲基氯化铵；

9)氢化动物脂基三甲基氯化铵；

10)C_{12-14}烷基羟基乙基二甲基氯化铵；

11)C_{12-18}烷基二羟基乙基甲基氯化铵；

12)二(硬脂酰氧基乙基)二甲基氯化铵(DSOEDMAC)；

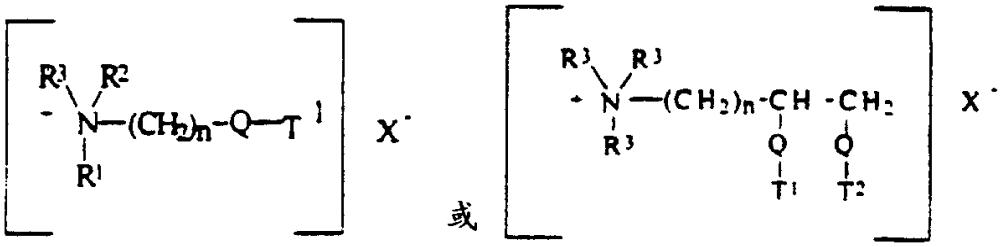
13)二(动物脂氧基乙基)二甲基氯化铵；

14)二动物脂基咪唑鎓甲基硫酸盐；

15)1-(2-动物脂酰氨基乙基)-2-动物脂基咪唑鎓甲基硫酸盐。

可生物降解的季铵化合物已作为传统使用的二长烷基链氯化铵和甲基硫酸盐替代物存在。该季铵化合物含有被官能团，例如羧基断裂的长链烷(烯)基，所述物质和含有它们的织物柔软组合物在许多出版物，例如 EP-A-0040562 和 EP-A-0239910 中公开。

本发明的季铵化合物和胺母体具有如下式(I)或(II)：



(I) (II)

其中 Q 选自 -O-C(O)-、-C(O)-O-、-O-C(O)-O-、NR^4-C(O)-、-C(O)-NR^4-;

R^1 是 $(CH_2)_n$-Q-T^2 或 T^3;

R^2 是 $(CH_2)_m$-Q-T^4 或 T^5 或 R^3;

R^3 是 C_1-C_4 烷基或 C_1-C_4 羟基烷基或 H;

R^4 是 H 或 C_1-C_4 烷基或 C_1-C_4 羟基烷基;

T^1、T^2、T^3、T^4 和 T^5 分别是 C_{11}-C_{22} 烷基或烯基;

n 和 m 是 1-4 的整数; 和

X^- 是柔软剂相容的阴离子。与柔软剂相容的阴离子的非限制实例包括氯离子或甲基硫酸根。

烷基或烯基链 T^1、T^2、T^3、T^4 和 T^5 必须含有至少 11 个碳原子，优选至少 16 个碳原子。链可以是直链或支链的。动物脂是长链烷基和烯基物质的方便和廉价来源。其中 T^1、T^2、T^3、T^4 和 T^5 表示通常动物脂的长链物质混合物的化合物是尤其优选的。

适用于本发明的含水织物柔软组合物的季铵化合物的具体实例包括：

1)N,N-二(动物脂基氧基乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

2)N,N-二(动物脂基氧基乙基)N-甲基,N-(2-羟基乙基)甲基硫酸铵;

3)N,N-二(2-动物脂基氧基-2-氧基乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

4)N,N-二(2-动物脂基氧基-乙基羰基-氧基乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

5)N-(2-动物脂基氧基-2-乙基)-N-(2-动物脂基氧基-2-氧基乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

6)N,N,N-三(动物脂基-氧基-乙基)-N-甲基氯化铵;

7)N-(2-动物脂基-氧基-2-氧基乙基)-N-(动物脂基)-N,N-二甲基氯化铵；和

8)1,2-二动物脂基氧基-3-三甲基铵丙烷氯化物；

和任何上述物质的混合物。

如果包括的话，本发明的洗涤剂组合物通常含有按重量计 0.2%-约 25%，优选约 1%-约 8%该阳离子表面活性剂。

两性表面活性剂也适用于本发明的洗涤剂组合物中。这些表面活性剂可广义地描述为仲或叔胺的脂族衍生物或杂环仲和叔胺的脂族衍生物，其中脂族基团可以是直链或支链的。脂族取代基之一含有至少约 8 个碳原子，通常约 8-约 18 个碳原子和至少一个脂族取代基含有阴离子水增溶基团，例如羧基、磺酸根、硫酸根。参见在 1975 年 12 月 30 日颁布的 Laughlin 等的 US3929678，第 19 栏第 18-35 行中举例说明的两性表面活性剂。

如果包括的话，本发明的洗涤剂组合物通常含有按重量计 0.2%-约 15%，优选约 1%-约 10%该两性表面活性剂。

两性离子表面活性剂也适用于洗涤剂组合物中。这些表面活性剂可广义地描述为仲和叔胺的衍生物、杂环仲和叔胺的衍生物，或季铵、季鏻或叔锍化合物的衍生物。参见在 1975 年 12 月 30 日颁布的 Laughlin 等的 US 3929678，第 19 栏第 38 行-22 栏 48 行中举例说明的两性离子表面活性剂。

如果包括的话，本发明的洗涤剂组合物通常含有按重量计 0.2%-约 15%，优选约 1%-约 10%该两性离子表面活性剂。

半极性非离子表面活性剂是特殊种类的非离子表面活性剂，其包括含有一个约 10-约 18 个碳原子的烷基和两个选自含有约 1-约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的基团的水溶性氧化胺；含有一个约 10-约 18 个碳原子的烷基和两个选自含有约 1-约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的基团的水溶性氧化膦；和含有一个约 10-约 18 个碳原子的烷基和一个选自含有约 1-约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的基团的水溶性亚砜。

半极性非离子洗涤剂表面活性剂包括具有下式的氧化胺表面活性剂：

$$R^3(OR^4)_xN(R^5)_2 \rightarrow O$$

其中 R^3 是含有约 8-约 22 个碳原子的烷基、羟基烷基或烷基苯基或其混合物；R^4 是含有约 2-约 3 个碳原子的亚烷基或羟基亚烷基或它们的混合物；x 是 0-约 3；每个 R^5 是含有约 1-约 3 个碳原子的烷基或羟基烷基或含有约 1-约 3 个环氧乙烷基团的聚氧乙烯基团。R^5 基团可例如通过氧或氮原子相互连接形成环结构。

这些氧化胺表面活性剂尤其包括 C_{10}-C_{18} 烷基二甲基氧化胺和 C_8-C_{12} 烷氧基乙基二羟基乙基氧化胺。

如果包括的话，本发明的洗涤剂组合物通常含有按重量计 0.2%-约 15%，优选约 1%-约 10% 的这种半极性非离子表面活性剂。

本发明的洗涤剂组合物还可含有选自伯或叔胺的辅助表面活性剂。

用于本发明的合适的伯胺包括式 R_1NH_2 的胺，其中 R_1 是 C_6-C_{12}，优选 C_6-C_{10} 烷基链或 $R_4X(CH_2)_n$，X 是-O-、-C(O)NH-或-NH-，R_4 是 C_6-C_{12} 烷基链，n 是 1 至 5，优选 3。R_1 烷基链可以是直链或支链的，可被至多 12 个，优选少于 5 个环氧乙烷部分间断。

本发明上式的优选胺是正烷基胺。用于本发明的合适的胺选自 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺和月桂基胺。其它优选的伯胺是 C_8-C_{10} 氧基丙胺、辛氧基丙胺、2-乙基己氧基丙胺、月桂基酰氨基丙胺和酰氨基丙胺。

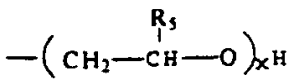
用于本发明的合适的叔胺包括具有式 $R_1R_2R_3N$ 的叔胺，其中 R_1 和 R_2 是 C_1-C_8 烷基链或

$$-\left(CH_2-\underset{\displaystyle R_5}{\underset{|}{CH}}-O\right)_xH$$

R_3 是 C_6-C_{12}，优选 C_6-C_{10} 烷基链或 R_3 是 $R_4X(CH_2)_n$，而 X 是-O-、-C(O)NH-或-NH-，R_4 是 C_4-C_{12}，n 是 1 至 5，优选是 2-3。R_5 是 H 或 C_1-C_2 烷基和 x 是 1-6。

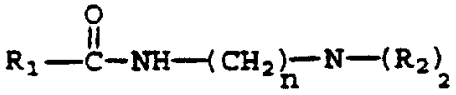
R_3和R_4可以是直链或支链的；R_3烷基链可被至多 12 个，优选少于 5 个环氧乙烷部分间断。

优选叔胺是$R_1R_2R_3N$，其中R_1是C_6-C_{12}烷基链，R_2和R_3是C_1-C_3烷基或



其中R_5是 H 或甲基和 x=1-2。

同样优选的是下式的酰氨基胺：



其中R_1是C_6-C_{12}烷基；n 是 2-4，优选 n 是 3；R_2和R_3是C_1-C_4。

本发明最优选的胺包括 1-辛胺、1-己胺、1-癸胺、1-十二烷基胺、C_8-C_{10}氧基丙胺、N-椰子油 1,3 二氨基丙烷、椰子油烷基二甲基胺、月桂基二甲基胺、月桂基二(羟基乙基)胺、椰子油烷基二(羟基乙基)胺、2 摩尔丙氧基化的月桂基胺、2 摩尔丙氧基化的辛胺、月桂基酰氨基丙基二甲基胺、C_8-C_{10}酰氨基丙基二甲基胺和C_{10}酰氨基丙基二甲基胺。

用于本发明组合物的最优选的胺是 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺、1-十二烷基胺。尤其合适的是正十二烷基二甲基胺和双羟基乙基椰子油烷基胺和 7 次乙氧基化的油胺、月桂基酰氨基丙胺和椰子油酰氨基丙胺。

其它漂白剂体系

除了疏水漂白活性剂和过氧化氢的常规来源之外，本发明的洗涤剂组合物还可含有其它漂白物质.

其它合适的漂白活性剂是四乙酰基乙二胺(TAED)或五乙酰基葡萄糖(PAG)，它们过水解得到过酸活性漂白物质，导致改善的漂白效果。同样合适的活性剂是酰基化柠檬酸酯，例如在未审欧洲专利申请 91870207.7 中公开。

其它漂白剂包括过羧酸漂白剂和其盐。这类漂白剂的合适的实例

包括单过氧邻苯二甲酸镁六水合物、间氯过苯甲酸镁盐、4-壬氨基-4-氧过氧丁酸和二过氧十二碳二酸。该漂白剂在US4483781、US专利申请740446、EP0133354和US4412934中公开。更优选的漂白剂还包括在US4634551中描述的6-壬氨基-6-氧过氧己酸。

可以使用的另一类漂白剂包括卤素漂白剂。次卤酸盐漂白剂的实例例如包括三氯异氰脲酸和二氯异氰脲酸钠和钾和N-氯和N-溴烷烃磺酰胺。该物质通常以按最终产物的重量计0.5-10%，优选按重量计1-5%加入。

用于漂白剂组合物的含金属催化剂包括含钴催化剂，例如五胺乙酸钴(III)盐和含镁催化剂，例如在EPA549271、EPA549272、EPA458397、US5246621、EPA458398、US5194416和US5114611中描述的化合物。含有过氧化合物、含镁漂白剂催化剂和螯合剂的漂白组合物在专利申请№94870206.3中描述。大多环刚性配位体的过渡金属配合物是优选的用于本发明的含金属催化剂，它们在Procter & Gamble的1997年3月7日申请的未审专利申请US№60/040629; №60/039915; №60/040 222; №60/040156; №60/040115; №60/038714和№60/039920中描述。

除氧漂白剂以外的漂白剂在现有技术中也是已知的，可用于本发明。一种尤其感兴趣的非氧漂白剂包括光活化漂白剂，例如磺化锌和/或铝酞菁。在洗涤过程中这些物质可沉淀在载污体上。在光照射下和在氧气存在下，例如通过将衣服挂在日光中干燥时，磺化锌酞菁被活化，随后载污体被漂白。优选的锌酞菁和光活化漂白过程在US4033718中描述。洗涤剂组合物通常将含有按重量计约0.025%-约1.25%磺化锌酞菁。

用于本发明的洗涤剂组合物的有用的漂白剂，包括过酸和含有漂白活性剂和过氧漂白化合物的漂白体系在我们未审的申请WO95/27772、WO95/27774和WO95/27775中描述。

助洗剂体系

本发明的洗涤剂组合物可进一步含有助洗剂体系。任何常规的助洗剂体系适用于本发明，其包括硅铝酸盐物质、硅酸盐、多羧酸盐、烷基或烯基琥珀酸和脂肪酸、物质，例如乙二胺四乙酸盐、二亚乙三胺五亚甲基乙酸盐、金属离子螯合剂，例如氨基多膦酸盐，尤其是乙

二胺四亚甲基膦酸和二亚乙三胺五亚甲基膦酸。磷酸盐助洗剂也可用于本发明中。

合适的助洗剂可以是无机离子交换物质，通常是无机水合硅铝酸盐物质，更尤其是水合合成沸石，例如水合沸石 A、X、B、HS 或 MAP。

其它合适的无机助洗剂物质是层状硅酸盐，例如 SKS-6(Hoechst)。SKS-6 是由硅酸钠($Na_2Si_2O_5$)组成的结晶层状硅酸盐。

含有一个羧基的合适的多羧酸盐包括在比利时专利 831368、821369 和 821370 中公开的乳酸、乙醇酸和它们的醚衍生物。含有两个羧基的多羧酸盐包括琥珀酸、苹果酸、(亚乙二氧基)二乙酸、马来酸、二甘醇酸、酒石酸、丙醇二酸和富马酸的水溶性盐和在 DE2446686 和 2446687 和 US3935257 中描述的醚羧酸盐和在比利时专利 840623 中描述的亚硫酰基羧酸盐。含有三个羧基的多羧酸盐尤其包括水溶性柠檬酸盐、衣康酸盐和柠康酸盐以及琥珀酸盐衍生物，例如在 GB1379241 中描述的羧基甲氧基琥珀酸盐、在荷兰申请 7205873 中描述的乳氧基琥珀酸盐和在 GB1387447 中描述的氧多羧酸盐物质，例如 2-氧-1,1,3-丙烷三羧酸盐。

含有四个羧基的多羧酸盐包括在 GB1261829 中公开的氧联二琥珀酸盐、1,1,2,2-乙烷四羧酸盐、1,1,3,3-丙烷四羧酸盐和 1,1,2,3-丙烷四羧酸盐。含有磺基取代基的多羧酸盐包括在 GB1398421 和 1398422 和 US3936448 中公开的磺基琥珀酸盐衍生物和在 GB1082179 中描述的磺化裂解柠檬酸盐，而含有膦酰基取代基的多羧酸盐在 GB1439000 中公开。

脂环和杂环多羧酸盐包括环戊烷-顺、顺、顺-四羧酸盐、环戊二烯五羧酸盐、2,3,4,5-四氢呋喃-顺、顺、顺-四羧酸盐、2,5-四氢呋喃-顺-二羧酸盐、2,2,5,5-四氢呋喃四羧酸盐、1,2,3,4,5,6-己烷六羧酸盐和多羟基醇，例如山梨糖醇、甘露糖醇和木糖醇的羧甲基衍生物。芳香多羧酸盐包括在 GB1425343 中公开的苯六酸、苯四酸和苯二酸衍生物。

其中，优选的多羧酸盐是每分子含有至多三个羧基的羟基羧酸盐，更尤其是柠檬酸盐。

用于本发明的优选助洗剂体系包括水溶性硅铝酸盐助洗剂，例如沸石 A 或层状硅酸盐(SKS-6)和水溶性羧酸盐螯合剂，例如柠檬酸的

混合物。其它优选的助洗剂体系包括水溶性硅铝酸盐助洗剂，例如沸石 A 和水溶性羧酸盐螯合剂，例如柠檬酸的混合物。用于本发明的液体洗涤剂组合物的优选助洗剂体系包括皂和多羧酸盐。

可构成部分用于颗粒组合物的助洗剂体系的其它助洗剂物质包括无机物质，例如碱金属碳酸盐、碳酸氢盐、硅酸盐和有机物质，例如有机膦酸盐、氨基多亚烷基膦酸盐和氨基多羧酸盐。

其它合适的水溶性有机盐是均或共聚酸或它们的盐，其中多羧酸含有被不超过两个碳原子彼此分开的至少两个羧基。这种类型的聚合物在 GB-A-1596756 中公开。这种盐的实例是 MW2000-5000 的聚丙烯酸盐和它们与马来酐的共聚物，该共聚物具有 20000-70000，尤其约 40000 的分子量。

洗涤剂助洗剂盐通常以按组合物重量计 5%-80%，优选 10%-70%，最常见为按重量计 30%-60% 的量存在。

常规洗涤剂酶

除了甘露聚糖酶之外，洗涤剂组合物还可含有一种或多种酶，它提供了洗涤性能、织物护理和/或卫生效果。

所述酶包括选自纤维素酶、半纤维素酶、过氧化酶、蛋白酶、葡糖淀粉酶、淀粉酶、木聚糖酶、脂酶、磷酯酶、酯酶、角质酶、果胶酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂肪氧合酶、木质素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、苹果酸酶、β-葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酶、软骨素酶、漆酶或它们的混合物的酶。

优选组合是含有常用的酶，如蛋白酶、淀粉酶、脂酶、角质酶和/或纤维素酶与一种或多种植物细胞壁降解酶结合的混合物的洗涤剂组合物。

合适的蛋白酶是由枯草芽孢杆菌和地衣形芽孢杆菌的特殊菌株的枯草溶菌素(枯草溶菌素 BPN 和 BPN')。一种合适的蛋白酶由在 8-12 的整个 pH 范围具有最大活性的芽孢杆菌属的特殊菌株得到，它由 Novo Industries A/S(丹麦)开发，以下称为“Novo”，并以 ESPERASE® 销售。这种酶和类似酶的制备在 Novo 的 GB1243784 中描述。其它合适的蛋白酶包括由 Novo 得到的 ALCALASE®、DURAZYM®和 SAVINASE® 和由 Gist-Brocades 得到的 MAXATASE®、MAXACAL®、PROPERASE®和 MAXAPEM®(蛋白质工程的 Maxacal)。蛋白分解酶还包括改性细菌丝氨

酸蛋白酶，例如在 1987 年 4 月 28 日申请的欧洲专利申请 87303761.8(尤其是 17、24 和 98 页)中描述的蛋白酶，它在本文中称为“蛋白酶 B”和在 1986 年 10 月 29 日公开的 Venegas 的 EP199404 中的蛋白酶，它涉及改性的细菌丝氨酸蛋白分解酶，它在本文中称为“蛋白酶 A”。合适的是在本文中称为“蛋白酶 C”的蛋白酶，它是由芽孢杆菌得到的碱性丝氨酸蛋白酶的变种，其中在 27 位用赖氨酸代替精氨酸，在 104 位用酪氨酸代替缬氨酸，在 123 位用丝氨酸代替天冬氨酸和在 274 位用丙氨酸代替苏氨酸。蛋白酶 C 在 1991 年 5 月 16 日中公开的 EP90915958.4，相应于 WO91/06637 中描述。基因改性的变种，尤其是蛋白酶 C，也包括在本发明中。

称为“蛋白酶 D”的优选蛋白酶是具有在自然界中未发现的氨基酸序列的羰基水解酶变种，如 WO95/10591 和 1994 年 10 月 13 日申请的 C. Ghosh 等的名称为“含有蛋白酶的漂白组合物”(US 系列号№ 08/322677)的专利申请中所述，它通过在上述羰基水解酶中相当于 +76 位置上用不同氨基酸取代多种氨基酸残基，并优选还结合取代相当于选自根据解淀粉芽孢杆菌枯草溶菌素的编号+99、+101、+103、+104、+107、+123、+27、+105、+109、+126、+128、+135、+156、+166、+195、+197、+204、+206、+210、+216、+217、+218、+222、+260、+265 和/或+274 位的一种或多种氨基酸残基位由前体羰基水解酶得到。同样合适的是在 WO95/10591 中所述的蛋白酶的羰基水解酶变种，它具有通过在前体酶的相当于+210 位置上用各种氨基酸残基置换并结合一个或多个如下残基:+33、+62、+67、+76、+100、+101、+103、+104、+107、+128、+129、+130、+132、+135、+156、+158、+164、+166、+167、+170、+209、+215、+217、+218 和+222 得到的氨基酸序列，其中编号的位置相当于天然产生的解淀粉芽孢杆菌枯草溶菌素或相当于在其它羰基水解酶或枯草溶菌素，例如迟缓芽孢杆菌枯草溶菌素中的相当氨基酸残基(1997 年 6 月 4 日申请的未审专利申请 US 系列号 60/048550)。

同样适用于本发明的是在 EP251446 和 WO91/06637 中描述的蛋白酶、在 WO91/02792 中描述的蛋白酶 BLAP®和在 WO95/23221 中描述的它们的变种。

还可参见 Novo 的 WO93/18140A 中所描述的由芽孢杆菌属 NCIMB

40338得到的高pH蛋白酶。Novo的WO92/03529A中描述了包含蛋白酶、一种或多种其它酶和一种可逆蛋白酶抑制剂的加酶洗涤剂。如果需要，可如Procter&Gamble的WO95/07791所述得到具有降低的吸收性和改善的水解性的蛋白酶。Novo的WO94/25583中描述了一种适用于本发明洗涤剂的重组胰蛋白酶状蛋白酶。其它合适的蛋白酶在Unilever的EP516200中描述。

蛋白分解酶以按组合物重量计0.0001%-2%，优选0.001%-0.2%，更优选0.005%-0.1%纯酶的含量加入本发明的洗涤剂组合物中。

用于本发明的纤维素酶包括细菌或真菌纤维素酶。它们优选具有5-12之间的pH最佳值和超过50CEVU(纤维素粘度单位)的比活。合适的纤维素酶在Barbesgoard等的US4435307、J61078384和WO96/02653中描述，它们公开了分别由Humicola insolens、Trichoderma、Thielavia和Sporotrichum产生的真菌纤维素酶。EP739982描述了由新的芽孢杆菌种分离的纤维素酶。合适的纤维素酶还公开在GB-A-2075028、GB-A-2095275、DE-OS-2247832和WO95/26398中。

该纤维素酶的实例是由Humicola insolens(Humicola grisea var. thermoi dea)的菌株，尤其是Humicola菌株DSM 1800产生的纤维素酶。

其它合适的纤维素酶是由Humicola insolens得到的具有分子量为约50kDa，等电点5.5和含有415个氨基酸的纤维素酶；和由Humicola insolens DSM 1800得到的显示纤维素酶活性的43kD内切葡聚糖酶;优选的内切葡聚糖酶组分具有PCT专利申请WO91/17243中公开的氨基酸序列。同样适合的是在1994年9月29日公开的Genencor的WO94/21801中描述的由Trichoderma longibrachiatum得到的EGIII纤维素酶。尤其合适的纤维素酶是具有颜色护理效果的纤维素酶。这种纤维素酶的实例是在1991年11月6日申请的EP专利申请№91202879.2(Novo)中描述的纤维素酶。Carezyme和Celluzyme(Novo Nordisk A/S)是尤其有用的。还参见WO91/17244和WO91/21801。其它用织物护理和/或洗涤性能的合适纤维素酶在WO96/ 34092、WO96/17994和WO95/24471中描述。

所述其它纤维素酶通常以按洗涤剂组合物重量计 0.0001%-2%纯酶的含量加入洗涤剂组合物中。

过氧化酶与氧源，例如过碳酸盐、过硼酸盐、过硫酸盐、过氧化氢等和用作漂白剂增效分子的酚醛底物结合使用。它们用作“溶液漂白”，即避免在洗涤操作中由载污体除去的染料或颜料转移至在洗涤溶液中的其它载污体中。过氧化酶在现有技术中是已知的，其包括，例如辣根过氧化酶、木质素酶和卤化过氧化酶，例如氯和溴代过氧化酶。含有过氧化酶的洗涤剂组合物在例如 PCT 国际申请 WO89/099813、WO89/09813 和 1991 年 11 月 6 日申请的欧洲专利申请 EP91202882.6 和 1996 年 2 月 20 日申请的 EP№96870013.8 中公开。同样合适的是漆酶。

增效剂通常以按总组合物重量计 0.1%-5%的含量存在。优选的增效剂是取代的吩噻嗪和吩噁嗪、10-吩噻嗪丙酸(PPT)、10-乙基吩噻嗪-4-羧酸(EPC)、10-吩噁嗪丙酸(POP)和 10-甲基吩噁嗪(在 WO94/12621 中描述)和取代的丁香酸酯(C3-C5 取代的烷基丁香酸酯)和苯酚。过碳酸钠或过硼酸钠是优选的过氧化氢源。

上述过氧化酶通常以按洗涤剂组合物重量计 0.0001%-2%纯酶的含量加入洗涤剂组合物中。

可包括在本发明洗涤剂组合物中的其它优选酶包括脂酶，用于洗涤剂用途的合适脂酶包括假单胞菌属的微生物，如 GB1372034 中所披露的司徒茨氏假单胞菌 ATCC 19.154 得到的脂酶。合适的脂酶包括与脂酶抗体显示阳性免疫交叉反应的脂酶，它由微生物荧光假单胞菌 IAM 1057 产生。这种脂酶可由 Amano Pharmaceutical Co.Ltd.(Nagoya，日本)得到，商品名为脂酶 P“Amano”，下文称为“Amano-P”。其它合适的商品脂酶包括 Amano-CES，来自 Chromobacter viscosum 例如 Toyo Jozo Co.(Tagata，日本)的 Chromobacter viscosum var. lipolyticum NRRLB 3673 的脂酶；由 U.S.Biochemical Corp.(US)和 Disoynth(荷兰)得到的 Chromobacter viscosum 脂酶；以及由唐菖蒲假单胞菌得到的脂酶。尤其合适的脂酶是脂酶，例如 M1 Lipase®和 Lipomax®(Gist-Broxades)和 Lipolase®和 Lipolase Ultra®(Novo)，它们被发现在与本发明的组合物结合使用时是非常有效的。同样合适的是在 Novo Nordisk 的

EP258068、WO92/05249 和 WO95/22615 和 Unilever 的 WO94/03578、WO95/35381 和 WO96/00292 中描述的脂解酶。

同样合适的是角质酶[EC 3.1.1.50]，它被认为是特殊种类的脂酶，名义上的脂酶，但不需要界面活化。在洗涤剂组合物中加入角质酶在例如 WO-A-88/09367(Genencor)；WO90/09446(Plant Genentic System)和 WO94/14963 和 WO94/14964(Unilever)中描述。

脂酶和/或角质酶通常以按洗涤剂组合物重量计 0.0001%-2%纯酶的含量加入洗涤剂组合物中。

可包括淀粉酶(α和/或β)以除去碳水化合物基的污渍。1994 年 2 月 3 日公开的 Novo Nordisk A/S 的 WO94/02597 描述了加入变种淀粉酶的洗涤剂组合物。同样参见 1995 年 4 月 20 日公开的 Novo Nordisk A/S 的 WO95 /10603. 已知用于洗涤剂组合物的其它淀粉酶包括α-和β-淀粉酶。α-淀粉酶在现有技术中是已知的，包括在 US5003257、EP252666、WO91/00353、FR2676456、EP285123、EP525610、EP368341 和 GB1296839(Novo)中描述的淀粉酶。其它合适的淀粉酶是在 Genencor 的 1994 年 8 月 18 日公开的 WO94/18314 和 1996 年 2 月 22 日公开的 WO96/05295 中描述的稳定性改善的淀粉酶和如在 95 年 4 月公开的 WO95/10603 中描述的由 Novo Nordisk A/S 得到的在中间体母体中具有附加改性的淀粉酶变种。同样合适的淀粉酶在 EP277216、WO95/26397 和 WO96/23873(均由 Novo Nordisk)中描述。

商业α-淀粉酶产物的实例是由 Genencor 得到的 Purafect Ox Am®和 Termamyl®、BAN®、Fungamyl®和 Duramyl®，均由 Novo Nordisk A/S 丹麦得到。WO95/26397 描述了其它合适的淀粉酶：α-淀粉酶，其特征在于，通过 Phadebas®α-淀粉酶活性试验测定，其在 25℃-55℃的温度范围中和在 8-10 的 pH 下具有比 Termamyl®的比活高至少 25%的比活。合适的是在 WO96/23873(Novo Nordisk)中描述的上述淀粉酶的变种。在活性水平和热稳定性和较高活性水平结合方面具有改善性质的其它淀粉分解酶在 WO95/35382 中描述。

淀粉分解酶以按组合物重量计 0.0001%-2%，优选 0.00018%-0.06%，更优选 0.00024%-0.048%纯酶的含量加入本发明的洗涤剂组合物中。

上述酶可以是任何合适的来源，例如植物、动物、细菌、真菌和

酵母来源，来源还可以是嗜温或嗜极限条件(嗜冷、冷营养、嗜热、嗜压、嗜碱、嗜酸、嗜卤素等)。这些酶的纯或不纯的形式都能使用。目前，在通常实际中经蛋白质/基因工程技术改性野生类型的酶以最佳化它们在本发明的洗涤剂组合物中的性能效率。例如可设计变体以增加酶与该组合物中通常遇到的组分的相容性。此外，可设计变体使得酶变体的最佳 pH、漂白剂或螯合剂稳定性、催化活性等能够适应特定的洗涤应用。

在漂白剂稳定性的情况下尤其应注意氨基酸对氧化的敏感性，和对于表面活性剂相容能力应注意表面电荷。这种酶的等电点可通过某些带电荷的氨基酸的置换改性，例如增加等电点会有助于改善与阴离子表面活性剂的相容性。酶的稳定性可进一步通过产生例如附加盐桥改善，而强制钙结合位置以增加螯合剂稳定性。特别须注意纤维素酶，因为大多数纤维素酶具有分开的结合域(CBS)，这种酶的性质可通过这些域中的改性改变。

所述酶以按洗涤剂组合物重量计 0.0001%-2% 纯酶的含量加入本发明的洗涤剂组合物中。酶可作为单独的组分(含有一种酶的小球、颗粒、稳定液体等)或作为两种或多种的混合物(例如附聚颗粒)加入。

可加入的其它合适的洗涤剂组分是酶氧化清除剂，它在 1992 年 1 月 21 日申请的未审欧洲专利申请 92870018.6 中描述，该酶氧化清除剂的实例是乙氧基化四亚乙基聚胺。

Genencor International 的 WO9307263A 和 WO9307260A，Novo 的 WO8908694A 和 1971 年 1 月 5 日颁布的 McCarty 等的 US3553139 也描述了酶物质的范围和它们加入合成洗涤组合物中的方法。1978 年 7 月 18 日颁布的 Place 等的 US4101457 和 1985 年 3 月 26 日颁布的 Hughes 的 US4507219 进一步对酶进行披露。1981 年 4 月 14 日颁布的 Hora 等的 US4261868 披露了用于液体洗涤配方的酶原料，和它们加入这种配方中的方法。用于洗涤剂的酶可用各种方法加以稳定。1971 年 8 月 17 日颁布的 Gedge 等的 US3600319 和 1986 年 10 月 29 日 Venegas 的 EP199405 和 EP200586 对酶稳定技术进行了披露和列举。酶稳定体系还例如在 US3519570 中描述。Novo 的 WO9401532A 描述了能够得到蛋白酶、木聚糖酶和纤维素酶的有用的芽孢杆菌属

AC13。

颜色护理和织物护理效果

还可包括提供颜色护理效果类型的技术，这些技术的实例是用于色彩保持的金属催化剂，该金属催化剂在未审的欧洲专利申请928700181.2中描述。染料固定剂、用于抗皱和改善水吸附能力的聚烯烃分散剂、香料和用于颜色护理处理和香料牢固的氨基官能团的聚合物(PCT/US97/16546)是颜色护理/织物护理技术的其它实例，并在1996年11月7日申请的未审专利申请№96870140.9中描述。

织物柔软剂也可以加入本发明的洗涤剂组合物中。这些物质可以是无机或有机类型的。无机柔软剂是例如在 GB-A-1400898 和 US5019292 中描述的绿土。有机织物柔软剂包括如 GB-A1514276 和 EP-B0011340 中描述的水不溶性叔胺，它们与单 C12-C14 季盐的混合物在 EP-B-0026527 和 EP-B-0026528 中公开，和如 EP-B0242919 中公开的二长链酰胺。织物柔软剂体系的其它有用的有机组分包括在 EP-A0299575 和 0313146 中公开的高分子聚环氧乙烷物质。

绿土的用量通常在按重量计 2%-20%，更优选 5%-15%的范围内，该物质作为干混组分加入配方的其余部分中。有机织物柔软剂，例如水不溶性叔胺或二长链酰胺物质以按重量计 0.5%-5%，通常 1%-3%的用量加入，而高分子聚环氧乙烷物质和水溶性阳离子物质以按重量计 0.1%-2%，通常 0.15%-1.5%的用量加入。这些物质通常加入组合物的喷雾干燥部分，虽然在某些情况下它们可更方便地作为干混颗粒加入或作为熔融液体喷洒在组合物的其它固体组分上。

螯合剂

本发明的洗涤剂组合物优选将另外含有一种或多种铁和/或锰螯合剂。我们惊奇地发现还含有螯合物的该组合物提供较好的洗涤和增白性能。

这种螯合剂可选自氨基羧酸酯，氨基膦酸酯，多官能团取代的芳香族螯合剂及其混合物，下文将对它们进行定义。尽管不想受理论的限制，但我们认为这些物质的效果部分是因为它们通过形成水溶性螯合物从洗涤液中去除铁和锰离子的特别能力。

可用作选择性的螯合剂的氨基羧酸盐包括乙二胺四乙酸盐，N-羟乙基乙二胺三乙酸盐，次氮基三乙酸盐，乙二胺四丙酸盐，三亚乙基

四胺六乙酸盐，二亚乙基三胺五乙酸盐和乙醇二甘氨酸，它们的碱金属，铵，和取代铵盐及其混合物。

当允许在洗涤剂组合物中使用至少最低含量的总磷时，氨基膦酸盐也适合在本发明组合物中用作螯合剂，它包括乙二胺四(亚甲基膦酸盐)如 DEQUEST。这些氨基膦酸盐优选不包含多于约 6 个碳原子的烷基或亚烷基。

多官能团取代的芳香族螯合剂也适合用于本发明组合物。参见 1974 年 5 月 21 日颁布的 Connor 等的 US3812044。优选的酸态的这类化合物为二羟基二磺基苯，如 1,2-二羟基-3,5-二磺基苯。

用于本发明的优选可生物降解的螯合剂是乙二胺二琥珀酸盐("EDDS")，特别是[S,S]异构体，这在 1987 年 11 月 3 日颁布的 Hartman 和 Perkin 的 US4704233 中公开。

本发明的组合物还可以含有用作螯合剂或与例如不溶解的助洗剂，例如沸石、层状硅酸盐等一起使用的共助洗剂的水溶性甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)盐(或酸式)。

如果使用，这些螯合剂一般占本发明洗涤剂组合物重量的约 0.1%-约 15%。更加优选的是，如果使用，这些螯合剂为该组合物重量的约 0.1%-约 3.0%。

抑泡剂

另一选择的组分是抑泡剂，例如聚硅氧烷和二氧化硅-聚硅氧烷混合物。聚硅氧烷通常可表示为烷基化的聚硅氧烷物质，而二氧化硅通常以细粉碎形式使用，例如各种类型的二氧化硅气溶胶、干凝胶和疏水二氧化硅。这些物质可作为微粒加入，其中抑泡剂有利地是在水溶性或水可分散的，非表面活性剂洗涤剂基本上不可渗透的载体中释放地加入。此外，抑泡剂可溶解或分散在液体载体中，通过喷雾在一种或多种其它组分上加入。

优选的聚硅氧烷泡沫控制剂在 Bartollota 等的 US3933672 中公开。其它尤其适用的抑泡剂是在 1977 年 4 月 28 日公开的德国专利申请 DTOS2646126 中描述的自乳化聚硅氧烷抑泡剂。该化合物的实例是 DC-544，商业上由 Dow Corning 得到，它是聚硅氧烷-乙二醇共聚物。尤其优选的泡沫控制剂是含有聚硅氧烷油和 2-烷基链烷醇的混合物的抑泡剂体系。合适的 2-烷基-链烷醇是 2-丁基辛醇，它在商业上以

商品名 Isofol 12R 得到。

该抑泡剂体系在 1992 年 11 月 10 日申请的未审欧洲专利申请 9287 0174.7 中描述。

尤其优选的聚硅氧烷泡沫控制剂在未审的欧洲专利申请 92201649.8 中描述，所述组合物可含有与烟熏无孔二氧化硅，例如 Aerosil® 结合的聚硅氧烷/二氧化硅混合物。

上述抑泡剂通常以按组合物重量计 0.001%-2%，优选按重量计 0.01%-1% 的含量使用。

其它

可使用用于洗涤剂组合物中的其它组分，例如污垢悬浮剂、去污剂、荧光增白剂、磨料、杀菌剂、晦暗抑制剂、着色剂和/或包胶囊或未包胶囊的香料。

尤其合适的包胶囊材料是水溶性胶囊，如 GB1464616 中所述，它由多糖和多羟基化合物的基质组成。其它合适的水溶性包胶囊材料包括如 US3455838 中所述的由取代的二羧酸的未凝胶化的淀粉酸酯得到的糊精。这些酸酯糊精优选由淀粉，例如软玉米、软高粱、西米、木薯淀粉和马铃薯制备。所述包胶囊材料的合适实例包括由 National Starch 制备的 N-Lok。N-Lok 包胶囊材料由改性玉米淀粉和葡萄糖组成。淀粉通过加入单官能团取代基团，例如辛烯基琥珀酸酐改性。

本发明合适的抗再沉淀和污垢悬浮剂包括纤维素衍生物，例如甲基纤维素、羧甲基纤维素和羟乙基纤维素和多羧酸或其盐的均或共聚物。这种类型的聚合物包括先前提及的作为助洗剂的聚丙烯酸酯和马来酐-丙烯酸共聚物，和马来酐与乙烯、甲基乙烯基酯或甲基丙烯酸的共聚物，马来酐占共聚物的至少 20% 摩尔。这些物质通常以按重量计 0.5%-10%，更优选 0.75%-8%，最优选按组合物重量计 1%-6% 的量使用。

优选的荧光增白剂是阴离子特征的，其实例是 4,4'-双-(2-乙醇氨基-4-苯胺-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺酸二钠、4,4'-双-(2-吗啉代基-4-苯胺-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺酸二钠、4,4'-双-(2,4-二苯胺-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺酸二钠、4',4"-双-(2,4-二苯胺-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺酸单钠、4,4'-双-(2-苯胺-4-(N-甲基-N-2-羟基乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺

酸二钠、4,4'-双-(4-苯基-2,1,3-三唑-2-基)芪-2:2'二磺酸二钠、4,4'-双-(2-苯胺-4-(1-甲基-2-羟基乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)芪-2:2'二磺酸二钠、2-(芪基-4"-(萘并-1',2':4,5)-1,2,3-三唑-2"-磺酸钠和 4,4'-双(2-磺基苯乙烯基)联苯。更优选的增白剂是EP753567中公开的具体增白剂。

其它有用的聚合物是聚乙二醇，尤其是分子量为 1000-10000，更优选为 2000-8000，最优选约 4000 的聚合物。它们以按重量计 0.20%-5%，更优选 0.25%-2.5% 的量使用。这些聚合物和上文提到的均聚或共聚的聚羧酸盐在改善白度保持、织物灰尘沉积和在过渡金属杂质存在下对泥土、蛋白质和可氧化的污垢的洗涤性能方面是有价值的。

用于本发明组合物的去污剂是常规的对苯二甲酸与乙二醇和/或丙二醇单元的不同排列方式的共聚物或三聚物。这种聚合物的实例在共同转让的 US4116885 和 4711730 和 EP0272033 中描述，根据 EP-A-0272033，尤其优选的聚合物具有下式：

$(CH_3(PEG)_{43})_{0.75}(POH)_{0.25}[T\text{-}PO)_{2.8}(T\text{-}PEG)_{0.4}]T(POH)_{0.25}((PEG)_{43}CH_3)_{0.75}$

其中 PEG 是$-(OC_2H_4)O-$，PO 是(OC_3H_6O)和 T 是$(pcOC_6H_4CO)$。

同样很有用的是改性聚酯，例如对苯二甲酸二甲酯、磺基间苯二甲酸二甲酯、乙二醇和 1-2 丙二醇的无规共聚物，端基主要由磺基苯甲酸酯和次要由乙二醇和/或丙二醇的单酯组成。目标是得到在两端由磺基苯甲酸酯封端的聚合物，在本发明中，大部分本发明的上述共聚物"主要地"由磺基苯甲酸酯封端。然而，某些共聚物将不是完全封端的，因而，它们的端基可由乙二醇和/或丙 1-2 二醇组成，其"次要地"组成该物质。

本发明选择的聚酯含有按重量计约 46% 对苯二甲酸二甲酯、按重量计约 16% 丙-1,2 二醇、按重量计约 10% 乙二醇、按重量计约 13% 磺基苯甲酸二甲酯和按重量计约 15% 磺基间苯二甲酸，其分子量为约 3000。聚酯和它们的制备方法在 EPA311342 中详细描述。

在现有技术中人们已知在自来水中存在的游离氯迅速地失活洗涤剂组合物中存在的酶。因此，在配方中以按总组合物重量计约 0.1% 以上的含量使用氯清除剂，例如过硼酸盐、硫酸铵、亚硫酸钠或聚亚乙亚胺将在洗涤过程中提供洗涤剂酶的改善稳定性。含有氯清除剂

的组合物在 1992 年 1 月 31 日申请的欧洲专利申请 92870018.6 中描述。

由聚丙烯酸盐制备的烷氧基化的聚羧酸盐用于本发明中以提供附加的去油性能。该物质在 WO91/08281 和 PCT90/01815 第 4 页中描述，列为本文参考文献。在化学上这些物质含有每 7-8 个丙烯酸盐单元一个乙氧基侧链的聚丙烯酸盐。侧链有式 $-(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_3$，其中 m 是 2-3，n 是 6-12。侧链酯连接于聚丙烯酸盐“骨架”以提供“梳形”聚合物型结构。分子量可变化，但通常为约 2000-约 50000。该烷氧基化聚羧酸盐可占本发明组合物重量的约 0.05%-约 10%。

分散剂

本发明的洗涤剂组合物可含有分散剂：合适的水溶性有机盐是均或共聚酸或其盐，其中多羧酸含有被不超过两个碳原子分开的至少两个羧基。这种类型的聚合物在 GB-A-1596756 中公开。这种盐的实例是 MW 2000-5000 的聚丙烯酸盐和它们与马来酐的共聚物，该共聚物具有 1000-100000 的分子量。

尤其是分子量为 4000 的丙烯酸盐和甲基丙烯酸盐的共聚物，例如 480N 可以按组合物重量计 0.5-20% 的含量加入本发明的洗涤剂组合物中。

本发明的组合物可含有钙皂胶溶剂化合物，它具有如下定义的不超过 8，优选不超过 7，最优选不超过 6 的钙皂分散能力(LSDP)。钙皂胶溶剂化合物优选以按重量计 0%-20% 的量存在。

钙皂胶溶剂效果的各种测量结果通过钙皂胶溶剂能力(LSDP)给出，其通过使用在文章 H.C. Borghetty 和 C.A. Bergman, J. Am. Oil. Chem. Soc. 第 27 卷的 88-90 页中描述的钙皂分散试验测定。该钙皂分散试验方法被本领域中的实践者广泛使用，和例如如下评论文章有关；W.N. Linfield, Surfactant science Series, 第 7 卷，第 3 页；W.N. Linfield, Tenside surf. det. 第 27 卷，第 159-163 页(1990) 和 M.K. Nagarajan, W.F. Masler, Cosmetics and Toiletries, 第 104 卷, 71-73 页 (1989)。LSDP 是在 333ppm 碳酸钙(钙：镁=3:2)当量硬度的 30ml 水中分散由 0.025g 油酸钠形成的钙皂沉淀所需的分散剂与油酸钠的 % 重量比。

具有良好钙皂胶溶剂能力的表面活性剂包括某些氧化胺、甜菜

碱、磺基甜菜碱、烷基乙氧基硫酸盐和乙氧基化醇。

具有 LSDP 不超过 8 的用于本发明的表面活性剂的实例包括 C_{16}-C_{18}二甲基氧化胺、平均乙氧基化程度为 1-5 的 C_{12}-C_{18}烷基乙氧基硫酸盐，尤其是平均乙氧基化程度为 3 的 C_{12}-C_{15}烷基乙氧基硫酸盐表面活性剂(LSDP=4)和平均乙氧基化程度为 12(LSDP=6)或 30 的 C_{14}-C_{15}烷基乙氧基化醇，由 BASF GmbH 分别以商品名 Lutensol A012 和 Lutensol A030 销售。

适用于本发明的聚合钙皂胶溶剂在 M.K. Nagarajan W. F. Masler 的在 Cosmetics and Toiletries, 第 104 卷, 第 71-73 页 (1989) 中的文章中描述。

疏水漂白剂例如 4-[N-辛酰基-6-氨基己酰基]苯磺酸盐，4-[N-壬酰基-6-氨基己酰基]苯磺酸盐，4-[N-癸酰基-6-氨基己酰基]苯磺酸盐和它们的混合物和壬酰氧基苯磺酸盐与亲水/疏水漂白剂一起也可用作钙皂胶溶剂化合物。

染料转移抑制

本发明的洗涤剂组合物还含有抑制在包括带色织物的洗涤操作中遇到的溶解和悬浮的染料从一种织物转移到另一种织物的化合物。

聚合染料转移抑制剂

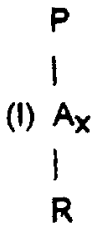
本发明的洗涤剂组合物通常含有按重量计 0.001%-10%，优选 0.01%-2%，更优选 0.05%-1%聚合染料转移抑制剂。在洗涤剂组合物中加入所述聚合染料转移抑制剂以便抑制带色织物的染料转移至其它与其一起洗涤的织物上。在洗涤过程中，在染色织物洗出的染料有机会接触其它物品前，该聚合物有络合或吸附染料的能力。

尤其合适的聚合染料转移抑制剂是聚胺 N-氧化物聚合物、N-乙烯基吡咯烷酮和 N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚乙烯基噁唑啉酮和聚乙烯基咪唑或它们的混合物。

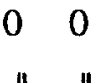
加入该聚合物提高了本发明的酶的性能。

a)聚胺 N-氧化物聚合物

适用的聚胺 N-氧化物聚合物含有具有如下结构式的单元：



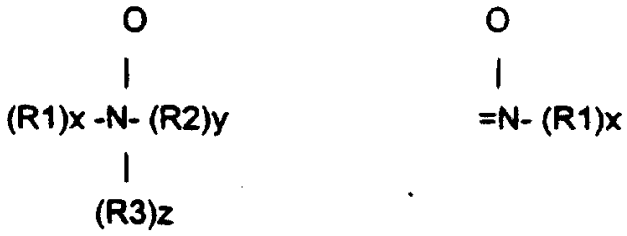
其中 P 是可聚合的单元，R-N-O 基团可与其相连或其中 R-N-O 基团构成部分可聚合的单元或两者的结合。



A 是 NC，CO，C、-O-、-S-、-N-；x 是 0 或 1；

R 是脂族、乙氧基化脂族、芳香族、杂环或碳环基团或其任何组合，N-O 基团的氮可与其相连或其中 N-O 基团的氮是这些基团的一部分。

N-O 基团可以由如下一般结构式表示：



其中 R1、R2 和 R3 是脂族基团、芳香族、杂环或脂环基团或它们的组合，x 或/和 y 或/和 z 是 0 或 1，其中 N-O 基团的氮可与其连接或其中 N-O 基团的氮构成这些基团的部分。

N-O 基团可以是可聚合单元(P)的部分或可与聚合骨架相连或两者结合。

其中 N-O 基团构成可聚合单元的部分的合适的聚胺 N-氧化物包括聚胺 N-氧化物，其中 R 选自脂族、芳香族、碳环或杂环基团。

一类上述聚胺 N-氧化物包括一组聚胺 N-氧化物，其中 N-O 基团的氮构成 R-基团的部分。优选的聚胺 N-氧化物是其中 R 是杂环基团，例如吡啶、吡咯、咪唑、吡咯烷、哌啶、喹啉、吖啶和它们的衍生物的化合物。

另一类上述聚胺 N-氧化物包括一组聚胺 N-氧化物，其中 N-O 基

团的氮连接于 R 基团。

其它合适的聚胺 N-氧化物是其中 N-O 基团与可聚合单元连接的聚胺氧化物。

优选类的这些聚胺 N-氧化物是具有通式(I)的聚胺 N-氧化物，其中 R 是芳香族、杂环或碳环基团，其中 N-O 官能团的氮是所述 R 基团的部分。

这类化合物的实例是聚胺氧化物，其中 R 是杂环化合物，例如吡啶、吡咯、咪唑和它们的衍生物。

另一优选类的聚胺 N-氧化物是具有通式(I)的聚胺氧化物，其中 R 是芳香族、杂环或脂环基团，其中 N-O 官能团的氮连接于所述 R 基团。

这类化合物的实例是聚胺氧化物，其中 R 基团可以是芳基，例如苯基。

可以使用任何聚合物骨架只要形成的氧化胺聚合物是水溶性的并具有染料转移抑制性质。合适的聚合骨架的实例是聚乙烯、聚亚烷基、聚酯、聚醚、聚酰胺、聚亚酰胺、聚丙烯酸酯和它们的混合物。

通常本发明的胺 N-氧化物聚合物具有胺与胺 N-氧化物的比率为 10:1-1:1000000。然而，在聚胺氧化物聚合物中存在的氧化胺基团的量可通过合适的共聚或通过合适的 N-氧化程度改变。胺与胺 N-氧化物的比率优选为 2:3-1:1000000，更优选为 1:4-1:1000000，最优选为 1:7-1:1000000。本发明的聚合物实际上包括无规或嵌段共聚物，其中一个单体类型是胺 N-氧化物，而另一单体类型是胺 N-氧化物或不是。聚胺 N-氧化物的氧化胺单元的 PKa<10，优选 PKa<7，更优选 PKa<6。

聚胺氧化物可以几乎任何的聚合程度得到，聚合程度不是关键的，只要物质具有所需的水溶性和染料悬浮能力。

平均分子量通常为 500-1000000；优选 1000-50000，更优选 2000-30000，最优选 3000-20000。

b)N-乙烯基吡咯烷酮和 N-乙烯基咪唑的共聚物

用于本发明的 N-乙烯基咪唑 N-乙烯基吡咯烷酮聚合物具有 5000-1000000，优选 5000-200000 的平均分子量。

用于本发明的洗涤组合物的更优选的聚合物包括选自 N-乙烯基

咪唑 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物的聚合物，其中所述聚合物具有5000-50000，更优选 8000-30000，最优选 10000-20000 的平均分子量。

平均分子量范围通过如 Barth H. G. 和 Mays J. W.《化学分析》113 卷，“聚合物表征的现代方法”中所述通过光扫描测定。

更优选的 N-乙烯基咪唑 N-乙烯吡咯烷酮共聚物具有 5000-50000；更优选 8000-30000；最优选 10000-20000 的平均分子量。

以上述平均分子量为特征的 N-乙烯基咪唑 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物提供极好的染料转移抑制性质，而没有不利地影响用其配制的洗涤组合物洗涤性能。

本发明的 N-乙烯基咪唑 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物具有 N-乙烯基咪唑与 N-乙烯基吡咯烷酮的摩尔比为 1-0.2，更优选 0.8-0.3，最优选 0.6-0.4。

c)聚乙烯基吡咯烷酮

本发明的洗涤剂组合物还可以使用平均分子量为约 2500-约 400000，优选约 5000-约 200000，更优选约 5000-约 50000，最优选约 5000-约 15000 的聚乙烯基吡咯烷酮(“PVP”)。合适的聚乙烯基吡咯烷酮在商业上由 ISP Corporation，纽约，NY 和蒙特利尔，加拿大以产品名 PVP K-15(粘度分子量为 10000)、PVP K-30(平均分子量 40000)，PVP K-60(平均分子量 160000)和 PVP K-90(平均分子量 360000)。在商业上可由 BASF Cooperation 得到的其它合适的聚乙烯基吡咯烷酮包括 Sokalan HP 165 和 Sokalan HP 12；在洗涤剂领域中技术人员已知的聚乙烯基吡咯烷酮(参见例如 EP-A-262897 和 EP-A-256696)。

d)聚乙烯基噁唑烷酮：

本发明的洗涤剂组合物也可使用聚乙烯基噁唑烷酮作为聚合染料转移抑制剂，所述聚乙烯基噁唑烷酮具有约 2500-约 400000，优选约 5000-约 200000，更优选约 5000-约 50000，最优选约 5000-约 15000 的平均分子量。

e)聚乙烯基咪唑：

本发明的洗涤剂组合物还可使用聚乙烯基咪唑作为聚合染料转移抑制剂，所述聚乙烯基咪唑具有约 2500-约 400000，优选约 5000-

约 200000，更优选约 5000-约 50000，最优选约 5000-约 15000 的平均分子量。

f) 交联聚合物：

交联聚合物是其中骨架相互连接至一定程度的聚合物；这些连接可以是化学或物理性质的，可以是骨架或支链上的活性基团；交联聚合物在《聚合物会志》22 卷，1035-1039 页中描述。

在一个实施方案中，以某种方式制备交联聚合物使得它们形成三维硬结构，它能够在由三维结构形成的孔中捕获染料。在另一实施方案中，交联聚合物通过溶胀捕获染料。该交联聚合物在未审的专利申请 94870213.9 中描述。

洗涤方法

本发明的组合物基本上可用于任何洗涤或清洁方法，其包括浸泡方法、预处理方法和可加入单独的漂洗辅助组合物的漂洗步骤的方法。

本发明的方法包括将织物或餐具以通常和下文所述方式与洗涤溶液接触。本发明的方法方便地在洗涤过程中进行。洗涤方法优选在 5℃-95℃，尤其在 10℃-60℃之间进行。处理溶液的 pH 优选为 7-12。

优选的机器洗涤餐具方法包括用含有溶解或分散在其中的有效量的机洗餐具或漂洗组合物的含水液体处理脏物品。机洗餐具组合物的常规有效量是指溶解或分散在 3-10 升洗涤体积中的 8-60 克产物。根据手洗餐具方法，将脏餐具与有效量的餐具洗涤组合物，通常为 0.5-20g(每 25 个所洗的餐具)接触。优选手洗餐具方法包括在餐具表面上使用浓溶液或在大体积的洗涤剂组合物的稀释溶液中浸泡。

如下实施例用于举例说明本发明的组合物，而不是限制或另外定义本发明的范围。在洗涤剂组合物中，酶的含量以总组合物重量计的纯酶表示，除非另有说明，洗涤剂组分以按总组合物重量计表示。缩写的组分符号具有如下含义：

LAS	:	直链 C_{11-13} 烷基苯磺酸钠
TAS	:	动物油烷基硫酸钠
$C_{XY}AS$	:	C_{1X}-C_{1Y} 烷基硫酸钠
$C_{XY}SAS$	:	C_{1X}-C_{1Y} 仲(2,3)烷基硫酸钠
$C_{XY}E_Z$	:	与平均 Z 摩尔环氧乙烷缩合的 C_{1X}-C_{1Y} 基本直链伯醇

$C_{XY}E_2S$	:	与平均 Z 摩尔环氧乙烷缩合的 C_{1X}-C_{1Y}烷基硫酸钠
QAS	:	$R_2.N^+(CH_3)_2(C_2H_4OH)$，$R_2=C_{12}$-$C_{14}$
QAS1	:	$R_2.N^+(CH_3)_2(C_2H_4OH)$，$R_2=C_8$-$C_{11}$
APA	:	C_{8-10}酰氨基丙基二甲基胺
皂	:	由动物脂和椰子油酸 80/20 混合物得到的直链烷基羧酸钠
非离子表面活性剂	:	C_{13}-C_{15} 混合乙氧基化/丙氧基化脂肪醇，平均乙氧基化程度 3.8，平均丙氧基化程度 4.5
Neodol 45-13	:	C_{14}-C_{15}直链伯醇乙氧基化物，由 Shell Chemical CO 销售
STS	:	甲苯磺酸钠
CFAA	:	C_{12}-C_{14}烷基 N-甲基葡糖酰胺
TFAA	:	C_{16}-C_{18}烷基 N-甲基葡糖酰胺
TPKFA	:	C_{12}-C_{14}拔顶全馏分脂肪酸
硅酸盐	:	无定形硅酸钠(SiO_2:Na_2O 比率=1.6-3.2)
偏硅酸盐	:	偏硅酸钠(SiO_2:Na_2O 比率=1.0)
沸石 A	:	式 $Na_{12}(AlO_2SiO_2)_{12}.27H_2O$ 的水合硅铝酸钠，主要颗粒尺寸为 0.1-10 微米(基于无水基准表示的重量)
NaSKS-6	:	式δ-$Na_2Si_2O_5$的结晶层状硅酸盐
柠檬酸盐	:	柠檬酸三钠二水合物，活性 86.4%，颗粒尺寸分布 425-850 微米
柠檬酸	:	无水柠檬酸
硼酸盐	:	硼酸钠
碳酸盐	:	无水碳酸钠，颗粒尺寸 200-900 微米
碳酸氢盐	:	无水碳酸氢钠，颗粒尺寸分布为 400-1200 微米
硫酸盐	:	无水硫酸钠
硫酸镁	:	无水硫酸镁
STPP	:	三聚磷酸钠
TSPP	:	焦磷酸四钠
MA/AA	:	4:1 丙烯酸酯/马来酸酯无规共聚物，平均分子量约 70000-80000
MA/AA1	:	6:4 丙烯酸酯/马来酸酯无规共聚物，平均分子量约 10000
AA	:	平均分子量为 4500 的聚丙烯酸钠聚合物
PA30	:	平均分子量为约 4500-8000 的聚丙烯酸

480N	:	7:3 丙烯酸酯/甲基丙烯酸酯无规共聚物，平均分子量约 3500
Polygel/ carbopol	:	高分子量交连聚丙烯酸酯
PB1	:	无水过硼酸钠单水合物，经验式：$NaBO_2.H_2O_2$
PB4	:	过硼酸钠四水合物，经验式：$NaBO_2.3H_2O.H_2O_2$
过碳酸盐	:	无水过碳酸钠，经验式：$2Na_2CO_3.3H_2O_2$
NaDCC	:	二氯异氰脲酸钠
TAED	:	四乙酰基乙二胺
NOBS	:	壬酰氧基苯磺酸盐，钠盐形式
NACA-OBS	:	(6-壬酰氨基己酰基)氧联苯磺酸盐，也称壬酰氨基己酰氧苯磺酸盐
DTPA	:	二亚乙三胺五乙酸
HEDP	:	1,1-羟基乙烷二膦酸
DETPMP	:	二亚乙三胺五(亚甲基)膦酸，由孟山都以商品名 Dequest 2060 销售
EDDS	:	乙二胺-N,N'-二琥珀酸，(S,S)异构体，钠盐形式
MnTACN	:	1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷合锰
光活化漂白剂	:	在糊精溶解的聚合物中包胶囊的磺化锌酞菁
光活化漂白剂 1	:	在糊精溶解的聚合物中包胶囊的磺化铝酞菁
PAAC	:	五胺乙酸钴(III)盐
石蜡	:	由 Wintershall 以商标 Winog 出售的石蜡油
NaBz	:	苯甲酸钠
BzP	:	苯甲酰基过氧化物
甘露聚糖酶	:	Bacillus agaradherens,NICMB40482 得到的甘露聚糖酶
蛋白酶	:	以商品名 Savinase, Alcalase, Durazym(Novo Industries A/S), Maxacal, Maxapem(Gist-Brocades)出售的蛋白分解酶和在专利 WO91/06637 和/或 WO95/10591 和/或 EP251446 中描述的蛋白酶
淀粉酶	:	在 WO94/18314, WO96/05295 中描述的 Genencor 出售的商品名 Purafact Ox Am®的淀粉分解酶；Termamyl®、Fungamyl®和 Duramyl®，均由 Novo Nordisk A/S 丹麦得到和在 WO95/26397 中描述的淀粉酶
脂酶	:	以由 Novo Nordisk A/S 商品名 Lipolase、Lipolase Ultra

和由 Gist-Brocades 以 Lipomax 销售的脂解酶

纤维素酶 : 由 Novo Industries A/S 以商品名 Carezymea、Celluzyme 和/或 Endolase 销售的纤维素分解酶

CMC : 羧甲基纤维素钠

PVP : 聚乙烯聚合物，平均分子量为 60000。

PVNO : 聚乙烯基吡啶-N-氧化物，平均分子量为 50000。

PVPVI : 乙烯基咪唑和乙烯基吡咯烷酮共聚物，平均分子量为 20000

增白剂 1 : 4,4'-二(2-磺基苯乙烯基)联苯二钠

增白剂 2 : 4,4'-二(4-苯胺基-6-吗啉代-1,3,5-三嗪-2-基)芪-2:2'-二磺酸二钠

聚硅氧烷消泡剂 : 用硅氧烷-氧化烯共聚物为分散剂的聚二甲基硅氧烷泡沫控制剂，所述泡沫控制剂与所述分散剂的比率为 10:1-100:1.

抑泡剂 : 12%聚硅氧烷/氧化硅，18%硬脂醇，70%淀粉，颗粒形式

遮光剂 : 水基单苯乙烯乳胶混合物，由 BASF 以商品名 Lytron621 销售

SRP1 : 阴离子封端的聚酯

SRP2 : 二乙氧基化聚(1,2 亚丙基邻苯二甲酸酯)短链嵌段聚合物

QEA : 双 $((C_2H_5O)(C_2H_4O)_n)(CH_3)-N^+-C_6H_{12}-N^+-(CH_3)$ 双 $((C_2H_5O)-(C_2H_4O))_n$，其中 n=20-30

PEI : 聚乙烯亚胺，平均分子量 1800，平均乙氧基化程度 7

SCS : 枯烯磺酸钠

HMWPEO : 高分子聚环氧乙烷

PEGx : 聚乙二醇，分子量 x

PEO : 聚环氧乙烷，平均分子量 5000

TEPAE : 四亚乙五胺乙氧基化物

BTA : 苯并三唑

pH : 在 20℃用在蒸馏水中的 1%溶液测定

实施例 1

制备如下本发明的高密度洗衣洗涤剂组合物：

	I	II	III
LAS	8.0	8.0	2.0
TAS	0.5	-	0.5

C46(S)AS	2.5	-	-
C25AS	-	-	7.0
C68AS	5.0	7.0	-
C25E5	-	3.4	10.0
C25E7	3.4	1.0	-
C25E3S	-	-	2.0
QAS	0.8	-	-
QAS 1	-	-	0.8
沸石 A	18.0	14.1	18.1
柠檬酸	-	-	2.5
碳酸盐	13.0	27.0	10.0
Na-SKS-6	-	-	10.0
硅酸盐	1.4	3.0	0.3
柠檬酸盐	1.0	-	3.0
硫酸盐	26.1	26.1	6.0
硫酸镁	-	-	0.2
MA/AA	0.3	0.3	4.0
CMC	0.2	0.2	0.2
PB4	9.0	5.0	-
过碳酸盐	-	-	-
TAED	0.4	1.5	-
NACA - OBS	2.0	1.0	1.0
DETPMP	0.25	0.25	0.25
SRP1	-	-	0.2
EDDS	0.25	0.4	-
CFAA	1.0	-	2.0
HEDP	0.3	0.3	0.3
QEA	-	-	0.2
甘露聚糖酶	0.001	0.002	0.01
蛋白酶	0.009	0.01	0.04
淀粉酶	0.002	0.002	0.006
纤维素酶	-	-	0.0007

脂酶	–	–	0.01
光活化漂白剂(ppm)	15	15	–
PVNO/PVPVI	–	–	0.1
增白剂 1	0.09	0.09	–
香料	0.3	0.3	0.4
聚硅氧烷消泡剂	0.5	0.5	–
密度，g/l	850	850	850
其他/微量组分		至 100	

实施例 2

制备本发明尤其在欧洲洗衣机条件下使用的如下颗粒洗衣洗涤剂组合物：

	I	II	III
LAS	5.5	7.5	7.0
TAS	1.25	1.9	0.3
C24AS/C25AS	–	2.2	2.2
C25E3S	–	0.8	1.0
C45E7	3.25	–	3.0
TFAA	–	–	–
C25E5	–	5.5	–
QAS	0.8	–	–
QAS 1	–	0.7	0.7
STPP	19.7	–	–
沸石 A	–	19.5	17.0
Na-SKS-6/ 柠 檬 酸 (79:21)	–	10.6	–
Na-SKS-6	–	–	10.0
碳酸盐	6.0	21.4	18.0
碳酸氢盐	–	2.0	2.0
硅酸盐	6.8	–	–
柠檬酸盐	–	–	–
硫酸盐	39.8	–	12.0

硫酸镁	-	-	-
MA/AA	0.5	1.6	1.0
CMC	0.2	0.4	0.4
PB4	5.0	12.7	-
过碳酸盐	-	-	15.0
TAED	0.5	3.1	-
NACA-OBS	1.0	3.5	2.5
DETPMP	0.25	0.2	0.2
HEDP	-	0.3	0.3
QEA	-	-	-
甘露聚糖酶	0.001	0.02	0.001
蛋白酶	0.009	0.03	0.02
脂酶	0.003	0.003	0.004
纤维素酶	0.0006	0.0006	0.0007
淀粉酶	0.002	0.002	0.003
PVNO/PVPVI	-	-	-
PVP	0.9	1.3	0.9
SRP1	-	-	-
光活化漂白剂(ppm)	15	27	20
光活化漂白剂 1(ppm)	15	-	-
增白剂 1	0.08	0.2	0.15
增白剂 2	-	0.04	-
香料	0.3	0.5	0.3
聚硅氧烷消泡剂	0.5	2.4	2.0
密度，g/l	750	750	750
其他/微量组分		至 100%	

实施例 3

制备如下尤其用于欧洲洗衣机洗涤条件的洗涤剂组合物：

	I	II	III
吹制粉末			
LAS	6.0	5.0	11.0

TAS	2.0	-	-
沸石 A	24.0	-	-
STPP	-	27.0	24.0
硫酸盐	4.0	6.0	13.0
MA/AA	1.0	4.0	6.0
硅酸盐	1.0	7.0	3.0
CMC	1.0	1.0	0.5
增白剂 1	0.2	0.2	0.2
硅氧烷抑泡剂	1.0	1.0	1.0
DETPMP	0.4	0.4	0.2
喷洒液体			
增白剂	0.02	-	-
C45E7	-	-	-
C45E2	2.5	2.5	2.0
C45E3	2.6	2.5	2.0
香料	0.5	0.3	0.5
硅氧烷抑泡剂	0.3	0.3	0.3
干添加剂			
QEA	-	-	-
EDDS	0.3	-	-
硫酸盐	2.0	3.0	5.0
碳酸盐	6.0	13.0	15.0
柠檬酸	2.5	-	-
QAS1	0.5	-	-
Na-SKS-6	10.0	-	-
过碳酸盐	18.5	-	-
PB4	-	18.0	10.0
TAED	2.0	2.0	-
NACA-OBS	3.0	2.0	4.0
甘露聚糖酶	0.001	0.002	0.02
蛋白酶	0.03	0.03	0.03
脂酶	0.008	0.008	0.008

淀粉酶	0.003	0.003	0.003
增白剂 1	0.05	-	-
微量和少量组分		至 100%	

实施例 4

制备如下本发明的颗粒洗涤剂组合物：

	I	II	III
吹制粉末			
LAS	23.0	7.0	7.0
TAS	-	-	-
C45AS	6.0	5.0	-
C45AES	-	1.0	-
C45E35	-	-	4.0
沸石 A	10.0	14.0	10.0
MA/AA	-	-	2.0
MA/AA1	7.0	-	-
AA	-	3.0	3.0
硫酸盐	5.0	14.3	19.3
硅酸盐	10.0	1.0	1.0
碳酸盐	15.0	10.0	6.0
PEG4000	0.4	1.5	1.0
DTPA	-	0.5	0.5
增白剂 2	0.3	0.3	0.3
喷洒液体			
C45E7	-	-	2.0
C25E9	3.0	-	-
C23E9	-	1.5	2.0
香料	0.3	0.3	0.3
附聚物			
C45AS	-	5.0	5.0
LAS	-	2.0	2.0
沸石 A	-	7.5	7.5

碳酸盐	–	4.0	4.0
PEG4000	–	0.5	0.5
微量组分(水等)	–	2.0	2.0
干添加剂			
QAS	–	–	–
柠檬酸	–	–	–
PB4	–	–	1.0
PB1	4.0	3.0	–
过碳酸盐	–	–	10.0
碳酸盐	–	1.8	4.0
NOBS	4.0	6.0	0.6
甲基纤维素	0.2	–	–
Na-SKS-6	8.0	–	–
STS	–	2.0	–
枯烯磺酸	–	–	2.0
甘露聚糖酶	0.001	0.02	0.001
蛋白酶	0.02	0.02	0.02
脂酶	0.004	0.004	0.008
淀粉酶	0.003	0.002	–
纤维素酶	0.0005	0.0005	0.0005
PVPVI	–	–	0.1
PVP	–	–	–
PVNO	–	0.5	–
QEA	–	–	–
SRP1	0.2	0.3	–
硅氧烷抑泡剂	0.2	0.2	–
硫酸镁	–	0.2	–
微量和少量组分		至100%	

实施例 5

制备如下本发明的洗涤剂组合物：

		I	II
基础颗粒			
	沸石 A	22.0	10.0
	硫酸盐	5.0	7.0
	MA/AA	-	-
	AA	1.6	-
	MA/AA1	12.0	6.0
	LAS	10.0	20.0
	C45AS	7.0	7.0
	C45AES	1.0	-
	硅酸盐	1.0	10.0
	皂	2.0	-
	增白剂 1	0.2	0.2
	碳酸盐	9.0	10.0
	PEG4000	1.0	-
	DTPA	0.4	-
喷淋液体			
	C25E9	-	5.0
	C45E7	1.0	-
	C23E9	1.0	-
	香料	0.3	-
干添加剂			
	碳酸盐	10.0	8.0
	PVPVI/PVNO	-	-
	甘露聚糖酶	0.001	0.02
	蛋白酶	0.03	0.02
	脂酶	-	0.008
	淀粉酶	-	0.002
	纤维素酶	0.0005	0.0002
	NOBS	4.0	4.5

PB1	5.0	6.0
硫酸盐	5.0	5.0
SRP1	0.4	-
抑泡剂	0.5	-
其他和微量组分		至 100%

实施例 6

制备本发明的如下洗涤剂组合物：

	I	II
LAS	18.0	14.0
QAS	0.7	1.0
TFAA	-	1.0
C23E56.5	-	-
C45E7	-	1.0
C45E3S	1.0	2.5
STPP	32.0	18.0
硅酸盐	9.0	5.0
碳酸盐	11.0	7.5
碳酸氢盐	-	7.5
PB1	3.0	1.0
PB4	-	1.0
NOBS	2.0	1.0
DETPMP	-	1.0
DTPA	0.5	-
SRP1	0.3	0.2
MA/AA	1.0	1.5
CMC	0.8	0.4
硫酸盐	20.0	10.0
硫酸镁	0.2	-
甘露聚糖酶	0.001	0.02
蛋白酶	0.03	0.03
淀粉酶	0.008	0.007

脂酶	0.004	-
纤维素酶	0.0003	-
光活化漂白剂	30ppm	20ppm
香料	0.3	0.3
增白剂 1/2	0.05	0.02
微量和少量组分		至 100%

实施例 7

制备本发明的如下致密高密度(0.96Kg/1)餐具洗涤剂组合物:

	I	II	III	IV
STPP	-	-	-	50.9
柠檬酸盐	35.0	17.0	46.1	-
碳酸盐	-	17.5	-	32.1
碳酸氢盐	-	-	25.4	-
硅酸盐	32.0	14.8	1.0	3.1
偏硅酸盐	-	2.5	-	-
PB1	1.9	9.7	-	-
PB4	8.6	-	-	-
过碳酸盐	-	-	6.7	4.8
非离子表面活性剂	1.5	2.0	2.6	5.3
NOBS	5.2	2.4	2.2	1.4
HEDP	-	1.0	-	-
DETPMP	-	0.6	-	-
石蜡	0.5	0.5	0.6	-
甘露聚糖酶	0.001	0.001	0.002	0.02
蛋白酶	0.072	0.072	0.026	0.06
淀粉酶	0.012	0.012	0.009	0.03
脂酶	-	0.001	-	-
BTA	0.3	0.3	-	0.3
MA/AA	-	-	-	-
480N	3.3	6.0	-	0.9
香料	0.2	0.2	0.2	0.1

硫酸盐	7.0	20.0	12.0	-
pH	10.8	11.0	9.6	10.9
其他和水		至 100%		

实施例 8

制备如下本发明的堆密度为 1.02Kg/L 的颗粒餐具洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV	VI	VI	V	VI
STPP	30.0	30.0	33.0	34.2	29.6	31.1	26.6	17.6
碳酸盐	30.5	30.5	31.0	30.0	23.0	39.4	4.2	45.0
硅酸盐	7.4	7.4	7.5	7.2	13.3	3.4	43.7	12.4
偏硅酸盐	-	-	4.5	5.1	-	-	-	-
过碳酸盐	-	-	-	-	-	4.0	-	-
PB1	4.4	4.2	4.5	4.5	-	-	-	-
NADCC	-	-	-	-	2.0	-	1.6	1.0
非离子表面活性剂	1.2	1.0	0.7	0.8	1.9	0.7	0.6	0.3
NOBS	1.0	0.7	0.7	0.7	-	0.8	1.0	1.0
PAAC	-	0.004	0.004	0.004	-	-	-	-
BzP	-	-	-	1.4	-	-	-	-
石蜡	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-	-	-
甘露聚糖酶	0.002	0.002	0.001	.0005	.0001	0.002	0.002	.0001
蛋白酶	0.036	0.015	0.03	0.028	-	0.03	-	-
淀粉酶	0.003	0.003	0.01	0.006	-	0.01	-	-
脂酶	0.005	-	0.001	-	-	-	-	-
BTA	0.15	0.15	0.15	0.15	-	-	-	-
香料	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	-
硫酸盐	23.4	25.0	22.0	18.5	30.1	19.3	23.1	23.6
pH	10.8	10.8	11.3	11.3	10.7	11.5	12.7	10.9
其他和水分				至 100%				

5

实施例 9

通过使用标准 12 头旋转压制机在 13KN/cm^2 压力下压制颗粒餐具洗涤剂组合物制备本发明的如下片状洗涤剂组合物片：

	I	II	III	IV	V	VI
STPP	-	48.8	49.2	38.0	-	46.8
柠檬酸盐	26.4	-	-	-	31.1	-
碳酸盐	-	5.0	14.0	15.4	14.4	23.0
硅酸盐	26.4	14.8	15.0	12.6	17.7	2.4
甘露聚糖酶	0.001	0.001	0.001	0.02	0.002	0.01
蛋白酶	0.058	0.072	0.041	0.033	0.052	0.013
淀粉酶	0.01	0.03	0.012	0.007	0.016	0.002
脂酶	0.005	-	-	-	-	-
PB1	1.6	7.7	12.2	10.6	15.7	-
PB4	6.9	-	-	-	-	14.4
非离子表面活性剂	1.2	2.0	1.5	1.65	0.8	6.3
PAAC	-	-	0.02	0.009	-	-
MnTACN	-	-	-	-	0.007	-
NOBS	4.3	2.5	1.0	1.0	1.3	1.8
HEDP	0.7	-	-	0.7	-	0.4
DETPMP	0.65	-	-	-	-	-
石蜡	0.4	0.5	0.5	0.55	-	-
BTA	0.2	0.3	0.3	0.3	-	-
PA30	3.2	-	-	-	-	-
MA/AA	-	-	-	-	4.5	0.55
香料	-	-	0.05	0.05	0.2	0.2
硫酸盐	24.0	13.0	2.3	-	10.7	3.4
片重量	25g	25g	20g	30g	18g	20g
pH	10.6	10.6	10.7	10.7	10.9	11.2
微量组分和水	至 100%					

序列表

(1)一般信息:

申请人:

名称; The Procter & Gamble Company

街道:One Procter & Gamble Plaza

城市:辛辛那提, OHIO

国家:USA

邮政编码:45202

发明名称:含有甘露聚糖酶和疏水漂白活性剂的洗涤剂组合物

序列编号:6

计算机可读形式:

媒体类型:磁盘

计算机:兼容 IBM PC

操作系统:PC-DOS/MS-DOS

软件:Patentln Release # 1.0 Version 1.25(EPO)

SEQ ID NO:1

序列特征:

长度:1407 碱基对

类型:核酸

链:单

拓扑学:直链

分子类型:基因组 DNA

原始来源

特征:

名称/关键词:CDS

位置:1-1482

序列描述:SEQ ID NO:1

ATGAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTCGTGAAGTCATTG
AGCTTGCGGAGCAAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGGTCGCGATTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG
ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT
GAGTATGCTGGTGGTGATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAAACTGGCACA
GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA
TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACTACTCTTTAAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATAGTCATCATGTTAG
GGAAATAGGCGTGCAATTTTCAGCGGCAGATAATAGCAGTGGTCAAACTGC
TCTATACGTTGATAACGTTACTTTAAGATAG

SEQ ID NO:2

序列特征:

长度:493 氨基酸

类型:氨基酸

拓扑学:直链

分子类型:蛋白质

序列描述:SEQ ID NO:2

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKM
VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHTLMVDAAGWGQYPQSIHDYGQDVFNADPLKNTM
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGEFGHRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWDYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP
STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLYV
KTGSDYTWHSGPFTRINSSNSGTTLSFDLNNIENSHHVREIGVQFSAADNSSGQ
TALYVDNVTLR

SEQ ID NO:3

序列特征:

长度:1407 碱基对

类型:核酸

链:单

拓扑学:直链

分子类型:基因组 DNA

序列描述:SEQ ID NO:3

ATGAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTCGTGAAGTCATTG

AGCTTGCGGAGCAAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGGTCGCGATTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG

ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT
GAGTATGCTGGTGGTGATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAAACTGGCACA
GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA
TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACTACTCTTTAAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATATCATCATGTTAGG
GAAATAG

SEQ ID NO:4

序列特征:

长度:468 氨基酸

类型:氨基酸

拓扑学:直链

分子类型:蛋白质

序列描述:SEQ ID NO:4

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKM

VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHTLMVDAAGWGQYPQSIHDYGQDVFNADPLKNTM
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGEFGHRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWDYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP

STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLYV
KTGSDYTWHSGPFTRINSSNSGTTLSFDLNNIENIIMLGK

SEQ ID NO:5

序列特征:

长度:1029 碱基对

类型:核酸

链:单

拓扑学:直链

分子类型:基因组 DNA

序列描述:SEQ ID NO:5

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

ATT TTA AAA CTG ATT TTT ACC CGG GCG CGT CTT ACG TGG ATA TTG
TCG GAT TAG ATG CGT ATT TTC AAG ATG CCT ACT CGA TCA ATG GAT
ACG ATC AGC TAA CAG CGC TTA ATA AAC CAT TTG CTT TTA CAG AAG

TCG GCC CGC AAA CAG CAA ACG GCA GCT TCG ATT ACA GCC TGT TCA TCA ATG CAA TAA AAC AAA AAT ATC CTA AAA CCA TTT ACT TTC TGG CAT GGA ATG ATG AAT GGA GCG CAG CAG TAA ACA AGG GTG CTT CAG CTT TAT ATC ATG ACA GCT GGA CAC TCA ACA AGG GAG AAA TAT GGA ATG GTG ATT CTT TAA CGC CAA TCG TTG AGT GAA TCC GGG ATC 3'

SEQ ID NO:6

序列特征:

长度:363 氨基酸

类型:氨基酸

拓扑学:直链

分子类型:蛋白质

序列描述:SEQ ID NO:6

ydhT 1
LFKKHTISLLIIFLLASAVLAKPIEAHTVSPVNPNAQQTTKTVMNWLAHL 50
ydhT 51
PNRTENRVLSGAFGGYSHDTFSMAEADRIRSATGQSPAIYGCDYARGWLE 100
ydhT 101
TANIEDSIDVSCNGDLMSYWKNGGIPQISLHLANPAFQSGHFKTPITNDQ 150
ydhT 151
YKNILDSATAEGKRLNAMLSKIADGLQELENQGVPVLFRPLHEMNGEWFW 200
ydhT 201
WGLTSYNQKDNERISLYKQLYKKIYHYMTDTRGLDHLIWVYSPDANRDFK 250
ydhT 251
TDFYPGASYVDIVGLDAYFQDAYSINGYDQLTALNKPFAFTEVGPQTANG 300
ydhT 301
SFDYSLFINAIKQKYPKTIYFLAWNDEWSAAVNKGASALYHDSWTLNKGE 350
ydhT 351

IWNGDSLTPIVE*. 363