

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98810049.5

[43]公开日 2001年6月27日

[11]公开号 CN 1301294A

[22]申请日 1998.6.10 [21]申请号 98810049.5

[30]优先权

[32]1997.8.14 [33]EP [31]97870120.9

[86]国际申请 PCT/US98/11995 1998.6.10

[87]国际公布 WO99/09127 英 1999.2.25

[85]进入国家阶段日期 2000.4.10

[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

S·P·G·科雷曼斯 K·约翰斯通

K·斯雷克里斯纳 C·W·肖恩德斯

I·M·A·J·赫尔波茨 A·C·贝克

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 吴大建

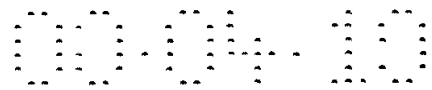
权利要求书2页 说明书102页 附图页数0页

[54]发明名称 包含糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物

[57]摘要

本发明涉及包括一种糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物,它提供了优良的清洁性能、特别是食品污渍/污垢去除、肮脏物清洁和白度保持的效能。

ISSN 1008-4274



## 权 利 要 求 书

1. 一种包括一种洗涤剂成分和一种糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物,所述酶能降解其 1%溶液的粘度高于 800 厘泊的非淀粉非  
5 纤维素食品多糖。

2. 按照权利要求 1 的洗衣用洗涤剂组合物,其中所述多糖选自琼脂、海藻胶、karawa、黄耆胶、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶和/或其混合物。

3. 按照权利要求 1 到 2 的洗衣用洗涤剂组合物,其中所述糖类树  
10 胶降解酶选自甘露糖苷酶,特别是 $\beta$ -甘露糖苷酶、内 1,4- $\beta$ -D 甘露糖苷酶、内 1,2- $\beta$ -D 甘露糖苷酶;半乳糖苷酶,特别是外 1,3- $\beta$ -D 甘露糖苷酶、外 1,6- $\beta$ -D 半乳糖苷酶和 1,3- $\beta$ -D 半乳糖苷酶; Glucuronosidase、葡糖醛酸糖苷酶、外 1,2 或 1,4-葡糖醛酸糖苷酶;阿拉伯胶酶,特别是  
15 内 $\alpha$ -1,5-阿拉伯糖苷酶、外阿聚糖酶、外 A 阿拉伯呋喃糖苷酶、外 B ( $\alpha$ -1,3;  $\alpha$ -1,5)阿拉伯呋喃糖苷酶;黄原胶裂解酶;聚( $\alpha$ -L 古洛糖醛酸酯)裂解酶;琼脂酶、角叉菜胶酶和/或其混合物。

4. 按照权利要求 1 到 3 的洗衣用洗涤剂组合物,其中所述糖类树胶降解酶是一种 $\beta$ -甘露糖苷酶(EC 3.2.1.78-甘露聚糖酶)。

5. 按照权利要求 1 到 4 的洗衣用洗涤剂组合物,其中所述糖类树  
20 胶降解酶以占总组合物的 0.0001-2% (重量)、优选 0.0005-0.1% (重量)、更优选 0.0006-0.015% (重量)纯酶的量存在。

6. 按照权利要求 1 到 6 的洗衣用洗涤剂组合物,还包括一种选自非离子表面活性剂、阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂和/或其混合物的表面活性剂。

7. 按照前述权利要求任一项的洗衣用洗涤剂组合物,还包括另一  
25 种酶,优选为纤维素酶和/或淀粉酶。

8. 按照前述权利要求任一项的洗衣用洗涤剂组合物,还包括一种助剂,优选一种无机助剂,更优选一种选自沸石 A、层状硅酸盐、三

聚磷酸钠和/或其混合物的助剂。

9. 按照前述权利要求任一项的洗衣用洗涤剂组合物,还包括一种活性漂白体系。

10. 按照前述权利要求任一项的洗衣用洗涤剂组合物,特征在于所述组合物为液体、膏体、凝胶、条块、片剂、喷雾剂、泡沫剂、粉剂或颗粒剂形式的组合物。

11. 按照权利要求10的洗衣用凝胶洗涤剂组合物,它包括15-40% (重量)的一种阴离子表面活性剂,其包括:

(i) 5-25% (重量)无机聚乙氧基化物硫酸盐,其中所述烷基包含10到22个碳原子并且所述聚乙氧基化物链包含0.5-15、优选0.5-5、更优选0.5-4%氧乙烯部分;和

(ii) 5-20% (重量)脂肪酸。

12. 一种包括糖类树胶降解酶的洗涤剂添加剂。

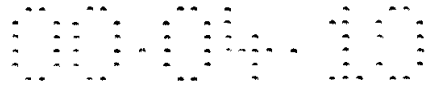
13. 一种包括糖类树胶降解酶和含两个长链的阳离子表面活性剂的织物软化组合物,所述酶能降解其1%水溶液具有高于800厘泊的粘度的非淀粉、非纤维素的食物多糖。

14. 一种糖类树胶降解酶在用于织物清洁和/或织物污渍去除和/或织物白度保持和/或织物软化和/或织物鲜亮外观和/或织物染料转移抑制的洗衣用洗涤剂组合物中的用途,所述酶能降解其1%水溶液具有高于800厘泊的粘度的非淀粉、非纤维素的食物多糖。

15. 按照权利要求14的糖类树胶降解酶用于去除其1%溶液具有高于800厘泊的粘度的非淀粉、非纤维素的食物多糖的用途。

16. 按照权利要求14到15的糖类树胶降解酶的用途,其中所述多糖选自琼脂、海藻胶、karawa、黄耆胶、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶和/或其混合物。

17.按照权利要求14到16的糖类树胶降解酶和一种纤维素酶用于去除其1%溶液具有高于800厘泊的粘度的非淀粉食物多糖的用途。



# 说明书

## 包含糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物

5 发明领域

本发明涉及包含糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物。

发明背景

10 现在的洗涤剂组合物包括满足特定需要的活性组分的复合组合物。具体地说，现在的洗涤剂制剂一般包括提供清洁和织物护理效能的洗涤用酶，更具体地说包括纤维素酶和淀粉酶。

15 纤维素酶作为织物清洁剂和织物粗糙性降低剂的效能为人们所认识已有一定时间。纤维素酶的活性是指纤维素纤维或底物被纤维素酶水解的活性，其取决于纤维素酶的具体功能，所述纤维素酶可以是内纤维素酶或外纤维素酶和各自的半纤维素酶。纤维素结构被解聚或裂解成较小和依此更可溶或可分散的成分。这种活性具体在织物上提供了织物结构清洁、再生、软化和通常改善的手感特征。

20 本领域已知淀粉酶可用于提供对含天然存在或添加的淀粉的食品污渍/污垢或作为整理剂加入的淀粉的去污渍效能。

25 食品污渍/污垢是大多数消费者常遇见的污渍/污垢并通常包括食品添加剂。Neutraceuticals、酸化剂、抗氧化剂、保存剂、甜味剂、酶、稠化剂/稳定剂诸如水胶体和乳化剂通常用作食品添加剂。特别是消费者对于减少脂肪和热量的要求推动了作为脂肪替代品的结构改进剂的发展。也称为食用树胶的水胶体结构改进剂/稳定剂的市场也预测每年具有约 4% 的增长。黄原胶的增长率将会达到 6-8%/年，角叉菜胶的增长率则预计有约 3%/年(Chemical Week, 1996 年 6 月 19 日，第 32 到 34 页)。

所述术语“树胶”是指工业上可用的多糖(长链聚合物)或其衍生物，其在热水或冷水中水合形成粘性溶液、分散体或凝胶。树胶被归类为天然树胶和改性树胶。天然树胶包括海藻提取物、植物压出物、来自种子或根

5 的树胶以及通过微生物发酵获得的树胶。改性的(半合成)树胶包括纤维素和淀粉衍生物和某些合成树胶诸如低级甲氧基果胶、丙二醇藻酸酯和羧甲基和羟丙基瓜耳胶(在 J. Baird, Kelco division of Merck 的第四版 Encyclopedia Chemical Technology 第 12 卷 842 到 862 页中的 Gums 章节)。也参见 R. L. Whistler 和 J. N. BeMiller 的 Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (Eagan 出版社, 1997) 第

10 4 章 63 到 89 页和 P. Laslo 的 Direct Food Additives in Fruit Processing (Technomic 出版社, 1996 年), Bioprinciples and Applications, 第 1 卷 11 章 313 到 325 页。

一些这类树胶诸如黄原胶(E415, CEE 编号)、吉兰糖胶(gellan gum) (E416)、瓜耳胶(E412)、刺槐豆胶(E410)和黄蓍胶(E413)在许多食品

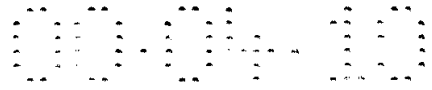
15 加工中广泛被单独使用或组合使用(在 J Baird, Kelco division of Merck 的第四版 Encyclopedia Chemical Technology 第 12 卷 842 到 862 页中的 Gums 章节)。具体地说，瓜耳胶经常在食品中用作稠化剂和

在酱汁和色拉调味品中作为自由水结合剂。瓜耳胶也在冰淇淋和冷冻甜品中用作自由水的结合剂和稳定剂。在冰淇淋混合物中的自由水引起成品冰淇淋出现粒状结构、冰晶、差的融化性质和差的耐热激性。

20 以多至约 0.3% 的量将含瓜耳胶的稳定剂掺入冰淇淋混合物产生了一种具慢融化性质和良好耐热激性的光滑质地的可嚼产品。因为其快速的水合性能，它也特别适合于快速消毒。其它因为其结合水的能力而可用瓜耳胶稳定的食品有冷冻食品、干酪、饼馅、糖衣食品和

25 宠物食品。其它例子包括：已知可用于果汁冻料、罐头食品和半成品食品的海藻胶；用于色拉调味品的黄蓍胶；用于奶制品和饮料的黄原胶。吉兰糖胶存在于糖衣食品、起霜食品和奶制品中，刺槐豆胶和琼脂存在于冰淇淋中。





所选的表面活性剂、另一种酶、一种助剂和/或一种漂白剂系统而被增强。

5 GB2-169-393 描述了一种使用染坊的常规机械设备和精制机从织物去除纤维素污染物和其它植物污染物的方法，其通过用使织物碳化时  $H_2SO_4$  浓度降低到 2% 以下的含纤维素分解酶和果胶分解酶的酶制剂处理。

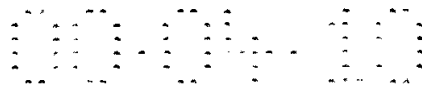
10 WO96/06532 涉及一种能通过生物源的碱性蛋白质或肽类例如鱼精蛋白或硫酸鱼精蛋白来杀死或抑制生长的微生物细胞的组合物。对于某些细菌或真菌来说，这些组合物还包括一种氧化还原酶或细胞壁降解酶诸如 II 型内切糖苷酶、溶菌酶和/或壳多糖酶。

15 WO95/35362 描述了一种包括洗衣、餐具洗涤的清洁组合物、特别是家庭清洁组合物，包括具有果胶酶和/或半纤维素酶和任选纤维素酶的细胞壁降解酶。这些组合物特别适合于去除植物源的污渍和具有类似结构的污垢和污脏。这些植物细胞壁降解酶降解植物细胞壁的结构成分诸如结构多糖(纤维素、半纤维素、果胶)，并包括纤维素分解酶、果胶降解酶和半纤维素降解酶。存在有大量植物细胞壁降解酶。纤维素分解酶可分成三类：内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶或纤维二糖水解酶和  $\beta$ -葡糖苷酶。已知有大量酶可降解果胶；例子有果胶酯酶、果胶裂解酶、果胶酸盐裂解酶和内或外多聚半乳糖醛酸酶。除了这些酶外，也已发现降解平滑区(smooth region)的酶、降解毛状区(hairy region)的酶诸如鼠李糖半乳糖醛酸聚糖酶和辅助酶。许多酶适合于降解半纤维素结构诸如木聚糖酶、半乳聚糖酶、阿聚糖酶(arabinase)、地衣酶和甘露聚糖酶。

25 但是，糖胶降解酶因为其在棉织物上优良的清洁性能在洗衣用洗涤剂组合物中的用途先前并没有被人认识到。

#### 本发明简述

本发明涉及包括一种糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物，其



提供了对棉纤维的优良的清洁性能，特别是提供去除食品污渍/污垢、  
脏物清洁和白度保持的益处。

#### 本发明的详细说明

5 本发明的洗衣用洗涤剂组合物的一种主要组分是糖类树胶降解酶。这些酶能水解在 1%溶液中具有 800 厘泊以上粘度(在 25℃水中用 Brookfield Synchro-Lectic 粘度计在 20 转/分下测定)的非淀粉、非纤维素食品多糖。

10 现已出乎意料地发现本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了优异的清洁和增白性能、特别是显著的食品污渍/污垢去除效果和肮脏的污渍/污垢的清洁。

15 虽然不希望受理论的束缚，但是我们认为糖类树胶降解酶水解了存在于胶附于棉纤维上的食品污渍/污垢中的食品树胶添加剂。的确，现已发现这些非淀粉非纤维素食品多糖具有对棉纤维高的亲和力而使所述污渍/污垢粘附在织物上。这些非淀粉非纤维素食品多糖的水解因此从棉织物释出了污渍/污垢。

20 此外，现已惊异地发现本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了显著的肮脏物清洁和白度保持效能。虽然不希望受理论束缚，但是我们认为作为被目前的洗涤剂制剂部分净化的这些食品污渍/污垢的分解产物的糖类在织物上再沉积并与颗粒污垢诸如粘土化合物反应，导致棉织物肮脏。本发明的糖类树胶降解酶水解了沉积于织物上的糖类并依此防止了这些化合物与颗粒污垢的絮凝。

25 尽管不希望受理论束缚，我们也认为本发明的糖类树胶降解酶的酶作用使得食品污渍/污垢和肮脏污渍/污垢更易于洗衣用洗涤剂组合物的其它洗涤剂组分所接近。特别是，现已发现本发明的洗衣用洗涤剂组合物的效能通过掺入一种选择的表面活性剂、另一种酶、一种助剂和/或一种漂白系统而增强。

本发明的酶对在 1%溶液中具有高于 800 厘泊的粘度的非淀粉非

纤维素食品多糖诸如琼脂、海藻胶、karawa、黄耆胶、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶和/或其混合物具有主活性或副活性。

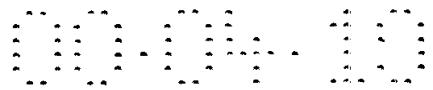
单独或结合用作食品添加剂的工业用胶的例子有：

- 5 - 种子树胶诸如瓜耳胶、刺槐豆胶、 X 种子胶(Psylium)、亚麻籽胶和 Okra gums、罗望籽果胶、落叶松阿拉伯半乳聚糖；
- 植物压出物诸如阿拉伯胶、茄替胶、刺梧桐树胶、黄耆胶；
- 海藻提取物诸如海藻胶、琼脂、角叉菜胶、岩藻依聚糖、红藻胶和生物合成胶诸如黄原胶。

适用于本发明目的的酶具有下面的主要或辅助的酶活性：

- 10 - 阿拉伯糖酶：内阿聚糖酶(E.C. 3.2.1.99)诸如内 $\alpha$ -1,5-阿拉伯糖苷酶、外阿聚糖酶(E. C. 3.2.1.55)、外 A ( $\alpha$ -1,2;  $\alpha$ -1,3) 阿拉伯呋喃糖苷酶、外 B ( $\alpha$ -1,3;  $\alpha$ -1,5)阿拉伯呋喃糖苷酶；
- ( $\alpha$ -1,2;  $\alpha$ -1,3)岩藻糖苷酶,  $\alpha$ -1,6-岩藻糖苷酶(E.C. 3.2.1.127)；
- $\beta$ -1,2-半乳聚糖酶,  $\beta$ -1,3-半乳聚糖酶(E.C.3.2.1.90),  $\beta$ -1,4-半乳聚糖酶,  $\beta$ -1,6-半乳聚糖酶。半乳聚糖酶是也称为阿拉伯半乳聚糖半乳糖苷酶(E.C. 3.2.1.89)。 $\alpha$ 和 $\beta$ 半乳糖苷酶(E.C. 3.2.1.22 & 23), (E.C. 3.2.1.102), (E. C. 3.2.1.103)；
- $\beta$ -甘露糖苷酶 (3.2.1.25),  $\alpha$ -甘露糖苷酶 (3.2.1.24),  $\beta$ -1,2-甘露糖苷酶,  $\alpha$ -1,2-甘露糖苷酶 (E. C. 3.2.1.113) (E.C. 3.2.1.130),  $\alpha$ -1,2-1,6-甘露糖苷酶(3.2.1.137),  $\beta$ -1,3-甘露糖苷酶 (E. C. 3.2.1.77),  $\beta$ -1,4-甘露糖苷酶 (E. C. 3.2.1.78),  $\beta$ -1,6-甘露糖苷酶 (E. C. 3.2.1.101),  $\alpha$ -1,3-1,6-甘露糖苷酶(3.2.1.114),  $\beta$ -1,4-甘露二糖糖苷酶(mannobiosidase) (E. C. 3.2.1.100)；
- Glucuronosidase (E.C. 3.2.1.131), 葡糖醛酸糖苷酶 (E. C. 3.2.1.31), 外 1,2 或 1,4-葡糖醛酸糖苷酶；
- 25 - 琼脂酶 (E.C. 3.2.1.81), 角叉菜胶酶 (E.C. 3.2.1.83),  $\alpha$ -1,2-黄原胶裂解酶；聚( $\alpha$ -L 古洛糖醛酸酯)裂解酶(也称为海藻胶酶 II)(E. C. 4.2.2.11)。





更优选，本发明的洗衣用洗涤剂组合物包括称为甘露聚糖酶的 $\beta$ -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”是指按照该领域技术定义的一种甘露聚糖酶，正式名称为甘露聚糖内-1,4- $\beta$ -甘露糖苷酶并具有可替用名 $\beta$ -甘露聚糖酶和内-1,4-甘露聚糖酶并催化下列反应：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- $\beta$ -D-甘露糖苷键的无规水解。

具体地说，甘露聚糖酶(E.C. 3.2.1.78)包括一组降解甘露聚糖并能裂解含甘露糖单元的多糖链的多糖酶，即能裂解在甘露聚糖、葡甘露聚糖、半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖中的糖苷键的多糖酶。甘露聚糖是指具有包括 $\beta$ -1,4-连接的甘露糖的骨架的多糖；葡甘露聚糖是指这样一个骨架，即具有一个在一定程度上规则地交替的 $\beta$ -1,4-连接的甘露糖和葡萄糖的多糖；半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖是指具 $\alpha$ -1,6-连接的半乳糖侧链的甘露聚糖和葡甘露聚糖。这些化合物可被乙酰化。

通过全部或部分除去半乳糖侧链有利于半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖的降解。此外通过完全或部分脱乙酰化有利于乙酰化的甘露聚糖、葡甘露聚糖、半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖的降解。乙酰基可通过碱或通过甘露聚糖乙酰酯酶去除。由甘露聚糖酶或通过甘露聚糖酶和 $\alpha$ -半乳糖苷酶和/或甘露聚糖乙酰基酯酶的组合物释放的低聚物可进一步通过 $\beta$ -甘露糖苷酶和/或 $\beta$ -葡糖苷酶降解而释出游离麦芽糖。

在几种芽孢杆菌生物中已经证实存在甘露聚糖酶。例如 Talbot 等人在 1990 年 56 卷 11 期的 Appl. Environ. Microbiol. 的 3505 到 3510 页描述了分子量为 162 kDa 以及最佳 pH 为 5.5-7.5 的二聚物形式的源于嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*)的 $\beta$ -甘露聚糖酶。Mendoza 等人在 1994 年 10 卷 5 期的 World J. Microbiol. Biotech. 的 551 到 555 页描述了一种具有 38 kDa 的分子量和在 pH5.0 和 55 $^{\circ}$ C 具有最佳活性以及 4.8 的 pI 的源于枯草芽孢杆菌的 $\beta$ -甘露聚糖酶。JP-0304706

公开了一种具有 373 kDa 的凝胶过滤测得的分子量、8-10 的最佳 pH 和 5.3-5.4 的 pI 的源于芽孢杆菌属菌种的 $\beta$ -甘露聚糖酶。JP-63056289 描述了一种水解例如甘露聚糖的 $\beta$ -1,4-D-吡喃甘露糖苷键和产生甘露低聚糖的碱性、热稳定 $\beta$ -甘露聚糖酶的生产。JP-63036774 涉及在碱性 pH 下产生 $\beta$ -甘露聚糖酶和 $\beta$ -甘露糖苷酶的芽孢杆菌属微生物 FERM P-8856。JP-08051975 公开了源于嗜碱的芽孢杆菌属菌种 AM-001 的碱性 $\beta$ -甘露聚糖酶。一种可用于漂白纸浆和纸的源于解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的纯化的甘露聚糖酶及其制备方法公开于 WO 97/11164 中。WO91/18974 描述了在极端 pH 和温度下具有活性的半纤维素酶诸如葡聚糖酶、木聚糖酶或甘露聚糖酶。WO 94/25576 公开了一种显示出甘露聚糖酶活性、源于棘孢曲霉 CBS 101.43 的酶，其可用于植物或藻类细胞壁物质的降解或修饰。WO 93/24622 公开了可用于漂白木素纤维素纸浆、从木霉属 *Trichoderma reseei* 分离的甘露聚糖酶。一种能降解含甘露聚糖半纤维素的半纤维素酶描述于 WO91/18974 中，一种纯化的源于解淀粉芽孢杆菌的甘露聚糖酶公开于 WO97/11164 中。

具体地说，这种甘露聚糖酶将是如下定义的碱性甘露聚糖酶，最优选是源于细菌源的甘露聚糖酶。特别是，本发明的洗衣用洗涤剂组合物将包括选自源于菌株芽孢杆菌属 *Bacillus agaradherens* 和/或枯草芽孢杆菌菌株 168，基因 yght 的甘露聚糖酶的碱性甘露聚糖酶。

术语“碱性甘露聚糖酶”是指包括在指定的 7 到 12、优选 7.5 到 10.5 的 pH 范围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。

最优选本发明的洗衣用洗涤剂组合物包括源于芽孢杆菌属 *Bacillus agaradherens* 的碱性甘露聚糖酶。所述甘露聚糖酶为：

- i) 一种由 *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482 产生的多肽，或
- ii) 一种包括在 SEQ ID NO:2 的位置 32-343 中所示的氨基酸序列的多肽，或

iii) 一种在 i) 或 ii) 中定义的多肽的类似物，其至少 70% 与所述多肽同源；或者是通过一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加而源于所述多肽；或能与由针对所述纯化形式的多肽产生的多克隆抗体起免疫反应。

5 本发明也包括具有甘露聚糖酶活性的选自下列的分离的多肽：

(a) 编码具有甘露聚糖酶活性的多肽并包括如 SEQ ID NO:1 中核苷酸 97 到核苷酸 1029 所示的核苷酸序列的多核苷酸分子；

(b) (a) 的物种同系物；

10 (c) 编码一种具有甘露聚糖酶活性、其至少 70% 与 SEQ ID NO:2 中的氨基酸残基 32 到 343 的氨基酸序列相同的多肽的多核苷酸分子；

(d) 与 (a)、(b) 或 (c) 互补的分子；和

(e) (a)、(b)、(c) 或 (d) 的简并核苷酸序列。

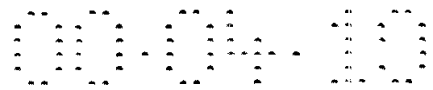
15 包括编码本发明的甘露聚糖酶的多核苷酸分子 (DNA 序列) 的质粒 pSJ1678 已经被转化成一种大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的菌株，本发明者根据国际承认用于专利程序的微生物保藏布达佩斯条约，在德意志微生物保藏中心 (DSM) (德意志联邦共和国，Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig)，于 1998 年 5 月 18 日对该菌株进行了保藏，保藏号为 DSM 12180。

20 第二种最优选的酶是源于枯草芽孢杆菌菌株 168 的甘露聚糖酶，该甘露聚糖酶：

i) 通过 SEQ ID NO:5 所示的 DNA 序列的编码部分或所述序列的类似物被编码和/或

ii) 包括如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列的多肽或

25 iii) 一种在 ii) 中定义的多肽的类似物，其至少 70% 与所述多肽同源；或者是通过一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加而源于所述多肽，或能与由针对所述纯化形式的多肽产生的多克隆抗体起免疫反应。



本发明也包括具有甘露聚糖酶活性的选自下列的分离的多肽：

(a) 编码具有甘露聚糖酶活性的多肽并包括如 SEQ ID NO:5 中所示的核苷酸序列的多核苷酸分子；

(b) (a)的物种同系物；

5 (c) 编码一种具有甘露聚糖酶活性、其至少 70%与 SEQ ID NO:6 中的氨基酸序列相同的多肽的多核苷酸分子；

(d) 与(a)、(b)或(c)互补的分子；和

(e) (a)、(b)、(c)或(d)的简并核苷酸序列。

10 定义

在更详细地讨论本发明之前，首先定义下列术语：

术语“直向同源物(ortholog)”(或“物种同系物”)是指从一个物种获得的、与来自不同物种的类似多肽或蛋白质具有同源性的多肽或蛋白质。

15 术语“共生同源物(paralog)”是指从一指定物种获得的、与来自相同物种的不同多肽或蛋白质具有同源性的多肽或蛋白质。

术语“表达载体”是指线性或环状的 DNA 分子，其包括一个编码可操作性连接到另一提供其转录的片段上的目标多肽的片段。这种另外的片段可包括启动子和终止子序列，并且可任选包括一个或多个复制起点、一个或多个选择性标记、一个增强子、一个聚腺苷酸化信号等。表达载体一般源于质粒或病毒 DNA 或可包括两者的要素。本发明的表达载体可以是任何方便地进行重组 DNA 方法的表达载体，并且载体的选择通常取决于载体被导入的宿主细胞。因此，所述载体可以是一个自主复制载体，即作为染色体外的实体存在的载体，其复制独立于染色体复制，如质粒。或者，所述载体可以为在导入至宿主细胞时整合入宿主细胞基因组并与已被整合的染色体一起复制的载体。

20

25

此中连同多肽或蛋白质的表达一起使用的术语“重组体表达的”

或“重组表达的”采用本领域的标准定义进行定义。蛋白质的重组表达一般通过使用刚在上面所述的表达载体进行。

5 当用于多核苷酸分子时，术语“分离的”是指多核苷酸从其自然的遗传环境移出，并因此不含其它外来的或不需要的编码序列，并且为适用于基因工程蛋白质生产系统内的形式。这种分离的分子是从其自然环境分离并且包括 cDNA 和基因组克隆的分子。本发明的分离的 DNA 分子没有其它与其正常联系的基因，但可能包括自然存在的 5' 和 3' 非翻译区诸如启动子和终止子。本领域技术人员均熟悉相关区的鉴定(参见例如 Dynan 和 Tijan 在 1985 年 Nature 316:774-10 778 的文章)。

术语“分离的多核苷酸”也可称为“克隆的多核苷酸”。当应用于蛋白质/多肽时，术语“分离的”是指非自然环境条件下发现的蛋白质。在一种优选的形式中，分离的蛋白质基本上没有其它蛋白质、特别是其它同源蛋白质(即“同源杂质”(参见下述内容))。优选提供 15 40%以上纯度形式、更优选 60%以上纯度形式的蛋白质。甚至更优选最好提供高纯度形式的蛋白质，即 80%以上纯度、更优选 95%以上纯度、甚至更优选 99%以上纯度的蛋白质(纯度通过 SDS-PAGE 测定)。

术语“分离的蛋白质/多肽”也可称为“纯化的蛋白质/多肽”。

20 术语“同源杂质”是指来源于最初获得本发明的多肽来源的同源细胞的杂质(例如本发明的多肽以外的另一种多肽)。

与具体微生物源有关的此中所用的术语“获得自”是指由具体源或者来自所述源的基因已被插入的细胞产生的多核苷酸和/或多肽。

25 当涉及 DNA 片段时，术语“可操作连接”是指将所述片段排列成按所预期的目的起作用，例如从启动子开始转录并通过编码片段进行直到终止子。

术语“多核苷酸”是指一种从 5' 端向 3' 端阅读的脱氧核苷酸或核苷酸碱基的单链或双链聚合物。多核苷酸包括 RNA 和 DNA，

并且可以从天然源分离、体外合成或从天然和合成分子的组合来制备。

5 术语“多核苷酸分子的互补物”是指具有互补的碱基序列的多核苷酸分子并且与参照的序列成反向配对的多核苷酸分子。例如序列 5' ATGCACGGG3' 与 5' CCCGTGCAT3' 互补。

术语“简并的核苷酸序列”是指包括一个或多个简并密码子的核苷酸序列(与编码多肽的参照多核苷酸分子比较)。简并密码子包含不同的核苷酸三联体,但编码同样的氨基酸残基(即 GAU 和 GAC 三联体各自编码 Asp)。

10 术语“启动子”是指包含提供 RNA 聚合酶的结合和转录的起始的 DNA 序列的基因的一部分。启动子序列通常(但不总是)出现在基因的 5' 非编码区。

15 术语“分泌信号序列”是指一个编码多肽(“分泌肽”)的 DNA 序列,其作为较大分子多肽的一个组分引导所述较大分子多肽通过将其合成的细胞分泌途径。在通过分泌途径转运中,大分子肽通常被裂解除去所述分泌肽。

#### 如何使用本发明的序列来获取另外相关的序列

20 此中所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资料可用作验证其它同系甘露聚糖酶的工具。例如,聚合酶链反应(PCR)可用于扩增编码来自各种微生物源、特别是不同芽孢杆菌菌种的其它同系甘露聚糖酶的序列。

#### 活性测试分析

25 具有甘露聚糖酶活性的本发明的多肽可按照本领域已知的标准测定方法进行甘露聚糖酶活性测定,例如将待测溶液置于在含 0.2%AZCL 半乳甘露聚糖(角豆树)的琼脂板上钻出的 4 毫米直径的孔中,即置于供测定可以以每 3 克 110.00 美元从 Megazyme 公司购置的内-1,4-β-D-甘露聚糖酶(Cat NO. 1-AZGMA)的底物中(Megazyme 的



互联网网址为：<http://www.megazyme.com/Purchase/index.html>。

### 多核苷酸

5 本发明分离的多核苷酸会在至少中度严格的条件下杂交到 SEQ ID No: 1 的类似大小的区域或互补于该区域的序列。

本发明的多核苷酸可在至少中等严格的条件下、但优选在如下详述的高度严格的条件下具体杂交到包括在 SEQ ID NO:1 的 97-1029 位中所示的全长序列的变性双链 DNA 探针上或任何包括至少约 10 个碱基对的长度的 SEQ ID NO: 1 的亚序列的探针中。测定在中度或  
10 高度严格的条件下核苷酸探针和同源 DNA 或 RNA 序列之间的杂交的适合实验条件包括含 DNA 片段或 RNA 的滤膜的预浸泡，以便在  $5 \times \text{SSC}$  (氯化钠/柠檬酸钠, Sambrook 等人, 1989) 中杂交 10 分钟和滤膜在  $5 \times \text{SSC}$ 、 $5 \times \text{Denhardt}'\text{s}$  溶液(Sambrook 等人, 1989)、0.5%SDS 和 100 微克/毫升变性超声的鲑精 DNA(Sambrook 等人, 1989)的溶液  
15 中预杂交,接着在约  $45^\circ\text{C}$  下、在包含 10 纳克/毫升随机引物的(Feinberg, A.P.和 Vogelstein, B. (1983), Anal. Biochem. 132:6-13)、 $^{32}\text{P}$ -dCTP-标记的(比活性高于  $1 \times 10^9 \text{cpm}/\mu\text{g}$ )探针的相同溶液中杂交 12 小时。然后将滤膜在  $2 \times \text{SSC}$ 、0.5%SDS 中在至少  $60^\circ\text{C}$  (中度严格)、更优选至少  $65^\circ\text{C}$  (中/高度严格)、甚至更优选至少  $70^\circ\text{C}$  (高度严格)、和还更优选至少  $75^\circ\text{C}$  (非常高度严格)下洗涤两次 30 分钟。  
20

在这些条件下寡核苷酸探针杂交的分子采用 X 光片检测。

正如前面所述, 本发明分离的多核苷酸包括 DNA 和 RNA。分离 DNA 和 RNA 的方法为本领域人员所熟悉。编码目标基因的 DNA 和 RNA 可通过本领域人员已知的方法在基因库或 DNA 文库中克隆。

25 然后将编码具有本发明的甘露聚糖酶活性的多肽的多核苷酸通过例如杂交或 PCR 进行鉴定和分离。

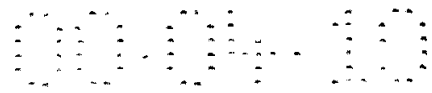
本发明还提供了来自不同的细菌菌株的对应多肽和多核苷酸(直向同源物或共生同源物)。特别有意义的是来自革兰氏染色阳性的噬

碱菌株，包括芽孢杆菌菌种的甘露聚糖酶多肽。

5 具有本发明的甘露聚糖酶活性的多肽的物种同源物可使用通过本发明提供的资料和组成以及常规的克隆技术来克隆。例如，本发明的 DNA 序列可使用从表达蛋白质的细胞类型获得的染色体 DNA 克隆。适合的 DNA 源可通过由此中公开的序列设计的探针探测 RNA 印迹来鉴定。然后从阳性细胞系的染色体 DNA 制备文库。然后可通过各种方法来分离编码具有甘露聚糖酶活性的多肽的本发明的 DNA 序列，诸如通过用由本说明书和权利要求书中公开的序列设计的探针探测或用一套或多套基于所公开的序列的简并探针探测。本发明的 DNA 序列也可使用聚合酶链反应即 PCR(Mullis, 美国专利 10 4683202)、使用由此中公开的序列设计的引物克隆。在另外的方法中，DNA 文库可用于转化或转染宿主细胞，并且目标 DNA 的表达如在材料和方法以及实施例 1 中所述的那样可用针对从 *B. agaradherens* NCIMB 40482 克隆、表达和纯化的甘露聚糖酶产生的抗体(单克隆或多克隆)来检测，或者通过涉及具有甘露聚糖酶活性的多肽的活性测试来检测。

20 编码部分克隆到存在于大肠杆菌 DSM 12180 中的质粒 pSJ1678 的 DNA 序列和/或本发明的类似 DNA 序列的甘露聚糖酶可从产生具有甘露聚糖降解活性的酶的细菌菌种 *Bacillus agaradherens* 的菌株克隆、优选从菌株 NCIMB 40482 克隆，或从如此中所述的另外的或相关的生物克隆。

25 或者，类似的序列可在从存在于大肠杆菌 DSM 12180 的质粒获得的 DNA 序列(相信其与所附的 SEQ ID NO:1 相同)的基础上构建，例如为其一亚序列，和/或通过导入不会产生由 DNA 序列编码的甘露聚糖酶的另一氨基酸序列、但其相当于将进行所述酶生产的宿主生物的密码子用途的核苷酸置换来构建，或通过导入可产生不同氨基酸序列(即本发明的甘露聚糖降解酶的变体)的核苷酸置换来构建。



## 多肽

SEQ ID NO:2 的 32 到 343 位的氨基酸序列是一成熟的甘露聚糖酶序列。

5 本发明也提供基本上与 SEQ ID NO:2 的多肽和其物种同系物(共生同源物或直向同源物)同源的甘露聚糖酶多肽。术语“基本上同源的”此中用来指具有 70%、优选至少 80%、更优选至少 85%、甚至更优选至少 90% 的序列与 SEQ ID NO:2 的氨基酸 32 到 343 位中所示的序列或其直向同源物或共生同源物相同的多肽。这些多肽更优选至少 95%、最优选 98% 或以上与 SEQ ID NO:2 的氨基酸 32 到 343 位  
10 中所示的序列或其直向同源物或共生同源物相同。序列等同性百分比借助于本领域已知的电脑程序通过常规方法测定，诸如借助于如其完整地通过引用并入本文的 Needleman, S. B. 和 Wunsch, C. D. 在 1970 年 Journal of Molecular Biology, 48, 443-453 页中所公开的，在 GCG 程序包(Program Manual for the Wisconsin Package, Version 8, August 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711) 中提供的 GAP 来进行。使用 GAP 时采用下列设置进行多肽序列比较：3.0 的 GAP 生成补偿(creation penalty)和 0.1 的 GAP 扩张补偿(extension penalty)。

20 多核苷酸分子的序列等同性使用 GAP 通过类似方法测定，其 GAP 采用下列设置进行 DNA 序列比较：5.0 的 GAP 生成补偿和 0.3 的 GAP 扩张补偿。

本发明的酶制剂优选来源于微生物，最好是来源于细菌、archaea 或真菌，特别是来源于细菌诸如属于芽孢杆菌属的细菌、优选属于嗜碱芽孢杆菌菌株的细菌，所述嗜碱芽孢杆菌菌株选自 *Bacillus agaradherens* 菌种和高度相关的芽孢杆菌菌株，在所述高度相关的芽孢杆菌菌种中所有菌种优选至少 95%、甚至更优选至少 98% 在线状  
25 16S rDNA 序列上与 *Bacillus agaradherens* 同源。

基本上同源的蛋白质和多肽的特征在于具有一个或多个氨基酸置

换、缺失或添加。这些变化优选为微小性质的变化，它是保守性氨基酸置换(参见表 2)和不显著影响蛋白质或多肽的折叠或活性的其它置换；小的缺失(一般 1 - 约 30 个氨基酸的缺失)和小的氨基或羧基末端的延伸，诸如氨基末端的蛋氨酸残基、一个多至约 20 到 25 个残基的小连接肽或便于提纯的小的延伸(一种亲和标记物)诸如聚组氨酸段、蛋白质 A(Nilsson 等人, EMBO J 4:1075, 1985; Nilsson 等人, Methods Enzymol. 198:3, 1991)。总的来说参见通过引用并入本文的 Ford 等人在 Protein Expression and Purification 2:95-107, 1991 中的文章。编码亲和标记物的 DNA 可从供应商(例如 Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ; New England Biolabs, Beverly, MA)处购买。

但是，即使上述的变化优选为小的性质的变化，这种变化也可能是较大性质的变化，诸如作为氨基或羧基末端延伸至 300 个氨基酸或以上的较大多肽与本发明的甘露聚糖酶多肽的融合。

15

表 1

保守性氨基酸的置换

碱性	精氨酸、赖氨酸、组氨酸
酸性	谷氨酸、天冬氨酸
极性	谷氨酰胺、天冬酰胺
疏水性	亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸
芳族	苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸
小分子	甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、蛋氨酸

20

除了 20 个标准氨基酸外，非标准氨基酸(诸如 4-羟基脯氨酸、6-N-甲基赖氨酸、2-氨基异丁酸、异缬氨酸和  $\alpha$ -甲基丝氨酸)也可置换按照本发明的多肽的氨基酸残基。有限数量的非保守性氨基酸、没有被遗传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”已在蛋白质合成后修饰，和/或在其侧链上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可购买，

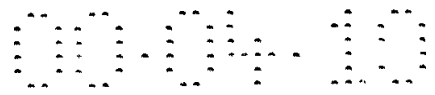
25

包括 2-嘧啶酸、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必需氨基酸可按照本领域人员已知的方法鉴定，诸如用定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham 和 Wells, Science 244: 1081-1085, 1989)。在后一种技术中，单丙氨酸突  
 5 变在分子的每个残基中导入，得到的突变分子进行生物活性(即甘露聚糖酶活性)测试以鉴定氨基酸残基，其对分子活性是重要的。也参见 Hilton 等人在 1996 年的 J. Biol. Chem. 271:4699-4708 中的文章。所述酶的活性位点或其它生物相互作用也可通过连同推定的接触位  
 10 点氨基酸的突变进行的结构的物理分析来测定，诸如通过像核磁共振、结晶学、电子衍射或光亲和标记等技术来测定。也参见例如 de Vos 等人在 1992 年 Science 255: 306-312, 1992 的文章；Smith 等人在 1992 年 J. Mol. Biol. 224:899-904 的文章；Wlodaver 等人在 1992 年 FEBS Lett. 309:59-64 中的文章。必需氨基酸的鉴定也可通过采用与按照本发明的多肽相关的多肽的同系物的分析推断。  
 15

可进行多个氨基酸置换并使用已知的诱变、重组和/或改组的方法并接着相关的筛选方法诸如由 Reidhaar-Olson 和 Sauer (Science 241:53-57, 1988)、Bowie 和 Sauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-2156, 1989)、WO95/17413 或 WO95/22625 公开的方法来测试。简要  
 20 地说，这些作者公开了用于同时随机选出两个或多个多肽上的位置、或不同突变的重组/改组(WO95/17413、WO95/22625)并接着选择多肽的功能、然后测序经诱变的多肽以测定每个位置可容许置换的范围的方法。其它可用的方法包括噬菌体展示(例如 Lowman 等人, Biochem. 30:10832-10837, 1991; Ladner 等人的美国专利号 5223409; Huse, WIPO  
 25 Publication WO 92/06204)和区域(region-directed)诱变(Derbyshire 等人, Gene 46:145, 1986; Ner 等人, DNA 7:127, 1988)。

如上公开的诱变/改组方法可与高流通量、自动筛选方法相结合来测定宿主细胞中克隆的、诱变处理的多肽的活性。编码活性多肽



的诱变处理的 DNA 分子可从宿主细胞回收，并使用现代仪器设备快速测序。这些方法可快速确定单个氨基酸残基在目标多肽中的重要性并可应用于未知结构的多肽。

5 使用上面讨论的方法，本领域技术人员可鉴定和/或制备各种基本上与 SEQ ID NO:2 的残基 32 到 343 同源并且保留野生型蛋白质的甘露聚糖酶活性的多肽。

### 蛋白质生产

10 本发明的蛋白质和多肽(包括全长蛋白质、其片段和融合蛋白)可按照常规的技术在遗传工程用宿主细胞中生产。适合的宿主细胞是可用外源 DNA 转化或转染并在培养基中生长的细胞类型，并且包括细菌、真菌细胞和培养的较高级的真核细胞。优选细菌细胞、特别是革兰氏阳性生物的培养细胞。特别优选来自芽孢杆菌属的革兰氏阳性细胞，诸如来自枯草芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)、短芽孢杆菌(*Bacillus brevis*)、嗜热脂肪芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alkalophilus*)、解淀粉芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)、环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)、灿烂芽孢杆菌(*Bacillus lautus*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和 *Bacillus agaradherens* 的细胞，特别是来自  
15 *Bacillus agaradherens* 的细胞。  
20

操作克隆的 DNA 分子和将外源 DNA 导入各种宿主细胞的技术公开于通过引用并入本文的 Sambrook 等人的分子克隆：试验指南，第二版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; Ausubel 等人(编辑), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987; 和“枯草芽孢杆菌及其它革兰氏阳性菌”，Sonensheim 等人，1993, American Society for Microbiology, Washington D. C 中。  
25

一般来说，编码本发明的甘露聚糖酶的 DNA 序列可操作性连接

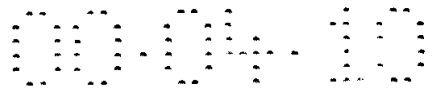
5 到其表达所需的其它遗传成分上，这种遗传成分一般包括在表达载体内的转录启动子和终止子。所述载体也通常包含一个或多个选择性标记和一个或多个复制起点，尽管本领域技术人员会认识到在某些系统内选择性标记可以在分开的载体上提供，并且外源 DNA 的复制可由整合提供到宿主细胞基因组。启动子、终止子、选择性标记、载体和其它成分的选择是本领域技术人员水平内的常规设计的事情。许多这种成分描述于文献中并且可通过供应商获得。

10 为将多肽导入到宿主细胞的分泌途径，分泌信号序列(也称为前导序列、前序列或预序列)在表达载体中提供。所述分泌信号序列可以是所述多肽的序列或者可以源于另一分泌蛋白质或从头合成。各种适合的分泌信号序列为本领域人员所熟悉，并可参照“枯草芽孢杆菌及其它革兰氏阳性菌”，Sonensheim 等人，1993, American Society for Microbiology, Washington D.C.和 Cutting. S. M. (编辑)“Molecular Biological Methods for Bacillus”，John Wiley and Sons, 1990 有关适合的分泌信号序列、特别是有关在芽孢杆菌属宿主细胞中分泌的进一步的描述。将分泌信号序列以正确读框结合到 DNA 序列中。尽管某些信号序列可以定位在目标 DNA 序列的其它位置，但是分泌信号序列通常被在 5' 位定位在编码目标多肽的 DNA 序列中(参见例如 Welch 等人的美国专利号 5037743 ;Holland 等人的美国专利号 5143830)

15

20 中。

25 转化或转染的宿主细胞按照常规的方法在包含养分和所选宿主细胞生长所需的其它组分的培养基中培养。各种适用的培养基(包括所定义的培养基和复合培养基)为本领域人员所熟悉，并且一般包括碳源、氮源、必需氨基酸、维生素和矿物质。如需要，培养基也可包含诸如生长因子或血清等组分。一般所述生长培养基选择包含外源添加的 DNA 的细胞，例如通过药物选择或通过基本养分的缺乏，所述基本养分通过在表达载体上携带的选择性标记或共转染到宿主细胞来补充。



## 蛋白质分离

当所表达的重组多肽被分泌时，所述多肽可从生长培养基中提纯。优选在所述多肽提纯前从培养基去除表达宿主细胞(例如通过离心)。

5 当所表达的重组多肽没有从宿主细胞分泌时，优选将宿主细胞破裂并且将多肽释放到水“提取物”中，这是这种提纯技术的第一阶段。优选在细胞破裂前，从培养基收集表达宿主细胞(例如通过离心)。

10 细胞裂解可通过常规的技术诸如通过溶菌酶消化或使细胞通过高压来进行。这种细胞破裂技术的进一步描述可参见(Robert K. Scobes 的 Protein Purification, 第二版, Springer-Verlag)。

无论所表达的重组多肽(或嵌合多肽)是否分泌，其均可使用分级分离和/或常规的提纯方法和介质进行纯化。

15 硫酸铵沉淀和酸或离液剂提取可用于样品的分级分离。提纯步骤的例子可包括羟基磷灰石、空间排阻、FPLC 和反相高效液相色谱。适合的阴离子交换介质包括衍生葡聚糖、琼脂糖、纤维素、聚丙烯酰胺、特殊性能硅石等。优选 PEI、DEAE、QAE 和 Q 衍生物，特别  
20 优选 DEAE 快速琼脂糖凝胶(可购自 Pharmacia, Piscataway, NJ)。层析介质包括由苯基、丁基或辛基衍生的介质，诸如苯基-琼脂糖 FF (Pharmacia)、Toyopearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA)、辛基-琼脂糖(Pharmacia)等；或聚丙烯酸树脂，诸如 Amberchrom CG 71 (Toso Haas)等。适合的固体载体包括玻璃珠、硅石基树脂、纤维素树脂、琼脂糖珠、交联琼脂糖珠、聚苯乙烯珠、交联聚丙烯酰胺树脂等，它们在使用条件下是不溶的。这些载体可用活性基团改性从而  
25 使得可通过氨基、羧基、巯基、羟基和/或糖部分与蛋白质连接。偶联化学的例子包括溴化氰活化、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胺偶联化学的羧基和氨基衍生物。这些及其它固体介质为人们所熟悉并且广泛用于本领域，而且可从供应商处购置。

具体方法的选择为常规设计的事情并且部分取决于所选载体的性质。参见例如 1988 年 Pharmacia LKB Biotechnology (瑞典, Uppsala) 的《亲和色谱：原理和方法》一书。

5 本发明的多肽或其片段也可通过化学合成制备。本发明的多肽可以是单体或多聚体、糖基化或非糖基化、pegylated 或 non-pegylated；并可包括或不包括起始蛋氨酸氨基酸残基。

基于此中公开的序列资料，可克隆编码本发明的甘露聚糖酶和包括 SEQ ID NO:1 所示的 DNA 序列的全长 DNA 序列，至少是 97 位到 1029 位的 DNA 序列。

10 克隆通过本领域人员熟悉的标准方法进行，诸如通过：

- 从芽孢杆菌属菌株、特别是 *B. agaradherens*, NCIMB 40482 菌株制备基因组库；

- 将这种组库接种在合适的底物板上；

15 - 使用基于 SEQ ID NO:1 的探针通过标准杂交技术鉴定包括本发明的多核苷酸序列的克隆；或通过

- 使用基于来自 SEQ ID NO:1 序列资料的引物通过反向 PCR 策略鉴定来自所述 *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 基因组库的克隆。有关反向 PCR 的更详尽资料可参照 M. J. MCPerson 等人的“PCR A Practical approach”，Information Press Ltd., Oxford England。

20 基于此中公开的序列(SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2)资料，本领域技术人员的一项常规工作是使用来自相关微生物的基因组库、特别是使用来自芽孢杆菌属其它菌株诸如芽孢杆菌属嗜碱菌种的基因组库，通过类似的策略分离编码本发明的同系甘露聚糖酶的同系多核苷酸序列。

25 或者，编码本发明的甘露聚糖或半乳甘露聚糖降解酶的 DNA 可通过使用基于从存在于大肠杆菌 DSM 12180 中的质粒获得的 DNA 序列制备的合成寡核苷酸探针按照众所周知的方法方便地从适合的源诸如上述的任何生物来克隆。

因此，本发明的多核苷酸分子可从大肠杆菌 DSM 12180 中分离，其中通过如上述那样克隆获得的质粒被沉积。本发明也涉及菌株大肠杆菌 DSM 12180 的分离的基本纯的生物培养物。

5 在本发明说明书中，术语“酶制剂”用于指可能从单种微生物经分离和纯化的常规酶发酵产品，这种制剂通常包括各种不同酶活性物；或者是指单成分酶的混合物、优选通过使用常规重组技术从细菌或真菌菌种获得的酶的混合物，所述酶已经发酵并可能经分别分离和纯化，并且其可能源于不同的菌种、优选源于真菌或细菌；或者是指用作重组甘露聚糖酶表达的宿主细胞的微生物的发酵产物，  
10 但所述微生物同时产生作为所述微生物自然发生的发酵产物的其它酶如果胶降解酶、蛋白酶或纤维素酶，即常规由相应天然微生物产生的酶复合物。

此中还涉及一种制备本发明的酶制剂的方法，所述方法包括培养能在允许酶生产的条件下产生甘露聚糖酶的微生物如野生型菌株并从培养基回收所述酶。培养可使用常规的发酵技术来进行，例如在  
15 摇瓶中培养或者在具搅拌以确保在诱导产生甘露聚糖酶的生长培养基中足够的通气的发酵罐中培养。所述生长培养基可包含常规的 N 源诸如蛋白胨、酵母提取物或酪蛋白氨基酸，减量的常规 C 源诸如右旋糖或蔗糖和诱导物诸如瓜耳胶或刺槐豆胶。所述回收可使用常  
20 规技术进行，例如通过离心或过滤进行生物质和上清液的分离、上清液的回收或细胞的破裂(如果目标酶在细胞内)、或许接着如 EP 0406314 中所述的进一步提纯或接着如 WO 97/15660 中所述结晶。

#### 免疫交叉反应性

25 用于测定免疫交叉反应性的多克隆抗体可通过使用经提纯的甘露聚糖酶来制备。更准确地说，抗本发明的甘露聚糖酶的抗血清可按照 N. Axelsen 等人在 1973 年由 Blackwell Scientific Publications 出版的 A Manual of Quantitative Immunoelectrophoresis 的第 23 章中所述

方法或按照 A. Johnstone 和 R. Thorpe 在 1982 年由 Blackwell Scientific Publications 出版的 *Immunochemistry in Practice* (更具体地说在 27 到 31 页)中的所述方法免疫接种兔子(或其它啮齿动物)来产生。提纯的免疫球蛋白可例如通过盐沉淀( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ )、接着透析和例如在 DEAE-葡聚糖凝胶上离子交换层析来从抗血清中获得。蛋白质的免疫化学鉴定可通过 Outcherlony 双向扩散分析 [O. Ouchterlony 的 *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir 编辑), Blackwell Scientific Publications, 1967, 655-706 页]、通过交叉免疫电泳 (N. Axelsen 等人, 上文第 3 和 4 章) 或通过火箭免疫电泳 (N. Axelsen 等人, 第二章) 进行。

5

10

可用于生产本发明的酶或酶制剂的有用的细菌的例子有革兰氏阳性细菌, 优选来自芽孢杆菌/乳杆菌亚门, 优选来自芽孢杆菌属的菌株、更优选来自 *Bacillus agaradherens* 的菌株、特别是菌株 *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482。

15

本发明包括具有上述性质的分离的甘露聚糖酶, 它没有同系杂质并且可使用常规的重组技术生产。

#### 甘露聚糖酶催化活性(ManU)的测定

20

比色法测定: 底物: 来自角豆树的 0.2% AZCL-半乳甘露聚糖 (Megazyme, Australia) 在 0.1 M 甘氨酸缓冲液中的溶液, 缓冲液 pH 为 10.0。测定在一台具搅拌并温控在 40℃ 的热混合器上于 1.5 毫升 Eppendorf 微量管中进行。将 0.750 毫升底物与 0.05 毫升酶一起孵育 20 分钟, 然后在 15000 rpm 下离心 4 分钟来终止。将上清液在 1 厘米比色杯中在 600 纳米波长下比色。在 1 厘米比色杯中一个 ManU (甘露聚糖酶单位) 具有 0.24 的吸光度。

25

*Bacillus agaradherens* 甘露聚糖酶 NCIMB 40482 的 obtention

菌株

*Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 包含编码甘露聚糖酶的 DNA

序列。

大肠杆菌菌株：制备大肠杆菌 SJ2 细胞并使用一台购自 BIO-RAD 的 Gene Pulser™ 电穿孔仪按供应商所述通过电穿孔进行转化 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjöholm, C. (1990) 编码  $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶---一种来自短芽孢杆菌的胞外酶的 aldB 的克隆, J. Bacteriol., 172, 4315 到 4321 页)。

枯草芽孢杆菌 PL2306：该菌株是具破裂的 apr 和 npr 基因的枯草芽孢杆菌 DN1885 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjöholm, C. (1990) 编码  $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶---一种来自短芽孢杆菌的胞外酶的 aldB 的克隆, J. Bacteriol., 172, 4315 到 4321 页), 它在已知的枯草芽孢杆菌纤维素酶基因的转录单位中破裂, 产生纤维素酶阴性的细胞。所述破裂基本上按照 A.L.Sonenshein, J.A. Hoch 和 Richard Losick 在 1993 年编的 *Bacillus subtilis* and other Gram-Positive Bacteria, American Society for Microbiology 618 页中的所述来进行。

如 Yasbin, R. E., Wilson, G. A 和 Young, F. E 在 1975 年 J. Bacteriol. 121:296-304 中的文章 “Transformation and transfection in lysogenic strains of *Bacillus subtilis*: evidence for selective induction of prophage in competent cells” 中的所述制备和转化感受态细胞。

20 质粒

pSJ1678 (如其全文通过引用并入本文的 WO 94/19454 中的详尽说明)

25 pMOL944：这种质粒是一种 pUB110 衍生物，主要包含使所述质粒可在枯草芽孢杆菌中繁殖的元件、卡那霉素抗性基因并且具有强启动子和从地衣芽孢杆菌 ATCC 14580 的 amyL 基因克隆的信号肽。这种信号肽包含一个使其便于克隆编码与该信号肽融合的蛋白质成熟部分的 DNA 的 SacII 位点。这导致一种导向细胞外表的蛋白质前体的表达。

所述质粒借助于常规的基因工程技术构建，其简述如下：



pMOL944 的构建：

将 pUB110 质粒(McKenzie, T.等人, 1986, Plasmid 15:93-103)用单一限制酶 NciI 消化。将从在质粒 pDN1981 (P. L. Jorgensen 等人, 1990, Gene, 96, 37-41 页)上编码的 amyL 启动子扩增的 PCR 片段用 NciI 消化并插入到 NciI 消化的 pUB110 中而形成质粒 pSJ2624。

所用的两种 PCR 引物具有下列序列：

```
#LWN5494 5'-  
GTCGCCGGGGCGGCCGCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC -3'  
#LWN5495 5'-  
GTCGCCCCGGGAGCTCTGATCAGGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAA  
TGAGGCAGCAAGAAGAT -3'
```

所述引物#LWN5494 插入到所述质粒的 NotI 位点。

然后将质粒 pSJ2624 用 SacI 和 NotI 消化，并将在质粒 pDN1981 上编码的 amyL 启动子扩增的一个新 PCR 片段用 SacI 和 NotI 消化，并将这个 DNA 片段插入到 SacI-NotI 消化的 pSJ2624 中形成质粒 pSJ2670。

用相同启动子但以反向以该克隆替代第一个 amyL 启动子克隆。用于 PCR 扩增的两种引物具有下列序列：

```
#LWN5938 5'-  
GTCGGCGGCCGCTGATCACGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAATG  
AGGCAGCAAGAAGAT -3'  
#LWN5939 5'-GTCGGAGCTCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC -3'
```

然后将质粒 pSJ2670 用限制酶 PstI 和 BclI 消化，并将从编码碱性淀粉酶 SP722 (公开于其全文通过引用并入本文的国际专利申请 WO95/26397 中)的克隆的 DNA 序列扩增的一个 PCR 片段用 PstI 和 BclI 消化并插入而形成质粒 pMOL944。用于 PCR 扩增的两种引物具有下列序列：

#LWN7864 5'-AACAGCTGATCACGACTGATCTTTTAGCTTGGCAC-3'

#LWN7901 5'-AACTGCAGCCGCGGCACATCATAATGGGACAAATGGG-3'

引物#LWN7901 插入到所述质粒的一个 SacII 位点。

从 *Bacillus agaradherens* 进行甘露聚糖酶基因的克隆

5 基因组 DNA 的制备：

按 WO94/01532 中的所述在液体培养基中繁殖菌株 *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482。在 30℃ 和 300 rpm 下孵育 16 小时后，收获细胞并通过 Pitcher 等人所述的方法(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 到 156 页)分离基因组 DNA。

构建基因组库：

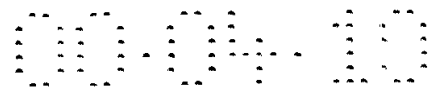
15 将基因组 DNA 用限制酶 Sau3A 部分消化并在 0.7% 琼脂糖凝胶上通过电泳大小分级。将大小在 2 到 7 kb 之间的片段在 DEAE-纤维素纸上通过电泳分离(Dretzen. G., Bellard, M., Sassone-Corsi, P., Chambon, P. (1981)。一种可靠的从琼脂糖和丙烯酰胺凝胶回收 DNA 片段的方法, Anal Biochem., 112, 295-298 页)。

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

20

阳性克隆的鉴定

25 将在大肠杆菌中如上述构建的 DNA 文库在含 0.2%AZCL-半乳甘露聚糖(Megazyme)和 9 微克/毫升氯霉素的 LB 琼脂平板上筛选，并在 37℃ 孵育过夜。表达甘露聚糖酶活性的克隆显示出蓝色扩散的晕圈。通过 Qiagen 质粒 spin preps 由 1 毫升过夜培养液分离来自这些克隆之一的质粒 DNA(用 9 微克/毫升氯霉素和在 250 rpm 摇动下在 TY 中 37℃ 孵育细胞)。



该克隆(MB525)通过克隆的 *Sau3A* DNA 片段的 DNA 测序进一步鉴定。DNA 测序通过使用 Taq 脱氧终止循环测序试剂盒(Perkin-Elmer, 美国)、荧光标记的终止子和适合的作为引物的低聚核苷酸引物步移(primerwalking)来进行。

5 序列数据的分析按照 Devereux 等人在 1984 年的 *Nucleic Acids Res.*, 12, 387 到 395 页中所述的方法进行。编码甘露聚糖酶的序列在 SEQ ID NO:1 中显示。衍生的蛋白质序列显示于 SEQ ID NO:2 中。

甘露聚糖酶在枯草芽孢杆菌中的亚克隆和表达：

10 本发明的编码甘露聚糖酶的 DNA 序列使用包括以下两个低聚核苷酸的 PCR 引物组来进行 PCR 扩增：

甘露聚糖酶.上游.*SacII*

5' -CAT TCT GCA GCC GCG GCA GCA AGT ACA GGC TTT TAT  
GTT GAT GG-3'

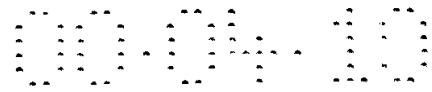
15 甘露聚糖酶.下游.*NotI*

5' -GAC GAC GTA CAA GCG GCC GCG CTA TTT CCC TAA CAT  
GAT GAT ATT TTC G-3'。

限制位点 *SacII* 和 *NotII* 在下部划线。

20 从如上所述的 *B. agaradherens* NCIMB 40482 分离的染色体 DNA 按照厂商说明在使用 *Amplitaq* DNA 聚合酶(Perkin Elmer)的 PCR 反应中用作模板。所述 PCR 反应在包含 200  $\mu$ M 的每种 dNTP、2.5 单位 *AmpliTaq* 聚合酶 (Pekin-Elmer, Cetus, 美国)和 100 pmol 的每种引物的 PCR 缓冲液(10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% (w/v)明胶)中进行。

25 所述 PCR 反应使用 DNA 循环变温加热器(Landgraf, 德国)来进行。在 94°C 孵育 1 分钟(一次)后, 进行 30 个在 94°C 下变性 30 秒钟、在 60°C 退火 1 分钟和在 72°C 延伸 2 分钟(一个循环)的 PCR 循环。取 5 微升等份的扩增产物通过在 0.7% 琼脂糖凝胶(NuSieve, FMC)上电泳进行分析。1.4 kb 大小的 DNA 片段出现表明该基因片段的适当扩增。



## PCR 片段的亚克隆

如上述产生的 45 微升等份的 PCR 产物按照生产商的说明使用 QIA 快速 PCR 纯化试剂盒(Qiagen, 美国)纯化。经提纯的 DNA 在 50 微升 pH 8.5 的 10mM Tris-HCl 中洗提。

5 将 5 微克 pMOL944 和 25 微升经提纯的 PCR 片段用 SacII 和 NotI 消化、在 0.8%低胶凝温度琼脂糖(SeaPlaque GTG, FMC)凝胶中电泳, 将相关片段从凝胶上切下并按照生产商的说明使用 QIA 快速凝胶提取试剂盒(Qiagen, 美国)纯化。然后将分离的 PCR DNA 片段连接到  
10 经 SacII-NotI 消化和提纯的 pMOL944 中。所述连接使用 0.5 微克的每种 DNA 片段、1U 的 T4 DNA 连接酶和 T4 连接酶缓冲液(Boehringer Mannheim, 德国)在 16℃ 进行过夜。

连接混合物被用于转化感受态枯草芽孢杆菌 PL2306。转化的细胞被接种在 LBPG-10 微克/毫升卡那霉素平板上。在 37℃ 孵育 18 小时后, 在平板上看到菌落。通过从过夜培养液分离质粒 DNA 分析  
15 种克隆。

一个这种阳性克隆在如上所用的琼脂平板上被重划线几次, 该克隆被称为 MB594。该克隆 MB594 在 TY-10 微克/毫升卡那霉素中在 37℃ 生长过夜, 第二天按照生产商有关枯草芽孢杆菌质粒制备的建议, 使用 Qiaprep Spin Plasmid Miniprep Kit #27106 用 1 毫升细胞从  
20 该细胞中分离质粒。对该 DNA 进行 DNA 测序和揭示相应于甘露聚糖酶的成熟部分即所附 SEQ ID NO:3 的 94-1404 位的 DNA 序列。衍生的成熟蛋白质显示于 SEQ ID NO:4 中。由于在 PCR 中所用的下游引物的设计, 由 SEQ ID NO:1 的序列编码的甘露聚糖酶的 3' 末端似乎被改变成如 SEQ ID NO:3 所示的情况。得到的氨基酸序列显示于  
25 SEQ ID NO:4 中, 并且显然 SEQ ID NO:2 的 C 末端 (SHHVREIGVQFSAADNSSGQTALYVDNVTLR) 被改变成 SEQ ID NO:4 的 C 末端(IIMLGK)。

培养基：

TY (如 Ausubel, F. M 等人(编辑), John Wiley and Sons 在 1995 年出版的 “Current protocols in Molecular Biology” 中所述)；

5 LB 琼脂(如 Ausubel, F. M 等人(编辑),John Wiley and Sons 在 1995 年出版的 “Current protocols in Molecular Biology” 中所述)；

LBPG 是补充以 0.5%葡萄糖和 0.05 M 磷酸钾(pH 7.0)的 LB 琼脂 (参见上面)。

BPX 培养基如 EP 0506780 (WO 91/09129)中所述。

10 来自 *Bacillus agaradherens* 的甘露聚糖酶的表达、提纯和鉴定

按如上的材料和方法部分所述获得的克隆 MB594 于 500 毫升两个带挡板的摇瓶中、的具有 10 微克/毫升卡那霉素的 25×200 毫升 BPX 培养基中于 37℃ 及 300 rpm 下生长 5 天。

15 收集 6500 毫升克隆 MB594 (批号#9813)的摇瓶培养液并将 pH 调节到 5.5。在搅拌下加入 146 毫升阳离子剂(C521)和 292 毫升阴离子剂(A130)进行絮凝。通过使用一台 Sorval RC 3B 离心机在 6℃ 下以 9000 rpm 离心 20 分钟分离絮状物。上清液使用 Whatman 玻璃滤膜 GF/D 和 C 澄清，最后在截留值为 10 kDa 的 filtron 上浓缩。

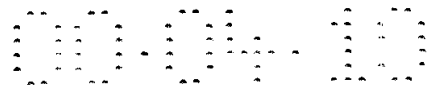
20 用氢氧化钠将 750 毫升该浓缩液调节到 7.5 的 pH。将透明溶液上样于用 50 毫摩尔的 Tris (pH 7.5)平衡的 900 毫升 Q-Sepharose 柱上进行阴离子交换色谱。使用氯化钠梯度洗脱甘露聚糖酶活性结合物。

所述纯酶在 SDS-PAGE 上显示了 38 kDa 分子量的单谱带。甘露聚糖酶的氨基酸序列即翻译的 DNA 序列显示于 SEQ ID NO:2 中。

25 动力常数的测定：

底物：刺槐豆胶(角豆树)和还原糖分析(PHBAH)。刺槐豆胶购自 Sigma (G-0753)。

使用不同浓度的刺槐豆胶并在 40℃ 在 pH 10 下孵育 20 分钟进行动力测定：



$K_{\text{催化}}$ : 467/秒

$K_m$ : 0.08 g/l

MW: 38 kDa

pI (等电点): 4.2

5 发现甘露聚糖酶的最佳温度为 60°C。

pH 活性分布图显示最大活性在 pH 8 到 10 之间。

差示扫描量热法(DSC)得到在 Tris 缓冲液中 pH 7.5 下的熔点为 77°C，显示出这种酶非常热稳定。

10 使用 0.2%来自角豆树的 AZCL-半乳甘露聚糖作为底物，并如上述在 40°C 孵育的洗涤剂配伍性显示出与常规液体洗涤剂的良好配伍性和与常规粉状洗涤剂的良好配伍性。

#### 枯草芽孢杆菌甘露聚糖酶 168 的 obtention

15 如下进行枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶的鉴定和提纯：搜索与已知芽孢杆菌属菌种β-甘露聚糖酶基因序列相同的枯草芽孢杆菌基因组 (Mendoza 等人, Biochemica et Biophysica Acta 1243:552-554, 1995)。其产物未知的 *ydh T* 编码区显示出与已知芽孢杆菌β-甘露聚糖酶 58% 的相似性。设计下列低聚核苷酸来扩增编码推定的β-甘露聚糖酶的成熟部分的序列：5' -GCT CAA TTG GCG CAT ACT GTG TCG CCT  
20 GTG-3' 和 5' -GAC GGA TCC CGG ATT CAC TCA ACG ATT GGC G-3'。来自枯草芽孢杆菌 1A95 菌株的总基因组 DNA 被用作使用前述引物扩增 *ydh T* 成熟区的模板。PCR 使用具 AMPLITAQ DNA 聚合酶的基因-AMP PCR 试剂盒(Perkin Elmer, Applied Biosystems, Foster City, CA)进行。开始在 95°C 解链 5 分钟后接着进行 25 个下列  
25 程序的循环：95°C 解链 1 分钟，55°C 退火 2 分钟和 72°C 延伸 2 分钟。最后一个循环后，反应物在 72°C 保持 10 分钟以完成延伸。所述 PCR 产物使用 QIA 快速 PCR 提纯试剂盒(Qiagen, Chatsworth, CA)提纯。

将从枯草芽孢杆菌 1A95 菌株扩增的 *ydh T* 成熟区如下插入到表达载体 pPG1524 (如前述)中。将扩增的 1028 bp 片段用 Mfe I 和 BamH

I 消化。将表达载体 pPG1527 用 EcoR I 和 BamH I 消化。限制产物使用 QIA 快速 PCR 提纯试剂盒(Qiagen, Chatsworth, CA)提纯。所述两个片段使用 T4 DNA 连接酶连接(13 小时, 16°C), 并用于转化感受态大肠杆菌 DH5- $\alpha$  菌株。培养氨苄青霉素抗性菌落供制备 DNA。然后将 DNA 通过限制酶切分析鉴定。质粒 pPG3200 包含 *ydh T* 基因的成熟区。然后用质粒 pPG3200 转化感受态枯草芽孢杆菌 PG632 菌株 (Saunders 等人, 1992)。

挑取 7 种卡那霉素抗性枯草芽孢杆菌克隆和一种 PG632 对照克隆, 并使其在补充了 1 毫升 25% maltrin、120 微升 10 mM MnCl<sub>2</sub> 和 20 微升 50 mg/ml 卡那霉素的 20 毫升 20/20/5 培养基(20 g/L 胰化蛋白胨、20 g/L 酵母提取物、5 g/L NaCl)中生长。克隆在 37°C 250 rpm 下摇动的 250 毫升带挡板的摇瓶中生长过夜表达蛋白质。以 14000 rpm 15 分钟离心分离出细胞。一微升每种上清液用 99 微升 50 mM 乙酸钠(pH 6.0)稀释。取 1 微升这种稀释液按照生产商说明使用内-1,4- $\beta$ -甘露聚糖酶  $\beta$ -Mannazyme Tabs (Megazyme, 爱尔兰)测定。在 Beckman DU640 分光光度计上于 590 nm 处读取吸光度。克隆 7 显示出 1.67 的最高吸光度值。PG632 对照在 590 nm 处没有显示出有吸光度。

上清液通过在 10-20% Tris-甘氨酸凝胶(Novex, San Diego, Ca)上经 SDS-PAGE 分析以证实所预期的 38kDa 大小的蛋白质。样品根据如下制备。将 500 微升 *ydh T* 克隆 7 的样品和 PG632 上清液用 55.5 微升 100%三氯乙酸(Sigma)沉淀、用 100 微升 5%三氯乙酸洗涤、重新悬浮于 50 微升 Tris-甘氨酸 SDS 样品缓冲液(Novex)中并煮沸 5 分钟。每种样品取一微升在 30 mA 下在所述凝胶上电泳 90 分钟。观察到在 38 kDa 处 *ydh T* 克隆 7 的大的蛋白质带。

在 B. Braun Biostat C 发酵罐进行 10 升枯草芽孢杆菌 *ydh T* 克隆 7 的发酵。发酵条件如下。在 37°C, 细胞在类似于 20/20/5 的丰富培养基中生长 18 小时。发酵结束时, 去除细胞并使用切向流过滤系统将上清液浓缩到 1 升。测得在浓缩上清液中的  $\beta$ -甘露聚糖酶的最终收

率为 3 g/l。

如下进行来自发酵上清液的β-甘露聚糖酶的提纯：在 4℃ 将 500 ml 上清液以 10000 rpm 离心 10 分钟。然后于 4℃ 将离心的上清液在更换两次(每次 4 升)的 10 mM 磷酸钾(pH 7.2)中通过 Spectrapor 12000-14000 mol.wt.截留膜(Spectrum)透析过夜。在 4℃ 将经透析的上清液在 10000 rpm 下离心 10 分钟。将 200 毫升 Q Sepharose fast flow (Pharmacia)阴离子交换柱在 20℃ 下用 1 升 10 mM 磷酸钾(pH 7.2)平衡，并将 300 毫升上清液上于柱上。收集 210 毫升(样品 A)和 175 毫升(样品 B)两个流过的组分。除了样品用 199 微升 50 mM 乙酸钠(pH 6.0)稀释外，将两个组分和前面那样进行测定，它们分别显示出 0.38 和 0.52 的吸光度。每种样品取 2 微升加入到 8 微升 Tris-甘氨酸 SDS 样品缓冲液(Novex, Ca)中并煮沸 5 分钟。在 30 mA 下将得到的样品在 10-20% Tris-甘氨酸凝胶(Novex, CA)上电泳 90 分钟。相应于 38 kDa 的主带在每个样品中均存在并且占总蛋白质的 95%以上。按照生产商的说明使用牛血清清蛋白作为标准对两个样品进行 BCA 蛋白质测定(Pierce)。样品 A 和样品 B 分别包含 1.3 mg/ml 和 1.6 mg/ml 的β-甘露聚糖酶。通过离子喷射质谱和氨基端氨基酸序列分析证实蛋白质的同一性。

将提纯的β-甘露聚糖酶样品如下用于鉴定酶活性。所有测定均使用了如前所述的内-1,4-β-甘露聚糖酶 Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, 爱尔兰)。在 3.0-9.0 pH 范围内的活性在 50 mM 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液中进行，对于在 pH 9.5 下的活性测定则使用 50 mM CAPSO (Sigma)，对于 pH 10.0-11.0 范围内的活性则使用 50 mM CAPS 缓冲液。发现枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶的最佳 pH 范围为 6.0-6.5。温度活性分布曲线在 50 mM 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液(pH 6.5)中测定。所述酶在 40-45℃ 显示出最佳活性。所述枯草芽孢杆菌β-甘露聚糖酶在 15℃ 以下和 80℃ 以上保持了明显的活性。按照生产商的说明使用内-1,4-β-甘露聚糖酶 Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, 爱尔兰)测得

针对 $\beta$ -1,4-半乳糖聚糖的比活性为 160000 微摩尔/分钟·毫克 $\beta$ -甘露聚糖酶。枯草芽孢杆菌 $\beta$ -甘露聚糖酶的核苷酸和氨基酸序列示于 SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6 中。

5 所述糖类树胶降解酶优选以占组合物 0.0001-2% (重量)、更优选 0.0001-0.1% (重量)、最优选 0.0006-0.02% (重量)纯酶的水平加入到本发明的洗衣用洗涤剂组合物中。

10 除了包括催化域的酶核心外, 本发明的糖类树胶降解酶也包括纤维素结合域(CBD), 所述酶的纤维素结合域和酶核心(催化活性域)可操作性连接。所述纤维素结合域(CBD)可作为所编码酶的整合部分存在, 或者来自另一来源的 CBD 可导入到所述酶中而产生酶杂化物。在本文中, 术语“纤维素结合域”可按 Peter Tomme 等人在 John N. Saddler 和 Michael H. Penner (编辑)的“Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates” (ACS Symposium Series, No. 618, 1996)中的“纤维素结合域: 分类和性质”中的定义来理解。该定义将 120 种  
15 以上的纤维素结合域分成 10 个家族(I-X), 并验证了 CBD 发现于各种酶诸如纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、乙酰酯酶和壳多糖酶中。也已在藻类如红藻 *Porphyra purpurea* 中发现非水解多糖结合蛋白质形式的 CBD, 参见 Tomme 等人, 在所引用的书中。但是, 大多数 CBD 来自纤维素酶和木聚糖酶, CBD 被发现于蛋白质的 N 和 C 末端或为内部的。酶杂化物为本领域人员所熟悉, 参见例如 WO90/00609 和 WO95/16782, 并可如下制备: 将一个包括至少一个编码纤维素结合域的 DNA 片段的 DNA 构建物转化入宿主细胞中[所述纤维素结合域连接到(有或没有连接体)编码糖类树胶降解酶的 DNA 序列上), 并使宿主细胞生长以表达融合基因。酶杂化物可通过下式说明:

25 CBD-MR-X

式中 CBD 为相应于至少所述纤维素结合域的氨基酸序列的 N-末端或 C-末端区; MR 为中区(连接体)并可为一个键或一优选约 2 到约 100

个碳原子、更优选 2 到 40 个碳原子的短连接基团，或优选为约 2 到约 100 个氨基酸、更优选 2 到 40 个氨基酸；X 为本发明的酶的 N-末端区或 C-末端区。

5 上述的酶可以来自任何合适的来源诸如植物、动物、细菌、真菌和酵母菌。所述源可进一步是中温生物或嗜极生物(嗜冷生物、嗜冷菌、嗜热生物、嗜压生物、嗜碱生物、嗜酸生物、嗜卤生物等)。可使用经纯化或未纯化形式的这些酶。现在，为了使在本发明的清洁组合物的效能最佳化，经蛋白质/基因工程技术修饰野生类型的酶是  
10 常规的实践。例如，可设计所述变体从而提高所述酶与这种组合物的所用常规成分的配伍性。或者所述变体可设计成使所述酶变体的最佳 pH、漂白或螯合剂稳定性、催化活性等适合具体的清洁用途。

具体地说，对漂白稳定性来说应该将注意力放在对氧化敏感的氨基酸上，对表面活性剂配伍性来说应该将注意力放在表面电荷上。  
15 这种酶的等电点可通过一些带电氨基酸的置换来改变，例如等电点的提高可有助于改善与阴离子表面活性剂的配伍性。所述酶的稳定性可进一步通过例如另外的盐桥的产生和增强金属结合位点以提高螯合剂稳定性来增强。

20 洗涤剂组分

本发明的洗衣用洗涤剂组合物也可包含至少一种另外的洗涤剂组分。这些另外组分的准确性质和其掺入的水平将取决于所述组合物的物理形式和使用这些组合物的清洁操作的性质。

25 本发明的洗衣用洗涤剂组合物还优选包括选自所选的表面活性剂、另一种酶、一种助剂和/或一种漂白体系的洗涤剂成分。

按照本发明的洗衣用洗涤剂组合物的形式可以是液体剂、膏剂、凝胶剂、条剂、片剂、喷雾剂、泡沫剂、粉剂或颗粒剂。颗粒组合物也可以是“高密度”形式，液体组合物也可以是“浓缩”形式。

一种优选类型的凝胶洗涤剂是包括 15-40% (重量)阴离子表面活

性剂组分的重要凝胶洗衣用洗涤剂组合物，它包括：(i) 5-25% (重量) 烷基聚乙氧基化物硫酸盐，其中所述烷基包括约 10 到约 22 个碳原子并且所述聚乙氧基化物链包含 0.5 到约 15、优选 0.5 到约 5、更优选 0.5 到约 4 个氧乙烯部分；和(ii)5-20% (重量)脂肪酸。

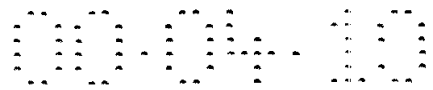
5 此中的凝胶组合物可进一步包含一种或多种另外的选自非柠檬酸盐助剂、荧光增白剂、去污剂、染料转移抑制剂、聚合分散剂、酶、抑泡剂、染料、香料、着色剂、填料盐、增溶剂、抗再沉积剂、抗褪色剂、固色剂、毛球/绒毛减少剂和其混合物。

10 此中的凝胶组合物具有在  $20 \text{ 秒}^{-1}$  的剪切速率下约 100-约 4000 厘泊、优选约 300-约 3000 厘泊、更优选约 500-约 2000 厘泊的粘度，并且在存贮时稳定。

15 不受理论的束缚，相信电解质的存在起到了控制凝胶组合物粘度的作用。因此，此中组合物的凝胶特性受表面活性剂的选择和存在电解质的量的影响。在本发明优选的实施方案中，所述组合物还包括 0 到约 10%、更优选约 2-约 6%、再更优选约 3-约 5% 的适合的电解质或其酸等价物。柠檬酸钠是一种高度优选的用于此中的电解质。

20 此中的组合物可任选包含约 0-约 10% (重量)的溶剂和增溶剂。不受理论的束缚，相信溶剂和增溶剂的存在可影响所述组合物的结构性质与各向同性性质；术语“溶剂”是指在洗涤剂工业常用的溶剂，包括烷基一元醇、二元醇和三元醇，乙二醇、1,3-丙二醇、1,2-丙二醇、乙二醇、甘油等。“增溶剂”是指在洗涤剂工业上常用的增溶剂，包括有助于加溶其它表面活性剂的短链表面活性剂。其它增溶剂的例子包括枯烯、二甲苯或甲苯磺酸盐，脲， $C_8$  或更短链烷基羧酸盐和  $C_8$  或更短链烷基硫酸盐和乙氧基化硫酸盐。

25 用于本发明的脂肪酸包括从天然源获得或合成制备的饱和和/或不饱和脂肪酸。脂肪酸的例子包括癸酸、月桂酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸和山嵛酸。其它脂肪酸包括棕榈油酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和蓖麻油酸。



本发明的组合物可配制成手洗和机洗洗衣用洗涤剂组合物，其包括洗衣添加剂组合物和适用于带污织物的浸泡和/或预处理组合物和漂洗加入的织物软化剂组合物。

5 当按适用于洗衣机洗涤方法的组合物配制时，本发明的组合物优选包含表面活性剂和助剂化合物两者以及另外一种或多种优选选自有机聚合化合物、漂白剂、另外的酶、抑泡剂、分散剂、钙皂分散剂、污垢悬浮剂和抗再沉积剂和腐蚀抑制剂的洗涤剂组分。洗衣用组合物也可包含作为另一种洗涤剂组分的软化剂。包含水解糖类树  
10 胶的酶的这种组合物可提供织物清洁、去污、白度保持、软化、显色和染料转移抑制。

本发明的组合物也可用作洗涤剂添加剂产品。这种添加剂产品用于补充或增强常规洗涤剂组合物的性能。

如果需要，本发明的洗衣用洗涤剂组合物的密度(在 20℃测定)范围为 400-1200 g/l、优选 500-950 g/l。

15 本发明组合物的“高密度”形式受密度的影响最大，同时根据组合物的具体情况受无机填料盐的量的影响。无机填料盐是粉末形式洗涤剂组合物的常规成分；在常规洗涤剂组合物中，所述填料盐大量存在，一般为总组合物的 17-35% (重量)。在高密度组合物中，填料盐的存在量一般不超过总组合物重量的 15% (重量)、优选不超过  
20 10%、最优选不超过 5% (重量)。诸如在本发明的组合物中所指的无机填料盐选自碱金属和碱土金属的硫酸盐和氯化物盐。一种优选的填料盐是硫酸钠。

按照本发明的液体洗涤剂组合物也可以是“浓缩”形式，在这种情况下，按照本发明的液体洗涤剂组合物将包含比常规液体洗涤剂  
25 更低量的水。一般浓缩液体洗涤剂的水含量优选少于洗涤剂组合物的 40% (重量)、更优选少于 30%、最优选少于 20%。

## 表面活性剂体系

按照本发明的洗衣用洗涤剂组合物一般包括一种表面活性剂体系，其中所述表面活性剂可选自非离子和/或阴离子和/或阳离子和/或两性离子和/或两性离子和/或半极性表面活性剂。优选本发明的洗衣用洗涤剂组合物包括一种非离子、一种阴离子和/或一种阳离子表面活性剂。

现已惊异地发现还包括一种非离子、一种阴离子和/或一种阳离子表面活性剂的本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了增强的食品污渍/污垢去除、肮脏物清洁和白度保持。

不希望受理论的束缚，相信酶水解产生了更易于被已知用于颗粒污垢的非离子表面活性剂去除的小颗粒。优选的非离子表面活性剂是烷基乙氧基化物 AE3 到 AE7。也相信织物直接(substantive)阳离子表面活性剂与糖类树脂降解酶的酶水解的结合提供了改善的性能。

所述表面活性剂一般以 0.1-60% (重量)的水平存在。更优选掺入的水平为按照本发明的洗衣用洗涤剂组合物的 1-35% (重量)、最优选为 1-30% (重量)。

所述表面活性剂优选制成可与存在于组合物中的酶组分配伍的形式。在液体或凝胶组合物中，所述表面活性剂最优选制成能促进或至少不降低在这些组合物中酶的稳定性的形式。

## 非离子表面活性剂

烷基酚的聚氧乙烯、聚氧丙烯和聚氧丁烯缩合物适合用作本发明的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。这些化合物包括其烷基具有约 6 到约 14 个碳原子、优选约 8 到约 14 个碳原子的为直链或支链构型的烷基酚与氧化烯的缩合产物。在一个优选的实施方案中，氧乙烯以每摩尔烷基酚约 2 到约 25 摩尔、更优选约 3 到约 15 摩尔的量存在。这种类型的商品非离子表面活性剂包括由 GAF Corporation 推向市场的 Igepal™ CO-630 ;和由 Rohm & Haas

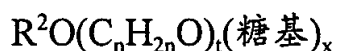
Company 推向市场的 Triton™ X-45、X-114、X-100 和 X-102。这些表面活性剂通常被称为烷基酚烷基氧化物(例如烷基酚乙基氧化物)。

伯和仲脂族醇与约 1 到约 25 摩尔氧乙烯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、伯或仲，并一般包含约 8 到约 22 个碳原子。优选的是其烷基包含约 8 到约 20 个碳原子、更优选约 10 到约 18 个碳原子的醇与每摩尔醇约 2 到约 10 摩尔氧乙烯的缩合产物。在所述缩合产物中，存在每摩尔醇约 2 到约 7 摩尔氧乙烯并最优选 2 到 5 摩尔氧乙烯。这种类型的商品化非离子表面活性剂的例子包括由 Union Carbide Corporation 推向市场的 Tergitol™ 15-S-9 (C<sub>11</sub>-C<sub>15</sub> 线性醇与 9 摩尔氧乙烯的缩合产物)和 Tergitol™ 24-L-6 NMW (C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> 伯醇与 6 摩尔氧乙烯的窄分子量分布的缩合产物); 由 Shell Chemical Company 推向市场的 Neodol™ 45-9 (C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub> 线性醇与 9 摩尔氧乙烯的缩合产物)、Neodol™ 23-3 (C<sub>12</sub>-C<sub>13</sub> 线性醇与 3.0 摩尔氧乙烯的缩合产物)、Neodol™ 45-7 (C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub> 线性醇与 7 摩尔氧乙烯的缩合产物)、Neodol™ 45-5 (C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub> 线性醇与 5 摩尔氧乙烯的缩合产物); 由 Procter & Gamble Company 推向市场的 Kyro™ EOB (C<sub>13</sub>-C<sub>15</sub> 醇与 9 摩尔氧乙烯的缩合产物)和由 Hoechst 推向市场的 Genapol LA O3O 或 O5O (C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> 醇与 3 或 5 摩尔氧乙烯的缩合产物。这些产品优选的 HLB 的  
5  
10  
15  
20

也可用作本发明的表面活性剂体系的非离子表面活性剂的是 1986 年 1 月 21 日授权的 Llenado 的美国专利 4565647 中公开的烷基多糖，其具有一种含约 6 到约 30 个碳原子、优选约 10 到约 16 个碳原子的疏水基团和一种具有含约 1.3 到约 10、优选约 1.3 到约 3、最优选约 1.3 到约 2.7 个糖单元的亲水基的多糖如聚糖苷。可使用任何含 5 或 6 个碳原子的还原糖例如葡萄糖和半乳糖，并且半乳糖基可取代葡糖基(任选疏水基团在 2-、3-、4-等位置连接从而使葡萄糖或半乳糖与葡糖苷或半乳糖苷相对)。糖间的键可以是例如另外的糖单  
25

元的一个位置和前面糖单元的 2-、3-、4-和/或 6-位之间的键。

优选的烷基多糖苷具有下式：



其中 R<sup>2</sup> 选自烷基、烷基苯基、羟基烷基、羟基烷基苯基和其混合物，  
 5 其中所述烷基包含约 10 到约 18、优选约 12 到约 14 个碳原子；n 为  
 2 或 3 并优选为 2；t 为 0 到约 10，并优选为 0；x 为约 1.3 到约 10，  
 并优选为约 1.3 到约 3，最优选为约 1.3 到约 2.7。糖基优选源于葡萄  
 糖。为制备这些化合物，首先形成所述醇或烷基聚乙氧基醇，然后  
 与葡萄糖或葡萄糖源反应而形成葡糖苷(连接在 1 位)。然后可在其 1  
 10 位和前面糖基单元的 2-、3-、4-和/或 6-位(优选主要在 2 位)之间连接  
 另外的糖基单元。

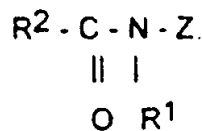
氧乙烯与通过氧丙烯与丙二醇的缩合形成的疏水基的缩合产物也  
 适用作为本发明的另外的非离子表面活性剂体系。这些化合物的疏  
 水部分优选具有约 1500 到约 1800 的分子量并显示水不溶性。将聚  
 15 氧乙烯部分加入该疏水部分有助于提高分子整体的水溶性，产品的  
 液体特征被保持到聚氧乙烯含量达到缩合产物总重量约 50%的水平，  
 其相当于与上至约 40 摩尔的氧乙烯缩合。这种类型的化合物的例子  
 包括某些由 BASF 推向市场的商品 Plurafac™ LF 404 和 Pluronic™表  
 面活性剂。

也适用作为本发明的非离子表面活性剂体系的非离子表面活性剂  
 有氧乙烯与源于氧丙烯和乙二胺反应的产物的缩合产物。这些产物  
 的疏水部分包括乙二胺和过量氧丙烯的反应产物，并一般具有约 2500  
 到约 3000 的分子量。该疏水部分与氧乙烯缩合到其缩合产物包含约  
 40-约 80% (重量)聚氧乙烯并具有约 5000 到约 11000 的分子量的程  
 25 度。这种类型的非离子表面活性剂的例子包括某些由 BASF 推向市  
 场的商品 Tetronic™化合物。

优选用作本发明的表面活性剂体系的非离子表面活性剂为烷基酚  
 的聚氧乙烯缩合物、伯和仲脂族醇与约 1 到约 25 摩尔氧乙烯的缩合

产物、烷基多糖和其混合物。最优选具有 3 到 15 个乙氧基的 C<sub>8</sub>-C<sub>14</sub> 烷基酚乙氧基化物和具有 2 到 10 个乙氧基的 C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub> 醇乙氧基化物(优选平均 C<sub>10</sub>)和其混合物。

5 高度优选的非离子表面活性剂是下式的多羟基脂肪酰胺表面活性剂

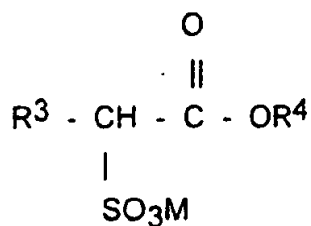


10 式中 R<sup>1</sup> 为 H, 或者 R<sup>1</sup> 为 C<sub>1-4</sub> 烷基、2-羟乙基、2-羟丙基或其混合物, R<sup>2</sup> 为 C<sub>5-31</sub> 烷基, Z 为具有至少 3 个直接连接到链上的羟基的线性烷基链的多羟基烷基或其烷氧基化衍生物。优选 R<sup>1</sup> 为甲基, R<sup>2</sup> 为直链 C<sub>11-15</sub> 烷基或 C<sub>16-18</sub> 烷基或链烯基诸如椰油烷基或其混合物, 并且 Z 源于在还原胺化反应中的一种还原糖诸如葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖。

15 阴离子表面活性剂

20 优选的用于本发明的阴离子表面活性剂是烷基酯硫酸盐和线性烷基苯磺酸盐。适用的阴离子表面活性剂是线性烷基苯磺酸盐、烷基酯磺酸盐表面活性剂, 包括按照 “The Journal of the American Oil Chemists Society”, 52 (1975), 323-329 页的方法将 C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub> 羧酸(即脂肪酸)的线性酯用气态 SO<sub>3</sub> 磺化的烷基酯磺酸盐表面活性剂。适用的原料将包括诸如源于牛脂、棕榈油等的天然脂肪物质。

优选的烷基酯磺酸盐表面活性剂、特别是用于洗衣用途的烷基酯磺酸盐表面活性剂包括下面结构式的烷基酯磺酸盐表面活性剂



其中 R<sup>3</sup> 为 C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub> 烃基，优选烷基或其组合，R<sup>4</sup> 为 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烃基、优选为烷基，或其组合，M 为与烷基酯磺酸形成水溶性盐的阳离子。适合的成盐阳离子包括金属诸如钠、钾和锂，取代或未取代的铵阳离子诸如单乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺。优选 R<sup>3</sup> 为 C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> 烷基，R<sup>4</sup> 为甲基、乙基或异丙基。特别优选的是 R<sup>3</sup> 为 C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> 烷基的甲酯磺酸盐。

其它适用的阴离子表面活性剂包括式 ROSO<sub>3</sub>M 的水溶性盐或酸的烷基硫酸盐表面活性剂，其中 R 优选为 C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub> 烃基、优选具有 C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub> 烷基组分的烷基或羟烷基、更优选为 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基或羟烷基，并且 M 为 H 或一阳离子，例如碱金属阳离子(例如钠、钾、锂)或铵或取代铵(例如甲铵、二甲铵和三甲铵阳离子和季铵阳离子诸如四甲铵和二甲基哌啶鎓阳离子和源于烷基胺诸如乙胺、二乙胺、三乙胺和其混合物的季铵阳离子等)。一般对于较低的洗涤温度(例如低于约 50℃)来说，优选 C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub> 烷基链，对于较高洗涤温度(例如在约 50℃ 以上)来说，优选 C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub> 烷基链。

其它可用于洗涤剂目的的阴离子表面活性剂也可包括在本发明的洗衣用洗涤剂组合物中。它们可包括肥皂的盐(包括例如钠、钾、铵和取代铵盐诸如单、二和三乙醇胺盐)、C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub> 伯或仲链烷磺酸盐、C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> 烯烴磺酸盐、例如按英国专利说明书 1082179 中所述通过碱土金属柠檬酸盐热解产物的磺化制备的磺化多元羧酸、C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> 烷基聚乙二醇醚硫酸盐(包含上至 10 摩尔的氧乙烯)、烷基甘油磺酸盐、脂肪酰甘油磺酸盐、脂肪油酰甘油硫酸盐、烷基酚氧乙烯醚硫酸盐、链烷烴磺酸盐、烷基磷酸盐、羟乙磺酸盐如酰基羟乙磺酸盐、N-酰基牛磺酸盐、烷基琥珀酰胺酸盐和磺基琥珀酸盐、磺基琥珀酸盐的单

5 酯(特别是饱和和不饱和 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 单酯)和磺基琥珀酸盐的二酯(特别是饱和和不饱和 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> 二酯)、酰基肌氨酸盐、烷基多糖的硫酸盐诸如烷基聚葡萄糖苷的硫酸盐(非离子非硫酸化的化合物在下面描述)、分支的伯烷基硫酸盐和烷基多乙氧基羧酸盐诸如具有式 RO(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>k</sub>-CH<sub>2</sub>COO-M<sup>+</sup>的羧酸盐, 式中 R 为 C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub> 烷基, k 为 1 到 10 的整数, M 为成可溶性盐的阳离子。树脂酸和氢化树脂酸也适用, 诸如松香、氢化松香和在妥尔油中存在或源于妥尔油的树脂酸和氢化树脂酸。

10 在 Schwartz、Perry 和 Berch 的“Surface Active Agents and Detergents”第 I 和 II 卷描述了其它例子。各种这类表面活性剂也概括性地公开于 1975 年 12 月 30 日授权的 Laughlin 等人的美国专利 3929678 的第 23 栏 58 行到 29 栏 23 行(通过引用并入本文)中。

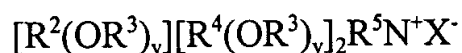
当这种阴离子表面活性剂存在时, 本发明的洗衣用洗涤剂组合物一般包括约 1-约 40% (重量)、优选约 3-约 20% (重量)的这类阴离子表面活性剂。

15 高度优选的阴离子表面活性剂包括烷基烷氧基化硫酸盐表面活性剂, 在这里其为式 RO(A)<sub>m</sub>SO<sub>3</sub>M 的水溶性盐或酸, 式中 R 为未取代的 C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub> 烷基或具有 C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub> 烷基组分的羟烷基, 优选为 C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub> 烷基或羟烷基, 更优选为 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基或羟烷基, A 为乙氧基或丙氧基单元, m 大于 0, 一般在约 0.5 到约 6 之间, 更优选在 0.5 到约 3 之间, 并且 M 为 H 或一个阳离子, 所述阳离子可以是例如金属阳离子(例如钠、钾、锂、钙、镁等)、铵或取代铵阳离子。烷基乙氧基化硫酸盐以及烷基丙氧基化硫酸盐是此中所考虑的。取代铵阳离子的具体例子包括甲铵、二甲铵、三甲铵阳离子和季铵阳离子诸如四甲铵和二甲基哌啶鎓阳离子和源于烷基胺诸如乙胺、二乙胺、三乙胺、其混  
20 合物的阳离子等。这种表面活性剂的例子有 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基聚乙氧基化物(1.0)硫酸盐(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>E(1.0)M)、C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基聚乙氧基化物(2.25)硫酸盐(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>E(2.25)M)、C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基聚乙氧基化物(3.0)硫酸盐(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>E(3.0)M)和 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基聚乙氧基化物(4.0)硫酸盐(C<sub>12</sub>-  
25

C<sub>18</sub>E(4.0)M), 式中 M 方便地选自钠和钾。

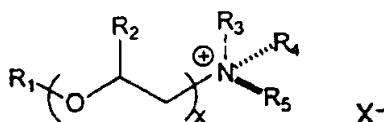
阳离子表面活性剂

适用于本发明的洗衣用洗涤剂组合物中的阳离子洗涤剂表面活性剂是那些具有一个长链烃基的阳离子表面活性剂。这种阳离子表面活性剂的例子包括铵表面活性剂诸如烷基三甲铵卤化物和那些具有下式的表面活性剂:



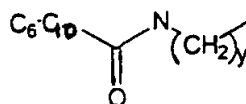
式中 R<sup>2</sup> 为其烷基链具有约 8 到约 18 个碳原子的烷基或烷基苄基, 各个 R<sup>3</sup> 选自 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OH)-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- 和其混合物; 各个 R<sup>4</sup> 选自 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 羟烷基、两个 R<sup>4</sup> 基团结合形成的苄基环结构, -CH<sub>2</sub>CHOH-CHOHCOR<sup>6</sup>CHOHCH<sub>2</sub>OH, 其中 R<sup>6</sup> 为分子量低于约 1000 的己糖或己糖聚合物以及氢(当 y 不是 0 时); R<sup>5</sup> 与 R<sup>4</sup> 相同或者是一烷基链, 其中 R<sup>2</sup> 加 R<sup>5</sup> 的碳原子的总数不超过约 18; 各个 y 为 0 到约 10, 并且 y 值的和为 0 到约 15; X 为任何可配伍的阴离子。

适用于本发明的季铵表面活性剂具有式(I):



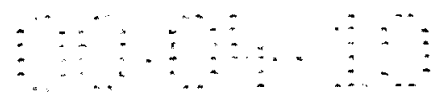
式 I

式中 R<sub>1</sub> 是一短链(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)烷基或式(II)的烷基酰氨基烷基:



式 II

y 为 2 到 4, 优选 3;

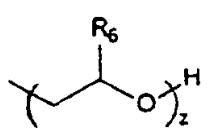


其中  $R_2$  为 H 或  $C_1-C_3$  烷基,

$x$  为 0 到 4, 优选 0 到 2, 最优选 0;

$R_3$ 、 $R_4$  和  $R_5$  可相同或不同并可以是一短链( $C_1-C_3$ )烷基或式 III 的烷氧基化烷基;

5  $X^-$  为一相反离子, 优选为氢卤酸根例如氢氯酸根或甲基硫酸根



式 III

$R_6$  为  $C_1-C_4$  并且  $z$  为 1 或 2。

10 优选的季铵表面活性剂是那些如式 I 中所定义的表面活性剂, 式中:

$R_1$  为  $C_8$ 、 $C_{10}$  或其混合物,  $x=0$ ,

$R_3$ 、 $R_4 = CH_3$  和  $R_5 = CH_2CH_2OH$ 。

高度优选的阳离子表面活性剂是可用于本发明组合物中的水溶性季铵化合物, 其具有下式:

15  $R^1R^2R^3R^4N^+X^-(i)$

式中  $R^1$  为  $C_8-C_{16}$  烷基;  $R^2$ 、 $R^3$  和  $R^4$  各独立地为  $C_1-C_4$  烷基、 $C_1-C_4$  羟烷基、苄基和  $-(C_2H_4)_xH$ , 其中  $x$  具有 2 到 5 的值,  $X^-$  为一阴离子。 $R^2$ 、 $R^3$  或  $R^4$  中不超过一个应为苄基。

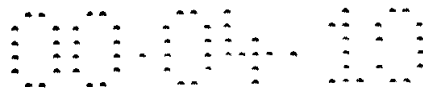
20 优选用作  $R^1$  的烷基的链长为  $C_{12}-C_{15}$ , 特别是其中所述烷基为源于椰油脂或棕榈仁脂的链长的混合物或者通过烯烃增长合成或 OXO 醇合成得到。优选的  $R^2$ 、 $R^3$  和  $R^4$  的基团为甲基和羟乙基, 并且阴离子  $X^-$  可选自氢卤酸根、甲基硫酸根、乙酸根和磷酸根离子。

适用于此中的式(i)的季铵化合物的例子有:

椰油基三甲基氯化铵或溴化铵;

25 椰油基甲基二羟乙基氯化铵或溴化铵;

癸基三乙基氯化铵;

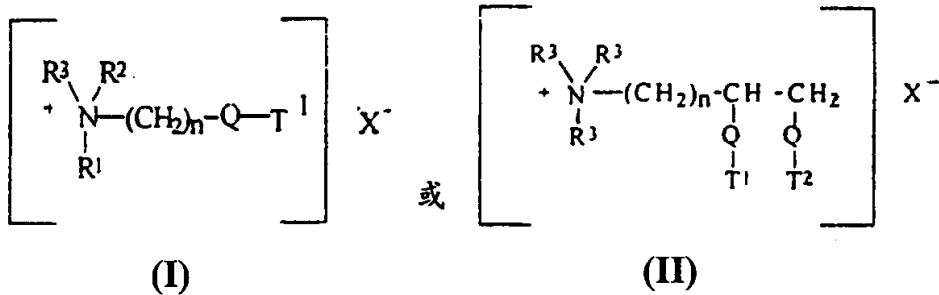


- 癸基二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵；  
C<sub>12-15</sub> 二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵；  
椰油基二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵；  
肉豆蔻基三甲基铵甲基硫酸盐；  
5 月桂基二甲基苜基氯化铵或溴化铵；  
月桂基二甲基(乙烯氧基)<sub>4</sub>氯化铵或溴化铵；  
胆碱酯(式(i)的化合物，其中 R<sup>1</sup> 为 CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CO-C<sub>12-14</sub> 烷基并且 R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup> 为甲基)；  
二烷基咪唑啉[式(i)的化合物]。
- 10 其它可用于此中的阳离子表面活性剂也描述于 1980 年 10 月 14 日授权的 Cambre 的美国专利 4228044 和欧洲专利申请 EP 000224 中。  
典型的阳离子织物软化组分包括水溶性季铵织物软化活性物或其相应的胺前体，最常用的是二-长烷基链氯化铵或甲基硫酸盐。  
其中优选的阳离子软化剂包括下面物质：
- 15 1) 二牛油基二甲基氯化铵(DTDMAC)；  
2) 二氢化牛油基二甲基氯化铵；  
3) 二氢化牛油基二甲基铵甲基硫酸盐；  
4) 二硬脂基二甲基氯化铵；  
5) 二油基二甲基氯化铵；  
20 6) 二棕榈基羟乙基甲基氯化铵；  
7) 硬脂基苜基二甲基氯化铵；  
8) 牛油基三甲基氯化铵；  
9) 氢化牛油基三甲基氯化铵；  
10) C<sub>12-14</sub> 烷基羟乙基二甲基氯化铵；  
25 11) C<sub>12-18</sub> 烷基二羟乙基甲基氯化铵；  
12) 二(硬脂酰氧乙基)二甲基氯化铵(DSOEDMAC)；  
13) 二(牛油基氧乙基)二甲基氯化铵；  
14) 二牛油基咪唑啉鎓甲基硫酸盐；

15) 1-(2-牛油基酰氨基乙基)-2-牛油基咪唑啉鎓甲基硫酸盐。

生物可降解的季铵化合物已经作为传统使用的二-长烷基链氯化铵和甲基硫酸盐的替代物出现。这种季铵化合物包含被官能基诸如羧基间隔的长链烷基(链烯基)。所述物质和包含其的织物软化组合物公开于众多出版物诸如 EP-A-0040562 和 EP-A-0239910 中。

此中的季铵化合物和胺前体具有下面的式(I)或(II)：



其中 Q 选自 -O-C(O)-、-C(O)-O-、-O-C(O)-O-、-NR<sup>4</sup>-C(O)-、-C(O)-NR<sup>4</sup>-；

R<sup>1</sup> 为 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Q-T<sup>2</sup> 或 T<sup>3</sup>；

10 R<sup>2</sup> 为 (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-Q-T<sup>4</sup> 或 T<sup>5</sup> 或 R<sup>3</sup>；

R<sup>3</sup> 为 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基或 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 羟烷基或 H；

R<sup>4</sup> 为 H 或 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基或 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 羟烷基；

T<sup>1</sup>、T<sup>2</sup>、T<sup>3</sup>、T<sup>4</sup>、T<sup>5</sup> 独立地为 C<sub>11</sub>-C<sub>22</sub> 烷基或链烯基；

n 和 m 为 1 到 4 的整数；和

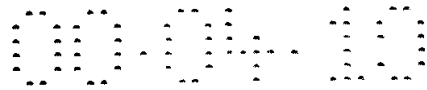
15 X<sup>-</sup> 为一软化剂可配伍的阴离子。软化剂可配伍的阴离子的非限定性实例包括氢氟酸根或甲基硫酸根。

所述烷基或链烯基链 T<sup>1</sup>、T<sup>2</sup>、T<sup>3</sup>、T<sup>4</sup>、T<sup>5</sup> 必须包含至少 11 个碳原子、优选至少 16 个碳原子。所述链可以是直链或支链。牛脂是长链烷基和链烯基材料的方便和便宜的来源。特别优选其中 T<sup>1</sup>、T<sup>2</sup>、T<sup>3</sup>、T<sup>4</sup>、T<sup>5</sup> 代表一般来自牛脂的长链物质的混合物的化合物。

20 适用于此中含水织物软化组合物中的季铵化合物的具体实例包括：

1) N,N-双(牛油基-氧-乙基)-N,N-二甲基氯化铵；

2) N,N-双(牛油基-氧-乙基)-N-甲基,N-(2-羟乙基)铵甲基硫酸盐；



3) N,N-双(2-牛油基-氧-2-氧代乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

4) N,N-双(2-牛油基-氧-乙基羰基-氧-乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

5) N-(2-牛油基-氧-2-乙基)-N-(2-牛油基-氧-2-氧代乙基)-N,N-二甲基氯化铵;

5 6) N,N,N-三(牛油基-氧-乙基)-N-甲基氯化铵;

7) N-(2-牛油基-氧-2-氧代乙基)-N-(牛油基-N,N-二甲基氯化铵);

和

8) 1,2-二牛油基-氧-3-三甲氨基氯丙烷;

和任何上述物质的混合物。

10 当这种阳离子表面活性剂存在时,本发明的洗衣用洗涤剂组合物一般包括约 0.2-约 25%、优选约 1-约 8%(重量)的阳离子表面活性剂。

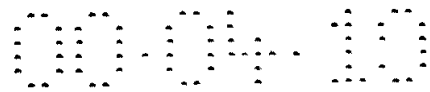
#### 常规的洗涤用酶

15 除了糖类树胶降解酶外,所述洗衣用洗涤剂组合物优选包括一种或多种提供清洁性能、织物护理和/或环境卫生益处的酶,优选纤维素酶和/或淀粉酶。

现已惊异地发现还包括另一种酶、特别是纤维素酶和/或淀粉酶的本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了增强的食品污渍/污垢去除、肮脏物清洁和白度保持效能。具体地说,现已发现纤维裂解酶具体  
20 可用于降解纤维素多糖食品添加剂,并因此可用于帮助从棉织物清洁食品污渍/污垢。

不希望受理论束缚,相信这种改善的性能源于棉织物载体上纤维素酶和糖类树胶降解酶在将污物粘合在棉织物载体上的多糖的组合的酶水解。同样,淀粉酶对覆盖棉织物表面的基于淀粉的整理剂的作用和糖类树胶降解酶对将污物粘合在棉织物载体上的多糖的作用  
25 提供了增强的性能。

所述酶包括选自纤维素酶、半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、葡糖淀粉酶、淀粉酶、木聚糖酶、脂酶、磷酸脂酶、酯酶、角质素



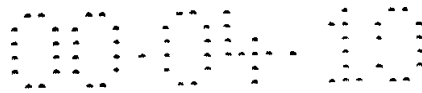
酶、果胶酶、角蛋白酶(keratase)、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧化酶、木质素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶或其混合物的酶。

可用于本发明的纤维素酶包括细菌纤维素酶或真菌纤维素酶。优选它们具有在 5 到 12 之间的最佳 pH 和高于 50 CEVU/mg (纤维素粘度单位) 的比活性。适用的纤维素酶公开于美国专利 4435307、Barbesgaard 等人的 J61078384 和 WO96/02653 中，其公开了分别从腐质霉属 *Humicola insolens*、马木霉(*Trichoderma*)、梭孢壳属(*Thielavia*) 和侧孢霉属(*Sporotrichum*) 产生的真菌纤维素酶。EP 739982 描述了从新的芽孢杆菌菌种分离的纤维素酶。适合的纤维素酶描述于 GB-A-2075028、GB-A-2095275、DE-OS-2247832 和 WO95/26398 中。

这种纤维素酶的例子有通过 *Humicola insolens* 菌株(灰腐质霉 *Humicola grisea* var. *thermoidea*)，特别是 *Humicola* 菌株 DSM 1800 产生的纤维素酶。

其它适合的纤维素酶有源于 *Humicola insolens*、具有约 50KDa 分子量、5.5 的等电点和含 415 个氨基酸的纤维素酶；和源于 *Humicola insolens* DSM 1800、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公开于 PCT 专利申请号 WO91/17243 的氨基酸序列。适用的纤维素酶还有描述于 1994 年 9 月 29 日公开的 Genencor 的 WO 94/21801 中的来自 *Trichoderma longibrachiatum* 的 EGIII 纤维素酶。特别适合的纤维素酶是具有护色益处的纤维素酶。这种纤维素酶的例子有描述于 1991 年 11 月 6 日提交的 Novo 的欧洲专利申请 91202879.2 中所述的纤维素酶。Carezyme 和 Celluzyme (Novo Nordisk A/S) 特别有用。也参见 WO 91/17244 和 WO 91/21801。其它用于织物护理和/或清洁性能的纤维素酶描述于 WO96/34092、WO96/17994 和 WO95/24471 中。

所述纤维素酶一般以占所述洗涤剂组合物重量 0.0001-2% 的纯酶水平掺入到所述洗涤剂组合物中。



淀粉酶( $\alpha$ 和/或 $\beta$ )可包括其中用于去除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 描述了掺入突变型淀粉酶的洗涤剂组合物。也可参见 1995 年 4 月 20 日公开的 Novo Nordisk A/S 的 WO95/10603。其它已知用于洗涤剂组合物的淀粉酶包括 $\alpha$ 和 $\beta$ 淀粉酶。 $\alpha$ -淀粉酶为本领域人员所熟悉, 并且包括美国专利号 5003257; EP 252666; WO/91/00353; FR 2676456; EP 285123; EP 525610; EP 368341 和英国专利说明书号 1296839(Novo)中公开的淀粉酶。其它适用的淀粉酶是 1994 年 8 月 18 日公开的 WO94/18314 和 1996 年 2 月 22 日公开的 Genencor 的 WO96/05295 中所述的增强了稳定性的淀粉酶, 以及如 1995 年 4 月公开的 WO 95/10603 中所述并可购自 Novo Nordisk A/S、直接亲本附加修饰的淀粉酶变体。适用的还有均为 Novo Nordisk 的 EP 277216、WO 95/26397 和 WO 96/23873 中所述的淀粉酶。

商品 $\alpha$ -淀粉酶产品的例子有来自 Genencor 的 Purafect Ox Am<sup>®</sup>和可购自丹麦的 Novo Nordisk A/S 的 Termamyl<sup>®</sup>、Ban<sup>®</sup>、Fungamyl<sup>®</sup>和 Duramyl<sup>®</sup>。WO95/26397 描述了其它适用的淀粉酶: 即具有在 25-55 °C 的温度和 8-10 的 pH 值下, 通过 Phadebas<sup>®</sup> $\alpha$ -淀粉酶活性测定法测得的比活性比 Termamyl<sup>®</sup>至少高 25%的 $\alpha$ -淀粉酶。适用的是描述于 WO96/23873 (Novo Nordisk)的上述酶的变体。其它就活性水平和热稳定性与较高活性水平的结合来说具有改良的性质的淀粉分解酶描述于 WO95/35382 中。

掺入到本发明的洗涤剂组合物中淀粉分解酶的水平为占所述组合物重量的 0.0001-2%、优选 0.00018-0.06%、更优选 0.00024-0.048% 纯酶的水平。

一种优选的组合是具有常规使用酶像蛋白酶、淀粉酶、脂酶、角质素酶和/或纤维素酶连同一种或多种植物细胞壁降解酶的混合物的洗衣用洗涤剂组合物。

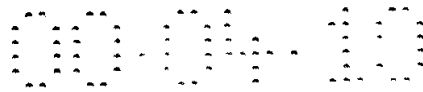
过氧化物酶连同氧源例如过碳酸盐、过硼酸盐、过硫酸盐、过氧

化氢等以及作为漂白增强分子的酚底物一起使用。它们用于“溶液漂白”，即防止洗涤过程中从携污体去除的染料或颜料转移到洗涤溶液中的其它携污体上。过氧化物酶为本领域人员所熟悉并且包括例如辣根过氧化物酶、木质素酶和卤代过氧化物酶诸如氯代和溴代过氧化物酶。含过氧化物酶的洗涤剂组合物公开于例如 PCT 国际申请 WO 89/099813、WO 89/09813 和 1991 年 11 月 6 日提交的欧洲专利申请 EP 号 91202882.6 和 1996 年 2 月 20 日提交的 EP 号 96870013.8 中。适用的还有漆酶。

10 增效剂一般占总组合物的 0.1-5% (重量)。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(描述于 WO94/12621)和取代的丁香酸盐(syringate) (C3-C5 取代的烷基丁香酸盐)和酚。过碳酸钠或过硼酸钠是优选的过氧化氢源。

15 所述过氧化物酶正常以占所述洗涤剂组合物 0.0001-2%纯酶的水平掺入到所述洗涤剂组合物中。

其它优选可包括在本发明的洗涤剂组合物中的酶包括脂酶。适用于洗涤剂用途的脂酶包括假单胞菌属的微生物如英国专利 1372034 中公开的施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*) ATCC 19.154 产生的脂酶。适用的脂酶包括显示出与由微生物荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescent*) IAM 1057 产生的脂酶的抗体阳性免疫交叉反应的脂酶。这种脂酶可从日本 Nagoya 的 Amano Pharmaceutical Co. Ltd.以脂酶 P “Amano” 的商品名购买(后文称为“Amano-P”)。其它适用的商品脂酶包括 Amano-CES、源于粘稠色杆菌(*Chromobacter viscosum*)如来自日本 Tagata 的 Toyo Jozo Co.的粘稠色杆菌的变种 *lipolyticum* NRRLB 3673 的脂酶；来自美国的 U.S. Biochemical Corp.和荷兰的 Disoynth Co 的粘稠色杆菌脂酶和源于唐菖蒲假单胞菌(*Pseudomonas gladioli*)的脂酶。特别适用的脂酶是已经发现连同本发明的组合物一起使用时非常有效的如 M1 Lipase®和 Lipomax® (Gist-Brocades)和



Lipolase®和 Lipolase Ultra® (Novo)的脂酶。适用的还有在 Novo Nordisk 的 EP258068、WO92/05249 和 WO 95/22615 和 Unilever 的 WO94/03578、WO95/35381 和 WO96/00292 中所述的脂解酶。

5 适用的还有可认为是一种特殊种类的脂酶即不需要界面活化的脂酶的角质素酶[EC 3.1.1.50]。将角质素酶加入到洗涤剂组合物中的情况描述于例如 WO-A-88/09367 (Genencor)、WO 90/09446 (Plant Genetic System)和 WO 94/14963 和 WO94/14964 (Unilever)。

所述脂酶和/或角质素酶正常以占所述洗涤剂组合物重量的 0.0001-2%纯酶的水平掺入到所述洗涤剂组合物中。

10 适用的蛋白酶有从枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌的具体菌株获得的枯草芽孢杆菌蛋白酶(枯草芽孢杆菌蛋白酶 BPN 和 BPN' )。一种适用的蛋白酶是从芽孢杆菌属的菌株获得并在整个 8 到 12 的 pH 范围具有最大的活性且由丹麦的 Novo Industries A/S (后文称为“Novo”)开发并以 ESPERASE®的商品名出售的蛋白酶。这种酶和其类似酶的制备描述于 Novo 的 GB1243784 中。其它适用的蛋白酶包括来自 Novo 15 的 ALCALASE®、DURAZYM®和 SAVINASE®以及来自 Gist-Brocades 的 MAXATASE®、MAXACAL®、PROPERASE®和 MAXAPEM® (蛋白质工程的 Maxacal)。蛋白水解酶也包括经修饰的细菌丝氨酸蛋白酶,诸如 1987 年 4 月 28 日提交的欧洲专利申请系列号 87 303761.8 (特别是 17、24 和 98 页)中所述并在此中称为“蛋白酶 B”的这类蛋白酶和在此中称为“蛋白酶 A”的经修饰的细菌丝氨酸蛋白水解酶并 20 在 1986 年 10 月 29 日 Venegas 的欧洲专利申请 199404 中所述的这类蛋白酶。适用的蛋白酶是此中称为“蛋白酶 C”的蛋白酶,它是一种源于芽孢杆菌的碱性丝氨酸蛋白酶的变体,其中赖氨酸在 27 位取代了精氨酸、酪氨酸在 104 位取代了缬氨酸、丝氨酸在 123 位取代了 25 天冬酰胺和丙氨酸在 274 位取代了苏氨酸。蛋白酶 C 描述于与 WO91/06637 相当的 1991 年 5 月 16 日公开的 EP 90915958.4 中。基因改造的变体、特别是蛋白酶 C 也包括在其中。

一种称为“蛋白酶 D”的优选的蛋白酶是具有天然中没有发现的氨基酸序列的羧基水解酶变体，如同 WO95/10591 和具有美国专利申请系列号 08/322677 的 C. Ghosh 等人 1994 年 10 月 13 日提交的名为“Bleaching Compositions Comprising Protease Enzymes”的母申请中所述，其根据解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶的编号，通过用一种不同的氨基酸置换在相当于 +76 位置的所述羧基水解酶中位置，优选也连同相当于选自 +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 的一个或多个氨基酸残基位置处的众多氨基酸残基来从前体羧基水解酶衍生而来。适用的酶还有描述于 WO95/10591 中的蛋白酶的羧基水解酶变体，其具有通过在前体酶中相当于 +210 位上的置换的多个氨基酸残基和一个或多个下列残基的置换的氨基酸序列：+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，其中编码的位置与天然存在的来自解淀粉芽孢杆菌的枯草芽孢杆菌蛋白酶相当或与在其它羧基水解酶或枯草芽孢杆菌蛋白酶诸如迟缓芽孢杆菌枯草芽孢杆菌蛋白酶(1997 年 6 月 4 日申请的同时待审的美国专利申请系列号 60/048550)中等效的氨基酸残基相当。

适用于本发明的蛋白酶也包括描述于专利申请 EP 251446 和 WO 91/06637 中的蛋白酶、描述于 WO 91/02792 中的蛋白酶 BLAP<sup>®</sup>和描述于 WO 95/23221 中的其变体。

也参见来自描述于 Novo 的 WO 93/18140A 中的芽孢杆菌属菌种 NCIMB 40338 的高 pH 蛋白酶。包括蛋白酶、一种或多种其它酶和可逆蛋白酶抑制剂的酶洗涤剂描述于 Novo 的 WO 92/03529A 中。需要时，具有降低了吸附和增加了水解的蛋白酶可如 Procter & Gamble 的 WO 95/07791 中所述那样获得。一种用于适合于此中洗涤剂的重

组的胰蛋白酶样的蛋白酶描述于Novo的WO 94/25583中。其它适用的蛋白酶描述于Unilever的EP516200中。

所述蛋白水解酶以占所述组合物的重量的0.0001-2%、优选0.001-0.2%、更优选0.005-0.1%纯酶的水平掺入到本发明的洗涤剂组合物中。

上述的酶可以来自任何合适的来源诸如植物、动物、细菌、真菌和酵母菌。所述源可进一步是中温生物或嗜极生物(嗜冷生物、嗜冷菌、嗜热生物、嗜压生物、嗜碱生物、嗜酸生物、嗜卤生物等)。可使用经纯化或未纯化形式的这些酶。现在,为了使在本发明的洗涤剂组合物中的效能最佳化,经蛋白质/基因工程技术修饰野生类型的酶是常规的实践。例如,可设计所述变体从而提高所述酶与这种组合物的常用成分的配伍性。或者所述变体可设计成使所述酶变体的最佳pH、漂白或螯合剂稳定性、催化活性等适合具体的清洁用途。

具体地说,对漂白稳定性来说应该将注意力放在对氧化敏感的氨基酸上,对表面活性剂配伍性来说应该将注意力放在表面电荷上。这种酶的等电点可通过一些带电荷氨基酸的取代来改变,例如等电点的提高可有助于改善与阴离子表面活性剂的配伍性。所述酶的稳定性可进一步通过例如另外的盐桥的产生和增强钙结合位点以提高螯合剂稳定性来增加。因为大多数纤维素酶具有单独的结合域(CBD),特殊的注意力应放在纤维素酶上。这种酶的性质可通过在这些域中的修饰来改变。

所述酶正常以占所述洗涤剂组合物重量的0.0001-2%纯酶的水平掺入到所述洗涤剂组合物中。所述酶可作为独立的单成分(含一种酶的球粒、颗粒、稳定化的液体等)或作为两种或多种酶的混合物(例如cogranulates)加入。

其它可加入的适用的洗涤剂成分是描述于1992年1月31日提交的同时待审的欧洲专利申请92870018.6中的酶氧化清除剂。这种酶氧化清除剂的例子有乙氧基化四亚乙基聚胺。

酶材料和其掺入合成洗涤剂组合物中的方法也描述于 Genencor International 的 WO9307263 A 和 WO9307260 A、Novo 的 WO 8908694 A 和 McCarty 等人的 1971 年 1 月 5 日的美国专利 3553139 中。酶还公开于 1978 年 7 月 18 日的、Place 等人的 US 4101457 和 1985 年 3 月 26 日的、Hughes 的 US 4507219 中。可用于液体洗涤剂制剂的酶材料和其在这种制剂中的掺入描述于 1981 年 4 月 14 日的、Hora 等人的 US 4261868 中。用于洗涤剂中的酶可通过各种技术稳定。酶稳定的技术公开和举例说明于 1971 年 8 月 17 日 Gedge 等人的 US 3600319、1986 年 10 月 29 日的、Venegas 的 EP 199405 和 EP 200586 中。酶稳定体系也描述于例如在 US 3519570 中。一种提供蛋白酶、木聚糖酶和纤维素酶的有用的芽孢杆菌的菌种 AC13 描述于 Novo 的 WO 9401532A 中。

#### 漂白剂

现已惊异地发现还包括漂白剂、特别是漂白活性剂漂白体系的本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了增强的食品污渍/污垢去除、肮脏物清洁和白度保持。不希望受理论束缚，相信由糖类树脂降解酶水解产生的较小的发色颗粒更易被漂白活性漂白体系侵蚀、在低温下更是如此。

另外可包括在本发明的洗衣用洗涤剂组合物中的任选洗涤剂成分包括漂白剂诸如过氧化氢、PB1、PB4 和粒度为 400-800 微米的过碳酸盐。

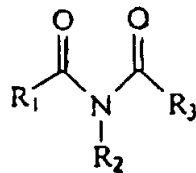
这些漂白剂组分可包括一种或多种氧漂白剂，并根据所选的漂白剂还可包括一种或多种漂白活性剂。当存在氧漂白化合物时，其一般以约 1-约 25%的水平存在。

此中所用的漂白剂组分可以是任何可用于洗衣用洗涤剂组合物的漂白剂，包括氧漂白剂以及其它为本领域人员所熟悉的漂白剂。适用于本发明的漂白剂可以是活化或未活化的漂白剂。

可用的一类氧漂白剂包括过羧酸漂白剂和其盐。这类漂白剂的适  
 合例子包括一过氧邻苯二甲酸镁六水合物、间氯过苯甲酸、4-壬氨基  
 -4-氧代过氧丁酸和二过氧十二烷二酸的镁盐。这种漂白剂公开于美  
 5 国专利 4483781、美国专利申请 740446、欧洲专利申请 0133354 和  
 美国专利 4412934 中。高度优选的漂白剂也包括描述于美国专利  
 4634551 中的 6-壬氨基-6-氧代过氧己酸。

另一类可用的漂白剂包括卤漂白剂。例如次卤酸盐漂白剂的例子  
 包括三氯异氰尿酸和二氯异氰尿酸的钠盐和钾盐和 N-氯和 N-溴链烷  
 磺酰胺。这种物质一般以终产品 0.5-10% (重量)、优选 1-5% (重量)的  
 10 水平加入。

过氧化氢释放剂可与漂白活性剂诸如四乙酰基乙二胺(TAED)、  
 壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS, 描述于美国专利 4412934)、3,5-三甲基己  
 酰氧基苯磺酸盐(ISONOBS, 描述于 EP 120591)或五乙酰基葡萄糖  
 (PAG)或 N-壬酰基-6-氨基己酸的苯酚磺酸酯(NACA-OBS, 描述于  
 15 WO94/28106)一起使用, 这些漂白活性剂可过氧化氢解而形成产生改  
 善的漂白效果的活性漂白物质的过酸。适用的活化剂还有例如公开  
 于同时待审的欧洲专利申请号 91870207.7 中的酰化柠檬酸酯和如公  
 开于 Procter & Gamble 同时待审的美国专利申请系列 60/022786 号  
 (1996 年 7 月 30 日提交)和 60/028122 号(1996 年 10 月 15 日提交)中  
 20 的下式的不对称无环酰亚胺漂白活性剂:



其中 R<sub>1</sub> 为 C<sub>7</sub>-C<sub>13</sub> 线性或分支链状的、饱和或不饱和烷基; R<sub>2</sub> 为 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>  
 线性或分支链状的饱和或不饱和烷基; R<sub>3</sub> 为 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 线性或分支链状的  
 饱和或不饱和烷基。

用于按照本发明的洗涤剂组合物中的可用的漂白剂、包括过氧酸和含漂白活性剂与过氧漂白化合物的漂白体系描述于我们的同时待审的申请 USSN 08/136626、PCT/US95/07823、WO95/27772、WO95/27773、WO95/27774 和 WO95/27775 中。

5 过氧化氢也可通过在洗涤开始或洗涤期间和/或漂洗过程中加入能产生过氧化氢的酶体系(即一种酶和一种底物)而存在。这种酶体系描述于 1991 年 10 月 9 日提交的欧洲专利申请 91202655.6 中。

10 用于漂白组合物中的含金属催化剂包括含钴催化剂诸如乙酸五胺钴(III)盐和含锰催化剂诸如描述于 EPA 549271; EPA 549272; EPA 458397; US 5246621; EPA 458398; US 5194416 和 US 5114611 中的这类催化剂。包含过氧化物、含锰漂白催化剂和螯合剂的漂白组合物描述于专利母申请 94870206.3 中。

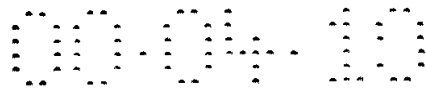
15 氧漂白剂以外的漂白剂也为本领域人员所熟悉并且可用于此中。一类特别有意义的非氧漂白剂包括光活化的漂白剂诸如磺酸化的酞花菁锌和/或铝。这些物质可在洗涤过程中沉积在携污体上。在氧的存在下经光辐照后, 诸如通过将衣服挂在日光下干燥时, 磺酸化的酞花菁锌被激活并从而将携污体漂白。优选的酞花菁锌和光活化漂白方法描述于美国专利 4033718 中。一般来说, 洗涤剂组合物将包含约 0.025-约 1.25%(重量)磺酸化酞花菁锌。

20

### 助剂体系

25 本发明的洗衣用洗涤剂组合物将优选包括助剂, 更优选包括无机助剂、最优选包括沸石 A、层状硅酸盐和/或三聚磷酸钠。现已惊异地发现还包括助剂的本发明的洗衣用洗涤剂组合物提供了增强的食品污渍/污垢去除、肮脏物清洁和白度保持效能。不希望受理论的束缚, 相信糖类树胶可夹带着钙并依此限制酶水解。所以, 期望使用助剂来去除夹带的钙以及有助于糖类树胶降解酶的作用。

常规的助剂体系均适用于此中, 包括硅铝酸盐物质、硅酸盐、聚



羧酸盐、烷基或链烯基琥珀酸和脂肪酸物质诸如乙二胺四乙酸盐、二亚乙基三胺五亚甲基乙酸盐的物质、金属离子多价螯合剂诸如氨基多聚膦酸盐、特别是乙二胺四亚甲基膦酸和二亚乙基三胺五亚甲基膦酸。磷酸盐助剂也可用于此中。

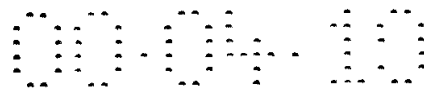
5 适用的助剂可以是无机离子交换材料，通常是无机水合硅铝酸盐材料，更具体是水合合成沸石诸如水合沸石 A、X、B、HS 或 MAP。

另一种适用的无机助剂材料是层状硅酸盐例如 SKS-6(Hoechst)。SKS-6 是一种包括硅酸钠( $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ )的结晶层状硅酸盐。

10 适用的包含一个羧基的聚羧酸盐包括公开于比利时专利 831368、821369 和 821370 中的乳酸、乙醇酸和其醚衍生物。含两个羧基的聚羧酸盐包括琥珀酸、丙二酸、(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，以及包括德国公开说明书(Offenlegenschrift) 2446686 和 2446687 及美国专利号 3935257 中所述的在醚羧酸盐以及在比利时专利号 840623 中所述的  
15 亚硫酰基羧酸盐。含三个羧基的聚羧酸盐具体包括水溶性柠檬酸盐、aconitrates 和柠康酸盐以及琥珀酸盐衍生物诸如英国专利号 1379241 中所述的羧甲氧基琥珀酸盐、荷兰专利申请 7205873 中所述的乳酰氧基琥珀酸盐和氧聚羧酸盐材料诸如英国专利号 1387447 中所述的 2-氧杂-1,1,3-丙烷三羧酸盐。

20 含四个羧基的聚羧酸盐包括英国专利号 1261829 中公开的氧二琥珀酸盐、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。含磺基取代基的聚羧酸盐包括公开于英国专利号 1398421 和 1398422 和美国专利号 3936448 中的磺基琥珀酸盐衍生物和英国专利号 1082179 中所述的磺酸化热解柠檬酸盐，而含 phosphone 取代  
25 基的聚羧酸盐公开于英国专利号 1439000 中。

脂环和杂环聚羧酸盐包括环戊烷-顺,顺,顺-四羧酸盐、环戊二烯负离子五羧酸盐、2,3,4,5-四氢咪喃-顺,顺,顺-四羧酸盐、2,5-四氢咪喃-顺-二羧酸盐、2,2,5,5-四氢咪喃-四羧酸盐、1,2,3,4,5,6-己烷-六羧酸



盐和多元醇诸如山梨醇、甘露糖醇和木糖醇的羧甲基衍生物。芳族聚羧酸盐包括苯六甲酸、1,2,4,5-苯四酸和英国专利号 1425343 中公开的邻苯二甲酸衍生物。

5 在上面的聚羧酸盐中，优选的是每分子含至多 3 个羧基的羟基羧酸盐，特别是柠檬酸盐。

10 优选用于本发明的组合物中的助剂体系包括水不溶性硅铝酸盐助剂诸如沸石 A 或层状硅酸盐(SKS-6)和水溶性羧酸盐螯合剂诸如柠檬酸的混合物。其它优选的助剂体系包括水不溶性硅铝酸盐助剂诸如沸石 A 和水溶性羧酸盐螯合剂诸如柠檬酸的混合物。优选用于本发

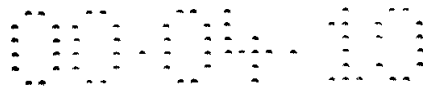
15 明的液体洗涤剂组合物中的助剂体系是肥皂和聚羧酸盐。  
其它可构成用于颗粒组合物的助剂体系一部分的助剂材料包括无机材料诸如碱金属碳酸盐、碳酸氢盐、硅酸盐和有机物质诸如有机膦酸盐、氨基聚烯烃膦酸盐和氨基聚羧酸盐。其它适用的水溶性有机盐有均聚或共聚酸或其盐，其中所述聚羧酸包括至少两个通过不超过两个碳原子相互分隔的羧基。这种类型的聚合物公开于 GB-A-1596756 中。这种盐的例子有分子量为 2000 到 5000 的聚丙烯酸盐和其与马来酸酐的共聚物，这种共聚物具有 20000 到 70000 的分子量、特别是约 40000 的分子量。

20 洗涤剂盐正常以占组合物 5-80%、优选 10-70%、最优选 30-60% (重量)的量包括在其中。

#### 其它表面活性剂体系

25 本发明的洗衣用洗涤剂组合物也可包含阳离子、两性、两性离子和半极性表面活性剂，以及前面所述以外的非离子和/或阴离子表面活性剂。

两性表面活性剂也适用于本发明的洗衣用洗涤剂组合物。这些表面活性剂可泛称为仲胺或叔胺的脂族衍生物，或者是杂环仲胺和叔胺的脂族衍生物(其中所述脂族基团可为直链或支链)。所述脂族取代



基之一包含至少约 8 个碳原子、一般约 8 到约 18 个碳原子，并且至少一个包含阴离子水加溶基团例如羧基、磺酸根、硫酸根。对于两性表面活性剂的例子来说，可参见 1975 年 12 月 30 日授权的 Laughlin 等人的美国专利号 3929678 的 19 栏 18 到 35 行。

5 当这种两性表面活性剂存在时，本发明的洗衣用洗涤剂组合物一般包括 0.2 到约 15%、优选约 1-约 10% (重量)的这种两性表面活性剂。

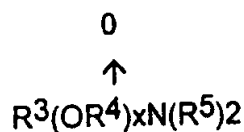
两性离子表面活性剂也适用于洗衣用洗涤剂组合物。这些表面活性剂可泛称为仲胺和叔胺的衍生物、杂环仲胺和叔胺的衍生物、或季铵、季磷、或叔硫化合物的衍生物。对于两性离子表面活性剂的例子来说，可参见 1975 年 12 月 30 日授权的 Laughlin 等人的美国专利号 3929678 的 19 栏 38 行到 22 栏 48 行。

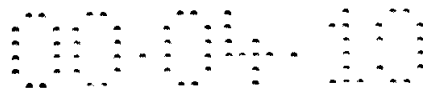
当这种两性离子表面活性剂存在时，本发明的洗衣用洗涤剂组合物一般包括 0.2 到约 15%、优选约 1-约 10% (重量)的这种两性离子表面活性剂。

15 半极性非离子表面活性剂是一种特殊种类的非离子表面活性剂，它包括水溶性胺氧化物(所述胺氧化物包含一个含约 10 到约 18 个碳原子的烷基部分和两个选自含约 1 到约 3 个碳原子的烷基和羟烷基的部分)、水溶性磷氧化物(所述磷氧化物包含一个含约 10 到约 18 个碳原子的烷基部分和两个选自含约 1 到约 3 个碳原子的烷基和羟烷基的部分)和水溶性亚砷(所述亚砷包含一个含约 10 到约 18 个碳原子的烷基部分和一个选自含约 1 到 3 约个碳原子的烷基和羟烷基的部分)。

半极性非离子洗涤剂表面活性剂包括具有下式的胺氧化物表面活性剂：

25





5 式中 R<sup>3</sup> 为烷基、羟烷基或烷基苯基或其混合物，其含约 8 到约 22 个碳原子；R<sup>4</sup> 为含约 2 到约 3 个碳原子的亚烷基或羟基亚烷基或其混合物；x 为 0 到约 3；各个 R<sup>5</sup> 为含约 1 到约 3 个碳原子的烷基或羟烷基或者是含约 1 到约 3 个氧乙烯基团的聚氧乙烯基。所述 R<sup>5</sup> 基团可例如通过氧原子或氮原子相互连接而形成环结构。

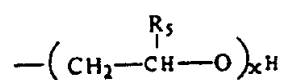
这些胺氧化物表面活性剂具体包括 C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub> 烷基二甲基胺氧化物和 C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub> 烷氧基乙基二羟基乙胺氧化物。

10 当这种半极性非离子表面活性剂存在时，本发明的清洁组合物一般包括 0.2-约 15%、优选约 1-约 10% (重量)的这种半极性非离子表面活性剂。

15 本发明的洗衣用洗涤剂组合物还可包括选自伯胺或叔胺的助表面活性剂。适用于此中的伯胺包括按照式 R<sup>1</sup>NH<sub>2</sub> 的胺，式中 R<sup>1</sup> 为 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>、优选 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 烷基链或 R<sup>4</sup>X(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>，X 为 -O-、-C(O)NH-或-NH-，R<sup>4</sup> 为一个 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> 烷基链，n 为 1 到 5 并优选为 3。R<sup>1</sup> 烷基链可以是直链或支链并且可以被上至 12、优选少于 5 个氧乙烯基隔开。

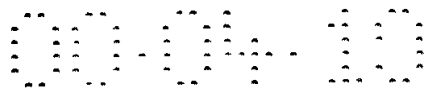
优选的按照上式的胺是正烷基胺。适用此中的胺可选自 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺和月桂胺。其它优选的伯胺包括 C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> 氧丙胺、辛氧基丙胺、2-乙基己氧基丙胺、月桂酰氨基丙胺和酰氨基丙胺。

20 适用于此中的叔胺包括具有式 R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>N 的叔胺，式中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 烷基链或

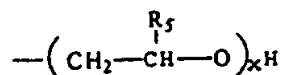


R<sub>3</sub> 为 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>、优选 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 烷基链或者 R<sub>3</sub> 为 R<sub>4</sub>X(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>，其中 X 为 -O-、-C(O)NH-或-NH-，R<sub>4</sub> 为 C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>，n 为 1 到 5、优选 2 到 3。R<sub>5</sub> 为 H 或 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 烷基，并且 x 为 1 到 6。

25 R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 可为线性或分支；R<sub>3</sub> 烷基链可被上至 12、优选少于 5 个氧乙烯基隔开。

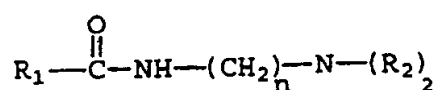


优选的叔胺为式  $R_1R_2R_3N$ ，其中  $R_1$  为  $C_6-C_{12}$  烷基链， $R_2$  和  $R_3$  为  $C_1-C_3$  烷基或



式中  $R_5$  为 H 或  $\text{CH}_3$  并且  $x$  为 1 到 2 的叔胺。

5 优选的还有下式的酰氨基胺：



式中  $R_1$  为  $C_6-C_{12}$  烷基； $n$  为 2 到 4，

优选  $n$  为 3； $R_2$  和  $R_3$  为  $C_1-C_4$ 。

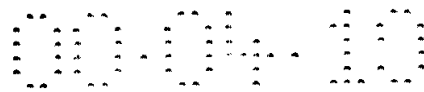
10 最优选的本发明的胺包括 1-辛胺、1-己胺、1-癸胺、1-十二烷胺、 $C_8-C_{10}$  氧基丙胺、N-椰油基-1,3-二氨基丙烷、椰油基烷基二甲胺、月桂基二甲胺、月桂基双(羟乙基)胺、椰油基双(羟乙基)胺、月桂胺 2 摩尔丙氧化物、辛胺 2 摩尔丙氧化物、月桂酰氨基丙基二甲胺、 $C_8-C_{10}$  酰氨基丙基二甲胺和  $C_{10}$  酰氨基丙基二甲胺。

15 最优选用于本发明的组合物中的胺是 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺、1-十二烷胺。特别需要的是正十二烷基二甲胺和双羟乙基椰油烷基胺和 7 倍乙氧基化的油胺、月桂酰氨基丙胺和椰油酰氨基丙胺。

#### 护色和织物护理益处

20 也可包括提供护色益处的工艺。这些工艺的例子有用于颜色保持的金属催化剂。这种金属催化剂描述于同时待审的欧洲专利申请 92870181.2 中。固色剂、用于抗皱和改善吸水性的聚烯烃分散体、用于护色处理和香料亲和处理的香料和氨基官能聚合物是护色/织物护理工艺的其它例子，并且描述于 1996 年 11 月 7 日提交的同时待

25 审的专利申请 96870140.9 中。



5 织物软化剂也可掺入到按照本发明的洗衣用洗涤剂组合物中。这些软化剂可以是无机类型也可以是有机类型。无机软化剂的例子有公开于 GB-A-1400898 和美国专利 5019292 中的绿土。有机织物软化剂包括公开于 GB-A1514276 和 EP-B0011340 中的水不溶性叔胺和公开于 EP-B-0026527 和 EP-B-0026528 中的其与单 C12-C14 季铵盐的混合物以及公开于 EP-B-0242919 中的二-长链酰胺。其它有用的织物软化体系的有用有机成分包括如公开于 EP-A-0299575 和 0313146 中的高分子量聚氧乙烯材料。

10 绿土的水平正常为 2-20%、更优选 5-15% (重量), 该材料作为与制剂其它成分干燥混合的组分的形式加入。有机织物软化剂诸如水不溶性叔胺或二长链酰胺物质以 0.5-5% (重量)、正常 1-3% (重量)的水平掺入, 而高分子量聚氧乙烯物质和水溶性阳离子物质以 0.1-2%、正常 0.15-1.5% (重量)的水平加入。这些物质通常加入到组合物的喷雾干燥部分, 尽管有时将它们作为干燥混合的颗粒物加入或将它们  
15 作为熔融液体喷雾到组合物的其它固体组分上更为方便。

### 螯合剂

20 本发明的洗衣用洗涤剂组合物也可任选包含一种或多种铁和/或锰螯合剂。这种螯合剂可选自氨基羧酸盐、氨基膦酸盐、多官能取代的芳族螯合剂和其混合物, 所有均如后文定义。不希望受理论束缚, 相信这些物质的益处部分是由于其通过形成可溶性螯合物导致的超常的从洗涤液中去除铁和锰的能力。

25 可用作任选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、次氨基三乙酸盐、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、其碱金属、铵和取代铵盐和其混合物。

当至少低水平的总磷容许存在于洗涤剂组合物中时, 氨基膦酸盐也适用作为本发明的组合物中的螯合剂, 并且包括作为 DEQUEST

的乙二胺四(亚甲基膦酸盐)。优选这些氨基膦酸盐并不包含多于约 6 个碳原子的烷基或链烯基。

多官能取代的芳族螯合剂也可用于本发明的组合物中。参见 1974 年 5 月 21 日授权的 Connor 等人的美国专利 3812044。优选的酸式的这种类型的化合物为二羟基二磺基苯诸如 1,2-二羟基-3,5-二磺基苯。

一种优选用于此中的生物可降解螯合剂是乙二胺二琥珀酸盐 (“EDDS”)、特别是 1987 年 11 月 3 日 Hartman 和 Perkins 的美国专利 4704233 中所述的[S, S]异构体。

此中的组合物也可包含水溶性甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)盐(或酸式)作为可与例如不溶性助剂诸如沸石、层状硅酸盐等一起使用的螯合剂或助洗剂。

如果使用，这些螯合剂一般占本发明洗涤剂组合物的约 0.1-约 15% (重量)。更优选，如果使用，所述螯合剂占这种组合物的约 0.1-约 3.0% (重量)。

15

#### 抑泡剂

另一种任选的成分是抑泡剂，例如硅氧烷和硅石-硅氧烷混合物。硅氧烷可一般由烷基化聚硅氧烷物质代表，而硅石正常以细碎形式使用，例如硅石气溶胶和干凝胶和各种类型的疏水硅石。这些物质可以以颗粒物形式掺入，其中所述抑泡剂有利地可释放地掺入到水溶性或可水分散的、基本上非表面活性的洗涤不渗透剂载体中。或者所述抑泡剂可溶解或分散于液体载体中并可通过喷雾在一种或多种其它组分上来施用。

一种优选的硅氧烷泡沫控制剂公开于 Bartollota 等人的美国专利 3933672 中。其它特别有用的抑泡剂是描述于 1977 年 4 月 28 日公开的德国专利申请 DTOS 2646126 中的自乳化硅氧烷抑泡剂。这种化合物的一个例子是可购自 Dow Corning 的 DC-544，它是一种硅氧烷-二元醇共聚物。特别优选的泡沫控制剂是包括硅油和 2-烷基链烷醇的

25

混合物的抑泡剂系统。适用的 2-烷基链烷醇是可以以 Isofol 12R 的商品名购买的 2-丁基-辛醇。

这种抑泡剂体系描述于 1992 年 11 月 10 日提交的同时待审的欧洲专利申请 N92870174.7 中。

5 特别优选的硅氧烷泡沫控制剂描述于同时待审的欧洲专利申请号 92201649.8 中。所述组合物可包括连同热解法无孔硅石诸如 Aerosil® 的硅氧烷/硅石混合物。

上述的抑泡剂正常以占组合物的 0.001-2% (重量)、优选 0.01-1% (重量)的水平使用。

10

其它

可使用用于洗衣用洗涤剂组合物中的其它组分, 诸如污垢悬浮剂、去污剂、荧光增白剂、摩擦剂、杀菌剂、晦暗抑制剂、着色剂和/或包封或非包封香料。

15

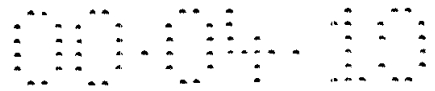
特别适合的包封物质是包括诸如在 GB1464616 中所述的多糖和多羟基化合物的基体的水溶性胶囊。其它适用的水溶性包封物质包括源于诸如 US3455838 中所述的取代二元羧酸的未胶凝化淀粉酸酯的糊精。这些酸酯糊精优选从诸如蜡质玉米、蜡质高粱、西米、木薯淀粉和马铃薯淀粉制备。适用的所述包封物质的例子包括由

20

National Starch 生产的 N-Lok。所述 N-Lok 包封物质包括改性的玉米淀粉和葡萄糖。所述淀粉通过加入单官能取代的基团诸如辛烯基琥珀酸酐改性。

25

适用于本发明中的抗再沉积剂和污垢悬浮剂包括纤维素衍生物诸如甲基纤维素、羧甲基纤维素和羟乙基纤维素以及均聚或共聚聚羧酸或其盐。这种类型的聚合物包括前述为助剂的聚丙烯酸盐和马来酸酐-丙烯酸共聚物以及马来酸酐与乙烯、甲基乙烯基醚或甲基丙烯酸的共聚物, 所述马来酸酐占该共聚物的至少 20% (摩尔)。这些物质正常以占组合物的 0.5-10% (重量)、更优选 0.75-8% (重量)、最优

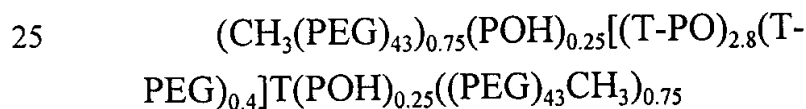


选 1-6% (重量) 的水平使用。

5 优选的荧光增白剂是具有阴离子性质的荧光增白剂，其例子为  
 4,4' -双(2-二乙醇氨基-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)均二苯代乙烯-  
 2,2' -二磺酸二钠；4,4' -双(2-吗啉代-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基均二  
 10 苯代乙烯-2,2' -二磺酸二钠；4,4' -双(2,4-二苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)  
 均二苯代乙烯-2,2' -二磺酸二钠；4', 4'' -双(2,4-二苯胺基-s-三嗪-6-  
 基氨基)均二苯代乙烯-2-磺酸一钠；4,4' -双(2-苯胺基-4-(N-甲基-N-2-  
 羟乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)均二苯代乙烯-2,2' -二磺酸二钠；4,4' -  
 15 双(4-苯基-2,1,3-三唑-2-基)-均二苯代乙烯-2,2' -二磺酸二钠；4,4' -  
 10 双(2-苯胺基-4-(1-甲基-2-羟乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)均二苯代乙烯-  
 2,2' -二磺酸二钠；2(脲基-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。高度优选的荧光增白剂是公  
 开于欧洲专利申请号 95201943.8 中的具体荧光增白剂。

15 其它可用的聚物质是聚乙二醇、特别是分子量 1000 到 10000、  
 更具体是 2000 到 8000、最优选约 4000 的聚乙二醇。它们可以以  
 0.20-5%、更优选 0.25-2.5% (重量) 的水平使用。这些聚合物和前述的  
 均聚或共聚聚羧酸盐对于改善白度保持、织物灰分沉积和在过渡金  
 属杂质的存在下对泥土、蛋白质类和可氧化的污垢的清洁性能是极  
 有价值的。

20 可用于本发明组合物中的去污剂是常规的对苯二甲酸与各种排布  
 的乙二醇和/或丙二醇单元的共聚物或三元共聚物。这种聚合物的例  
 子公开于共同转让的美国专利号 4116885 和 4711730 和欧洲公开的  
 专利申请号 0272033 中。一种特别优选的按照 EP-A-0272033 的聚合  
 物具有下式：



式中 PEG 为  $-(\text{OC}_2\text{H}_4)_n\text{O}-$ ，PO 为  $(\text{OC}_3\text{H}_6\text{O})$  和 T 为  $(\text{pcOC}_6\text{H}_4\text{CO})$ 。

非常有用的还有作为对苯二甲酸二甲酯、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的改性聚酯，其端基主要包括

磺基苯甲酸盐，其次包括乙二醇和/或丙二醇的单酯。目标是获得两端均被磺基苯甲酸盐基团封端的聚合物，在本专利说明书中“主要”这里是指大多数所述共聚物被磺基苯甲酸盐基团封端。但是，一些共聚物并没有被完全封端，因此其端基可能包括乙二醇和/或丙 1,2

5

二醇的单酯，因此“其次”包括这种物质。  
此中所选的聚酯包含约 46% (重量)对苯二甲酸二甲酯、约 16% (重量)丙烷 1,2-二醇、约 10% (重量)乙二醇、约 13% (重量)磺基苯甲酸二甲酯和约 15% (重量)磺基间苯二甲酸并且具有约 3000 的分子量。所述聚酯和其制备方法详细描述于 EPA311342 中。

10

本领域人员熟知在自来水中的游离氯快速钝化洗涤剂组合物中包含的酶。因此，在配方中以占总组合物的 0.1% (重量)以上的水平使用氯清除剂诸如过硼酸盐、硫酸铵、亚硫酸钠或聚亚乙基亚胺以便提供改善的整个洗涤剂用酶的洗涤稳定性。包括氯清除剂的组合物描述于 1992 年 1 月 31 日提交的欧洲专利申请 92870018.6 中。

15

烷氧基化聚羧酸酯诸如从聚丙烯酸酯制备的那些在此中可用于提供另外的脱脂性能。这种物质描述于均通过引用并入本文的 WO 91/08281 和 PCT 90/01815 的第 4 页及后文中。化学上，这些物质包括每 7 到 8 个丙烯酸酯单元一个乙氧基侧链的聚丙烯酸酯。所述侧链为式  $-(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_3$ ，式中  $m$  为 2 到 3，并且  $n$  为 6 到 12。所述侧链被酯连接到聚丙烯酸酯“骨架”上以提供“梳”聚合物类型结构。所述分子量可不同，但是一般在约 2000 到约 50000 的范围。这种烷氧基化聚羧酸酯可占此中组合物的约 0.05-约 10% (重量)。

20

#### 分散剂

25

本发明的洗衣用洗涤剂组合物也可包含分散剂。适合的水溶性有机盐为均聚或共聚酸或其盐，其中所述聚羧酸包括至少两个由不超过两个碳原子相互隔开的羧基。这种类型的聚合物公开于 GB-A-1596756 中。这种盐的例子有分子量为 2000 到 5000 的聚丙烯酸盐和

其与马来酸酐的共聚物，这种共聚物具有 1000 到 100000 的分子量。

特别是诸如分子量约 4000 的 480N 的丙烯酸盐和甲基丙烯酸盐的共聚物可以以组合物的 0.5-20% (重量)的水平加入到本发明的洗衣用洗涤剂组合物中。

5           本发明的组合物可包含优选具有如后文所定义的不大于 8、优选不大于 7、最优选不大于 6 的钙皂分散力(LSDP)的钙皂胶溶剂化合物。所述钙皂胶溶剂化合物优选以 0-20% (重量)的水平存在。

10           钙皂胶溶剂效力的数字测量通过使用如在 H.C. Borghetty 和 C. A. Bergman 在 1950 年 J. Am. Oil. Chem. Soc.第 27 卷 88 到 90 页的文章中所述的钙皂分散剂试验方法测得的钙皂分散力(LSDP)给出。这种钙皂分散试验方法为本领域人员广泛使用，并出现在例如下列综述文章中：W.N. Linfield 在 Surfactant science Series 第 7 卷第 3 页的文章；W.N.Linfield 在 1990 年 Tenside surf. det.第 27 卷 159 到 163 页的文章；和 M. K. Nagarajan、W. F. Masler 在 1989 年 Cosmetics and Toiletries 第 104 卷 71 到 73 页的文章。所述 LSDP 是在 30 毫升 333ppm CaCO<sub>3</sub>(Ca:Mg = 3:2)当量硬度的水中分散由 0.025 克油酸钠形成的钙皂沉积所需的分散剂与油酸钠的重量百分比率。

          具有良好钙皂胶溶能力的表面活性剂包括某些胺氧化物、甜菜碱、磺基甜菜碱、烷基乙氧基硫酸盐和乙氧基化醇。

20           可按本发明使用的 LSDP 不超过 8 的表面活性剂的例子包括 C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub> 二甲胺氧化物；平均乙氧基化度为 1 到 5 的 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 烷基乙氧基硫酸盐、特别是乙氧基化度为 3(LSDP = 4)的 C<sub>12</sub>-C<sub>15</sub> 烷基乙氧基硫酸盐表面活性剂；和由 BASF GmbH 分别以 Lutensol A012 和 Lutensol A030 的商品名出售的平均乙氧基化度为 12(LSDP = 6)或 30 的 C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub> 乙氧基化醇。

25           适用于此中的聚合钙皂胶溶剂由 M. K. Nagarajan 和 W. F. Masler 描述于 1989 年 Cosmetics and Toiletries 第 104 卷 71 到 73 页的文章中。

          疏水漂白剂诸如 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]苯磺酸盐和其混合物以及壬酰氧基苯磺酸盐与亲水/疏水漂白制剂一起也可用作钙皂胶溶剂化合物。

5           染料转移抑制

本发明的洗衣用洗涤剂组合物也可包括用于抑制在涉及有色织物的织物洗涤操作中遇到的溶解和悬浮染料从一种织物转移到另一种织物的化合物。

10           聚合染料转移抑制剂

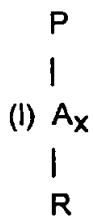
按照本发明的洗衣用洗涤剂组合物也包括 0.001-10%、优选 0.01-2%、更优选 0.05-1% (重量) 的聚合染料转移抑制剂。为了抑制洗涤时染料从有色织物转移到所洗涤的其它织物上，通常将所述聚合染料转移抑制剂掺入到洗衣用洗涤剂组合物中。这些聚合物具有在染料附着所洗涤的其它织物前配合或吸附有色织物洗出的短效染料的能力。

特别适用的聚合染料转移抑制剂是聚胺 N-氧化物聚合物、N-乙基吡咯烷酮和 N-乙基咪唑的共聚物、聚乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚乙烯基噁唑烷酮和聚乙烯基咪唑或其混合物。

20           这种聚合物的加入也增强了按照本发明的酶的效能。

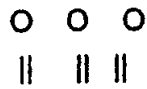
a) 聚胺 N-氧化物聚合物

适用的聚胺 N-氧化物聚合物包含下列结构式的单元：



25           式中 P 为可聚合单元，其上面可连接 R-N-O 基团或者其中 R-N-O 基

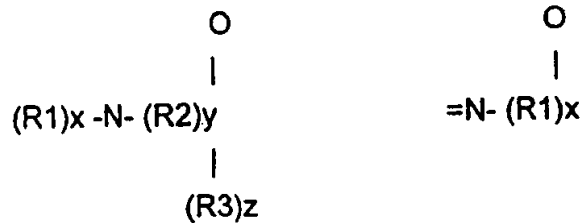
团构成了可聚合单元的一部分或者是两种情况的组合。



A 为 NC, CO, C, -O-, -S-, -N- ; x 为 0 或 1 ;

R 为脂族、乙氧基化脂族、芳族、杂环或脂环基团或其组合，其上可连接 N-O 基团的氮或者其中 N-O 基团的氮为这些基团的一部分。

5 所述 N-O 基团可由下面通式表示：



10 其中 R1、R2 和 R3 为脂族基团、芳族、杂环或脂环基团或其组合，x 或/和 y 或/和 z 为 0 或 1，并且其中可连接 N-O 基团的氮或者其中 N-O 基团的氮构成这些基团的一部分。

所述 N-O 基团可以是可聚合单元(P)的一部分或者可连接到聚合骨架上或者是两者的组合。

适用的其中 N-O 基团构成可聚合单元的一部分的聚胺 N-氧化物包括 R 选自脂族、芳族、脂环或杂环基团的聚胺 N-氧化物。

15 一类所述聚胺 N-氧化物包括其中 N-O 基团的氮构成 R 基团一部分的聚胺 N-氧化物。优选的聚胺 N-氧化物为其中 R 为杂环基团诸如吡啶、吡咯、咪唑、吡咯烷、哌啶、喹啉、吡啶和其衍生物的聚胺 N-氧化物。

20 另一类所述聚胺 N-氧化物包括其中 N-O 基团的氮连接到 R 基团上的聚胺 N-氧化物。

其它适用的聚胺 N-氧化物为其中 N-O 基团连接到可聚合单元上的聚胺氧化物。

优选类型的聚胺 N-氧化物为具有通式(I)且式中 R 为芳族、杂环或脂环基团以及其中 N-O 官能基的氮为所述 R 基的一部分的聚胺 N-氧化物。

5 这些类型的例子有其中 R 为杂环化合物诸如吡啶、吡咯、咪唑和其衍生物的聚胺氧化物。

另一优选类型的聚胺 N-氧化物为具有通式(I)且式中 R 为芳族、杂环或脂环基团(其中 N-O 官能基的氮连接到所述 R 基团上)的聚胺氧化物。

10 这些类型的聚胺氧化物的例子有其中 R 基团为芳族基团诸如苯基的聚胺氧化物。

只要所形成的胺氧化物聚合物为水溶性且具有染料转移抑制性能,任何聚合物骨架均可使用。适用的聚合物骨架的例子有聚乙烯、聚烯烃、聚酯、聚醚、聚酰胺、聚酰亚胺、聚丙烯酸酯和其混合物。

15 本发明的胺 N-氧化物聚合物一般具有 10:1 到 1:1000000 的胺与胺 N-氧化物的比率。但是,在聚胺氧化物聚合物中存在的氧化胺基的量可通过适当的共聚或通过适度的 N-氧化而改变。优选胺与胺 N-氧化物的比率为 2:3 到 1:1000000。更优选 1:4 到 1:1000000,最优选从 1:7 到 1:1000000。本发明的聚合物实际包括无规或嵌段共聚物,其中一种单体类型是胺 N-氧化物,另一种单体类型可以是胺 N-氧化物也可以不是。所述聚胺 N-氧化物的氧化胺单元具有 <10、优选 <7、更优选 <6 的 pKa。

可以获得几乎任何聚合程度的聚胺氧化物。聚合的程度并不重要,只要该物质具有所需的水溶性和染料悬浮能力即可。

25 一般来说,其平均分子量范围为 500 到 1000000;优选 1000 到 50000;更优选 2000 到 30000。最优选 3000 到 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-乙烯基咪唑和 N-乙烯基吡咯烷酮的共聚物具有 5000 到 1000000、优选 5000 到 200000 的平均分子量。

用于按照本发明的洗涤剂组合物中的高度优选的聚合物包括选自 N-乙烯基咪唑和 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物的聚合物，所述聚合物具有 5000 到 50000、更优选 8000 到 30000、最优选 10000 到 20000 的平均分子量。

5            所述平均分子量范围如 Barth H. G.和 Mays J. W.在 Chemical Analysis 第 113 卷 “Modern Methods of Polymer Characterization” 中所述通过光散射法测定。

            高度优选的 N-乙烯基咪唑和 N-乙烯基吡咯烷酮的共聚物具有 5000 到 50000、更优选 8000 到 30000、最优选 10000 到 20000 的平  
10            均分子量。

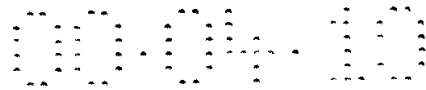
            具有所述平均分子量特征的 N-乙烯基咪唑和 N-乙烯基吡咯烷酮的共聚物提供了优良的染料转移抑制性能，同时不会负面影响用其配制的洗涤剂组合物的清洁性能。

            本发明的 N-乙烯基咪唑和 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物具有 1 到  
15            0.2、更优选 0.8 到 0.3、最优选 0.6 到 0.4 的 N-乙烯基咪唑与 N-乙烯基吡咯烷酮的摩尔比率。

#### c) 聚乙烯基吡咯烷酮

            本发明的洗涤剂组合物也可使用具有约 2500 到约 400000、优选约 5000 到约 200000、更优选约 5000 到约 50000、最优选约 5000 到  
20            约 15000 的平均分子量的聚乙烯基吡咯烷酮(“PVP”)。适用的聚乙烯基吡咯烷酮是从纽约, NY 和加拿大的蒙特利尔的 ISP Corporation 以 PVP K-15(10000 的粘度分子量)、PVP K-30 (40000 的平均分子量)、PVP K-60 (160000 的平均分子量)和 PVP K-90 (360000 的平均分子量)的商品名购买的聚乙烯基吡咯烷酮。其它适用的可购自 BASF  
25            Cooperation 的聚乙烯基吡咯烷酮包括 Sokalan HP 165 和 Sokalan HP 12；为洗涤剂领域技术人员所熟悉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 到约 400000、优选约 5000 到约 200000、更优选约 5000 到约 50000、最优选约 5000 到约 15000 的平均分子量。

5 e) 聚乙烯基咪唑：

本发明的洗涤剂组合物也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 到约 400000、优选约 5000 到约 200000、更优选约 5000 到约 50000、最优选约 5000 到约 15000 的平均分子量。

10 f) 交联的聚合物：

交联聚合物是其骨架相互连接到一定程度的聚合物；这些连接可以是化学性质也可以是物理性质，可能带有骨架或分支上的活性基团；交联聚合物已被描述于 Journal of Polymer Science 的 22 卷 1035 到 1039 页。

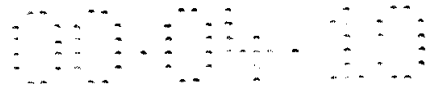
15 在一种实施方案中，交联聚合物被制备成三维刚性结构，其可在三维结构形成的孔隙中包夹染料。在另一种实施方案中，所述交联聚合物通过溶胀包夹染料。这种交联聚合物描述于同时待审的专利申请 94870213.9 中。

20 洗涤方法

本发明的组合物基本上可采用任何洗涤或清洁方法，包括浸渍法、预处理法和带有漂洗步骤(可加入单独的漂洗助剂组合物)的方法。

25 此中所述的方法包括将织物以通常和下面举例说明的方式与洗涤溶液接触。

本发明的方法方便地在清洁过程中进行。所述清洁方法优选在 5-95℃ 下、特别是在 10-60℃ 之间进行。处理溶液的 pH 优选为 7 到 11。优选本发明的洗衣用洗涤剂组合物在 1% 的水溶液中具有 7 到 9.5 的



pH(称为“碱性”洗涤剂)。

下面的实施例用于说明本发明的组合物，但并不意味着限制或限定本发明的范围。

除非另加说明，在所述洗涤剂组合物中，酶水平被表示为纯酶占总组合物的重量比率，洗涤剂成分以占总组合物的重量比率表示。  
5 此中缩写的组分名称具有下面的意义：

LAS：线性  $C_{11-13}$  烷基苯磺酸钠；

TAS：牛油基烷基硫酸钠；

CxyAS： $C_{1x}-C_{1y}$  烷基硫酸钠；

10 CxySAS： $C_{1x}-C_{1y}$  仲(2,3)烷基硫酸钠；

CxyEz：与平均  $z$  摩尔氧乙烯缩合的  $C_{1x}-C_{1y}$  主要为线性的伯醇；

CxyEzS：与平均  $z$  摩尔氧乙烯缩合的  $C_{1x}-C_{1y}$  烷基硫酸钠；

QAS： $R_2N^+(CH_3)_2(C_2H_4OH)$ ，其  $R_2$  为  $C_{12}-C_{14}$ ；

QAS1： $R_2N^+(CH_3)_2(C_2H_4OH)$ ，其  $R_2$  为  $C_8-C_{11}$ ；

15 APA： $C_{8-10}$  酰氨基丙基二甲胺；

肥皂：源于 80/20 牛脂和椰油脂肪酸的混合物的线性烷基羧酸钠；

非离子：具平均 3.8 的乙氧基化度和平均 4.5 的丙氧基化度的  $C_{13}-C_{15}$  混合的乙氧基化/丙氧基化脂肪醇；

20 Neodol 45-13：由 Shell Chemical Co. 出售的  $C_{14}-C_{15}$  线性伯醇乙氧基化物；

Quat：季铵表面活性剂，选自下面的一种或多种：月桂基三甲基氯化铵、肉豆蔻基三甲基氯化铵、棕榈基三甲基氯化铵、椰油三甲基氯化铵、椰油三甲基(甲基硫酸)铵、椰油二甲基单羟乙基氯化铵、椰油二甲基单羟乙基(甲基硫酸)铵、硬脂基二甲基单羟乙基氯化铵、硬脂基二甲基单羟乙基(甲基硫酸)铵、二- $C_{12}-C_{14}$  烷基二甲基氯化铵；

STS：甲苯磺酸钠；

CFAA： $C_{12}-C_{14}$  烷基 N-甲基葡萄糖酰胺；

TFAA： $C_{16}-C_{18}$  烷基 N-甲基葡萄糖酰胺；

- TPKFA:  $C_{12}$ - $C_{14}$  拔顶全馏分脂肪酸;
- DEQA: 二(牛脂氧乙基)二甲基氯化铵;
- DEQA(2): 二(软牛脂氧乙基)羟乙基甲基(甲基硫酸)铵;
- DTDMAMS: 二牛脂二甲基(甲基硫酸)铵;
- 5 SDASA: 1:2 比率的硬脂基二甲基胺:三压硬脂酸;
- 硅酸盐: 无定形硅酸钠( $SiO_2:Na_2O$  比率为 1.6 到 3.2);
- 沸石 A: 初级粒径为 0.1 到 10 微米的式  $Na_{12}(AlO_2SiO_2)_{12} \cdot 27H_2O$  的水合硅铝酸钠(重量按无水情况表示)。
- Na-SKS-6: 式  $\delta-Na_2Si_2O_5$  的结晶层状硅酸盐;
- 10 柠檬酸盐: 粒径分布在 425 到 850 微米之间的活度为 86.4% 的柠檬酸三钠二水合物;
- 柠檬酸: 无水柠檬酸;
- 硼酸盐: 硼酸钠;
- 碳酸盐: 粒径在 200 到 900 微米之间的无水碳酸钠;
- 15 碳酸氢盐: 粒径分布在 400 到 1200 微米之间的无水碳酸氢钠;
- 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;
- 20 MA/AA: 平均分子量为约 70000 到 80000 的 4:1 丙烯酸盐/马来酸盐无规共聚物;
- MA/AA1: 平均分子量为约 10000 的 6:4 丙烯酸盐/马来酸盐无规共聚物;
- AA: 平均分子量为 4500 的聚丙烯酸钠聚合物;
- 25 PB1: 示性式  $NaBO_2 \cdot H_2O_2$  的一水合过硼酸钠的无水物;
- PB4: 示性式  $NaBO_2 \cdot 3H_2O \cdot H_2O_2$  的四水合过硼酸钠;
- 过碳酸盐: 示性式  $2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2$  的无水过碳酸钠;
- NaDCC: 二氯异氰尿酸钠;

TAED：四乙酰基乙二胺；

NOBS：钠盐形式的壬酰氧基苯磺酸盐；

NACA-OBS：(6-壬酰氨基己酰基)氧苯磺酸盐；

DTPA：二亚乙基三胺五乙酸；

5 HEDP：1,1-羟基乙烷二磷酸；

DETPMP：由 Monsanto 以 Dequest 2060 的商品名推向市场的五(亚甲基)磷酸二乙基三胺盐；

EDDS：钠盐形式的乙二胺-N,N'-二琥珀酸，(S,S)异构体；

光活化漂白剂：包封于糊精可溶聚合物中的磺酸化酞菁花锌；

10 光活化漂白剂 1：包封于糊精可溶聚合物中的磺酸化酞菁花铝；

PAAC：乙酸五胺钴(III)盐；

甘露聚糖酶：由 Novo Nordisk A/C 以 Gamanase® 的商品名出售的甘露聚糖酶和/或从 Rohm 以 Rohapec® B1L 的商品名出售的酶产品提取的半乳甘露聚糖酶；

15 碱性甘露聚糖酶：源于 *Bacillus agardherens*, NCIMB 40482 的甘露聚糖酶；

蛋白酶：由 Novo Nordisk A/S 以 Savinase、Alcalase 和 Durazym 的商品名出售的蛋白水解酶和由 Gist-Brocades 以 Maxacal、Maxapem 出售的蛋白水解酶和描述于专利 WO91/06637 和/或 WO95/10591 和/或 EP251446 中的蛋白酶；

20

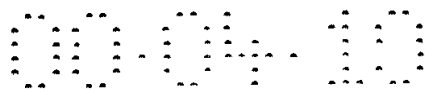
淀粉酶：描述于 WO94/18314、WO96/05295 由 Genercor 以 Purafact Ox Am® 的商品名出售的淀粉分解酶；可购自 Novo Nordisk A/S 的 Termamyl®、Fungamyl® 和 Duramyl® 和 WO95/26397 中所述的淀粉酶；

脂酶：Novo Nordisk A/S 以 Lipolase、Lipolase Ultra 的商品名出售的脂解酶和 Gist-Brocades 以 Lipomax 的商品名出售的脂解酶；

25

纤维素酶：Novo Nordisk A/S 以 Carezyme、Celluzyme 和/或 Endolase 的商品名出售的纤维素分解酶；

CMC：羧甲基纤维素钠；



PVP: 平均分子量为 60000 的聚乙烯烯聚合物;

PVNO: 平均分子量为 50000 的聚乙烯基吡啶-N-氧化物;

PVPVI: 平均分子量为 20000 的乙烯基咪唑和乙烯基吡咯烷酮的共聚物;

5 增亮剂 1: 4,4'-双(2-磺基苯乙烯基)联苯二钠;

增亮剂 2: 4,4'-双(4-苯胺基-6-吗啉代(morpholino-1,3,5-三嗪-2-基)均二苯代乙烯-2,2'-二磺酸二钠;

10 硅氧烷消泡剂: 以硅氧烷-氧化烯烃共聚物作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 到 100:1;

抑泡剂: 12%硅氧烷/硅石、18%硬脂醇、70%颗粒形式淀粉;

遮光剂: 由 BASF Aktiengesellschaft 以 Lytron 621 的商品名出售的水基单苯乙烯胶乳混合物;

SRP1: 阴离子封端的聚酯;

15 SRP2: 二乙氧基化聚(对苯二甲酸 1,2-丙二醇酯)短嵌段聚合物;

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 为 20 到 30;

PEI: 平均分子量为 1800 以及每个氮 7 个乙烯氧残基的平均乙氧基化度的聚乙烯亚胺;

20 聚合物 A: 具 15 的平均乙氧基化度的 PEI(MW=182)的改性聚胺;

聚合物 B: 具 20 的平均乙氧基化度的 PEI(MW=600)的改性聚胺;

聚酰胺-聚胺: 此中的聚酰胺-聚胺以下列商品名推向市场: Kymene<sup>®</sup>、Kymene 557H<sup>®</sup>、Kymene 557LX<sup>®</sup>、Reten<sup>®</sup>和 Cartaretin<sup>®</sup>;

25 SCS: 枯烯磺酸钠;

HMWPEO: 高分子量聚氧化乙烯;

PEG<sub>x</sub>: 分子量为 x 的聚乙二醇;

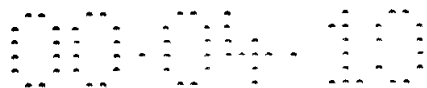
PEO: 平均分子量为 5000 的聚氧化乙烯;

TEPAE：四亚乙基五胺乙氧基化物。

实施例 1

按照本发明制备下面的高密度洗衣用洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV	V	VI
LAS	8.0	8.0	8.0	2.0	6.0	6.0
TAS	-	0.5	-	0.5	1.0	0.1
C46(S)AS	2.0	2.5	-	-	-	-
C25AS	-	-	-	7.0	4.5	5.5
C68AS	2.0	5.0	7.0	-	-	-
C25E5	-	-	3.4	10.0	4.6	4.6
C25E7	3.4	3.4	1.0	-	-	-
C25E3S	-	-	-	2.0	5.0	4.5
QAS	-	0.8	-	-	-	-
QAS1	-	-	-	0.8	0.5	1.0
沸石 A	18.1	18.0	14.1	18.1	20.0	18.1
柠檬酸	-	-	-	2.5	-	2.5
碳酸盐	13.0	13.0	27.0	10.0	10.0	13.0
Na-SKS-6	-	-	-	10.0	-	10.0
硅酸盐	1.4	1.4	3.0	0.3	0.5	0.3
柠檬酸盐	-	1.0	-	3.0	-	-
硫酸盐	26.1	26.1	26.1	6.0	-	-
硫酸镁	0.3	-	-	0.2	-	0.2
MA/AA	0.3	0.3	0.3	4.0	1.0	1.0
CMC	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4
PB4	9.0	9.0	5.0	-	-	-
过碳酸盐	-	-	-	-	18.0	18.0
TAED	1.5	0.4	1.5	-	3.9	4.2
NACA-OBS	-	2.0	1.0	-	-	-
DETPMP	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-
SRP1	-	-	-	0.2	-	0.2
EDDS	-	0.25	0.4	-	0.5	0.5
CFAA	-	1.0	-	2.0	-	-
HEDP	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4
QEA	-	-	-	0.2	-	0.5
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.0008	0.001	0.002	0.001
蛋白酶	0.009	0.009	0.01	0.04	0.05	0.03
淀粉酶	0.002	0.002	0.002	0.006	0.008	0.008
纤维素酶	0.0007	-	-	0.0007	0.0007	0.0007
脂酶	0.006	-	-	0.01	0.01	0.01
光活化漂白剂 (ppm)	15	15	15	-	20	20
PVNO/PVPVI	-	-	-	0.1	-	-
增亮剂 1	0.09	0.09	0.09	-	0.09	0.09

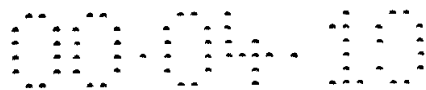


香料	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
硅氧烷消泡剂	0.5	0.5	0.5	-	0.3	0.3
密度, g/l	850	850	850	850	850	850
杂项和微量组分	到 100%					

## 实施例 2

按照本发明制备具体在欧洲洗衣机洗涤条件下使用的下面的颗粒洗衣用洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV	V	VI
LAS	5.5	7.5	5.0	5.0	6.0	7.0
TAS	1.25	1.9	-	0.8	0.4	0.3
C24AS/C25AS	-	2.2	5.0	5.0	5.0	2.2
C25E3S	-	0.8	1.0	1.5	3.0	1.0
C45E7	3.25	-	-	-	-	3.0
TFAA	-	-	2.0	-	-	-
C25E5	-	5.5	-	-	-	-
QAS	0.8	-	-	-	-	-
QAS1	-	0.7	1.0	0.5	1.0	0.7
STPP	19.7	-	-	-	-	-
沸石 A	-	19.5	25.0	19.5	20.0	17.0
NaSKS-6/柠檬酸 (79:21)	-	10.6	-	10.6	-	-
Na-SKS-6	-	-	9.0	-	10.0	10.0
碳酸盐	6.1	21.4	9.0	10.0	10.0	18.0
碳酸氢盐	-	2.0	7.0	5.0	-	2.0
硅酸盐	6.8	-	-	0.3	0.5	-
柠檬酸盐	-	-	4.0	4.0	-	-
硫酸盐	39.8	-	-	5.0	-	12.0
硫酸镁	-	-	0.1	0.2	0.2	-
MA/AA	0.5	1.6	3.0	4.0	1.0	1.0
CMC	0.2	0.4	1.0	1.0	0.4	0.4
PB4	5.0	12.7	-	-	-	-
过碳酸盐	-	-	-	-	18.0	15.0
TAED	0.5	3.1	-	-	5.0	-
NACA-OBS	1.0	3.5	-	-	-	2.5
DETPMP	0.25	0.2	0.3	0.4	-	0.2
HEDP	-	0.3	-	0.3	0.3	0.3
QEA	-	-	1.0	1.0	1.0	-
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.008	0.005	0.002	0.001
蛋白酶	0.009	0.03	0.03	0.05	0.05	0.02
脂酶	0.003	0.003	0.006	0.006	0.006	0.004
纤维素酶	0.0006	0.0006	0.0005	0.0005	0.0007	0.0007



淀粉酶	0.002	0.002	0.006	0.006	0.01	0.003
PVNO/PVPVI	-	-	0.2	0.2	-	-
PVP	0.9	1.3	-	-	-	0.9
SRP1	-	-	0.2	0.2	0.2	-
光活化漂白剂 (ppm)	15	27	-	-	20	20
光活化漂白剂 1(ppm)	15	-	-	-	-	-
增亮剂 1	0.08	0.2	-	-	0.09	0.15
增亮剂 2	-	0.04	-	-	-	-
香料	0.3	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3
硅氧烷消泡剂	0.5	2.4	0.3	0.5	0.3	2.0
密度, g/l	750	750	750	750	750	750
杂项和微量组分	到 100%					

### 实施例 3

按照本发明制备具体在欧洲洗衣机洗涤条件下使用的下面的洗衣用洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV	V	VI
<b>吹制粉</b>						
LAS	6.0	5.0	11.0	11.0	6.0	6.0
TAS	2.0	-	-	-	2.0	2.0
沸石 A	24.0	-	-	-	20.0	20.0
STPP	-	27.0	24.0	24.0	-	-
硫酸盐	4.0	6.0	13.0	13.0	-	-
MA/AA	1.0	4.0	6.0	6.0	2.0	2.0
硅酸盐	1.0	7.0	3.0	3.0	3.0	3.0
CMC	1.0	1.0	0.5	0.5	0.6	0.6
增亮剂 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
硅氧烷消泡剂	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	0.3
DETPMP	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.4
<b>喷雾</b>						
增亮剂	0.02	-	-	-	0.02	0.02
C45E7	-	-	-	-	5.0	5.0
C45E2	2.5	2.5	2.0	2.0	-	-
C45E3	2.6	2.5	2.0	2.0	-	-
香料	0.5	0.3	0.5	0.5	0.2	0.2
硅氧烷消泡剂	0.3	0.3	0.3	0.3	-	-
<b>干添加剂</b>						
QEA	-	-	-	-	1.0	1.0
EDDS	0.3	-	-	-	-	-
硫酸盐	2.0	3.0	5.0	5.0	10.0	10.0

碳酸盐	6.0	13.0	15.0	15.0	14.0	14.0
柠檬酸	2.5	-	-	-	2.0	2.0
QAS1	0.5	-	-	-	0.5	0.5
Na-SKS-6	10.0	-	-	-	-	-
过碳酸盐	18.5	-	-	-	-	-
PB4	-	18.0	10.0	10.0	21.5	21.5
TAED	2.0	2.0	-	-	2.0	2.0
NACA-OBS	3.0	2.0	4.0	4.0	-	-
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.0008	-	0.001	-
碱性甘露聚糖酶	-	-	-	0.001	-	0.002
蛋白酶	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
脂酶	0.008	0.008	0.008	0.008	0.004	0.004
淀粉酶	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006	0.006
增亮剂 1	0.05	-	-	-	0.05	0.05
杂项和微量组分	到 100%					

#### 实施例 4

按照本发明制备下列颗粒洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV	V	VI
<b>吹制粉</b>						
LAS	23.0	8.0	7.0	9.0	7.0	7.0
TAS	-	-	-	-	1.0	-
C45AS	6.0	6.0	5.0	8.0	-	-
C45AES	-	1.0	1.0	1.0	-	-
C45E35	-	-	-	-	2.0	4.0
沸石 A	10.0	18.0	14.0	12.0	10.0	10.0
MA/AA	-	0.5	-	-	-	2.0
MA/AA1	7.0	-	-	-	-	-
AA	-	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0
硫酸盐	5.0	6.3	14.3	11.0	15.0	19.3
硅酸盐	10.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
碳酸盐	15.0	20.0	10.0	20.7	8.0	6.0
PEG4000	0.4	1.5	1.5	1.0	1.0	1.0
DTPA	-	0.9	0.5	-	-	0.5
增亮剂 2	0.3	0.2	0.3	-	0.1	0.3
<b>喷雾</b>						
C45E7	-	2.0	-	-	2.0	2.0
C25E9	3.0	-	-	-	-	-
C23E9	-	-	1.5	2.0	-	2.0
香料	0.3	0.3	0.3	2.0	0.3	0.3
<b>附聚物</b>						
C45AS	-	5.0	5.0	2.0	-	5.0

LAS	-	2.0	2.0	-	-	2.0
沸石 A	-	7.5	7.5	8.0	-	7.5
碳酸盐	-	4.0	4.0	5.0	-	4.0
PEG4000	-	0.5	0.5	-	-	0.5
杂项(水等)	-	2.0	2.0	2.0	-	2.0
干添加剂						
QEA	-	-	-	-	1.0	-
柠檬酸	-	-	-	-	2.0	-
PB4	-	-	-	-	12.0	1.0
PB1	4.0	1.0	3.0	2.0	-	-
过碳酸盐	-	-	-	-	2.0	10.0
碳酸盐	-	5.3	1.8	-	4.0	4.0
NOBS	4.0	-	6.0	-	-	0.6
甲基纤维素	0.2	-	-	-	-	-
Na-SKS-6	8.0	-	-	-	-	-
STS	-	-	2.0	-	1.0	-
枯烯磺酸	-	1.0	-	-	-	2.0
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.001	0.008	0.001	0.001
蛋白酶	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02
脂酶	0.004	-	0.004	-	0.004	0.008
淀粉酶	0.003	-	0.002	-	0.003	-
纤维素酶	0.0005	0.0005	0.0005	0.0007	0.0005	0.0005
PVPVI	-	-	-	-	0.5	0.1
PVP	-	-	-	-	0.5	-
PVNO	-	-	0.5	0.3	-	-
QEA	-	-	-	-	1.0	-
SRP1	0.2	0.5	0.3	-	0.2	-
硅氧烷消泡剂	0.2	0.4	0.2	0.4	0.1	-
硫酸镁	-	-	0.2	-	0.2	-
杂项和微量组分	到 100%					

### 实施例 5

按照本发明制备具体用于洗涤有色衣服的下面含零漂白剂的洗涤剂组合物：

5

	I	II	III	IV	V
吹制粉					
沸石 A	15.0	15.0	15.0	-	-
硫酸盐	-	-	5.0	-	-
LAS	3.0	3.0	3.0	-	-
DETPMP	0.4	0.4	0.5	-	-

CMC	0.4	0.4	0.4	-	-
MA/AA	4.0	4.0	4.0	-	-
附聚物					
C45AS	-	-	-	11.0	11.0
LAS	6.0	6.0	5.0	-	-
TAS	3.0	3.0	2.0	-	-
硅酸盐	4.0	4.0	4.0	-	-
沸石 A	10.0	10.0	15.0	13.0	13.0
CMC	-	-	-	0.5	0.5
MA/AA	-	-	-	2.0	2.0
碳酸盐	9.0	9.0	7.0	7.0	7.0
喷雾					
香料	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5
C45E7	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
C25E3	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
干添加剂					
MA/AA	-	-	-	3.0	3.0
Na-SKS-6	-	-	-	12.0	12.0
柠檬酸	10.0	10.0	-	8.0	8.0
碳酸氢盐	7.0	7.0	3.0	5.0	5.0
碳酸盐	8.0	8.0	5.0	7.0	7.0
PVPVI/PVNO	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
甘露聚糖酶	0.0008	-	0.0005	0.001	-
碱性甘露聚糖酶	-	0.0008	-	-	0.002
蛋白酶	0.03	0.03	0.02	0.05	0.05
脂酶	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
淀粉酶	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
纤维素酶	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
硅氧烷消泡剂	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
硫酸盐	-	-	9.0	-	-
密度(g/l)	700	700	700	700	700
杂项和微量组分	到 100%				

### 实施例 6

按照本发明制备下面洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV
基础颗粒				
沸石 A	30.0	22.0	24.0	10.0
硫酸盐	10.0	5.0	10.0	7.0
MA/AA	3.0	-	-	-
AA	-	1.6	2.0	-
MA/AA1	-	12.0	-	6.0

LAS	14.0	10.0	9.0	20.0
C45AS	8.0	7.0	9.0	7.0
C45AES	-	1.0	1.0	-
硅酸盐	-	1.0	0.5	10.0
肥皂	-	2.0	-	-
增亮剂 1	0.2-	0.2	0.2	0.2
碳酸盐	6.0	9.0	10.0	10.0
PEG 4000	-	1.0	1.5	-
DTPA	-	0.4	-	-
喷雾				
C25E9	-	-	-	5.0
C45E7	1.0	1.0	-	-
C23E9	-	1.0	2.5	-
香料	0.2	0.3	0.3	-
干添加剂				
碳酸盐	5.0	10.0	18.0	8.0
PVPVI/PVNO	0.5	-	0.3	-
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.0008	0.001
蛋白酶	0.03	0.03	0.03	0.02
脂酶	0.008	-	-	0.008
淀粉酶	0.002	-	-	0.002
纤维素酶	0.0002	0.0005	0.0005	0.0002
NOBS	-	4.0	-	4.5
PB1	1.0	5.0	1.5	6.0
硫酸盐	4.0	5.0	-	5.0
SRP1	-	0.4	-	-
抑泡剂	-	0.5	0.5	-
杂项和微量组分	到 100%			

### 实施例 7

按照本发明制备下列颗粒洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV
吹制粉				
沸石 A	20.0	-	15.0	15.0
STPP	-	20.0	-	-
硫酸盐	-	-	5.0	5.0
碳酸盐	-	-	5.0	5.0
TAS	-	-	1.0	1.0
LAS	6.0	6.0	6.0	6.0
C68AS	2.0	2.0	-	-
硅酸盐	3.0	8.0	-	-
MA/AA	4.0	2.0	2.0	2.0

CMC	0.6	0.6	0.2	0.2
增亮剂 1	0.2	0.2	0.1	0.1
DETPMP	0.4	0.4	0.1	0.1
STS	-	-	1.0	1.0
喷雾				
C45E7	5.0	5.0	4.0	4.0
硅氧烷消泡剂	0.3	0.3	0.1	0.1
香料	0.2	0.2	0.3	0.3
干添加剂				
QEA	-	-	1.0	1.0
碳酸盐	14.0	9.0	10.0	10.0
PB1	1.5	2.0	-	-
PB4	18.5	13.0	13.0	13.0
TAED	2.0	2.0	2.0	2.0
QAS	-	-	1.0	1.0
光活化漂白剂	15ppm	15ppm	15ppm	15ppm
Na-SKS-6	-	-	3.0	3.0
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.0008	-
碱性甘露聚糖酶	-	-	-	0.001
蛋白酶	0.003	0.003	0.007	0.007
脂酶	0.004	0.004	0.004	0.004
淀粉酶	0.006	0.006	0.003	0.003
纤维素酶	0.0002	0.0002	0.0005	0.0005
硫酸盐	10.0	20.0	5.0	5.0
密度 (g/l)	700	700	700	700
杂项和微量组分	到 100%			

实施例 8

按照本发明制备下列洗涤剂组合物：

	I	II	III
吹制粉			
沸石 A	15.0	15.0	15.0
硫酸盐	-	5.0	-
LAS	3.0	3.0	3.0
QAS	-	1.5	1.5
DETPMP	0.4	0.2	0.4
EDDS	-	0.4	0.2
CMC	0.4	0.4	0.4
MA/AA	4.0	2.0	2.0
附聚物			
LAS	5.0	5.0	5.0
TAS	2.0	2.0	1.0

硅酸盐	3.0	3.0	4.0
沸石 A	8.0	8.0	8.0
碳酸盐	8.0	8.0	4.0
喷雾			
香料	0.3	0.3	0.3
C45E7	2.0	2.0	2.0
C25E3	2.0	-	-
干添加剂			
柠檬酸盐	5.0	-	2.0
碳酸氢盐	-	3.0	-
碳酸盐	8.0	15.0	10.0
TAED	6.0	2.0	5.0
PB1	14.0	7.0	10.0
PEO	-	-	0.2
膨润土	-	-	10.0
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.0008
蛋白酶	0.03	0.03	0.03
脂酶	0.008	0.008	0.008
纤维素酶	0.001	0.001	0.001
淀粉酶	0.01	0.01	0.01
硅氧烷消泡剂	5.0	5.0	5.0
硫酸盐	-	3.0	-
密度 (g/l)	850	850	850
杂项和微量组分	到 100%		

### 实施例 9

按照本发明制备下列洗涤剂组合物：

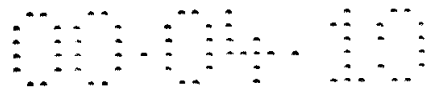
	I	II	III	IV
LAS	18.0	14.0	24.0	20.0
QAS	0.7	1.0	-	0.7
TFAA	-	1.0	-	-
C23E56.5	-	-	1.0	-
C45E7	-	1.0	-	-
C45E3S	1.0	2.5	1.0	-
STPP	32.0	18.0	30.0	22.0
硅酸盐	9.0	5.0	9.0	8.0
碳酸盐	11.0	7.5	10.0	5.0
碳酸氢盐	-	7.5	-	-
PB1	3.0	1.0	-	-
PB4	-	1.0	-	-
NOBS	2.0	1.0	-	-
DETPMP	-	1.0	-	-

DTPA	0.5	-	0.2	0.3
SRP1	0.3	0.2	-	0.1
MA/AA	1.0	1.5	2.0	0.5
CMC	0.8	0.4	0.4	0.2
PEI	-	-	0.4	-
硫酸盐	20.0	10.0	20.0	30.0
硫酸镁	0.2	-	0.4	0.9
甘露聚糖酶	0.005	0.002	0.005	0.001
蛋白酶	0.03	0.03	0.02	0.02
淀粉酶	0.008	0.007	-	0.004
脂酶	0.004	-	0.002	-
纤维素酶	0.0003	-	-	0.0001
光活化漂白剂	30ppm	20ppm	-	10ppm
香料	0.3	0.3	0.1	0.2
增亮剂 1/2	0.05	0.02	0.08	0.1
杂项和微量组分	到 100%			

实施例 10

按照本发明制备下列液体洗涤剂组合物(其水平以重量份计, 酶以纯酶计):

	I	II	III	IV	V
LAS	11.5	8.8	-	3.9	-
C25E2.5S	-	3.0	18.0	-	16.0
C45E2.25S	11.5	3.0	-	15.7	-
C23E9	-	2.7	1.8	2.0	1.0
C23E7	3.2	-	-	-	-
CFAA	-	-	5.2	-	3.1
TPKFA	1.6	-	2.0	0.5	2.0
柠檬酸(50%)	6.5	1.2	2.5	4.4	2.5
甲酸钙	0.1	0.06	0.1	-	-
甲酸钠	0.5	0.06	0.1	0.05	0.05
SCS	4.0	1.0	3.0	1.2	-
硼酸盐	0.6	-	3.0	2.0	3.5
氢氧化钠	5.8	2.0	3.5	3.7	2.7
乙醇	1.75	1.0	3.6	4.2	2.9
1,2-丙二醇	3.3	2.0	8.0	7.9	5.3
单乙醇胺	3.0	1.5	1.3	2.5	0.8
TEPAE	1.6	-	1.3	1.2	1.2
甘露聚糖酶	0.005	0.001	0.002	0.0005	0.0002
蛋白酶	0.03	0.01	0.03	0.02	0.02
脂酶	-	-	0.002	-	-



淀粉酶	-	-	-	0.002	-
纤维素酶	-	-	0.0002	0.0005	0.0001
SRP1	0.2	-	0.1	-	-
DTPA	-	-	0.3	-	-
PVNO	-	-	0.3	-	0.2
增亮剂 1	0.2	0.07	0.1	-	-
硅氧烷消泡剂	0.04	0.02	0.1	0.1	0.1
杂项和水					

### 实施例 11

按照本发明制备下列液体洗涤剂组合物(其水平以重量份计, 酶以纯酶计):

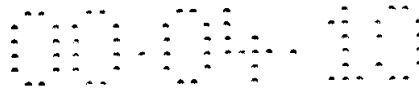
	I	II	III	IV
LAS	10.0	13.0	9.0	-
C25AS	4.0	1.0	2.0	10.0
C45E3S	1.0	-	-	3.0
C25E7	6.0	8.0	13.0	2.5
CFAA	-	-	-	4.5
APA	-	1.4	-	-
TPKFA	2.0	-	13.0	7.0
柠檬酸	2.0	3.0	1.0	1.5
十二碳烯基/十四碳烯基琥珀酸	12.0	10.0	-	-
菜籽脂肪酸	4.0	2.2	1.0	-
乙醇	4.0	4.0	7.0	2.0
1,2-丙二醇	4.0	4.0	2.0	7.0
单乙醇胺	-	-	-	5.0
三乙醇胺	-	-	8.0	-
TEPAE	0.5	-	0.5	0.2
DETPMP	1.0	1.0	0.5	1.0
甘露聚糖酶	0.0002	0.0005	0.005	0.0005
蛋白酶	0.02	0.02	0.01	0.008
脂酶	-	0.002	-	0.002
淀粉酶	0.004	0.004	0.01	0.008
纤维素酶	-	-	-	0.002
SRP2	0.3	-	0.3	0.1
硼酸	0.1	0.2	1.0	2.0
氯化钙	-	0.02	-	0.01
增亮剂 1	-	0.4	-	-
抑泡剂	0.1	0.3	-	0.1
遮光剂	0.5	0.4	-	0.3

加 NaOH 到 pH	8.0	8.0	7.6	7.7
杂项和水				

实施例 12

按照本发明制备下列液体洗涤剂组合物(其水平以重量份计, 酶以纯酶计):

	I	II	III	IV	V
LAS	25.0	-	-	-	-
C25AS	-	13.0	18.0	15.0	18.0
C45E3S	-	2.0	2.0	4.0	2.0
C25E7	-	-	4.0	4.0	4.0
CFAA	-	6.0	8.0	8.0	8.0
APA	3.0	1.0	2.0	-	2.0
TPKFA	-	15.0	11.0	11.0	11.0
柠檬酸	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
十二碳烯基/十四碳烯基琥珀酸	15.0				
菜籽脂肪酸	1.0	-	3.5	-	3.5
乙醇	7.0	2.0	3.0	2.0	3.0
1,2-丙二醇	6.0	8.0	10.0	13.0	10.0
单乙醇胺	-	-	9.0	9.0	9.0
TEPAE	-	-	0.4	0.3	0.4
DETPMP	2.0	1.2	1.0	-	1.0
甘露聚糖酶	0.0001	0.0002	0.005	0.0005	
碱性甘露聚糖酶	-	-	-	-	0.005
蛋白酶	0.08	0.02	0.01	0.02	0.01
脂酶	-	-	0.003	0.003	0.003
淀粉酶	0.004	0.01	0.01	0.01	0.01
纤维素酶	-	-	0.004	0.003	0.004
SRP2	-	-	0.2	0.1	0.2
硼酸	1.0	1.5	2.5	2.5	2.5
膨润土	4.0	4.0	-	-	-
增亮剂 1	0.1	0.2	0.3	-	0.3
抑泡剂	0.4	-	-	-	-
遮光剂	0.8	0.7	-	-	-
加 NaOH 到 pH	8.0	7.5	8.0	8.2	8.0
杂项和水					



### 实施例 13

按照本发明制备下列液体洗涤剂组合物(其水平以重量份计, 酶以纯酶计):

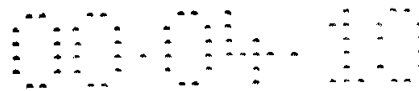
	I	II	III
LAS	27.6	18.9	27.6
C45AS	13.8	5.9	13.8
C13E8	3.0	3.1	3.0
油酸	3.4	2.5	3.4
柠檬酸	5.4	5.4	5.4
氢氧化钠	0.4	3.6	0.4
甲酸钙	0.2	0.1	0.2
甲酸钠	-	0.5	-
乙醇	7.0	-	7.0
单乙醇胺	16.5	8.0	16.5
1,2-丙二醇	5.9	5.5	5.9
二甲苯磺酸	-	2.4	-
TEPAE	1.5	0.8	1.5
蛋白酶	0.05	0.02	0.05
甘露聚糖酶	0.005	0.0002	-
碱性甘露聚糖酶	-	-	0.001
PEG	-	0.7	-
增亮剂 2	0.4	0.1	0.4
香料	0.5	0.3	0.5
水和微量组分			

5

### 实施例 14

按照本发明制备下列凝胶洗涤剂组合物:

	I	II	III	IV	V
C12-15E2.5S	21	20.2	22.7	13.6	20.2
C12LAS	-	-	-	9.1	-
C12-14 葡糖酰胺	4.0	2.5	-	-	2.5
C12-14EO7	4.5	-	-	-	-
C12-14O9	-	0.6	0.6	0.6	0.6
C8-10 酰氨基丙胺	1.3	-	-	-	-
C10 酰氨基丙胺	-	1.3	1.3	1.3	1.3
柠檬酸	1.0	5.0	1.0	1.0	5.0
C12/14 脂肪酸	-	10.0	10.0	10.0	10.0
棕榈仁脂肪酸	8.0	-	-	-	-
菜籽脂肪酸	8.0	-	-	-	-
甘露聚糖酶	0.0001	0.0002	0.005	0.0005	-



碱性甘露聚糖酶	-	-	-	-	0.0008
蛋白酶	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03
脂酶	0.001	0.002	0.003	0.002	0.002
淀粉酶	0.003	0.002	0.002	0.002	0.002
纤维素酶	0.0007	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
增白剂 1	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
聚合物 A	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6
聚合物 B	-	1.2	1.2	1.2	1.2
聚胺-聚酰胺	2.0	1.0	1.0	-	1.0
聚乙氧基化聚胺	-	2.0	-	-	2.0
去污剂	-	0.1	0.1	0.1	0.1
乙醇	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5
1,2-丙二醇	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
单乙醇胺	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5
NaOH	2.8	7.0	7.0	7.0	7.0
硼酸	2.0	-	-	-	-
Borax	-	2.5	2.5	2.5	2.5
抑泡剂	-	0.1	0.1	0.1	0.1
聚二甲基硅氧烷	0.2	-	-	-	-
香料	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75
染料	-	0.04	0.04	0.04	0.04
杂项和水	到 100%				

### 实施例 15

按照本发明制备下列凝胶洗涤剂组合物：

	I	II	III	IV
C12-15E2.5S	18.2	22.6	27.6	22.6
C12-15EO9	0.6	0.6	0.6	0.6
C10 酰氨基丙胺	1.3	1.3	1.3	1.3
柠檬酸	1.0	1.0	1.0	1.0
C12/14 脂肪酸	10.0	10.0	7.5	10.0
Quat	1.0	5.0	-	-
甘露聚糖酶	0.005	0.001	0.002	0.0005
蛋白酶	0.03	0.01	0.03	0.03
脂酶	0.002	0.002	0.002	0.002
淀粉酶	0.003	0.002	0.001	0.002
纤维素酶	0.0001	0.0004	0.0001	0.0001
增白剂 1	0.15	0.15	0.15	0.15
聚合物 A	0.6	0.3	0.6	0.6
聚合物 B	1.2	0.6	1.2	1.2
去污剂	0.1	0.1	0.1	0.1

乙醇	0.5	0.5	0.5	0.5
1,2-丙二醇	4.0	4.0	4.0	4.0
单乙醇胺	0.5	0.5	0.5	0.5
NaOH	7.0	7.0	7.0	7.0
硼酸	-	-	-	-
Borax	2.5	2.5	2.5	-
抑泡剂	0.1	0.1	0.1	0.1
香料	0.75	0.75	0.75	0.75
染料	0.04	0.04	0.04	0.04
杂项和水	到 100%			

实施例 16

按照本发明制备提供“通过洗涤软化”的下列颗粒织物洗涤剂组合物：

	I	II
C45EAS	-	10.0
LAS	7.6	-
C68AS	1.3	-
C45E7	4.0	-
C25E3	-	5.0
椰油烷基二甲基羟乙基氯化铵	1.4	1.0
柠檬酸盐	5.0	3.0
Na-SKS-6	-	11.0
沸石 A	15.0	15.0
MA/AA	4.0	4.0
DETPMP	0.4	0.4
PB1	15.0	-
过碳酸盐	-	15.0
TAED	5.0	5.0
绿土	10.0	10.0
HMWPEO	-	0.1
甘露聚糖酶	0.01	0.001
蛋白酶	0.02	0.01
脂酶	0.02	0.01
淀粉酶	0.03	0.005
纤维素酶	0.001	-
硅酸盐	3.0	5.0
碳酸盐	10.0	10.0
抑泡剂	1.0	4.0
CMC	0.2	0.1
杂项和水	到 100%	

实施例 17

按照本发明制备下列漂洗加入的织物软化剂组合物：

	I	II
DEQA(2)	20.0	20.0
碱性甘露聚糖酶	-	0.002
甘露聚糖酶	0.0008	-
纤维素酶	0.001	0.001
HCL	0.03	0.03
消泡剂	0.01	0.01
染料兰	25 ppm	25 ppm
CaCl <sub>2</sub>	0.20	0.20
香料	0.90	0.90
杂项和水	到 100%	

实施例 18

5 按照本发明制备下列织物软化剂和干燥剂加入的织物调理剂组合物：

	I	II	III	IV	V
DEQA	2.6	19.0	-	-	-
DEQA(2)	-	-	-	-	51.8
DTMAMS	-	-	-	26.0	-
SDASA	-	-	70.0	42.0	40.2
IV=0 的硬脂酸	0.3	-	-	-	-
Neodol 45-13	-	-	13.0	-	-
盐酸	0.02	0.02	-	-	-
乙醇	-	-	1.0	-	-
甘露聚糖酶	0.0008	0.0002	0.0005	0.0005	0.0002
香料	1.0	1.0	0.75	1.0	1.5
Glycoperse S-20	-	-	-	-	15.4
甘油单硬脂酸酯	-	-	-	26.0	-
琥珀酸二香叶酯	-	-	0.38	-	-
硅氧烷消泡剂	0.01	0.01	-	-	-
电解质	-	0.1	-	-	-
粘土	-	-	-	3.0	-
染料	10ppm	25ppm	0.01	-	-
水和微量组分	100%	100%	-	-	-

### 实施例 19

按照本发明制备下列洗衣用条状洗涤剂组合物(其水平按重量份计, 酶以纯酶表示):

	I	II	III	VI	V	III	VI	V
LAS	-	-	19.0	15.0	21.0	6.75	8.8	-
C28AS	30.0	13.5	-	-	-	15.75	11.2	22.5
月桂酸钠	2.5	9.0	-	-	-	-	-	-
沸石 A	2.0	1.25	-	-	-	1.25	1.25	1.25
碳酸盐	20.0	3.0	13.0	8.0	10.0	15.0	15.0	10.0
碳酸钙	27.5	39.0	35.0	-	-	40.0	-	40.0
硫酸盐	5.0	5.0	3.0	5.0	3.0	-	-	5.0
TSPP	5.0	-	-	-	-	5.0	2.5	-
STPP	5.0	15.0	10.0	-	-	7.0	8.0	10.0
膨润土	-	10.0	-	-	5.0	-	-	-
DETPMP	-	0.7	0.6	-	0.6	0.7	0.7	0.7
CMC	-	1.0	1.0	1.0	1.0	-	-	1.0
滑石粉	-	-	10.0	15.0	10.0	-	-	-
硅酸盐	-	-	4.0	5.0	3.0	-	-	-
PVNO	0.02	0.03	-	0.01	-	0.02	-	-
MA/AA	0.4	1.0	-	-	0.2	0.4	0.5	0.4
SRP1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
甘露聚糖酶	0.0005	0.0005	0.0008	0.0005	0.0002	0.0002	0.001	0.0005
淀粉酶	-	-	0.01	-	-	-	0.002	-
蛋白酶	-	0.004	-	0.003	0.003	-	-	0.003
脂酶	-	0.002	-	0.002	-	-	-	-
纤维素酶	-	0.0003	-	-	0.0003	0.0002	-	-
PEO	-	0.2	-	0.2	0.3	-	-	0.3
香料	1.0	0.5	0.3	0.2	0.4	-	-	0.4
硫酸镁	-	-	3.0	3.0	3.0	-	-	-
增亮剂	0.15	0.1	0.15	-	-	-	-	0.1

光活化漂白剂 (ppm)	-	15.0	15.0	15.0	15.0	-	-	15.0
-----------------	---	------	------	------	------	---	---	------

实施例 20

按照本发明制备下列洗涤添加剂组合物：

	I	II	III	IV
LAS	-	5.0	5.0	5.0
STPP	30.0	-	20.0	20.0
沸石 A	-	35.0	20.0	20.0
PB1	20.0	15.0	-	-
TAED	10.0	8.0	-	-
甘露聚糖酶	0.005	0.0002	0.001	-
碱性甘露聚糖酶	-	-	-	0.005
蛋白酶	-	0.3	0.3	0.3
淀粉酶	-	0.06	0.06	0.06
微量组分、水和杂项	到 100%			

## 序列表

## (1) 一般资料

- 5 (i) 申请人：  
(A) 收信人：The Procter & Gamble Company  
(B) 街道：One Procter & Gamble Plaza  
(C) 城市：辛辛那提  
(D) 州：俄亥俄  
10 (E) 国家：美国  
(G) 邮编：45202  
(ii) 发明名称：包含糖类树胶降解酶的洗衣用洗涤剂组合物
- (iii) 序列数：6
- 15 (iv) 计算机可读形式：  
(A) 媒体类型：软盘  
(B) 计算机：IBM PC 兼容机  
(C) 操作系统：PC-DOS/MS-DOS  
20 (D) 软件：PatentIn Release # 1.0, 版本 1.25 (EPO)

## (2) SEQ ID NO:1 的信息

- (i) 序列特征
- 25 (A) 长度：1407 个碱基对  
(B) 类型：核酸  
(C) 链型：单链  
(D) 拓扑学：线性
- 30 (ii) 分子类型：DNA 基因组
- (iii) 来源
- (iv) 特征：
- 35 (A) 名称/关键词：CDS  
(B) 位置：1-1482
- (v) 序列描述：SEQ ID NO:1

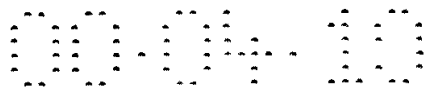
ATGAAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA  
 AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC  
 TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT  
 GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT  
 ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATTGTTTTATCAG  
 ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTTCGTGAAGTCATTG  
 AGCTTGCGGAGCAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA  
 CGGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG  
 AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA  
 AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT  
 GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG  
 ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG  
 ATGTGTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT  
 GAGTATGCTGGTGGTGGTATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA  
 TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA  
 TGGTGATGTTGATGAAGATAACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA  
 GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA  
 GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA  
 TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT  
 TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACCTGCTACTACCTTGTA  
 TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG  
 GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGGCTTCAGGTAACACTCTTTAAAGC  
 CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC  
 GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTTCGCCATGCCAATTG  
 GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC  
 TGATTATACATGGCATAGCGGTCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACCTCA  
 GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATAGTCATCATGTTAG  
 GGAAATAGGCGTGCAATTTTCAGCGGCAGATAATAGCAGTGGTCAAACCTGC  
 TCTATACGTTGATAACGTTACTTTAAGATAG

(3) SEQ ID NO:2 的信息

5

(i) 序列特征

(A) 长度：493 个氨基酸



- (B) 类型：氨基酸
- (C) 拓扑学：线性

(ii) 分子类型：蛋白质

5

(iii) 序列描述：SEQ ID NO:2

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN  
HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKM  
VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS  
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHLMVDAAGWGQYPQSIHDYQQDVFNADPLKNTM  
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGEFGHRHTDGDVDEDTILSYSEE  
TGTGWLAWSWKGNSTEWDYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP  
STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGNSVTGGPWSVTEWGASGNY.  
SLKADVNLTSNSHELSEYQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNP GNGMNRALYV  
KTGSDYTWHS GP FTRINSSNSGTTLSFDLNNIENSHHVREIGVQFSAADNSSGQ  
TALYVDNVTLR

(4) SEQ ID NO:3 的信息

10

- (i) 序列特征
  - (A) 长度：1407 个碱基对
  - (B) 类型：核酸
  - (C) 链型：单链
  - (D) 拓扑学：线性

15

(ii) 分子类型：DNA 基因组

(iii) 序列描述：SEQ ID NO:3

ATGAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA  
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC  
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT  
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT  
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTTCGTATTGTTTTATCAG  
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTTCGTGAAGTCATTG

20

AGCTTGCGGAGCAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA  
 CGGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG  
 AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA  
 AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT  
 GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG  
 ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG  
 ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT  
 GAGTATGCTGGTGGTATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA  
 TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA  
 TGGTATGTTGATGAAGATAACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA  
 GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA  
 GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA  
 TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT  
 TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACCTGCTACTACCTTGTA  
 TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG  
 GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACCTACTCTTTAAAGC  
 CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC  
 GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCCGCATGCCAATTG  
 GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC  
 TGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACCTCA  
 GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATATCATCATGTTAGG  
 GAAATAG

(5) SEQ ID NO:4 的信息

(i) 序列特征

5

- (A) 长度：468 个氨基酸
- (B) 类型：氨基酸
- (C) 拓扑学：线性

(ii) 分子类型：蛋白质

10

(iii) 序列描述：SEQ ID NO:4

MKKKLSQIYHLICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN  
 HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKM



VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS  
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHTLMVDAAGWGQYPQSIHDYGQDVFNADPLKNTM  
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGEFGHRHTDGDVDEDTILSYSEE  
TGTGWLAWSWKGNSTEWLDLSEDWAGQHLDWGNRIVHGADGLQETSKP  
STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGNSNVTGGPWSVTEWGASGNY  
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNP GNGMNRALYV  
KTGSDYTWHSGPFTRINSSNSGTTL SFDLNNIENIIMLGK

(6) SEQ ID NO:5 的信息

(i) 序列特征

5

- (A) 长度：1029 个碱基对
- (B) 类型：核酸
- (C) 链型：单链
- (D) 拓扑学：线性

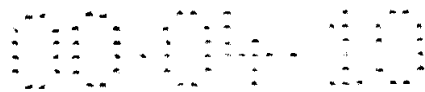
10

(ii) 分子类型：DNA 基因组

(iii) 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

15



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'

(7) SEQ ID NO:6 的信息

(i) 序列特征

5

(A) 长度：363 个氨基酸

(B) 类型：氨基酸

(C) 拓扑学：线性

(ii) 分子类型：蛋白质

10

(iii) 序列描述：SEQ ID NO:6

ydhT 1  
LFKKHTISLLIIFLLASAVLAKPIEAHTVSPVNPNAQQTTKTMNWL AHL 50  
ydhT 51  
PNRTENRVLSGAFGGYSHDTFSMAEADRIRSATGQSPA IYGCDYARGWLE 100  
ydhT 101  
TANIEDSIDVSCNGDLMSYWKNGGIPQISLHLANPAFQSGHF KTPITNDQ 150  
ydhT 151  
YKNILDSATAEGKRLNAMLSKIADGLQELENQGVPV LFRPLHEMNGEWF 200  
ydhT 201  
WGLTSYNQKDNERISLYKQLYKKIYHYMTDTRGLDH LIWVYSPDANRDFK 250  
ydhT 251  
TDFYPGASYVDIVGLDAYFQDAYSINGYDQLTALNK PFAFTEVGPQTANG 300  
ydhT 301  
SFDYSLFINAIKQKYPKTIYFLAWNDEWSAAVNKGASAL YHDSWTLNKGE 350  
ydhT 351

15

00-04-10

IWNGDSLTPIVE\*. 363