(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0170826
(43) 공개일자 2024년12월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/24 (2006.01) *C11D 3/386* (2006.01)
C12N 15/75 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 9/2402 (2013.01)
C11D 3/38636 (2022.08)
(21) 출원번호 10-2024-7036244
(22) 출원일자(국제) 2023년03월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월30일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/058333
(87) 국제공개번호 WO 2023/194204
국제공개일자 2023년10월12일
(30) 우선권주장
22167309.8 2022년04월08일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
노보자임스 에이/에스
덴마크 디케이-2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
(72) 발명자
외스터가르드 라르스 헨릭
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
요한센 아네트 헬레
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **헥소사미니다제 변이체 및 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 개선된 안정성, 예를 들어 개선된 세제 안정성을 제공하는 것으로 밝혀진 모 헥소사미니다제에 비해 변경을 나타내는 신규한 헥소사미니다제 변이체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세제 조성물, 그리고 헥소사미니다제 변이체의 이용 및 생산 방법, 및 변이체를 암호화하는 단리된 헥소사미니다제 서열, 발현 벡터 및 숙주 세포에 관한 것이다. 본 발명의 변이체는 세정 공정 및 세제 조성물에 사용하기에 적합하다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C12N 15/75 (2013.01)
C12Y 302/01052 (2013.01)
C11D 2111/12 (2024.01)
(72) 발명자
구드만 마르틴
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
티데만 캐스퍼 댐가르드
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
렌하르드 롤프 토마스
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
파헤 롤란드 알렉산더
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
베이보르그 레베카 뭉크
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36
옌센 요한느 모크
덴마크 2880 박스바에르트 크록쇼이베이 36

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 헥소사미니다제 폴리펩티드의 변이체로서, 이 변이체는 서열번호 1과 비교하여

서열번호 1의 위치 163, 227, 252 및 309에 상응하는 하나 이상의 위치, 바람직하게는 2개, 3개 또는 4개 위치에서의 치환; 및

서열번호 1의 위치 111, 120, 106, 124, 127, 150, 170, 171, 178, 199, 208, 254, 255 및 278에 상응하는 하나 이상의 위치에서의 치환을 포함하고,

여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 변이체.

청구항 2

제1항에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여, S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2, 3 또는 4개의 치환을 포함하고;

D111R, T120V, V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, E150N, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 추가로 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 추가로 포함하고;

변이체는 서열번호 1과 비교하여 Q3I, A49W 및 N59E로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2 또는 3개 전부; 또는 Q3F, V140I, Q215K 및 N267T로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2, 3 또는 4개 전부를 선택적으로 추가로 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 D111R, T120V, V106M/N, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개를 포함하고; 바람직하게는 변이체는 D111R, T120V 및 E150N으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함하고; 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

청구항 5

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 2과 비교하여 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

* D111R
* D111R+T120V
* D111R+T120V+E150N
* D111R+T120V+E150N+D171F+I278V

* D111R+T120V+T255D
* D111R+T120V+Y124I
* D111R+T120V+Y124K+Q178K
* D111R+T120V+Y124L+Q178K
* D111R+Y124K+D171FD171F+S208W+N267T
* D171F+T255D
* D171H
* I278V
* K308E
* N267T
* R127P
* T120V+D171F
* T120V+D171F+N267T
* T120V+S208W+N267T
* T120V+T255D
* T120V+T255D+N267T
* T120V+Y124K+Q178K
* V106M+D111R+T120V+D171F
* V106M+Q178K+T255D
* V106M+T120V+D171F+Q178K
* V106M+T120V+Y124I+D171F
* V106M+T120V+Y124I+Q178K
* V106M+T120V+Y124K+D171F
* V106M+T120V+Y124L+Q178K
* V106N+D111R+T120V+E150N
* V106N+S208W+N267T
* V106N+T120V+D171F
* V106N+T120V+D171F+S208W
* V106N+T120V+E150N+D171F+I278V
* V106N+T120V+N267T

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 3과 비교하여 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

* L170G
* E150N+F254I
* F254I

* V106N
* D111R+T120V
* D111R+T120V+E150N
* D111R+T120V+E150N+D171F+I278V
* D111R+T120V+T255D
* D111R+T120V+Y124I
* D111R+T120V+Y124K+Q178K
* D111R+T120V+Y124L+Q178K
* D111R+Y124K+D171F
* D171F+S208W+N267T
* D171F+T255D
* D171H
* I278V
* K308E
* N267T
* R127P
* T120V+D171F
* T120V+D171F+N267T
* T120V+S208W+N267T
* T120V+T255D
* T120V+T255D+N267T
* T120V+Y124K+Q178K
* V106M+D111R+T120V+D171F
* V106M+Q178K+T255D
* V106M+T120V+D171F+Q178K
* V106M+T120V+Y124I+D171F
* V106M+T120V+Y124I+Q178K
* V106M+T120V+Y124K+D171F
* V106M+T120V+Y124L+Q178K
* V106N+D111R+T120V+E150N
* V106N+S208W+N267T
* V106N+T120V+D171F
* V106N+T120V+D171F+S208W
* V106N+T120V+E150N+D171F+I278V
* V106N+T120V+N267T

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 다음 치환 세트 중 하나를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124I+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171H+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308E+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+R127P+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+

N252P+T255D+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+
E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+D111R+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+
G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+S163P+D171F+Q178K+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+D171F+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+Q178K+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+
G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+
E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+
N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

* Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+
G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+
N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+
N252P+F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+
F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V106N+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+
N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+
N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+
G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+

E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+ E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+ E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+ E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+ N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+ G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

* Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 변이체는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드,

또는 상기 치환이 없는 변이체와 동일한 아미노산 서열을 갖는 모 폴리펩티드와 비교하여 개선된 안정성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 헥소사미니다제 변이체 및 적어도 하나의 세제 보조 성분을 포함하는 세제 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 헥소사미니다제 변이체 또는 제10항의 세제 조성물의, 세정 공정, 예컨대, 세탁 또는 경질 표면 세정, 예컨대, 식기세척에서의 용도.

청구항 12

물품의 세정 방법으로서, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세척액 또는 제10항의 세제 조성물에 물품을 노출시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 13

텍스타일을 세탁하는 방법으로서,

a) 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세척액 또는 제10항의 세제 조성물에 텍스타일을 노출시키는 단계;

b) 적어도 1회의 세척 사이클을 완료하는 단계; 및 선택적으로

c) 물품을 헹구는 단계를 포함하는 방법.

청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 헥소사미니다제 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 구성체 또는 발현 벡터, 또는 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 재조합 숙주 세포.

청구항 15

헥소사미니다제 변이체의 생산 방법으로서,

a) 변이체 발현에 적합한 조건 하에서 제14항의 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계; 및

b) 변이체를 회수하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **서열목록에 대한 참조**

[0002] 본 출원은 컴퓨터 판독 가능한 형태의 서열 목록을 포함하며, 이는 본원에 참조로서 포함되어 있다.

[0003] **기술분야**

[0004] 본 발명은 신규한 헥소사미니다제(디스퍼신(dispersin)) 변이체, 변이체를 포함하는 세제 조성물과 같은 조성물, 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 변이체의 생산 방법, 변이체의 이용 방법, 및 세정을 위한 변이체 및 세제 조성물의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 프로테아제 및 아밀라제와 같은 다양한 효소는 단백질 및 전분 관련 오염물을 제거하기 위해 세제 조성물에 오랫동안 사용되어 왔다. 그러나 대부분의 오염물, 예를 들어 세탁물의 오염물은 알려진 효소를 사용하더라도 완전히 제거하기 어려울 수 있는 다양한 유기 물질의 복합 혼합물이다. 예를 들어, 인간 피부의 생물 오염물, 예

를 들어 죽은 피부 세포, 땀 및 피지와 같은 복합적인 유기 얼룩은 단백질, 전분, 오일 및 예를 들어 다당류와 같은 다양한 유기 물질을 포함한다. 결과적으로 효과적인 얼룩 제거, 예를 들어 세탁물의 효과적인 얼룩 제거에는 다양한 효소 활성이 필요하다.

[0006] 헥소사미니다제 활성을 갖는 효소(디스퍼신)와 헥소사미니다제 효소 변이체를 포함하는 세제 조성물은 이전에, 예를 들어 WO 2017/186943 및 WO 2020/207944에 개시된 바 있다. 그러나 디스퍼신을 포함하는 세제 조성물은 아직 상용화되어 있지 않고, 나아가 다양한 세제 조성물과 세척 조건은 모든 알려진 디스퍼신으로도 해결할 수 없는 과제를 제시할 수 있다.

[0007] 일반적으로 세탁과 같은 세정 공정에 유용하려면 디스퍼신과 같은 효소가 주어진 세제 조성물과 주어진 일련의 세척 조건에서 안정적이고 효과적이어야 한다. 예를 들어 북미와 세계의 특정 일부 지역의 세탁 조건은 일반적으로 예를 들어 유럽과 다르다. 유럽에서 세탁기는 일반적으로 전면 로딩 방식이며 비교적 적은 양의 물을 비교적 긴 세탁 사이클과 흔히 더 높은 온도와의 조합으로 사용하는 반면, 북미 및 기타 지역에서 세탁기는 일반적으로 상단 로딩 방식이며 많은 양의 물을 사용하면서 세탁 사이클이 비교적 짧고 온도가 흔히 더 낮다. 세탁수 중의 세제 농도가 낮거나 중간인 점을 포함하여, 예를 들어 북미 및 기타 지역의 이러한 조건은, 짧은 세탁 사이클과 흔히 비교적 낮은 온도가 동반된 고도로 희석된 세탁수에서 효소 세제가 효과적인 얼룩 제거를 제공하기 어렵게 만들 수 있다. 세제 조성물은 또한 세탁 조건과 물의 경도와 같은 다른 지역적 요인을 해결하기 위해 유럽과 비교하여 예를 들어 북미에서 다르게 제형화될 수 있다.

[0008] 본 발명은 예를 들어 전형적인 북미 세탁 조건 및 예를 들어 북미에서 일반적으로 사용되는 세제 조성물에서 사용하기에 특히 적합한 것으로 밝혀진 헥소사미니다제 효소 변이체를 제공한다.

발명의 내용

[0009] 본 발명은 서열번호 1의 헥소사미니다제 폴리펩티드의 변이체에 관한 것으로, 이 변이체는 서열번호 1과 비교하여

[0010] 서열번호 1의 위치 163, 227, 252 및 309에 상응하는 하나 이상의 위치, 바람직하게는 2개, 3개 또는 4개 위치에서의 치환; 및

[0011] 서열번호 1의 위치 106, 111, 120, 124, 127, 150, 170, 171, 178, 199, 208, 254, 255 및 278에 상응하는 하나 이상의 위치에서의 치환을 포함하고,

[0012] 여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는다.

[0013] 본 발명은 또한 본원에 개시된 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세제 조성물과 같은 조성물, 그리고 변이체를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드; 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 구성체, 벡터 및 숙주 세포, 그리고 변이체의 생산 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 헥소사미니다제 변이체 및 조성물을 세정, 예를 들어 세탁에 사용하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 서열번호 1, 2, 3 및 4의 폴리펩티드를 정렬한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] **서열 목록의 개요**

[0016] 서열번호 1 테리바실루스 사카로필루스(*Terribacillus saccharophilus*)로부터 수득한 성숙 헥소사미니다제 폴리펩티드

[0017] 서열번호 2 헥소사미니다제, 서열번호 1의 변이체

[0018] 서열번호 3 헥소사미니다제, 서열번호 1의 변이체

[0019] 서열번호 4 헥소사미니다제, 서열번호 1의 변이체

[0020] **정의**

[0021] 상세한 설명에 따라서, 다음 정의가 적용된다. 단수 형태는 문맥상 달리 분명하게 명시되지 않는 한, 복수 대상을 포함한다는 것을 주목해야 한다.

[0022] 달리 정의되지 않는 한 또는 문맥상 달리 분명하게 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0023] **헥소사미니다제:** 용어 "헥소사미니다제"는 용어 "디스퍼신"과 약어 "Dsp"를 포함하며, 헥소사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드인 EC 3.2.1.을 지칭하며, 예를 들어 생물막에서 발견되는 N-아세틸-글루코사민 중합체의 β-1,6-글리코시드 결합의 가수분해를 촉진한다. 용어 헥소사미니다제에는 N-아세틸글루코사미니다제 활성과 β-N-아세틸글루코사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 용어 "헥소사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드"는 용어 "헥소사미니다제"와 상호 교환하여 사용할 수 있으며, 마찬가지로 용어 "β-N-아세틸글루코사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드"는 용어 "β-N-아세틸글루코사미니다제"와 상호 교환하여 사용할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 헥소사미니다제 활성은 검정 1 또는 2에 기재된 절차에 따라 결정할 수 있다. 바람직한 구현예에서, 헥소사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드는 디스퍼신이다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 헥소사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드는 폴리-β-1,6-N-아세틸글루코사민을 표적으로 하는 β-N-아세틸글루코사미니다제이다.

[0024] **발현:** 용어 "발현"은 전사, 전사 후 변형, 번역, 번역 후 변형 및 분비(이에 한정되는 것은 아님)를 비롯한, 변이체의 생산에 관여하는 임의의 단계를 포함한다.

[0025] **발현 벡터:** "발현 벡터"는 변이체를 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 선형 또는 원형 DNA 구성체를 지칭하며, 이 암호화 서열은 적합한 숙주에서 DNA의 발현을 수행할 수 있는 적합한 제어 서열에 작동 가능하게 연결된다. 이러한 제어 서열에는 전사를 수행하는 프로모터, 전사를 제어하는 선택적 오퍼레이터 서열, mRNA의 적합한 리보솜 결합 부위를 암호화하는 서열, 인핸서 및 전사 및 번역의 종결을 제어하는 서열이 포함될 수 있다.

[0026] **연장:** 용어 "연장"은 변이체의 아미노 및/또는 카르복실 말단에 하나 이상의 아미노산을 추가하는 것을 의미하며, 여기서 "연장된" 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖는다.

[0027] **단편:** 용어 "단편"은 변이체의 아미노 및/또는 카르복실 말단에 하나 이상의 아미노산이 없는 변이체를 의미하며, 여기서 단편은 헥소사미니다제 활성을 갖는다.

[0028] **숙주 균주 또는 숙주 세포:** "숙주 균주" 또는 "숙주 세포"는 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하여 발현 벡터, 파지, 바이러스 또는 기타 DNA 구성체가 도입된 유기체이다. 대표적인 숙주 균주는 관심 폴리펩티드를 발현할 수 있는 미생물 세포(예를 들어, 박테리아, 사상균 및 효모)이다.

[0029] **개선된 특성:** 용어 "개선된 특성"은 모체와 비교하여 개선된, 변이체와 연관된 특징을 의미한다. 이러한 개선된 특성에는 촉매 효율, 촉매 속도, 화학적 안정성, 산화 안정성, pH 활성, pH 안정성, 특정 활성, 보관 조건에서의 안정성, 기질 결합, 기질 절단, 기질 특이성, 기질 안정성, 표면 특성, 열 활성 및 열 안정성이 포함될 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 맥락에서, 개선된 특성은 바람직하게는 개선된 안정성, 예를 들어, 세제 조성물에서 개선된 열 안정성 또는 개선된 보관 안정성이다. 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 개선된 특성, 예를 들어, 개선된 안정성은 본원의 실시예에 기재된 바와 같이 결정할 수 있다.

[0030] **단리된:** 용어 "단리된"은 다른 단백질, 핵산, 세포 등을 포함하나 이에 한정되지 않는 적어도 하나의 다른 물질 또는 성분으로부터 분리된 변이체, 핵산, 세포 또는 기타 지정된 물질 또는 성분을 의미한다. 따라서 단리된 폴리펩티드, 핵산, 세포 또는 기타 물질은 자연에서 발생하지 않는 형태를 갖는다. 단리된 폴리펩티드는 숙주 세포에서 발현된 분비 변이체를 함유하는 배양액을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0031] **성숙 폴리펩티드:** 용어 "성숙 폴리펩티드"는 N 말단 처리 및/또는 C 말단 처리(예를 들어, 신호 펩티드 제거) 후의 성숙한 형태의 폴리펩티드를 의미한다.

[0032] **성숙 폴리펩티드 암호화 서열:** 용어 "성숙 폴리펩티드 암호화 서열"은 헥소사미니다제 활성을 갖는 성숙 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다.

[0033] **돌연변이체:** 용어 "돌연변이체"는 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다.

[0034] **천연:** 용어 "천연"은 숙주 세포에서 자연적으로 발생하는 핵산 또는 폴리펩티드를 의미한다.

[0035] **핵산:** 용어 "핵산"은 DNA, RNA, 헤테로이중체 및 변이체를 암호화할 수 있는 합성 분자를 포함한다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있으며 화학적 변형물일 수 있다. 용어 "핵산"과 "폴리뉴클레오티드"는 용어는 상호 교환하여 사용된다. 유전 암호는 변성되므로 특정 아미노산을 암호화하는 데 두 개 이상의 코돈을 사용할 수

있으며, 본 조성물 및 방법은 특정 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 달리 명시되지 않는 한, 핵산 서열은 5'에서 3' 방향으로 표시된다.

[0036] **핵산 구성체:** 용어 "핵산 구성체"는 자연 발생적 유전자로부터 단리되거나 또는 자연에 존재하지 않는 방식으로 핵산의 절편을 포함하도록 변형되거나 또는 합성된 단일 가닥 또는 이중 가닥의 핵산 분자로서, 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 제어 서열을 포함하는 핵산 분자를 의미한다.

[0037] **작동 가능하게 연결된:** 용어 "작동 가능하게 연결된"은 지정된 구성 요소가 의도한 방식으로 기능할 수 있도록 하는 관계(병치를 포함하나 이에 한정되지 않음)에 있음을 의미한다. 예를 들어, 조절 서열은 암호화 서열에 작동 가능하게 연결되어 암호화 서열의 발현이 조절 서열의 제어를 받는다.

[0038] **모체 또는 모 헥소사미니다제:** 용어 "모체", "모 헥소사미니다제" 또는 "모 효소"는 본 발명의 효소 변이체가 생산되도록 변경이 일어난 헥소사미니다제를 의미한다. 따라서, 모체는 본원에 개시된 변이체의 동일한 아미노산 서열을 갖지만 본원에 개시된 지정된 변경, 일반적으로 치환을 갖지 않는 헥소사미니다제 폴리펩티드이다.

[0039] 특정 구현예에서 헥소사미니다제 모체는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 100%의 동일성을 갖는 헥소사미니다제이다.

[0040] 일 구현예에서, 모 헥소사미니다제는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 서열을 갖는 헥소사미니다제이다. 바람직한 구현예에서, 모 헥소사미니다제는 서열번호 1의 폴리펩티드이다.

[0041] **재조합:** 용어 "재조합"은 통상적인 의미로 핵산 서열을 조작, 예를 들어, 절단 및 재결합하여 자연에서 발견되는 것과 다른 배열을 형성하는 것을 지칭하는 데 사용된다. 용어 재조합은 본래 상태에서 변형된 세포, 핵산, 변이체 또는 벡터를 지칭한다. 따라서, 예를 들어, 재조합 세포는 본래(비재조합) 세포 형태에서 발견되지 않는 유전자를 발현하거나 본래 유전자를 자연에서 발견되는 것과 다른 수준 또는 다른 조건에서 발현한다. 용어 "재조합"은 "유전자 변형" 및 "형질전환"과 동의어이다.

[0042] **서열 동일성:** 2개의 아미노산 서열간 또는 2개의 뉴클레오티드 서열간 관련성은 매개변수 "서열 동일성"에 의해 기술된다.

[0043] 2개의 아미노산 서열들 사이의 서열 동일성은 Needleman-Wunsch 알고리즘을 사용하여 "가장 긴 동일성"의 결과물로서 결정되며(문헌[Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453]), 이는 EMBOSS 패키지(문헌[EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277]), 버전 6.6.0의 Needle 프로그램에서 구현되는 바와 같다. 사용되는 매개변수는 갭 오픈 페널티 10, 갭 연장 페널티 0.5, 및 EBLOSUM62(BLOSUM62의 EMBOSS 버전) 치환 매트릭스이다. Needle 프로그램이 가장 긴 동일성을 보고하기 위해서는, 명령행에 -nobrief 옵션을 지정해야 한다. "가장 긴 동일성"으로 표지된 Needle의 결과는 다음과 같이 계산된다:

[0044] (동일한 잔기 x 100)/(정렬 길이 - 정렬 내 갭의 총 수)

[0045] 두 폴리뉴클레오티드 서열 간의 서열 동일성은 Needleman-Wunsch 알고리즘(위의 문헌[Needleman 및 Wunsch, 1970])을 사용하여 "가장 긴 동일성"의 결과물로서 결정되며, 이는 EMBOSS 패키지(위의 문헌[EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000]), 버전 6.6.0의 Needle 프로그램에서 구현되는 바와 같다. 사용되는 매개변수는 갭 오픈 페널티 10, 갭 연장 페널티 0.5, 및 EDNAFULL(NCBI NUC4.4의 EMBOSS 버전) 치환 매트릭스이다. Needle 프로그램이 가장 긴 동일성을 보고하기 위해서는, 명령행에 nobrief 옵션을 지정해야 한다. "가장 긴 동일성"으로 표지된 Needle의 결과는 다음과 같이 계산된다:

[0046] (동일한 데옥시리보뉴클레오티드 x 100)/(정렬 길이 - 정렬 내 갭의 총 수)

[0047] **변이체:** 용어 "변이체"는 하나 이상의 위치에서 치환, 삽입(연장 포함) 및/또는 결실(예를 들어, 절단)을 포함하는 헥소사미니다제 활성을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. 치환은 하나의 위치를 차지하는 아미노산이 상이한 아미노산으로 대체되는 것을 의미하고; 결실은 하나의 위치를 차지하는 아미노산이 제거되는 것을 의미하며; 삽입은 하나의 위치를 차지하는 아미노산에 인접하거나, 이 아미노산 바로 다음에 1 내지 5개의 아미노산(예를 들어, 1 내지 3개의 아미노산, 특히 1개의 아미노산)을 부가하는 것을 의미한다.

[0048] **야생형:** 아미노산 서열 또는 핵산 서열과 관련하여 용어 "야생형"은 아미노산 서열 또는 핵산 서열이 천연 또는 자연 발생 서열임을 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "자연 발생"은 자연에서 발견되는 임의의 것(예를 들어, 단백질, 아미노산 또는 핵산 서열)을 의미한다. 반대로, 용어 "비자연 발생"은 자연에서 발견되지 않는 임의의 것(예를 들어, 실험실에서 생산된 재조합 핵산 및 단백질 서열 또는 야생형 서열의 변형)을 의미한다.

[0049] **생물막**: 생물막은 텍스타일 또는 식기 또는 기타 단단한 표면과 같은 표면에서 세포가 서로 달라붙어 있는 미생물군이다. 이러한 부착 세포는 종종 세포외 중합체 물질(EPS)의 자가 생성 기질 내에 묻혀 있다. 생물막 EPS는 일반적으로 세포외 DNA, 단백질 및 다당류로 구성된 중합 복합체이다. 생물막은 살아 있는 표면이나 살아 있지 않은 표면에 형성될 수 있다. 생물막에서 자라는 미생물 세포는 같은 유기체의 플랑크톤 세포와 생리적으로 다른데, 플랑크톤 세포는 대조적으로 액체 매질에서 떠다니거나 수영할 수 있는 단일 세포이다. 생물막에 사는 박테리아는 일반적으로 같은 종의 자유롭게 떠다니는 박테리아와 상당히 다른 특성을 가지고 있는데, 막의 조밀하고 보호된 환경 덕분에 다양한 방식으로 협력하고 상호 작용할 수 있기 때문이다. 이 환경의 한 가지 이점은 조밀한 세포외 기질과 세포의 바깥층이 군집 내부를 보호하므로 세제와 항생제에 대한 내성이 증가한다는 것이다. 세탁물에서 생물막을 생성하는 박테리아는 예를 들어 다음의 종에서 발견될 수 있다: 아시네토박터(*Acinetobacter*) *sp.*, 에어로미크로비움(*Aeromicrobium*) *sp.*, 브레분디모나스(*Brevundimonas*) *sp.*, 미크로박테리움(*Microbacterium*) *sp.*, 미크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*), 슈도모나스(*Pseudomonas*) *sp.*, 스태필로코커스 에피더미스(*Staphylococcus epidermidis*) 및 스테노트로포모나스(*Stenotrophomonas*) *sp.*

[0050] **안정성**: 용어 "안정성"에는 보관 안정성과 사용 중의, 예를 들어 세척 과정 동안의 안정성이 포함되며, 시간의 함수로서 본 발명에 따른 헥소사미니다제 변이체의 안정성, 예를 들어, 헥소사미니다제 변이체가 건조 형태 또는 용액, 예를 들어, 세제 용액으로 보관될 때 얼마나 많은 활성이 유지되는지를 반영한다. 안정성은 pH, 온도 및 세제 조성의 특성, 예를 들어, 빌더, 계면활성제 등의 양과 유형과 같은 여러 요인의 영향을 받는다. 헥소사미니다제 안정성은 예에서 설명한 대로 측정하고, 예를 들어, 모 헥소사미니다제 또는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 같은 참조 헥소사미니다제와 비교한 반감기 개선 계수(HIF) 또는 녹는점(Tm)으로서 표현할 수 있다. 용어 "개선된 안정성" 또는 "증가된 안정성"은 본원에서 변이체에 치환이 없는 모 헥소사미니다제의 안정성과 비교하여 및/또는 서열번호 1, 서열번호 2 및 서열번호 3과 비교하여, 용액에서 증가된 안정성을 보이는 변이체 헥소사미니다제로 정의된다. 서열번호 2 및 서열번호 3을 갖는 헥소사미니다제는 서열번호 1의 헥소사미니다제보다 개선된 안정성(Tm 및 HIF)을 가지며, 따라서 서열번호 2 또는 3과 비교하여 개선된 안정성을 갖는 헥소사미니다제 변이체는 또한 서열번호 1보다 개선된 안정성을 갖게 될 것이다. 용어 "개선된 안정성" 및 "증가된 안정성"에는 세제 안정성이 포함된다.

[0051] **세척 성능**: 발명의 맥락에서 용어 "세척 성능"은 세탁에서의 세정 효과, 바람직하게는 심층 세정 효과를 의미하며, 여기서 "심층 세정"은 헥소사미니다제 모체 또는 서열번호 1을 갖는 헥소사미니다제와 비교하여 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 생물막 또는 이의 구성 요소를 파괴하거나 제거하는 것을 지칭한다.

[0052] 세척 성능은 염색된 견본의 완화치(Remission value)로서 표현될 수 있다. 세척 및 헹굼 후에, 견본을 편평하게 펼쳐, 실온에서 밤새 공기 건조시킨다. 모든 세척 견본은 세척 다음 날에 평가한다. 매우 작은 조리개가 있는 Macbeth Color Eye 7000 반사도 분광광도계를 이용하여 견본의 광 반사도 평가를 수행할 수 있다. 입사광에 UV가 없는 조건에서 측정이 이루어지며, 460 nm에서의 완화치를 획득한다.

[0053] **세탁:** 용어 "세탁"은, 가정 및 산업 현장에서의 세탁 둘 다와 관련된 것으로서, 예를 들어, 본 발명의 세정 또는 세제 조성물을 함유하는 용액으로 텍스타일을 처리하는 과정을 의미한다. 세탁 과정은 가정 또는 산업 현장용 세탁기를 사용하여 수행될 수 있거나, 아니면 손으로 수행될 수 있다.

[0054] **세제 조성물**: 용어 "세제 조성물"(또는 "세정 조성물")은 달리 명시되지 않는 한 임의의 형태의 세제 또는 세정 조성물을 포함한다. 여기에는 과립 또는 분말 형태의 다목적 또는 강력 세척제, 특히 세정용 세제; 액체, 젤 또는 페이스트 형태의 다목적 세척제, 특히 소위 강력 액체(HDL) 유형; 1개 이상의 챔버가 있는 포드, 캡슐, 탭 등과 같은 단일 단위 용량(SUD) 조성물; 액체 미세 패브릭 세제; 손 설거지 세제 또는 경량 설거지 세제, 특히 고발포 유형의 세제; 가정 및 영업용 다양한 정제, 과립, 액체 및 린스 보조제 유형을 포함한 식기세척기용 세제; 항균 핸드워시 유형, 클렌징 바, 비누 바, 구강 세정제, 의치용 세정제, 자동차 또는 카펫용 샴푸, 욕실 세정제를 포함한 액체 세정 및 소독제; 헤어 샴푸 및 헤어 린스; 샤워 젤, 거품 목욕제; 금속 세정제; 및 표백 첨가제 및 "얼룩 제거제" 또는 사전 처리 유형과 같은 세정 보조제가 포함된다. 용어 "세제 조성물" 및 "세제 제형"은 더러운 물체를 세정하기 위한 세척용 매질에서 사용하도록 의도된 혼합물을 지칭하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 이 용어는 패브릭 및/또는 의류를 세탁하는 것과 관련하여 사용된다(예를 들어, "세탁 세제"). 다

른 구현예에서, 이 용어는 식기류, 커틀러리 등을 세정하는 데 사용되는 것과 같은 다른 세제를 지칭한다(예를 들어, "식기 세제"). 본 발명이 임의의 특정 세제 제형 또는 조성물에 한정되는 것은 아니다. 용어 "세제 조성물"은 계면활성제를 함유하는 조성물에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 변형 외에도, 이 용어는 예를 들어 계면활성제, 빌더, 킬레이트제 또는 킬레이트화제, 표백 시스템 또는 표백 성분, 중합체, 패브릭 컨디셔너, 거품 부스터, 거품 억제제, 염료, 향료, 태닝 억제제, 광학 증백제, 살균제, 살진균제, 토양 현탁제, 부식 방지제, 효소 억제제 또는 안정제, 효소 활성제, 전이효소, 가수분해 효소, 산화환원효소, 청색화제 및 형광 염료, 산화방지제 및 가용화제를 포함할 수 있는 세제를 포함하는 것으로 의도된다.

[0055] **패브릭**: 용어 "패브릭"은 임의의 텍스타일 소재를 포함한다. 따라서 이 용어는 의류뿐만 아니라 패브릭, 실, 섬유, 부직포 소재, 천연 소재, 합성 소재 및 임의의 기타 텍스타일 소재를 포함하는 것으로 의도된다.

[0056] **텍스타일**: 용어 "텍스타일"은 직물뿐만 아니라 실, 직조물, 편물 및 부직포로 변환하거나 이로서 사용하기에 적합한 스테이플 섬유 및 필라멘트를 지칭한다. 이 용어는 천연 섬유와 합성(예를 들어, 제조) 섬유로 만든 실을 포함한다. 용어 "텍스타일 소재"는 섬유, 실 중간체, 실, 패브릭 및 패브릭으로 만든 제품(예를 들어, 의류 및 기타 품목)에 대한 일반적인 용어이다.

[0057] **비패브릭 세제 조성물**: 용어 "비패브릭 세제 조성물"은 비패브릭 표면 세제 조성물을 포함하며, 이는 수동 식기 세척용 조성물, 구강 세제 조성물, 의치용 세제 조성물 및 개인 세정 조성물을 포함한 경질 표면 세정용 조성물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다른 비패브릭 세제 조성물 그룹은 의료용 세정 조성물, 즉 생물막을 제거 또는 방지하기 위한 의료용 장치 세정 또는 생물막 형성을 방지하기 위한 의료용 장치, 예컨대, 유치형 의료용 장치 또는 임플란트 코팅을 위한 조성물이다. 예를 들어, 의료 기기는 카테터, 기계적 심장 판막, 심장 박동 조절기, 동정맥 단락, 강막 버클, 인공 관절, 고막 절개 튜브, 기관 절개 튜브, 음성 보철물, 음경 보철물, 인공 요도 괄약근, 합성 치골질 걸이, 수술용 봉합사, 뼈 앵커, 뼈 나사, 안구 내 렌즈, 콘택트 렌즈, 자궁 내 장치, 대퇴동맥 이식편, 혈관 이식편, 바늘, 루어-록 커넥터, 바늘 없는 커넥터 또는 수술 도구일 수 있다.

[0058] **효소의 유효량**: 용어 "효소의 유효량"은 예를 들어 정의된 세제 조성물에서와 같이 특정 응용 분야에서 필요한 효소 활성을 달성하는 데 필요한 효소의 양을 지칭한다. 이러한 유효량은 당업자가 용이하게 확인할 수 있으며, 사용된 특정 효소, 세정 응용 분야, 세제 조성물의 특정 조성, 액체 또는 건조(예를 들어, 과립, 바) 조성물이 필요한지 여부 등과 같은 여러 요인에 따라 결정된다. 용어 헥소사미니다제 변이체의 "유효량"은 예를 들어 정의된 세제 조성물에서 원하는 수준의 효소 활성을 달성하는 앞서 설명한 헥소사미니다제 변이체의 양을 지칭한다.

[0059] **관련 세척 조건**: 용어 "관련 세척 조건"은 세제 시장 부문의 가정에서 실제로 사용되는 조건, 특히 세척 온도, 시간, 세탁기, 세제 농도, 세제 유형 및 물의 경도를 나타내는 데 사용된다.

[0060] **세척액**: 용어 "세척액"(또는 "세탁수")은 본 발명의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 수용액을 지칭한다. 세척액은 예를 들어 세탁기나 식기세척기에서 발견되는, 물과 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세제 조성물을 포함하는 용액이다. 세제 조성물은 세척액을 형성하기 위해 물과 혼합되기 전에 본 명세서의 다른 곳에서 설명한 대로, 예를 들어 액체나 분말과 같은 임의의 적절한 형태일 수 있다.

[0061] **물의 경도**: 본원에서 사용되는 용어 "물의 경도" 또는 "경도" 또는 "dH" 또는 "° dH"는 독일 경도를 지칭한다. 1도는 물 1리터당 10밀리그램의 산화칼슘으로 정의된다.

[0062] **보조 물질**: 용어 "보조 물질" 또는 "보조 성분"은 원하는 특정 유형의 세제 조성물과 제품 형태(예를 들어, 액체, 과립, 분말, 바, 페이스트, 스프레이, 정제, 젤 또는 거품 조성물)에 대해 선택된 임의의 액체, 고체 또는 기체 물질을 의미하며, 이러한 물질은 조성물에 사용된 헥소사미니다제 변이체 효소와도 바람직하게는 호환 가능하다. 보조 물질에 대한 더욱 자세한 정보는 아래에 제공된다.

[0063] **낮은 세제 농도**: 용어 "낮은 세제 농도" 시스템은 세탁수에 약 800 ppm 미만의 세제 성분이 존재하는 세제를 포함한다. 아시아, 예를 들어 일본 세제는 일반적으로 낮은 세제 농도 시스템으로 간주된다.

[0064] **중간 세제 농도**: 용어 "중간 세제 농도" 시스템은 세탁수에 약 800 ppm 내지 약 2000 ppm의 세제 성분이 존재하는 세제를 포함한다. 북미 세제는 일반적으로 중간 세제 농도 시스템으로 간주된다.

[0065] **높은 세제 농도**: 용어 "높은 세제 농도" 시스템은 세탁수에 약 2000 ppm이 넘는 세제 성분이 존재하는 세제를 포함한다. 유럽 세제는 일반적으로 높은 세제 농도 시스템으로 간주된다.

[0066] **변이체 표기에 대한 관례**

[0067] 본 발명의 목적을 위해, 서열번호 1에 개시된 폴리펩티드가 다른 헥소사미니다제의 상응하는 아미노산 위치를 결정하는 데 사용된다. 다른 헥소사미니다제의 아미노산 서열을 서열번호 1에 개시된 폴리펩티드와 정렬하고, 이러한 정렬을 기반으로 하여 서열번호 1에 개시된 폴리펩티드의 임의의 아미노산 잔기에 상응하는 아미노산 위치 번호를 Needleman-Wunsch 알고리즘을 사용하여 결정하되(문헌[Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453]), 이는 EMBOSS 패키지(문헌[EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277]), 바람직하게는 버전 5.0.0 또는 그 이후의 Needle 프로그램에서 구현되는 바와 같다. 사용되는 매개변수는 갭 오픈 페널티 10, 갭 연장 페널티 0.5 및 EBLOSUM62(BLOSUM62의 EMBOSS 버전) 치환 매트릭스이다.

[0068] 본 발명의 변이체를 기재함에 있어 참조의 편의를 위해 이하에 기재된 명명법을 조정한다. 승인된 IUPAC 1문자 또는 3문자 아미노산 축약어가 사용된다.

[0069] 치환. 아미노산 치환에 있어서는 다음과 같은 명명법이 사용된다: 원 아미노산, 위치, 치환된 아미노산. 따라서 위치 226의 트레오닌의 알라닌으로의 치환은 "T226A"(또는 3문자 코드를 사용하여 "Thr226Ala")로 표기된다. 다수의 돌연변이는 더하기 표시("+")에 의해 분리될 수 있으며, 예를 들어, "G205R+S411F"는 각각 위치 205 및 411에서 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환 및 세린(S)의 페닐알라닌(F)으로의 치환을 나타낸다. 다수의 돌연변이는 대안적으로 스페이스, 콤마, 또는 더하기 표시에 의해, 예를 들어, "G205R S411F", "G205R, S411F" 또는 "G205R+S411F"에 의해 표시될 수 있다.

[0070] 결실. 아미노산 결실의 경우, 다음과 같은 명명법이 사용된다: 원 아미노산, 위치, *. 따라서 위치 195에서의 글리신의 결실은 "G195*"로서 표기된다. 다수의 결실은 더하기 표시("+")로 분리되는데, 예를 들어, "G195* + S411*"로 표시된다.

[0071] 삽입. 아미노산 삽입의 경우, 다음과 같은 명명법이 사용된다: 원 아미노산, 위치, 원 아미노산, 삽입된 아미노산. 따라서, 위치 195에서 글리신 다음의 라이신의 삽입은 "G195GK"로 표기된다. 다수 아미노산의 삽입은 [원 아미노산, 위치, 원 아미노산, 삽입 아미노산 #1, 삽입 아미노산 #2 등]으로 표기된다. 예를 들어, 위치 195에서 글리신 다음의 라이신 및 알라닌의 삽입은 "G195GKA"로 표기된다.

[0072] 이러한 경우, 삽입 아미노산 잔기(들)는 삽입 아미노산 잔기(들) 앞의 아미노산 잔기의 위치 번호에 대한 소문자의 부가에 의해 넘버링된다. 이에 따라, 상기 예에서, 서열은 하기와 같을 것이다:

모체:	변이체:
195	195 195a 195b
G	G - K - A

[0073]

[0074] 다수의 변경. 다수의 변경을 포함하는 변이체는 위에서 설명된 바와 같이 더하기 표시("+")에 의해 분리되며, 예를 들어, "R170Y+G195E"는 각각 위치 170 및 195에서 아르기닌 및 글리신의 티로신 및 글루탐산으로의 치환을 나타낸다. 대안적으로, 다수의 변경은 위에서 언급된 바와 같이 스페이스 또는 콤마에 의해 분리될 수 있다.

[0075] 상이한 변경. 한 위치에 상이한 변경이 도입될 수 있는 경우, 상이한 변경들은 콤마 또는 사선으로 분리될 수 있는데, 예를 들어, "R170Y,E" 또는 "R170Y/E"는 위치 170에 있는 아르기닌의 티로신 또는 글루탐산으로의 치환을 나타낸다. 따라서, "Y167G,A + R170G,A" 또는 "Y167G/A + R170G/A"는 다음의 변이체를 표기한다: "Y167G+R170G", "Y167G+R170A", "Y167A+R170G" 및 "Y167A+R170A".

[0076] **발명의 상세한 설명**

[0077] 본 발명은 서열번호 1의 헥소사미니다제 폴리펩티드의 변이체를 제공하며, 이 변이체는 서열번호 1과 비교하여

[0078] 서열번호 1의 위치 163, 227, 252 및 309에 상응하는 하나 이상의 위치, 바람직하게는 2개, 3개 또는 4개 위치에서의 치환; 및

[0079] 서열번호 1의 위치 106, 111, 120, 124, 127, 150, 170, 171, 178, 199, 208, 254, 255 및 278에 상응하는 하나 이상의 위치에서의 치환을 포함하고,

[0080] 여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는다.

[0081] **변이체**

[0082] 일 구현예에서, 본 발명의 변이체는 서열번호 1과 비교하여

[0083] 다음 위치의 표시된 아미노산 잔기 중 하나 이상, 예를 들어, 2, 3 또는 4개: 위치 163의 P, 위치 227의 T, 위치 252의 P 및 위치 309의 E; 및

[0084] 다음 위치의 표시된 아미노산 잔기 중 하나 이상: 위치 106의 M 또는 N, 위치 111의 R, 위치 120의 V, 위치 124의 K 또는 L, 위치 127의 P, 위치 150의 N, 위치 170의 G, 위치 171의 F 또는 H, 위치 178의 K, 위치 199의 W, 위치 208의 W, 위치 254의 I, 위치 255의 D 및 위치 278의 V;

[0085] 을 포함하고,

[0086] 여기서 위치 번호는 서열번호 1에 기반한다.

[0087] 따라서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2, 3 또는 4개의 치환;

[0088] 및 V106M, V106N, D111R, T120V, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, E150N, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함할 수 있다.

[0089] 바람직한 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 Q3I, A49W 및 N59E로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2 또는 3개 전부; 또는 Q3F, V140I, Q215K 및 N267T로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2, 3 또는 4개 전부를 추가로 포함할 수 있다.

[0090] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 치환 S163P, N227T, N252P 및 K309E; 및 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 포함한다.

[0091] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, Y124I/K/L, R127P, E150N, L170G, D171F/H, Q178K, S199W, S208W, T255D, N267T, I278V 및 K308E로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함한다. 바람직하게는, 변이체는 상기 치환 중 적어도 2개, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 3개를 포함한다. 이러한 하나의 변이체는 V106M/N, D111R, T120V, Y124I/K/L, R127P, E150N, L170G, D171F/H, Q178K, S199W, S208W, T255D, N267T, I278V 및 K308E로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개 또는 적어도 3개를 포함하는 서열번호 2의 변이체이다. 또 다른 이러한 변이체는 V106M/N, D111R, T120V, Y124I/K/L, R127P, E150N, L170G, D171F/H, Q178K, S199W, S208W, T255D, N267T, I278V 및 K308E로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개 또는 적어도 3개를 포함하는 서열번호 3의 변이체이다.

[0092] 더욱 바람직한 구현예에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, E150N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함한다. 바람직하게는, 변이체는 상기 치환 중 적어도 2개, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 3개를 포함한다. 이러한 하나의 변이체는 V106M/N, D111R, T120V, E150N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개 또는 적어도 3개를 포함하는 서열번호 2의 변이체이다. . 또 다른 이러한 변이체는 V106M/N, D111R, T120V, E150N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개 또는 적어도 3개를 포함하는 서열번호 3의 변이체이다.

[0093] 더욱 바람직하게는, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어 상기 치환 중 적어도 2개, 예를 들어 상기 치환 중 적어도 3개를 포함한다.

[0094] 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 D111R, T120V 및 E150N으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함한다. 따라서 변이체는 치환 D111R+T120V, D111R+E150N 또는 T120V+E150N, 또는 3개의 모든 치환 D111R+T120V+E150N을 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, 변이체는 V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 추가로 포함할 수 있으며, 여기서 바람직한 치환은 V106M/N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함한다.

[0095] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, T120V 및 E150N으로부터 선택된 적어도 1개의 치환과 함께 치환 D111R을 포함하고, 선택적으로 V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 추가 치환을 포함한다.

[0096] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, D111R 및 E150N으로부터 선택된 적어도 1개의 치환과 함께 치환 T120V을 포함하고, 선택적으로 V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 추가 치환을 포함한다.

[0097] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, D111R 및 T120V으로부터 선택된 적어도 1개의 치환과 함께 치환 E150N을 포함하고, 선택적으로 V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 추가 치환을 포함한다.

[0098] 일부 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M, V106N, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환; 예를 들어, V106M/N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함한다.

[0099] 일부 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) V106M, V106N, D111R, T120V, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, E150N, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함한다.

[0100] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 V106M을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0101] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 V106N을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0102] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 D111R을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0103] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 T120V을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0104] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 Y124I을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0105] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 Y124K을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0106] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 Y124L을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0107] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 R127P을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0108] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 E150N을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0109] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 L170G을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0110] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 D171F을 포함한다.

이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0111] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 D171H을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0112] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 Q178K을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0113] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 S199W을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0114] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 S208W을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0115] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 F254I을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0116] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 T255D을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0117] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1과 비교하여, a) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2개, 3개 또는 바람직하게는 4개의 치환; b) H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 바람직하게는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 더욱 바람직하게는 상기 치환 모두; 및 c) 치환 I278V을 포함한다. 이러한 변이체는 또한 하나 이상의 추가 치환, 예를 들어 V106M/N, D111R, T120V, E150N 및 D171F로 구성된 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다.

[0118] 본 발명의 특정 헥소사미니다제 변이체의 예로는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3과 비교하여, 바람직하게는 서열번호 2와 비교하여, 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 변이체가 포함된다:

[0119] * D111R

[0120] * D111R+T120V

[0121] * D111R+T120V+E150N

[0122] * D111R+T120V+E150N+D171F+I278V

[0123] * D111R+T120V+T255D

[0124] * D111R+T120V+Y124I

[0125] * D111R+T120V+Y124K+Q178K

[0126] * D111R+T120V+Y124L+Q178K

[0127] * D111R+Y124K+D171F

[0128] * D171F+S208W+N267T

[0129] * D171F+T255D

[0130] * D171H

[0131] * I278V

[0132] * K308E

[0133] * N267T

[0134] * R127P

[0135] * T120V+D171F

[0136] * T120V+D171F+N267T

[0137] * T120V+S208W+N267T

[0138] * T120V+T255D

[0139] * T120V+T255D+N267T

[0140] * T120V+Y124K+Q178K

[0141] * V106M+D111R+T120V+D171F

[0142] * V106M+Q178K+T255D

[0143] * V106M+T120V+D171F+Q178K

[0144] * V106M+T120V+Y124I+D171F

[0145] * V106M+T120V+Y124I+Q178K

[0146] * V106M+T120V+Y124K+D171F

[0147] * V106M+T120V+Y124L+Q178K

[0148] * V106N+D111R+T120V+E150N

[0149] * V106N+S208W+N267T

[0150] * V106N+T120V+D171F

[0151] * V106N+T120V+D171F+S208W

[0152] * V106N+T120V+E150N+D171F+I278V

[0153] * V106N+T120V+N267T

[0154] 위에 나열된 특정 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 2 또는 서열번호 3과 비교하여, 바람직하게는 서열번호 2와 비교하여, 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어 적어도 91%, 적

어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0155] 본 발명의 특정 헥소사미니다제 변이체의 다른 예로는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3과 비교하여, 바람직하게는 서열번호 3과 비교하여, 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 변이체가 포함된다:

[0156] * L170G

[0157] * E150N+F254I

[0158] * F254I

[0159] * V106N

[0160] * D111R+T120V

[0161] * D111R+T120V+E150N

[0162] * D111R+T120V+E150N+D171F+I278V

[0163] * D111R+T120V+T255D

[0164] * D111R+T120V+Y124I

[0165] * D111R+T120V+Y124K+Q178K

[0166] * D111R+T120V+Y124L+Q178K

[0167] * D111R+Y124K+D171F

[0168] * D171F+S208W+N267T

[0169] * D171F+T255D

[0170] * D171H

[0171] * I278V

[0172] * K308E

[0173] * N267T

[0174] * R127P

[0175] * T120V+D171F

[0176] * T120V+D171F+N267T

[0177] * T120V+S208W+N267T

[0178] * T120V+T255D

[0179] * T120V+T255D+N267T

[0180] * T120V+Y124K+Q178K

[0181] * V106M+D111R+T120V+D171F

[0182] * V106M+Q178K+T255D

[0183] * V106M+T120V+D171F+Q178K

[0184] * V106M+T120V+Y124I+D171F

[0185] * V106M+T120V+Y124I+Q178K

[0186] * V106M+T120V+Y124K+D171F

[0187] * V106M+T120V+Y124L+Q178K

[0188] * V106N+D111R+T120V+E150N

[0189] * V106N+S208W+N267T

[0190] * V106N+T120V+D171F

[0191] * V106N+T120V+D171F+S208W

[0192] * V106N+T120V+E150N+D171F+I278V

[0193] * V106N+T120V+N267T

[0194] 위에 나열된 특정 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 2 또는 서열번호 3과 비교하여, 바람직하게는 서열번호 3과 비교하여, 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0195] 본 발명의 바람직한 헥소사미니다제 변이체의 예로는 서열번호 1과 비교하여 다음 치환 세트 중 하나를 포함하는 변이체가 포함된다:

[0196] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0197] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0198] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0199] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0200] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124I+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0201] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0202] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0203] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0204] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0205] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0206] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171H+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0207] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0208] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308E+K309E+K312Q

[0209] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0210] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+R127P+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+

N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0211] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0212] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0213] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0214] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0215] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0216] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0217] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+D111R+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0218] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0219] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+S163P+D171F+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0220] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0221] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0222] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0223] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0224] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0225] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0226] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0227] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0228] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0229] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0230] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0231] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+

N252P+F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0232] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0233] * Q3F+H15Y+V106N+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0234] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0235] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0236] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0237] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0238] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0239] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0240] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0241] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0242] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0243] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0244] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0245] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0246] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0247] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0248] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0249] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0250] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0251] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0252] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+

G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0253] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+ N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0254] 본원에 개시된 헥소사미니다제 변이체는 변이체 내의 치환 없이 모 헥소사미니다제와 적어도 60%의 서열 동일성을 갖는다. 예를 들어, 변이체는 모 헥소사미니다제와 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75% 또는 적어도 80%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 예를 들어, 헥소사미니다제 변이체는 모 헥소사미니다제와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 또는 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0255] 특히, 본원에 개시된 임의의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 60%의 서열 동일성을 갖는다. 예를 들어, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1, 2 또는 3 중 임의의 것과 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75% 또는 적어도 80%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 예를 들어, 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 1, 2 또는 3 중 임의의 것과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 또는 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0256] 일 양태에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 2와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 또는 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는다.

[0257] 또 다른 양태에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 서열번호 3과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 또는 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는다.

[0258] 일 양태에서, 본 발명의 변이체 내 변경의 개수는 서열번호 1, 2 또는 3과 비교하여 1 내지 20, 예를 들어, 1 내지 10개, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개이다.

[0259] 본원에 기재된 변이체는 N 말단 및/또는 C 말단 단부에서 하나 이상의 아미노산의 연장을 더 포함할 수 있다. 대안적으로, 변이체는 N 말단 및/또는 C 말단 단부에서 하나 이상의 아미노산의 절단을 더 포함할 수 있다.

[0260] 따라서 본 발명은 N 말단 및/또는 C 말단 단부에서 하나 이상의 아미노산의 연장 또는 N 말단 및/또는 C 말단 단부에서 하나 이상의 아미노산의 절단을 포함하는 본원에 개시된 변이체를 포함하며, 여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고 서열번호 1의 폴리펩티드와 비교하여, 또는 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 비교하여 증가된 세제 안정성을 갖는다.

[0261] 본 발명의 변이체는 선택적으로 다른 아미노산 변화를 포함할 수 있는데, 이러한 아미노산 변화는 부수적인 특성, 즉 단백질의 폴딩 및/또는 활성에 유의미하게 영향을 미치지 않는 보존적 아미노산 치환 또는 삽입; 전형적으로 1개 내지 30개 아미노산의, 소규모 결실; 소규모 아미노 또는 카복실 말단 연장, 예컨대, 아미노 말단 메티오닌 잔기; 최대 20개 내지 25개 잔기의 소규모 링커 펩티드; 또는 순(net) 전하 또는 또 다른 기능을 변화시킴으로써 정제를 촉진하는 소규모 연장, 예컨대, 폴리-히스티딘 지대(tract), 항원성 에피토프 또는 결합 도메인일 수 있다.

[0262] 보존적 치환의 예는 염기성 아미노산(아르기닌, 라이신 및 히스티딘), 산성 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산), 극성 아미노산(글루타민 및 아스파라긴), 소수성 아미노산(류신, 이소류신 및 발린), 방향족 아미노산(페닐알라닌, 트립토판 및 티로신), 및 소형 아미노산(글리신, 알라닌, 세린, 트레오닌 및 메티오닌) 그룹 내에 있다. 일반적으로 특정 활성을 변경하지 않는 아미노산 치환은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌[H. Neurath and R.L. Hill, 1979, *In*, *The Proteins*, Academic Press, New York]에 기재되어 있다. 일반적인 치환은 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, 및 Asp/Gly이다.

[0263] 대안적으로, 아미노산 변화는 폴리펩티드의 물리화학적 특성이 변경되는 성질의 것이다. 예를 들어, 아미노산 변화는 폴리펩티드의 열 안정성을 개선하고, 기질 특이성을 변경하고, 최적 pH를 변화시키는 등의 작용을 할 수 있다.

[0264] 폴리펩티드에서 필수 아미노산은 당분야에 알려진 절차, 예컨대, 부위 지정 돌연변이유발 또는 알라닌 스캐닝 돌연변이유발에 따라 확인될 수 있다(문헌[Cunningham and Wells, 1989, Science 244: 1081-1085]). 후자의 기

법에서는, 단일 알라닌 돌연변이가 분자 내의 모든 잔기에 도입되며, 생성 분자의 헥소사미니다제 활성을 시험하여 분자의 활성에 중추적인 아미노산 잔기를 확인한다. 문헌[Hilton *et al.*, 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708]을 참조한다. 효소 또는 다른 생물학적 상호작용의 활성 부위는 또한 추정 접촉 부위 아미노산의 돌연변이와 함께, 핵 자기 공명, 결정측정, 전자 회절, 또는 광친화도 표지화와 같은 기법에 의해 결정되는 구조의 물리적 분석에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 문헌[de Vos *et al.*, 1992, *Science* 255: 306-312]; 문헌[Smith *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904]; 문헌[Wlodaver *et al.*, 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64]을 참조한다. 필수 아미노산의 동일성은 관련 폴리펩티드와의 정렬에서 추론할 수 있고/있거나, 관련 폴리펩티드와의 서열 상동성 및 일반적으로 유사한 3차원 구조, 기능 및 상당한 서열 유사성을 갖는, 보존된 촉매 기구 또는 공통 조상에서 유래한 폴리펩티드/단백질이 있는 폴리펩티드 또는 단백질 패밀리 내에서 추론할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 단백질 구조 예측 도구는 필수 아미노산 및/또는 폴리펩티드의 활성 부위를 식별하기 위한 단백질 구조 모델링에 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Jumper *et al.*, 2021, "Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold", *Nature* 596: 583-589]을 참조한다.

[0265] 변이체는 300 내지 350개의 아미노산, 예를 들어 310 내지 340개, 315 내지 335개 또는 320 내지 330개의 아미노산으로 구성될 수 있다.

[0266] 일 구현예에서, 변이체는 모 효소와 비교하여 개선된 안정성, 특히 개선된 보관 안정성, 즉 세제 조성물에서 보관 시 개선된 안정성을 갖는다. 위에서 언급한 바와 같이, 개선된 안정성은 예를 들어 본원의 예에서 기재된 바와 같이 반감기 개선 계수(HIF)를 통해 표현될 수 있다.

[0267] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체는 모 헥소사미니다제와 비교하여 반감기 개선 계수(HIF)로 표현된 개선된 안정성, 즉 1보다 큰 HIF 값을 갖는다. 바람직하게는, 변이체는 모체와 비교하여 예를 들어, 적어도 1.2, 적어도 1.3, 적어도 1.4, 적어도 1.5, 적어도 1.6, 적어도 1.7, 적어도 1.8, 적어도 1.9 또는 적어도 2.0의, 본원의 예에서 기재된 바와 같이 결정된 반감기 개선 계수를 갖는다. 바람직한 구현예에서, 변이체는 모체와 비교하여 적어도 2.5, 적어도 3.0, 적어도 3.5 또는 적어도 4.0의 반감기 개선 계수를 가질 수 있다.

[0268] 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 바람직하게는 단리되고, 더욱 바람직하게는 당업계에 알려진 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 정제된다.

[0269] **변이체의 제조**

[0270] 본 발명은 또한 헥소사미니다제 활성을 갖는 변이체를 수득하는 방법에 관한 것으로, 방법은

[0271] (a) 모 헥소사미니다제에 서열번호 1의 하나 이상의 위치, 바람직하게는 위치 163, 227, 252 및 309에 상응하는 2, 3 또는 3개 위치에서의 치환; 및 서열번호 1의 위치 106, 111, 120, 124, 127, 150, 170, 171, 178, 199, 208, 254, 255 및 278에 상응하는 하나 이상의 위치에서의 치환을 도입하는 단계; 및

[0272] (b) 변이체를 회수하는 단계를 포함하고,

[0273] 여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는다

[0274] 바람직하게는, 방법은 모 헥소사미니다제에 서열번호 1과 비교하여 (i) S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2, 3 또는 4개의 치환; 및 (ii) V106M, V106N, D111R, T120V, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, E150N, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 도입하는 단계를 포함한다. (ii)에서 모 헥소사미니다제에 도입되는 바람직한 치환은 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개를 포함한다. 특히 바람직한 치환은 D111R, T120V 및 E150N 중 1, 2 또는 3개를 포함한다.

[0275] 방법은 바람직하게는 모 헥소사미니다제에 서열번호 1과 비교하여 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 방법은 더욱 바람직하게는 모 헥소사미니다제에 서열번호 1과 비교하여 Q3I, A49W 및 N59E로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2 또는 3개 전부; 또는 Q3F, V140I, Q215K 및 N267T로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2, 3 또는 4개 전부를 도입하는 단계를 포함한다.

[0276] 다른 구현예에서, 방법은 (a) 표제 "변이체" 하의 위에서 나열된 치환 세트 중 임의의 것을 모 헥소사미니다제

에 도입하는 단계로서, 위치 번호는 서열번호 1의 넘버링에 기초하고, 변이체는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖고, 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖는, 단계; 및 (b) 변이체를 회수하는 단계를 포함한다.

[0277] 바람직하게는, 본원에 개시된 방법에 의해 수득된 변이체는 서열번호 2 또는 서열번호 3과 비교하여, 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 또는 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는다.

[0278] 변이체는 당업계에 공지된 임의의 돌연변이유발법, 예를 들어 위치 배향 돌연변이유발법, 합성 유전자 구성법(synthetic gene construction), 반합성 유전자 구성법(semi-synthetic gene construction), 무작위 돌연변이유발법 및 DNA 셔플링(shuffling) 등이 사용되어 제조될 수 있다.

[0279] **폴리뉴클레오티드**

[0280] 본 발명은 또한 본 발명의 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이기도 하다.

[0281] 폴리뉴클레오티드는 게놈 DNA, cDNA, 합성 DNA, 합성 RNA, mRNA 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0282] 일 양태에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된다.

[0283] 다른 양태에서, 폴리뉴클레오티드는 정제된다.

[0284] **핵산 구성체**

[0285] 본 발명은 또한 제어 서열에 적합한 조건 하에서 적절한 숙주 세포에서 암호화 서열의 발현을 지시하는 1개 이상의 제어 서열에 작동 가능하게 연결된 본 발명의 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 구성체에 관한 것이다. 사용될 수 있는 제어 서열의 예로는 프로모터, 종결자, mRNA 안정제, 리더 서열, 폴리아데닐화 서열, 신호 펩티드, 프로펩티드, 조절 서열 및 전사 인자가 있으며, 이는 모두 당업계에 잘 알려져 있다.

[0286] 폴리뉴클레오티드는 변이체의 발현을 제공하기 위하여 다양한 방식으로 조작될 수 있다. 벡터로의 폴리뉴클레오티드의 삽입 전의 폴리뉴클레오티드의 조작이 발현 벡터에 따라 바람직하거나 필요할 수 있다. 재조합 DNA 방법을 이용해 폴리뉴클레오티드를 변형시키는 기술은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0287] **발현 벡터**

[0288] 본 발명은 또한 본 발명의 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 프로모터, 그리고 전사 및 번역 종결 신호를 포함하는 재조합 발현 벡터에 관한 것이기도 하다. 다양한 뉴클레오티드와 제어 서열들은 함께 결합하여, 편리한 제한 위치 1개 이상에서 변이체 암호화 폴리뉴클레오티드 삽입 또는 치환을 허용하는, 상기와 같은 제한 위치를 포함할 수 있는 재조합 발현 벡터를 구성할 수 있다. 대안적으로, 폴리뉴클레오티드는, 해당 폴리뉴클레오티드 또는 이 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 구성체의, 발현에 적당한 벡터로의 삽입에 의해 발현될 수 있다. 발현 벡터의 생성에 있어서, 암호화 서열은 암호화 서열이 발현에 적절한 제어 서열과 작동 가능하게 연결되도록 벡터에 위치한다.

[0289] 재조합 발현 벡터는 재조합 DNA 절차에 편리하게 적용할 수 있고 폴리뉴클레오티드의 발현을 일으킬 수 있는 임의의 벡터(예를 들어, 플라스미드 또는 바이러스)일 수 있다. 벡터의 선택은 일반적으로 벡터가 도입될 숙주 세포와 벡터의 양립 가능성에 따라 달라질 것이다. 벡터는 선형 또는 닫힌 원형 플라스미드일 수 있다. 재조합 발현에 적합한 발현 벡터는 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 이를 숙주 세포에 도입하는 방법도 잘 알려져 있다.

[0290] **숙주 세포**

[0291] 본 발명은 또한 본 발명의 변이체의 생성을 지시하는 하나 이상의 제어 서열에 작동 가능하게 연결된 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 숙주 세포에 관한 것이다.

[0292] 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구성체 또는 벡터는 구성체 또는 벡터가 앞서 기재된 바와 같은 염색체 통합체로서 또는 자가복제성 염색체외 벡터로서 유지되도록 숙주 세포에 도입된다. 숙주 세포의 선택은 변이체를 암호화하는 유전자와 이의 공급원에 주로 의존할 것이다. 재조합 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 단일 카피 또는 적어도 두 개의 카피, 예를 들어 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 카피를 포함할 수 있다.

[0293] 숙주 세포는 본 발명의 폴리펩티드의 재조합 생산에 유용한 임의의 미생물 세포, 예를 들어 원핵 세포 또는 진

균 세포일 수 있다.

[0294] 원핵 숙주 세포는 임의의 그람 양성 또는 그람 음성 박테리아일 수 있다. 그람 양성 박테리아는 바실루스(*Bacillus*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 엔테로코쿠스(*Enterococcus*), 지오바실루스(*Geobacillus*), 락토바실루스(*Lactobacillus*), 락토코쿠스(*Lactococcus*), 오세아노바실루스(*Oceanobacillus*), 스타필로코쿠스(*Staphylococcus*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*), 및 스트렙토마이세스(*Streptomyces*)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 그람 음성 박테리아는 캄필로박터(*Campylobacter*), E. 콜라이(*E. coli*), 플라보박테리움(*Flavobacterium*), 푸소박테리움(*Fusobacterium*), 헬리코박터(*Helicobacter*), 리오박터(*Ilyobacter*), 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 살모넬라(*Salmonella*), 및 우레아플라스마(*Ureaplasma*)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0295] 박테리아 숙주 세포는 바실루스 알칼로필루스(*Bacillus alkalophilus*), 바실루스 아밀로리퀘파시엔스(*Bacillus amyloliquefaciens*), 바실루스 브레비스(*Bacillus brevis*), 바실루스 서큘란스(*Bacillus circulans*), 바실루스 클라우시이(*Bacillus clausii*), 바실루스 코아귤란스(*Bacillus coagulans*), 바실루스 피르무스(*Bacillus firmus*), 바실루스 라우투스(*Bacillus lautus*), 바실루스 렌투스(*Bacillus lentus*), 바실루스 리케니포르미스(*Bacillus licheniformis*), 바실루스 메가테리움(*Bacillus megaterium*), 바실루스 퓨밀루스(*Bacillus pumilus*), 바실루스 스테아로서모필루스(*Bacillus stearothermophilus*), 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 및 바실루스 튜린겐시스(Bacillus thuringiensis) 세포를 포함하는(이에 한정되지 않음) 임의의 *바실루스* 세포일 수 있다.

[0296] 진균 숙주 세포는 효모 세포 또는 사상 진균 세포일 수 있다.

[0297] 사상 진균 숙주 세포는 예를 들어, 아크레모니움(*Acremonium*), 아스페르길루스, 오레오바시디움(*Aureobasidium*), 비저칸데라(*Bjerkandera*), 세리포리옵시스(*Ceriporiopsis*), 크리소스포리움(*Chrysosporium*), 코프리누스(*Coprinus*), 코리올루스(*Coriolus*), 크립토코쿠스(*Cryptococcus*), 필리바시디움(*Filibasidium*), 푸사리움(*Fusarium*), 후미콜라(*Humicola*), 마그나포르테(*Magnaporthe*), 무코르(*Mucor*), 마이셀리오프토라(*Myceliophthora*), 네오칼리마스틱스(*Neocallimastix*), 뉴로스포라(*Neurospora*), 파에실로마이세스(*Paecilomyces*), 페니실리움(*Penicillium*), 파네로카에테(*Phanerochaete*), 플레비아(*Phlebia*), 피로마이세스(*Piromyces*), 플루로투스(*Pleurotus*), 쉬조필룸(*Schizophyllum*), 탈라로마이세스(*Talaromyces*), 서모아스쿠스(*Thermoascus*), 티엘라비아(*Thielavia*), 톨리포클라디움(*Tolypocladium*), 트라메테스(*Trametes*), 또는 트리코더마(*Trichoderma*) 세포일 수 있다. 바람직한 구현예에서, 사상 진균 숙주 세포는 아스페르길루스, 트리코더마 또는 푸사리움 세포이다. 추가의 바람직한 구현예에서, 사상 진균 숙주 세포는 아스페르길루스 니게르(*Aspergillus niger*), 아스페르길루스 오리제(*Aspergillus oryzae*), 트리코더마 레에세이(*Trichoderma reesei*) 또는 푸사리움 베네나툼(*Fusarium venenatum*) 세포이다.

[0298] *일 양태에서, 숙주 세포는 단리, 바람직하게는 정제된다.*

[0299] **생산 방법**

[0300] 본 발명은 또한 본 발명의 변이체의 생산 방법으로서, (a) 변이체의 생산에 적합한 조건 하에 본 발명의 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 선택적으로 (b) 변이체를 회수하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0301] 숙주 세포는 당업계에 공지된 방법들이 사용되어 변이체 생산에 적합한 영양 배지에서 배양된다. 예를 들어, 세포는 변이체가 발현 및/또는 단리될 수 있는 조건 하에 적합한 배지에서 진탕 플라스크 배양에 의해, 또는 실험실 또는 산업용 발효기에서의 소규모 또는 대규모 발효(연속식, 회분식, 유가식, 또는 고상 발효를 포함)에 의해 배양될 수 있다. 적합한 배지는 상업적 공급업체로부터 입수할 수 있거나, 공개된 조성(예를 들어, ATCC(American Type Culture Collection) 카탈로그에 공개된 조성)에 따라 제조될 수 있다. 만일 변이체가 영양 배지에 분비되면, 변이체는 이 배지로부터 직접 회수될 수 있다. 만일 변이체가 영양 배지에 분비되지 않는다면, 변이체는 세포 용해물로부터 회수될 수 있다.

[0302] 변이체는 변이체에 특이적인 당업계에 알려진 방법을 사용하여 검출할 수 있는데, 여기에는 특정 항체 사용, 효소 생성물 형성, 효소 기질 소실 또는 변이체의 상대적 또는 특이적 활성을 결정하는 효소 검정이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

[0303] 변이체는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 수집, 원심분리, 여과, 추출, 분사 건조, 증발 또는 침전(이에 한정되는 것은 아님)을 사용하여 배지로부터 회수될 수 있다. 일 양태에서, 전체 발효 배양액이 회수된다. 다른

양태에서, 폴리펩티드를 포함하는 무세포 발효 배양액이 회수된다.

[0304] 변이체는 실질적으로 순수한 변이체 및/또는 단편을 얻기 위해 당업계에 알려진 다양한 절차에 의해 정제될 수 있다(예를 들어, 문헌[Wingfield, 2015, *Current Protocols in Protein Science*; 80(1): 6.1.1-6.1.35]; 및 문헌[Labrou, 2014, *Protein Downstream Processing*, 1129: 3-10] 참조).

[0305] 대안적인 양태에서, 변이체는 배지에서 회수되지 않는다.

[0306] **조성물**

[0307] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 적어도 하나의 헥소사미니다제 변이체 및 적어도 하나의 세정 보조 성분을 포함하는 세정 조성물에 관한 것이다. 예를 들어, 세정 조성물은 텍스타일과 같은 물품에서 개선된 심층 세정 효과, 즉 생물막 또는 그 구성 요소의 파괴 또는 제거를 달성하고/하거나, 예를 들어, 물품의 끈적거림을 방지 및/또는 감소시키고/시키거나, 물품의 얼룩을 사전 처리하고/하거나, 세척 사이클 동안 오염물의 재침착을 방지 및/또는 감소시키고/시키거나, 물품에 오염물이 달라붙는 것을 방지 및/또는 감소시키고/시키거나, 물품의 백색도를 유지 또는 개선하고/하거나 물품의 악취를 방지 및/또는 감소시키는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 분말 및 액체 세정 조성물과 같은 다양한 유형의 세제 조성물과 예를 들어 단일 단위 용량 조성물에서 유용하다.

[0308] 조성물은 계면활성제, 빌더(builder), 응집 보조제, 킬레이트제, 염료 전달 저해제, 효소, 효소 안정제, 효소 저해제, 촉매 물질, 표백 활성제, 과산화수소, 과산화수소 공급원, 사전형성된 과산, 중합체 분산제, 식토 제거/재침착 방지제, 광택제, 비누거품 억제제, 염료, 향수, 구조 탄성제, 섬유 유연제, 담체, 향수성 물질, 빌더 및 코-빌더(co-builder), 패브릭 착색제, 거품형성 방지제, 분산제, 가공 보조제 및/또는 안료로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 세정 보조 성분을 함유할 수 있다.

[0309] 세정 조성물은 일반적으로 계면활성제와 일반적으로 빌더 또는 점토/오염물 제거/재침착 방지제와 같은 다른 세정 보조 성분을 함유할 것이다.

[0310] 세정 보조 성분은 헥소사미니다제 이외의 하나 이상의 효소일 수 있다. 하나 이상의 효소는 예를 들어 프로테아제, 아밀라제, 리파제, 큐티나제, 셀룰라제, DN아제, 엔도글루카나제, 크실로글루카나제, 펙티나제, 펙틴 리아제, 크산타나제, 퍼옥시다제, 할로퍼옥시게나제, 카탈라제 및 만난아제로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 세제 조성물에 적합한 특정 효소는 아래에 기재되어 있다.

[0311] 세정 조성물은 임의의 적합한 형태, 예를 들어, 바, 균질한 정제, 2개 이상의 층을 가지는 정제, 1개 이상의 구획을 가지는 파우치, 보통의 분말 또는 압축 분말, 과립, 페이스트, 겔, 또는 보통, 압축 또는 농축 액체의 형태로 제형화될 수 있다. 따라서 세정 조성물은 예를 들어 액체 세제 또는 분말 또는 과립 세제일 수 있으며, 선택적으로 "농축" 또는 "압축" 형태일 수 있다. 또한 단일 단위 용량 조성물 형태일 수도 있다.

[0312] 세정 조성물 내의 헥소사미니다제의 양은 조성물의 농도 또는 압축도 및 세척액 내의 원하는 헥소사미니다제 농도와 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 헥소사미니다제는 일반적으로 최대 약 10,000 ppm, 일반적으로 최대 약 5000 ppm 또는 최대 약 2000 ppm의 양으로 세정 조성물에 포함된다. 헥소사미니다제는 예를 들어 1 ppm 내지 10,000 ppm, 예를 들어 10 ppm 내지 5000 ppm, 20 ppm 내지 2000 ppm, 50 ppm 내지 1000 ppm, 80 ppm 내지 600 ppm, 또는 100 ppm 내지 500 ppm의 수준으로 세정 조성물에 포함될 수 있다. 이 맥락에서 단위 "ppm"은 액체 조성물(예를 들어, 액체, 젤 등)에 첨가된 효소의 경우 mg/l을 지칭하거나 고체 조성물(예를 들어, 분말, 과립, 정제 등)에 첨가된 효소의 경우 mg/kg을 지칭하도록 의도한 것이다.

[0313] 일부 양태에서, 세제 조성물은 예를 들어 고온 및/또는 pH, 예를 들어 40℃ 이상 및/또는 pH 8 이상에서 세탁하는 데 적합한 액체 또는 분말 세탁 세제이다. 일부 양태에서, 세제 조성물은 예를 들어 저온 및/또는 pH, 예를 들어 20℃ 이하 및/또는 pH 6 이하에서 세탁하는 데 적합한 액체 또는 분말 세탁 세제이다. 세제는 또한 단위 용량 세제 및/또는 선택적으로 물을 최소한으로 또는 전혀 포함하지 않는 압축 세제로 제형화될 수 있다. 세제는 또한 식기세척 세제일 수 있다. 이러한 세탁 및 식기세척 세제는 인산염이 없을 수 있다.

[0314] 계면활성제

[0315] 계면활성제는 비이온성, 음이온성 및/또는 양성 계면활성제 중에서 선택될 수 있으며, 바람직하게는 음이온성 또는 비이온성 계면활성제이지만 양성 계면활성제도 사용될 수 있다. 일반적으로 표백에 안정한 계면활성제가 바람직하다. 바람직한 음이온 계면활성제는 황산염 계면활성제, 특히 알킬 에테르 황산염, 특히 C-9-15 알코올 에테르 황산염, C12-15 1차 알코올 에톡실레이트, C8-C16 에스테르 황산염 및 C10-C14 에스테르 황산염, 예를

들어 모노 도데실 에스테르 황산염이다 음이온성 계면활성제의 비제한적 예는 황산염 및 설폰산염, 특히 선형 알킬벤젠설폰산염(LAS), LAS의 이성체들, 분지형 알킬벤젠설폰산염(BABS), 페닐알칸설폰산염, 알파-올레핀설폰산염(AOS), 올레핀 설폰산염, 알켄 설폰산염, 알칸-2,3-디일비스(황산염), 하이드록시알칸설폰산염 및 디설폰산염, 알킬 황산염(AS), 예를 들어 나트륨 도데실 황산염(SDS), 지방 알코올 황산염(FAS), 1차 알코올 황산염(PAS), 알코올 에테르황산염(AES 또는 AEOS 또는 FES; 알코올 에톡시황산염 또는 지방 알코올 에테르 황산염이라고도 알려짐), 2차 알칸설폰산염(SAS), 파라핀 설폰산염(PS), 에스테르 설폰산염, 설폰화 지방산 글리세롤 에스테르, 알파-설포 지방산 메틸 에스테르(알파-SFMe 또는 SES), 예를 들어 메틸에스테르 설폰산염(MES), 알킬- 또는 알케닐숙신산, 도데세닐/테트라데세닐 숙신산(DTSA), 아미노산의 지방산 유도체, 설포숙신산 또는 지방산의 염(비누)의 디에스테르 및 모노에스테르, 그리고 이들의 조합을 포함한다.

[0316] 음이온 계면활성제는 바람직하게는 염 형태로 세제에 첨가된다. 이러한 염의 적합한 양이온은 알칼리 금속 이온, 예컨대, 나트륨, 칼륨 및 리튬 및 암모늄 염, 예를 들어, (2-하이드록시에틸) 암모늄, 비스(2-하이드록시에틸) 암모늄 및 트리스(2-하이드록시에틸) 암모늄 염이다. 비이온성 계면활성제의 비제한적 예는 알코올 에톡시화물(AE 또는 AEO), 알코올 프로폭시화물, 프로폭시화 지방 알코올(PFA), 알콕시화 지방산 알킬 에스테르, 예를 들어 에톡시화 및/또는 프로폭시화 지방산 알킬 에스테르, 알킬페놀 에톡시화물(APE), 노닐페놀 에톡시화물(NPE), 알킬폴리글리코시드(APG), 알콕시화 아민, 지방산 모노에탄올아미드(FAM), 지방산 디에탄올아미드(FADA), 에톡시화 지방산 모노에탄올아미드(EFAM), 프로폭시화 지방산 모노에탄올아미드(PFAM), 폴리하이드록시 알킬 지방산 아미드, 또는 글루코사민의 N-아실 N-알킬 유도체(글루카미드, 즉 GA, 또는 지방산 글루카미드, 즉 FAGA), 상품명 스판(SPAN) 및 트윈(TWEEN)으로 시판되는 제품, 그리고 이들의 조합을 포함한다. 시판되는 비이온성 계면활성제로는 BASF의 Plurafac™, Lutensol™ 및 Pluronic™, Cognis의 Dehypon™ 시리즈, Clariant의 Genapol™ 시리즈가 있다.

[0317] 빌더

[0318] 빌더는 바람직하게는 인산염, 구연산나트륨 빌더, 탄산나트륨, 규산나트륨, 알루미노규산나트륨(제올라이트) 중에서 선택된다. 적합한 빌더는 알칼리 금속 또는 인산암모늄, 폴리인산염, 포스폰산염, 폴리인산염, 탄산염, 중탄산염, 붕산염, 구연산염 및 폴리카르복실산염이다. 구연산염 빌더, 예를 들어 구연산 및 이의 가용성 염(특히 나트륨 염)은 폴리카르복실산염 빌더이다. 구연산염은 제올라이트, BRITESIL 유형과 같은 규산염 및/또는 층상 규산염 빌더와 조합하여 사용될 수 있다. 빌더는 바람직하게는 약 0~65 중량%, 예를 들어 약 5 중량% 내지 약 50 중량%의 양으로 첨가된다. 세탁 세제에서 빌더의 수준은 일반적으로 약 40~65 중량%, 특히 약 50~65 중량%, 특히 20 중량%~50 중량%이다. 빌더 및/또는 코-빌더는 특히 Ca 및 Mg와 수용성 착물을 형성하는 킬레이트화제일 수 있다. 청소용 세제들에 사용되는 것으로 당업계에 알려져 있는 임의의 빌더 및/또는 코-빌더가 사용될 수 있다. 빌더의 비제한적 예는 제올라이트, 이인산염(피로인산염), 삼인산염, 예를 들어 삼인산나트륨(STP 또는 STPP), 탄산염, 예를 들어 탄산나트륨, 가용성 규산염, 예를 들어 메타규산나트륨, 다층 규산염(예를 들어, Hoechst의 SKS-6) 및 (카르복시메틸)이눌린(CMI) 및 이들의 조합을 포함한다. 빌더의 추가적인 비제한적 예는 시트르산염, 킬레이터, 예를 들어 아미노카르복실산염, 아미노폴리카르복실산염 및 포스폰산염과, 알킬- 또는 알케닐숙신산을 포함한다. 추가적인 구체적인 예는 2,2',2"-니트릴로트리아세트산(NTA), 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA), 이미노디석신산(IDS), 에틸렌디아민-N,N'-디석신산(EDDS), 메틸글리신-N,N-디아세트산(MGDA), 글루탐산-N,N-디아세트산(GLDA), 1-하이드록시에탄-1,1-디포스폰산, N-(2-하이드록시에틸)이미노디아세트산(EDG), 아스파르트산-N-모노아세트산(ASMA), 아스파르트산-N,N-디아세트산(ASDA), 아스파르트산-N-모노프로피온산(ASMP), 이미노디석신산(IDA), N-(설포메틸)아스파르트산(SMAS), N-(2-설포에틸)아스파르트산(SEAS), N-(설포메틸글루탐산(SMGL), N-(2-설포에틸)-글루탐산(SEGL), N-메틸이미노디아세트산(MIDA), 세린-N,N-디아세트산(SEDA), 이소세린-N,N-디아세트산(ISDA), 페닐알라닌-N,N-디아세트산(PHDA), 안트라닐산-N,N-디아세트산(ANDA), 설파닐산-N,N-디아세트산(SLDA), 타우린-N,N-디아세트산(TUDA) 및 N´-(2-하이드록시에틸)에틸렌디아민-N,N,N'-트리아세트산(HEDTA), 디에탄올글리신(DEG) 및 이들의 조합 및 염을 포함한다. 본원에서 사용하기에 적합한 포스폰산염은 1-하이드록시에탄-1,1-디포스폰산(HEDP), 에틸렌디아민 테트라키스 (메틸렌포스폰산)(EDTMPA), 디에틸렌트리아민펜타키스 (메틸렌포스폰산)(DTMPA 또는 DTPMPA 또는 DTPMP), 니트릴로트리스(메틸렌포스폰산)(ATMP 또는 NTMP), 2-포스포노부탄-1,2,4-트리카르복실산(PBTC), 헥사메틸렌디아민테트라키스 (메틸렌포스폰산)(HDTMP)을 포함한다. 조성물은 또한 0 중량% 내지 50 중량%, 예를 들어 약 5 중량% 내지 약 30 중량%의 세제 코-빌더를 함유할 수 있다. 세제 조성물은 코-빌더만을 포함할 수 있거나, 또는 빌더, 예를 들어 제올라이드 빌더와 조합하여 코-빌더를 포함할 수 있다. 코-빌더의 비제한적 예는 폴리아크릴산염의 동종중합체 또는 이들의 공중합체, 예를 들어 폴리(아크릴산)(PAA) 또는 코폴리(아크릴산/말레산)(PAA/PMA) 또는 폴리아스파르트산을 포함한다. 추가의 예시적 빌더 및/또는 코-빌더는, 예를 들어 WO

2009/102854 및 미국 특허 5977053에 기재되어 있다. 일부 양태에서, 빌더는 구연산 및/또는 메틸글리신-N,N-디아세트산(MGDA) 및/또는 글루탐산-N,N-디아세트산(GLDA) 및/또는 이들의 염과 같은 인을 기반으로 하지 않는 빌더이다. 액체 조성물은 또한 인산염이 없을 수 있고, 이 경우 바람직한 빌더는 구연산 및/또는 메틸글리신-N,N-디아세트산(MGDA) 및/또는 글루탐산-N,N-디아세트산(GLDA) 및/또는 이들의 염을 포함한다.

[0319] 표백 성분

[0320] 세정 조성물은 표백 시스템을 0 중량% 내지 30 중량%, 예를 들어 약 1 중량% 내지 약 20 중량% 포함할 수 있다. 세정용 세제에 사용하기 위한 당업계에 공지된 성분을 포함하는 임의의 표백 시스템이 이용될 수 있다. 적합한 표백 시스템 성분은 과산화수소의 공급원; 과산의 공급원; 및 표백 촉매 또는 부스터를 포함한다.

[0321] 과산화수소의 공급원: 과산화수소의 적합한 공급원은 알칼리 금속염, 예컨대, 과탄산나트륨 및 과붕산나트륨(보통 일수화물 또는 사수화물), 및 과산화수소-우레아(1/1)를 포함하는 무기 과산염이다.

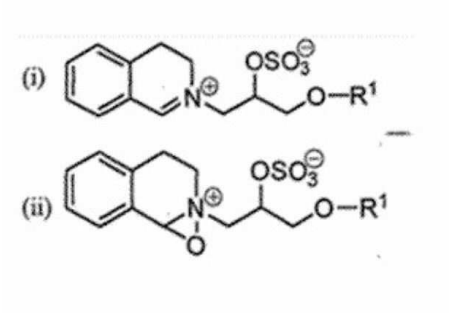
[0322] 과산의 공급원: 과산은 (a) 사전형성된 과산으로서 직접 혼입되거나 또는 (b) 과산화수소 및 표백 활성제로부터의 세척액에서 인시추로 형성되거나(과가수분해(perhydrolysis)) 또는 (c) 과산화수소 및 퍼하이드롤라제 및 후자에 적합한 기질, 예를 들어, 에스테르로부터의 세척액에서 인시추로 형성될 수 있다.

[0323] a) 적합한 사전형성된 과산은 퍼옥시카르복실산, 예컨대, 퍼옥시벤조산 및 이의 고리-치환 유도체, 퍼옥시-α-나프토산, 퍼옥시프탈산, 퍼옥시라우르산, 퍼옥시스테아르산, ε-프탈이미도퍼옥시카프로산 [프탈이미도퍼옥시헥산산(PAP)], 및 o-카르복시벤즈아미도퍼옥시카프로산; 지방족 및 방향족 디퍼옥시디카르복실산, 예컨대, 디퍼옥시도데칸디온산, 디퍼옥시아젤라산, 디퍼옥시세바스산, 디퍼옥시브라실산, 2-데실디퍼옥시부탄디온산, 및 디퍼옥시프탈, -이소프탈 및 -테레프탈산; 페리미딘산; 과산화일황산; 과산화이황산; 퍼옥시포스포르산; 과산화규산; 및 상기 화합물의 혼합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 언급된 과산은 일부 경우에 적합한 염, 예컨대, 알칼리 금속염(예를 들어, Oxone®) 또는 알칼리 토금속염으로서 첨가되는 것이 최선일 수 있다는 것이 이해된다.

[0324] b) 적합한 표백 활성제는 에스테르, 아미드, 이미드, 니트릴 또는 무수물의 부류에 속하는 것 및, 적용 가능한 경우, 이들의 염을 포함한다. 적합한 예는 테트라아세틸에틸렌디아민 (TAED), 나트륨 4-[(3,5,5-트리메틸헥사노일)옥시]벤젠-1-설포네이트 (ISONOBS), 나트륨 4-(도데카노일옥시)벤젠-1-설포네이트 (LOBS), 나트륨 4-(데카노일옥시)벤젠-1-설포네이트, 4-(데카노일옥시)벤조산 (DOBA), 나트륨 4-(노나노일옥시)벤젠-1-설포네이트 (NOBS), 및/또는 WO98/17767에 개시된 것이다. 관심있는 표백 활성제의 특정 패밀리는 유럽특허 제624154호에 개시되어 있었으며, 특히 바람직하게 상기 군은 아세틸 트리에틸 시트르산염(ATC)이다. ATC 또는 트리아세틴과 같은 단쇄 트리글리세라이드는 이들이 환경 친화적이라는 이점을 갖는다. 더 나아가, 아세틸 트리에틸 시트르산염과 트리아세틴은 보관 시 제품에서 우수한 가수 분해 안정성을 가지며, 효율적인 표백 활성제다. 최종적으로, 과가수분해 반응에서 방출된 시트레이트가 빌더로서 작용할 수 있기 때문에, ATC는 다작용성이다.

[0325] 표백 촉매 및 부스터: 표백 시스템은 또한 표백 촉매 또는 부스터를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물에서 사용될 수 있는 표백 촉매의 일부 비제한적 예는 옥살산망간, 아세트산망간, 망간-콜라겐, 코발트-아민 촉매 및 망간 트리아자사이클로노난(MnTACN) 촉매를 포함하며; 1,4,7-트리메틸-1,4,7-트리아자사이클로노난(Me3-TACN) 또는 1,2,4,7-테트라메틸-1,4,7-트리아자사이클로노난(Me4-TACN)과의 망간 착물, 특히 Me3-TACN, 예컨대, 2핵 망간 착물[(Me3-TACN)Mn(O)3Mn(Me3-TACN)](PF6)2 및 [2,2',2''-니트릴로트리스(에탄-1,2-디일아자닐일리덴-κN-메탄일릴리덴)트리페놀레이토-κ3O]망간(III)가 특히 바람직하다. 표백 촉매는 또한 다른 금속 화합물, 예컨대, 철 또는 코발트 착물일 수 있다. 다른 적합한 표백 촉매는 아실하이드라존 촉매, 예컨대, US 2014/0323381에 기재된 촉매이다.

[0326] 일부 양태에서, 과산 공급원이 포함되는 경우, 다음의 식 중 하나를 갖는 유기 표백 촉매 또는 표백 부스터가 사용될 수 있다:



[0327]

[0328] (iii) 및 이들의 혼합물; 식 중, 각각의 R1은 독립적으로 9개 내지 24개의 탄소를 포함하는 분지형 알킬기, 또는 11개 내지 24개의 탄소를 포함하는 선형 알킬기이고, 바람직하게 각각의 R1은 독립적으로 9개 내지 18개의 탄소를 포함하는 분지형 알킬기, 또는 11개 내지 18개의 탄소를 포함하는 선형 알킬기이며, 더욱 바람직하게 각각의 R1은 독립적으로 2-프로필헵틸, 2-부틸옥틸, 2-펜틸노닐, 2-헥실데실, 도데실, 테트라데실, 헥사데실, 옥타데실, 이소노닐, 이소데실, 이소트리데실 및 이소펜타데실로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0329] 기타 예시적 표백 시스템은 예를 들어 WO 2007/087258, WO 2007/087244, WO 2007/087259, EP 1867708(비타민 K) 및 WO 2007/087242에 기재되어 있다. 적합한 광표백제는, 예를 들어, 설폰화된 아연 또는 알루미늄 프탈로시아닌일 수 있다.

[0330] 세제 성분의 선택에는 텍스타일을 관리하기 위해 세정될 텍스타일의 유형, 오염의 유형 및/또는 정도, 세정이 이루어지는 온도, 그리고 세제 제품의 제형과 같은 고려 사항들이 포함될 수 있다. 비록 이하에 예시된 성분들은 기능에 따라서 일반적인 표제로 분류되긴 하지만, 이하에 제시된 예시적인 비제한적 성분을 포함한, 성분은 당업자가 인식할 추가의 기능을 포함할 수 있으므로 이는 제한적인 것으로서 해석되어서는 안 될 것이다.

[0331] 향수성 물질

[0332] 세제 조성물은 0 내지 10 중량%, 예를 들어, 0 내지 5 중량%, 예컨대 약 0.5 내지 약 5 중량%, 또는 약 3 중량% 내지 약 5 중량%의 향수성 물질을 함유할 수 있다. 세제에 사용되는 것으로 당업계에 알려진 임의의 향수성 물질이 사용될 수 있다. 향수성 물질의 비제한적 예는 나트륨 벤젠 설폰산염, 나트륨 p-톨루엔 설폰산염(STS), 나트륨 자일렌 설폰산염(SXS), 나트륨 큐멘 설폰산염(SCS), 나트륨 사이멘 설폰산염, 아민 산화물, 알코올 및 폴리글리콜에테르, 나트륨 하이드록시나프토산염, 나트륨 하이드록시나프탈렌 설폰산염, 나트륨 에틸헥실 황산염 및 이들의 조합을 포함한다.

[0333] 중합체

[0334] 세제 조성물은 0 내지 10 중량%, 예컨대, 0.5 내지 5%, 2 내지 5%, 0.5 내지 2% 또는 0.2 내지 1%의 중합체를 함유할 수 있다. 세제에 사용되는 것으로 당업계에 알려진 임의의 중합체가 사용될 수 있다. 중합체는 전술된 바와 같이 코-빌더로서 작용을 할 수 있거나, 아니면 재침착 방지, 섬유 보호, 오염물 이탈, 이염 억제, 기름때 세정 및/또는 거품 방지 특성을 제공할 수 있다. 몇몇 중합체는 전술된 특성 중 1개 초과 및/또는 이하 기재된 모티프 중 1개 초과를 가질 수 있다. 예시적 중합체는 (카르복시메틸)셀룰로스(CMC), 폴리(비닐알코올)(PVA), 폴리(비닐피롤리돈)(PVP), 폴리(에틸렌글리콜) 또는 폴리(에틸렌 산화물)(PEG), 에톡시화 폴리(에틸렌이민), 카르복시메틸 이눌린(CMI), 그리고 폴리카르복실산염, 예를 들어 PAA, PAA/PMA, 폴리아스파르트산, 그리고 라우릴메타크릴산염/아크릴산 공중합체, 소수 변형된 CMC(HM-CMC) 및 실리콘, 테레프탈산과 올리고머 글리콜의 공중합체, 폴리(에틸렌 테레프탈산염)과 폴리(옥시에텐 테레프탈산염)의 공중합체(PET-POET), PVP, 폴리(비닐이미다졸)(PVI), 폴리(비닐피리딘-N-산화물)(PVPO 또는 PVPNO) 및 폴리비닐피롤리돈-비닐이미다졸(PVPVI)을 포함한다. 추가의 예시적 중합체로서는 설폰화된 폴리카르복실산염, 폴리에틸렌 산화물 및 폴리프로필렌 산화물(PEO-PPO), 그리고 디쿼터늄 에톡시 황산염을 포함한다. 기타 예시적 중합체가 예를 들어 WO 2006/130575에 개시되어 있다. 전술된 중합체의 염도 고려된다.

[0335] 패브릭 착색제

[0336] 본 발명의 세제 조성물은 또한 세제 조성물 중에 포함됨으로써 패브릭이 상기 세제 조성물을 포함하는 세척액과 접촉될 때, 이 패브릭 위에 침착되어 가시 광선의 흡수/반사를 통해 상기 패브릭의 색조를 변경할 수 있는 패브릭 착색제, 예를 들어 염료 또는 안료를 포함할 수도 있다. 형광 증백제는 적어도 약간의 가시광선을 발한다. 반대로 패브릭 착색제는 적어도 가시 광선 스펙트럼 일부를 흡수할 때 표면의 색조를 변경한다. 적당한 패브릭

착색제는 염료 및 염료-점토 접합체를 포함하고, 또한 안료도 포함한다. 적당한 염료로서는 소분자 염료와 중합체 염료를 포함한다. 적당한 소분자 염료로서는 색 지수(C.I.) 분류들에서 다이렉트 블루(Direct Blue), 다이렉트 레드(Direct Red), 다이렉트 바이올렛(Direct Violet), 애시드 블루(Acid Blue), 애시드 레드(Acid Red), 애시드 바이올렛(Acid Violet), 베이직 블루(Basic Blue), 베이직 바이올렛(Basic Violet) 및 베이직 레드(Basic Red), 또는 이들의 조합, 예를 들어 WO2005/03274, WO2005/03275, WO2005/03276 및 EP1876226(본원에 참조로 포함되어 있음)에 개시된 색으로 분류되는 염료로 구성된 군으로부터 선택된 소분자 염료를 포함한다. 세제 조성물은 패브릭 착색제를 바람직하게 약 0.00003 wt% 내지 약 0.2 wt%, 약 0.00008 wt% 내지 약 0.05 wt%, 또는 심지어 약 0.0001 wt% 내지 약 0.04 wt% 포함한다. 조성물은 패브릭 착색제를 0.0001 wt% 내지 0.2 wt% 포함할 수 있는데, 이와 같은 함량은 상기 조성물이 단위 용량 파우치의 형태를 가질 때 특히 바람직하다. 적당한 착색제는 예를 들어 WO 2007/087257 및 WO2007/087243에도 개시되어 있다.

[0337] 효소

[0338] 세제 조성물은 하나 이상의 추가 효소, 예를 들어 프로테아제, 리파제, 큐티나제, 아밀라제, DN아제, 탄수화물 가수분해효소, 셀룰라제, 펙티나제, 만난아제, 아라비나제, 갈락타나제, 자일라나제, 헥소사미니다제, 옥시다제, 예를 들어 라카제 및/또는 퍼옥시다제를 포함할 수 있다.

[0339] 일반적으로, 선택된 효소(들)의 특성은 선택된 세제와 양립될 수 있어야 하고(즉, 최적 pH, 기타 다른 효소 성분 및 비효소 성분과의 혼화성 등), 이 효소(들)는 유효량으로 존재하여야 한다.

[0340] 셀룰라제

[0341] 적당한 셀룰라제는 박테리아 또는 진균 기원의 것을 포함한다. 화학적으로 변형되거나 또는 단백질 조작된 돌연변이체가 포함된다. 적당한 셀룰라제는 바실루스 속, 슈도모나스 속, 후미콜라 속, 푸사리움 속, 티에라비아 속, 아크레모니움 속 유래의 셀룰라제, 예컨대 US 제4,435,307호, US 제5,648,263호, US 제5,691,178호, US 제5,776,757호 및 WO 제89/09259호에 개시된 후미콜라 인솔렌스(*Humicola insolens*), 마이셀리오프토라 써모필라(*Myceliophthora thermophila*) 및 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)으로부터 생성된 진균 셀룰라제를 포함한다.

[0342] 특히 적당한 셀룰라제는 색상 케어 유익을 가지는 알칼리성 또는 중성 셀룰라제이다. 이러한 셀룰라제의 예는 유럽특허 0 495 257, 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397 및 WO 98/08940에 기재된 셀룰라제이다. 기타 다른 예로는 셀룰라제 변이체, 예를 들어 WO 제94/07998호, EP 제0,531,315호, US 제5,457,046호, US 제5,686,593호, US 제5,763,254호, WO 제95/24471호, WO 제98/12307호 및 WO 제99/001544호에 기술된 것이 있다.

[0343] 다른 셀룰라제는 WO 2002/099091의 서열번호 2의 1번 위치 내지 773번 위치의 아미노산 서열에 대해 적어도 97%의 동일성의 서열을 갖는 엔도-베타-1,4-글루카나제 효소 또는 WO 2001/062903의 서열번호 2의 40번 내지 559번 위치에 대해 적어도 60%의 동일성의 서열을 갖는 자일로글루카나제 효소인 패밀리 44 자일로글루카나제이다.

[0344] 시판되는 셀룰라제는 Celluzyme™, 그리고 Carezyme™(Novozymes A/S) Carezyme Premium™(Novozymes A/S), Celluclean™(Novozymes A/S), Celluclean Classic™(Novozymes A/S), Cellusoft™(Novozymes A/S), Whitezyme™(Novozymes A/S), Clazinase™, 그리고 Puradax HA™(Genencor International Inc.), 및 KAC-500(B)™(Kao Corporation)를 포함한다.

[0345] 프로테아제

[0346] 적합한 프로테아제는 임의의 유래일 수 있지만, 바람직하게는 박테리아 또는 진균 유래이고, 선택적으로 단백질 조작되거나 또는 화학적으로 변형된 돌연변이체의 형태일 수 있다. 프로테아제는 알칼리성 프로테아제, 예를 들어 세린 프로테아제 또는 메탈로프로테아제일 수 있다. 세린 프로테아제는, 예를 들어 S1 패밀리, 예를 들어, 트립신 또는 S8 패밀리, 예를 들어, 서브틸리신일 수 있다. 메탈로프로테아제는, 예를 들어, 써몰리신, 예를 들어, M4 패밀리 또는 다른 메탈로프로테아제로부터의 것, 예컨대, M5, M7 또는 M35 패밀리의 것일 수 있다.

[0347] 용어 "서브틸라제"란, 문헌[Siezen et al., *Protein Eng.* 4 (1991) 719-737] 및 문헌[Siezen et al., *Protein Sci.* 6 (1997) 501-523]에 의한 세린 프로테아제의 하위 그룹을 말한다. 세린 프로테아제는 기질과 공유 부가체를 형성하는, 활성 위치에 세린을 갖는 것을 특징으로 하는 프로테아제들의 하위 그룹이다. 서브틸라아제는 6가지의 하위 분류, 즉, 서브틸리신 패밀리, 서미타제 패밀리, 프로티나제 K 패밀리, 란티바이오틱 펩티다제 패밀리, 켁신 패밀리 및 파이로리신 패밀리로 세분될 수 있다.

[0348] 세제 용도에 적합한 프로테아제는 진균, 예컨대, 아스퍼질러스를 포함하는 다양한 유기체로부터 얻을 수 있지만, 세제 프로테아제는 일반적으로 박테리아 및 특히 바실루스로부터 얻어진다. 서브틸라제가 유래된 바실루스 종의 예는 바실루스 렌투스(*Bacillus lentus*), 바실루스 알칼로필루스(*Bacillus alkalophilus*), 바실루스 서브틸리스, 바실루스 아밀로리쿠엔파시엔스, 바실루스 리체니포르미스, 바실루스 푸미루스 및 바실루스 깁소니(Bacillus gibsonii)를 포함한다. 특정 서브틸리신은 서브틸리신 렌투스(*subtilisin lentus*), 서브틸리신 Novo, 서브틸리신 Carlsberg, 서브틸리신 BPN', 서브틸리신 309, 서브틸리신 147 및 서브틸리신 168 및, 예를 들어, 프로테아제 PD138(WO 93/18140에 기재됨)을 포함한다. 다른 유용한 프로테아제는, 예를 들어, WO 01/16285 및 WO 02/16547에 기재된 것이다.

[0349] 트립신-유사 프로테아제의 예는 WO 94/25583 및 WO 2005/040372에 기재된 후사리움 프로테아제, 및 WO 2005/052161 및 WO 2005/052146에 기재된 셀루모나스(*Cellumonas*)로부터 유래된 키모트립신 프로테아제를 포함한다.

[0350] 메탈로프로테아제의 예는 WO 2007/044993에 기재된 중성 메탈로프로테아제, 예컨대, 바실루스 아밀로리쿠엔파시엔스로부터 유래된 것뿐만 아니라, 예를 들어, WO 2015/158723 및 WO 2016/075078에 기재된 메탈로프로테아제를 포함한다.

[0351] 유용한 프로테아제의 예는 WO 89/06279 WO 92/19729, WO 96/34946, WO 98/20115, WO 98/20116, WO 99/11768, WO 01/44452, WO 03/006602, WO 2004/003186, WO 2004/041979, WO 2007/006305, WO 2011/036263, WO 2014/207227, WO 2016/087617 및 WO 2016/174234에 기재된 프로테아제 변이체이다. 바람직한 프로테아제 변이체는, 예를 들어, S3T, V4I, S9R, S9E, A15T, S24G, S24R, K27R, N42R, S55P, G59E, G59D, N60D, N60E, V66A, N74D, S85R, A96S, S97G, S97D, S97A, S97SD, S99E, S99D, S99G, S99M, S99N, S99R, S99H, S101A, V102I, V102Y, V102N, S104A, G116V, G116R, H118D, H118N, A120S, S126L, P127Q, S128A, S154D, A156E, G157D, G157P, S158E, Y161A, R164S, Q176E, N179E, S182E, Q185N, A188P, G189E, V193M, N198D, V199I, Q200L, Y203W, S206G, L211Q, L211D, N212D, N212S, M216S, A226V, K229L, Q230H, Q239R, N246K, S253D, N255W, N255D, N255E, L256E, L256D T268A 및 R269H로 구성된 군으로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있되, 위치 번호는 WO 2016/001449의 서열번호 1에 나타낸 바실루스 렌투스 프로테아제의 위치에 상응한다. 이들 돌연변이 중 하나 이상을 갖는 프로테아제 변이체는 바람직하게는 WO 2016/001449의 서열번호 1에 나타낸 바실루스 렌투스 프로테아제(서브틸리신 309로도 알려진 Savinase®)의 변이체 또는 WO 2016/001449의 서열번호 2에 나타낸 바실루스 아밀로리쿠엔파시엔스 프로테아제(BPN')의 변이체이다. 이러한 프로테아제 변이체는 바람직하게는 WO 2016/001449의 서열번호 1 또는 서열번호 2에 대해 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는다.

[0352] 관심 대상의 다른 프로테아제는, 예를 들어, WO 91/02792에 기재된 바와 같은 바실루스 렌투스 DSM 5483으로부터의 알칼리성 프로테아제, 및, 예를 들어, WO 92/21760, WO 95/23221, EP 1921147, EP 1921148 및 WO 2016/096711에 기재된 변이체이다.

[0353] 프로테아제는 대안적으로 WO 2004/067737의 서열번호 1을 갖는 TY145 프로테아제의 변이체, 예를 들어, WO 2004/067737의 서열번호 1의 27, 109, 111, 171, 173, 174, 175, 180, 182, 184, 198, 199 및 297번 위치에 상응하는 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 변이체일 수 있되, 상기 프로테아제 변이체는 WO 2004/067737의 서열번호 1에 대해 적어도 75%이지만 100% 미만인 서열 동일성을 갖는다. 관심 대상의 TY145 변이체는, 예를 들어, WO 2015/014790, WO 2015/014803, WO 2015/014804, WO 2016/097350, WO 2016/097352, WO 2016/097357 및 WO 2016/097354에 기재되어 있다.

[0354] 적합한 상업적으로 입수 가능한 프로테아제 효소는 상표명 Alcalase®, Duralase™, Durazym™, Relase®, Relase® Ultra, Savinase®, Savinase® Ultra, Primase™, Polarzyme®, Kannase®, Liquanase®, Liquanase® Ultra, Ovozyme®, Coronase®, Coronase® Ultra, Blaze®, Blaze Evity® 100T, Blaze Evity® 125T, Blaze Evity® 150T, Blaze Evity® 200T, Neutrase®, Everlase®, Esperase®, Progress® Uno, Progress® In, Progress® Key 및 Progress® Excel(Novozymes A/S) 하에 시판되는 것, 상표명 Maxatase™, Maxacal™, Maxapem®, Purafect® Ox, Purafect® OxP, Puramax®, FN2™, FN3™, FN4exTM, Excellase®, Excellenz™ P1000, Excellenz™ P1250, Eraser™, Preferenz® P100, Preferenz® P300, Purafect Prime, Preferenz P110™, Effectenz P1000™, Purafect®, Effectenz P1050™, Purafect® Ox, Effectenz™ P2000, Purafast™, Properase®, Opticlean™ 및 Optimase® (Danisco/DuPont), BLAP(미국 특허 제5352604호의 도 29에 나타낸 서

열) 하에 시판되는 것 및 이들의 변이체(Henkel AG), 및 Kao로부터의 KAP(바실루스 알칼로필루스(*Bacillus alkalophilus*) 서브틸리신)하에 시판되는 것을 포함한다.

[0355] 리파제 및 큐티나제

[0356] 적당한 리파제 및 큐티나제는 박테리아 또는 진균 기원의 것을 포함한다. 화학적으로 변형되거나 또는 단백질 조작된 돌연변이체 효소가 포함된다. 예로서는 써모마이세스(*Thermomyces*), 예를 들어 써모마이세스 라누기노서스(*T. lanuginosus*)(앞서 휴미콜라 라누기노사로서 명명됨)(EP258068 및 EP305216에 개시됨)로부터 유래하는 리파제, 휴미콜라, 예를 들어, 휴미콜라 인솔렌스로부터 유래된 큐티나제(WO96/13580), 슈도모나스 균주(이들 중 일부는 벌크홀데리아(*Burkholderia*)로서 새로 명명됨), 예를 들어, 슈도모나스 알칼리제네스(*P. alcaligenes*) 또는 슈도모나스 슈도알칼리제네스(*P. pseudoalcaligenes*)(EP218272), 슈도모나스 세파시아(*P. cepacia*)(EP331376), 슈도모나스 종(*P. sp.*) 균주 SD705(WO95/06720 및 WO96/27002), 슈도모나스 위스톤시넨시스(*P. wisconsinensis*)(WO96/12012)로부터 유래된 리파제, GDSL-유형 스트렙토마이세스 리파제(WO10/065455), 맥나포르테 그리세아(*Magnaporthe grisea*)로부터 유래된 큐티나제(WO10/107560), 슈도모나스 멘도시나(*Pseudomonas mendocina*)로부터 유래된 큐티나제(US5,389,536), 서모비피다 푸스카(*Thermobifida fusca*)로부터 유래된 리파제(WO11/084412), 게오바실루스 스테아로서모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*) 리파제(WO11/084417), 바실루스 서브틸리스로부터 유래된 리파제(WO11/084599), 스트렙토마이세스 그리세우스로부터 유래된 리파제(WO11/150157), 그리고 스트렙토마이세스 프리스티나에스피랄리스(*S. pristinaespiralis*)로부터 유래된 리파제(WO12/137147)를 포함한다.

[0357] 기타 예는 리파제 변이체, 예를 들어, EP407225, WO92/05249, WO94/01541, WO94/25578, WO95/14783, WO95/30744, WO95/35381, WO95/22615, WO96/00292, WO97/04079, WO97/07202, WO00/34450, WO00/60063, WO01/92502, WO07/87508 및 WO09/109500에 기술된 바와 같은 것이 있다.

[0358] 바람직한 상업적 리파제 제품은 Lipolase™, Lipex™; Lipolex™ 및 Lipoclean™ (Novozymes A/S제), Lumafast (본래 Genencor제) 및 Lipomax(본래 Gist-Brocades제)를 포함한다.

[0359] 또 다른 예는 종종 아실기 전이효소 또는 퍼하이드롤라제라고도 칭하여지는 리파제, 예를 들어, 칸디다 안타크티카(*Candida antarctica*) 리파제 A와의 상동성을 가지는 아실기 전이효소(WO 10/111143), 마이코박테리움 스메그마티스(*Mycobacterium smegmatis*)로부터 유래된 아실기 전이효소(WO 05/56782), CE7군으로부터 유래된 퍼하이드롤라제(WO 09/67279), 그리고 마이코박테리움 스메그마티스 퍼하이드롤라제의 변이체, 특히 Huntsman Textile Effects Pte Ltd로부터 시판중인 제품 Gentle Power Bleach에 사용되는 S54V 변이체(WO 10/100028)가 있다.

[0360] 아밀라제

[0361] 본 발명의 헥소사미니다제와 함께 사용될 수 있는 것으로 적당한 아밀라제는 알파-아밀라제 또는 글루코아밀라제일 수 있으며, 또한 박테리아나 진균 기원의 것일 수 있다. 화학적으로 변형되거나 또는 단백질 조작된 돌연변이체가 포함된다. 아밀라제로서는, 예를 들어, 바실루스, 예를 들어, 구체적 균주 바실루스 리케니포르미스로부터 제조되는 알파-아밀라제를 포함한다(이에 관하여는 GB 1,296,839에 더 상세히 기술됨).

[0362] 적당한 아밀라제는 WO 95/10603의 서열번호 2를 갖는 아밀라제 또는 서열번호 1에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 바람직한 변이체는 WO 94/02597, WO 94/18314, WO 97/43424 및 WO 99/019467의 서열번호 4에 기재되어 있으며, 예를 들어 다음 위치 중 하나 이상에 치환이 있는 변형체이다: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 178, 179, 181, 188, 190, 197, 201, 202, 207, 208, 209, 211, 243, 264, 304, 305, 391, 408 및 444.

[0363] 상이한 적합한 아밀라제는 WO 02/010355의 서열번호 6을 갖는 아밀라제 또는 서열번호 6에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 서열번호 6의 바람직한 변이체는 181 및 182번 위치에서 결실 및 193번 위치에서 치환을 갖는 것이다.

[0364] 적합한 다른 아밀라제는 WO 2006/066594의 서열번호 6에 나타낸 바실루스 아밀로리쿠엔파시엔스로부터 얻은 알파-아밀라제의 잔기 1 내지 33 및 WO 2006/066594의 서열번호 4에 나타낸 바실루스 리체니포르미스 알파-아밀라제의 잔기 36 내지 483을 포함하는 혼성 알파-아밀라제 또는 이의 90%의 서열 동일성을 갖는 변이체이다. 이 혼성 알파-아밀라제의 바람직한 변이체는 다음 위치 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것이다: G48, T49, G107, H156, A181, N190, M197, I201, A209 및 Q264. WO 2006/066594의 서열번호 6에 나타낸 바실루스 아

밀로리쿠엔파시엔스로부터 얻은 알파-아밀라제의 잔기 1 내지 33 및 서열번호 4의 잔기 36 내지 483을 포함하는 혼성 알파-아밀라제의 가장 바람직한 변이체는 하기 치환을 갖는 것이다: M197T;H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S; 또는 G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S.

[0365] 적합한 추가적인 아밀라제는 WO 99/019467의 서열번호 6을 갖는 아밀라제 또는 서열번호 6에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체이다. 서열번호 6의 바람직한 변이체는 다음의 위치: R181, G182, H183, G184, N195, I206, E212, E216 및 K269 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것이다. 특히 바람직한 아밀라제는 위치 R181 및 G182, 또는 위치 H183 및 G184에서 결실을 갖는 것이다.

[0366] 사용될 수 있는 추가적인 아밀라제는 WO 96/023873의 서열번호 1, 서열번호 3, 서열번호 2 또는 서열번호 7을 갖는 것들 또는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 7에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체이다. 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 7의 바람직한 변이체는 넘버링을 위해 WO 96/023873의 서열번호 2를 사용한, 다음의 위치 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것들이다: 140, 181, 182, 183, 184, 195, 206, 212, 243, 260, 269, 304 및 476. 가장 바람직한 변이체는 181, 182, 183 및 184, 예컨대, 181 및 182, 182 및 183으로부터 선택된 2개의 위치, 또는 183 및 184번 위치에서 결실을 갖는 것이다. 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 7의 가장 바람직한 아밀라제 변이체는 183 및 184번 위치에서 결실 및 140, 195, 206, 243, 260, 304 및 476번 위치 중 하나 이상에서 치환을 갖는 것이다.

[0367] 사용될 수 있는 다른 아밀라제는 WO 08/153815의 서열번호 2, WO 01/66712의 서열번호 10을 갖는 아밀라제 또는 WO 08/153815의 서열번호 2에 대해 90%의 서열 동일성 또는 WO 01/66712의 서열번호 10에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체이다. WO 01/66712에서 서열번호 10의 바람직한 변이체는 다음의 위치: 176, 177, 178, 179, 190, 201, 207, 211 및 264 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것이다.

[0368] 추가적인 적합한 아밀라제는 WO 09/061380의 서열번호 2를 갖는 아밀라제 또는 이의 서열번호 2에 대해 90%의 서열 동일성을 갖는 변이체이다. 서열번호 2의 바람직한 변이체는 C 말단의 절단 및/또는 다음 위치 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것이다: Q87, Q98, S125, N128, T131, T165, K178, R180, S181, T182, G183, M201, F202, N225, S243, N272, N282, Y305, R309, D319, Q320, Q359, K444 및 G475. 서열번호 2의 가장 바람직한 변이체는 다음의 위치: Q87E,R, Q98R, S125A, N128C, T131I, T165I, K178L, T182G, M201L, F202Y, N225E,R, N272E,R, S243Q,A,E,D, Y305R, R309A, Q320R, Q359E, K444E 및 G475K 중 하나 이상에서 치환 및/또는 위치 R180 및/또는 S181 또는 T182 및/또는 G183에서 결실을 갖는 것이다. 서열번호 2의 가장 바람직한 아밀라제 변이체는 다음과 같은 치환을 갖는 것이다:

[0369] N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;

[0370] N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;

[0371] S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K; 또는

[0372] S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K. 여기서, 변이체는 C 말단이 절단되었고, 선택적으로는 위치 243에 치환 및/또는 위치 180 및/또는 위치 181에 결실을 추가로 포함한다.

[0373] 다른 적합한 아밀라제는 WO01/66712의 서열번호 12를 갖는 알파-아밀라제 또는 서열번호 12에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 변이체이다. 바람직한 아밀라제 변이체는 WO01/66712에서 서열번호 12의 다음의 위치: R28, R118, N174; R181, G182, D183, G184, G186, W189, N195, M202, Y298, N299, K302, S303, N306, R310, N314; R320, H324, E345, Y396, R400, W439, R444, N445, K446, Q449, R458, N471, N484 중 하나 이상에서 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 것이다. 특히 바람직한 아밀라제는 D183 및 G184의 결실 및 R118K, N195F, R320K 및 R458K 치환을 갖는 변이체, 및 다음 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 치환을 추가로 갖는 변이체: M9, G149, G182, G186, M202, T257, Y295, N299, M323, E345 및 A339이고, 이들 위치 모두에 추가적으로 치환을 갖는 변이체가 가장 바람직하다.

[0374] 기타 예는 아밀라제 변이체, 예를 들어, WO 2011/098531, WO 2013/001078 및 WO 2013/001087에 기재된 것이다.

[0375] 상업적으로 입수 가능한 아밀라제는 Duramyl™, Termamyl™, Fungamyl™, Stainzyme ™, Stainzyme Plus™, Natalase™, Liquozyme X 및 BAN™(Novozymes A/S), 및 Rapidase™ , Purastar™/Effectenz™, Powerase 및 Preferenz S100(Genencor International Inc./DuPont)을 포함한다.

[0376] DN아제

[0377] 용어 "DN아제"는 DNA 골격에서 포스포디에스테르 결합의 가수분해 절단을 촉매하고, 그에 따라 DNA를 분해시키는 DN아제(데옥시리보뉴클레아제) 활성을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. DN아제 폴리펩티드는 텍스타일이나 식기 또는 기타 경질 표면과 같은 표면에 존재할 수 있는 미생물 생물막의 심층 세정에 유용한 것으로 밝혀졌으며, 이는 세포외 DNA, 단백질 및 다당류로 구성된 세포외 중합체 물질(EPS)의 기질로 구성된다.

[0378] DN아제 폴리펩티드는 일반적으로 미생물 효소이며, 바람직하게는 곰팡이 또는 박테리아 유래이거나 미생물 DN아제의 유전자 조작된 변이체이다.

[0379] 적합한 박테리아 DN아제는 예를 들어, 바실루스 종 및 관련 속(cf. 문헌[Patel and Gupta, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020; 70:406-438], 이전에 바실루스 속에 속하는 것으로 분류된 종에서 6개의 새로운 바실라세에(*Bacillaceae*) 속을 제안함), 예를 들어, 바실루스, 사이토바실루스, 메타바실루스, 알칼리할로바실루스, 로셀로모레아(*Rossellomorea*) 또는 메소바실루스에서 얻을 수 있다. DN아제를 얻을 수 있는 종의 예로는 바실루스 리케니포르미스, 바실루스 서브틸리스, 바실루스 호리코시이(*Bacillus horikoshii*), 사이토바실루스 호르네키에(*Cytobacillus horneckiae*), 메타바실루스 인디쿠스(*Metabacillus indicus*), 알칼리할로바실루스 알기콜라(*Alkalihalobacillus algicola*), 로셀로모레아 베트나멘시스(*Rossellomorea vietnamensis*), 알칼리할로바실루스 화진포엔시스(*Alkalihalobacillus hwajinpoensis*), 메타바실루스 인디쿠스, 메소바실루스 캄피살리스(*Mesobacillus campisalis*), 바실루스 이드리엔시스(*Bacillus idriensis*), 바실루스 알기콜라(*Bacillus algicola*), 바실루스 마리스플라비(*Bacillus marisflavi*) 및 바실루스 루시페렌시스(*Bacillus luciferensis*)가 있다. 바람직한 박테리아 DN아제는 메타바실루스 인디쿠스(이전에는 바실루스 씨비(Bacillus cibi)로 알려짐)에서 얻은 것들 및 이의 변이체를 포함한다.

[0380] DN아제는 진균류 종에서도 얻을 수 있다. 바람직한 진균류 DN아제의 예로는 아스페르길루스, 예를 들어 아스페르길루스 오리제(*Aspergillus oryzae*), 트리코더마, 예를 들어 트리코더마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 비브레싸(*Vibressa*), 예를 들어 비브레싸 플라보비렌스(*Vibressea flavovirens*), 모르첼라(*Morchella*), 예를 들어 모르첼라 코스타타(*Morchella costata*), 리족토니아(*Rhizoctonia*), 예를 들어 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*)에서 얻은 것들 및 이의 변이체가 있다. 바람직한 진균류 DN아제에는 아스페르길루스 오리제에서 얻은 것과 이의 변이체가 포함된다.

[0381] 세제 조성물에서 적합한 DN아제, DN아제 변이체 및 이의 용도는 예를 들어, WO 2014/087011, WO 2015/155350, WO 2015/155351, WO 2017/060475, WO 2017/060493, WO 2017/060505, WO 2017/064269, WO 2018/011277, WO 2018/177203, WO 2018/177936, WO 2018/177938, WO 2019/081724, WO 2019/081721, WO 2021/130167, WO 2022/194668 및 WO 2022/194673에 개시되어 있다.

[0382] 퍼옥시다제/옥시다제

[0383] 퍼옥시다제는 국제생화학 및 분자생물학 연맹(IUBMB)의 명명법 위원회(Nomenclature Committee)에 의해 제시된 효소 분류군 EC 1.11.1.7, 또는 이들로부터 얻은 임의의 단편으로서 퍼옥시다제 활성을 나타내는 단편으로 구성될 수 있다. 적합한 퍼옥시다제는 식물, 박테리아 또는 진균 기원의 것들을 포함한다. 화학적으로 변형되거나 또는 단백질 조작된 돌연변이체가 포함된다. 유용한 퍼옥시다제의 예들은, WO 93/24618, WO 95/10602 및 WO 98/15257에 기술된 바와 같이, 코프리놉시스(*Coprinopsis*), 예를 들어 씨.시네레아(*C.cinerea*)로부터 유래하는 퍼옥시다제(EP 179,486) 및 이의 변이체를 포함한다. 퍼옥시다제는 또한 할로퍼옥시다제 효소, 예컨대, 클로로퍼옥시다제, 브로모퍼옥시다제 및 클로로퍼옥시다제 또는 브로모퍼옥시다제 활성을 나타내는 화합물을 포함할 수 있다. 할로퍼옥시다제는 이의 할로겐화물 이온에 대한 특이성에 따라서 분류된다. 클로로퍼옥시다제(E.C. 1.11.1.10)는 염소 이온으로부터의 차아염소산염의 형성을 촉매한다. 일 양태에서, 할로퍼옥시다제는 클로로퍼옥시다제이다. 바람직하게 할로퍼옥시다제는 바나듐 할로퍼옥시다제, 즉 바나듐산염 함유 할로퍼옥시다제이다. 바람직한 방법에서, 바나듐산염 함유 할로퍼옥시다제는 염화물 이온의 공급원과 조합된다. 할로퍼옥시다제는 다수의 상이한 진균, 특히 유색 도열병균류(dematiaceous hyphomycetes) 진균군, 예를 들어, 칼다리오마이세스(*Caldariomyces*), 예를 들어, 칼다리오마이세스 푸마고(*C. fumago*), 알터나리아(*Alternaria*), 커뷸라리아(*Curvularia*), 예를 들어, 커뷸라리아 베루큘로사(*C. verruculosa*) 및 커뷸라리아 인아에큐알리스(*C. inaequalis*), 드레슐레라(*Drechslera*), 울로클라디움(*Ulocladium*) 및 보트리티스(*Botrytis*)로부터 단리되었다. 할로퍼옥시다제는 또한 박테리아, 예컨대, 슈도모나스, 예를 들어, 슈도모나스 파이로시니아(*P. pyrrocinia*) 및 스트렙토마이세스(*Streptomyces*), 예를 들어, 스트렙토마이세스 오레오파시엔스(*S. aureofaciens*)로부터 단리되었다. 바람직한 양태에서, 할로퍼옥시다제는 커뷸라리아 종(*Curvularia* sp.), 특히 커뷸라리아 베루큘로사(*Curvularia verruculosa*) 또는 커뷸라리아 인아에큐알리스, 예를 들어 씨.인아에큐알리스(*C. inaequalis*) CBS

102.42(WO 95/27046에 기술된 바와 같음); 또는 씨.베루큘로사(*C. verruculosa*) CBS 147.63 또는 씨.베루큘로사 CBS 444.70(WO 97/04102에 기술됨)로부터 유래할 수 있거나; 또는 드레슐레라 하틀레비이(*Drechslera hartlebii*)(WO 01/79459에 기술됨), 덴드리피엘라 살리나(*Dendryphiella salina*)(WO 01/79458에 기술됨), 파에오트리코코니스 크로탈라리에(*Phaeotrichoconis crotalaria*)(WO 01/79461에 기술됨) 또는 제니큘로스포리움 종(*Geniculosporium* sp.)(WO 01/79460에 기술됨)으로부터 유래할 수 있다.

[0384] 옥시다제는 효소 분류 EC 1.10.3.2에 포함되는 임의의 라카제 효소 또는 라카제 활성을 나타내는 라카제로부터 얻은 임의의 단편, 또는 유사한 활성을 나타내는 화합물, 예를 들어 카테콜 옥시다제(EC 1.10.3.1), o-아미노페놀 옥시다제(EC 1.10.3.4), 또는 빌리루빈 옥시다제(EC 1.3.3.5)를 포함한다.

[0385] 바람직한 라카제 효소는 미생물 유래의 효소이다. 효소는 식물, 박테리아 또는 진균(사상 진균 및 효모 포함)으로부터 얻을 수 있다.

[0386] 진균으로부터 유래된 적당한 예들은 바실루스, 뉴로스포라(*Neurospora*), 예를 들어, 뉴로스포라 크라싸(*N. crassa*), 포도스포라(*Podospora*), 보트리티스(*Botrytis*), 콜리비아(*Collybia*), 포메스(*Fomes*), 렌티누스(*Lentinus*), 플루로투스(*Pleurotus*), 트라메테스(*Trametes*), 예를 들어, 트라메테스 빌로사(*T. villosa*) 및 트라메테스 버시칼라(*T. versicolor*), 리족토니아(*Rhizoctonia*), 예를 들어, 리족토니아 솔라니(*R. solani*), 코프리놉시스(*Coprinopsis*), 예를 들어, 코프리놉시스 시네레아(*C. cinerea*), 코프리놉시스 코마투스(*C. comatus*), 코프리놉시스 프리에시이(*C. friesii*) 및 코프리놉시스 플리카틸리스(*C. plicatilis*), 프사티렐라(*Psathyrella*), 예를 들어, 프사티렐라 콘델레아나(*P. condelleana*), 파나에올루스(*Panaeolus*), 예를 들어, 파나에올루스 파필리오나세우스(*P. papilionaceus*), 마이셀리오프토라, 예를 들어, 마이셀리오프토라 서모필라(*M. thermophila*), 스키탈리듐(*Schytalidium*), 예를 들어, 스키탈리듐 서모필리움(*S. thermophilum*), 폴리포러스(*Polyporus*), 예를 들어, 폴리포러스 핀시투스(*P. pinsitus*), 플레비아(*Phlebia*), 예를 들어, 플레비아 라디아타(*P. radiata*)(WO 92/01046), 또는 코리올러스(*Coriolus*), 예를 들어, 코리올러스 허수투스(*C.hirsutus*)(JP 2238885) 균주로부터 유래할 수 있는 라카제를 포함한다.

[0387] 박테리아로부터 유래된 적당한 예는 바실루스 균주로부터 유래할 수 있는 라카제를 포함한다.

[0388] 코프리놉시스 또는 마이셀리오프토라로부터 얻은 라카제; 코프리놉시스 시네레아로부터 얻은 라카제(WO 97/08325에 개시됨); 또는 마이셀리오프토라 서모필라(WO 95/33836에 개시됨)로부터 얻은 라카제가 바람직하다.

[0389] 1개 이상의 효소를 포함하는 별도의 첨가제를 첨가하거나, 또는 이와 같은 효소들이 포함된 첨가제가 합하여진 것을 첨가함으로써 세제 효소(들)가 세제 조성물에 포함될 수 있다. 본 발명의 세제 첨가제, 즉 별도의 첨가제 또는 합하여진 첨가제는, 예를 들어 과립, 액체, 슬러리 등으로 제형될 수 있다. 바람직한 세제 첨가제 제형들로서는 과립, 비 비산 과립(non-dusting granulate), 액체, 안정화된 액체, 및 슬러리가 있다.

[0390] 예를 들어, 미국 특허 제4,106,991호 및 제4,661,452호에 개시된 바와 같이 비 비산 과립들이 제조될 수 있으며, 선택적으로는 당업계에 공지된 방법들에 의해 코팅될 수도 있다. 왁스질 코팅 물질의 예로는 평균 몰 중량이 1000 내지 20000인 폴리(에틸렌 옥사이드) 생성물(폴리에틸렌글리콜, PEG); 에틸렌 옥사이드 단위 16개 내지 50개를 가지는 에톡실화 노닐페놀; 에톡실화 지방 알코올(알코올은 12개 내지 20개의 탄소 원자를 함유하며, 에틸렌 옥사이드 단위는 15개 내지 80개 존재함); 지방 알코올; 지방산; 및 지방산의 모노-, 디- 및 트리글리세리드가 있다. 유동층 기술에 의해 적용하기에 적합한 필름 형성 코팅재의 예가 GB 1483591에 제공되어 있다. 액체 효소 제제들은 확립된 방법들에 따라서, 예를 들어 폴리올, 예를 들어 프로필렌글리콜, 당 또는 당 알코올, 젖산 또는 붕산이 첨가됨으로써 안정화될 수 있다. 보호된 효소는 EP 제238216호에 개시된 방법에 따라서 제조될 수 있다.

[0391]

[0392] 분산제

[0393] 본 발명의 세제 조성물은 또한 분산제도 포함할 수 있다. 분말형 세제는 분산제를 포함할 수 있다. 적당한 수용성 유기 물질로서는 동종 중합체 산 또는 공중합체 산 또는 이것들의 염을 포함하는데, 여기서 폴리카르복실산은 서로가 2개 이하의 탄소 원자들에 의해 떨어져 있는 카르복실 라디칼 2개 이상을 포함한다. 적당한 분산제로서는, 예를 들어 문헌[Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71, Marcel Dekker, Inc.]에 기술되어 있는 것들이 있다.

[0394] 이염 저해제

[0395] 본 발명의 세정 조성물은 또한 1가지 이상의 이염 저해제를 포함할 수 있다. 적합한 중합체 이염 저해제는 폴리비닐피롤리돈 중합체, 폴리아민 N-산화물 중합체, N-비닐피롤리돈과 N-비닐이미다졸의 공중합체, 폴리비닐옥사졸리돈 및 폴리비닐이미다졸, 또는 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이염 저해제가 대상 조성물 중에 존재할 때, 이 이염 저해제는 조성물 중량을 기준으로 약 0.0001% 내지 약 10%, 약 0.01% 내지 약 5%, 또는 심지어 약 0.1% 내지 약 3%의 수준으로 존재할 수 있다.

[0396] 형광 증백제

[0397] 세제 조성물들은 바람직하게 유색 물품을 세정할 수 있는 추가의 성분, 예를 들어, 형광 증백제 또는 형광 발광제도 포함할 수 있다. 발광제가 존재할 경우, 이 발광제는 바람직하게는 약 0.01% 내지 약 0.5%의 수준이다. 세탁용 세제 조성물에 사용하기 적당한 임의의 형광 증백제가 본 발명의 조성물에 사용될 수 있다. 가장 일반적으로 사용되는 형광 증백제는 디아미노스틸벤-설폰산 유도체, 디아릴피라졸린 유도체 및 비스페닐-디스티릴 유도체의 부류에 속하는 것이 있다. 형광 증백제의 디아미노스틸벤-설폰산 유도체류의 예는 다음과 같은 것의 나트륨 염을 포함한다: 4,4'-비스-(2-디에탄올아미노-4-아닐린-s-트리아진-6-일아미노) 스틸벤-2,2'-디설폰산염; 4,4'-비스-(2,4-디아닐리노-s-트리아진-6-일아미노) 스틸벤-2,2'-디설폰산염; 4,4'-비스-(2-아닐리노-4(N-메틸-N-2-하이드록시-에틸아미노)-s-트리아진-6-일아미노) 스틸벤-2,2'-디설폰산염; 4,4'-비스-(4-페닐-1,2,3-트리아졸-2-일) 스틸벤-2,2'-디설폰산염 및 나트륨 5-(2H-나프토[1,2-d][1,2,3]트리아졸-2-일)-2-[(E)-2-페닐비닐]벤젠설폰산염. 바람직한 형광 증백제는 스위스 바젤에 소재한 Ciba-Geigy AG로부터 입수 가능한 Tinopal DMS 및 Tinopal CBS이다. Tinopal DMS는 4,4'-비스-(2-모폴리노-4-아닐리노-s-트리아진-6-일아미노) 스틸벤-2,2'- 디설폰산염의 2나트륨 염이다. Tinopal CBS는 2,2'-비스-(페닐-스티릴) 디설폰산염의 2나트륨 염이다. 또한 인도 뭄바이에 소재한 Paramount Minerals and Chemicals에 의해 공급되는 상업적으로 입수 가능한 Parawhite KX와 같은 형광 증백제가 바람직하다. Tinopal CBS-X는 2나트륨 디스티릴비페닐 디설폰산염으로도 알려진 4.4'-비스-(설포스티릴)-비페닐 2나트륨이다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 다른 형광제는 1-3-디아릴피라졸린 및 7-알킬아미노쿠마린을 포함한다.

[0398] 적당한 형광 증백제 수준은 약 0.01 wt%, 약 0.05 wt%, 약 0.1 wt%, 또는 심지어 약 0.2 wt%의 하한 수준으로부터 0.5 wt% 또는 심지어 0.75 wt%까지를 상한 수준을 포함한다.

[0399] 방오 중합체

[0400] 세제 조성물은 또한 오염물이 패브릭, 예를 들어, 면 및 폴리에스테르 기반 패브릭으로부터 제거되는 것, 폴리에스테르 기반 패브릭으로부터 소수성 오염물이 제거되는 것을 돕는 1종 이상의 방오 중합체를 포함할 수도 있다. 방오 중합체는, 예를 들어, 비이온성 또는 음이온성 테레프탈산염 기반 중합체, 폴리비닐 카프로락탐 및 관련 공중합체, 비닐 그래프트 공중합체, 폴리에스테르 폴리아미드일 수 있다(예를 들어, 문헌[Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71의 Chapter 7, Marcel Dekker, Inc] 참조). 방오 중합체의 다른 유형으로서는, 코어 구조와, 이 코어 구조에 결합되어 있는 복수의 알콕실레이트를 포함하는 양친매성 알콕시화 기름때 세정 중합체가 있다. 코어 구조는 WO 2009/087523(본 명세서에 참조로 포함되어 있음)에 상세히 기술된 바와 같은 폴리알킬렌이민 구조 또는 폴리알칸올아민 구조를 포함할 수 있다. 더 나아가, 랜덤 그래프트 공중합체도 적합한 방오 중합체이다. 적합한 그래프트 공중합체는 WO 2007/138054, WO 2006/108856 및 WO 2006/113314(본원에 참조로 포함되어 있음)에 더 상세하게 기술되어 있다. 기타 다른 방오 중합체로서는 치환된 다당체 구조, 특히 치환된 셀룰로스 구조, 예를 들어 변형된 셀룰로스 유도체, 예를 들어 EP 제1867808호 또는 WO 제2003/040279호(이 문헌들은 둘 다 본원에 참조로 포함됨)에 기술된 것들이 있다. 적당한 셀룰로스 중합체로서는 셀룰로스, 셀룰로스 에테르, 셀룰로스 에스테르, 셀룰로스 아미드 및 이들의 조합을 포함한다. 적당한 셀룰로스 중합체로서는 음이온 변형된 셀룰로스, 비이온 변형된 셀룰로스, 양이온 변형된 셀룰로스, 양쪽성 이온 변형된 셀룰로스 및 이들의 조합을 포함한다. 적당한 셀룰로스 중합체로서는 메틸 셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록실에틸 셀룰로스, 하이드록실프로필메틸 셀룰로스, 에스테르카르복시메틸 셀룰로스 및 이들의 조합을 포함한다.

[0401] 재침착 방지제

[0402] 본 발명의 세제 조성물은 또한 1종 이상의 재침착 방지제, 예를 들어, 카르복시메틸셀룰로스(CMC), 폴리비닐알코올(PVA), 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리옥시에틸렌 및/또는 폴리에틸렌글리콜(PEG), 아크릴산들의 동종 중합체들, 아크릴산과 말레산의 공중합체, 그리고 에톡시화 폴리에틸렌이민을 포함할 수도 있다. 상기 방오 중합체라는 표제하에 기술된 셀룰로스 기반 중합체는 또한 재침착 방지제로서의 기능도 가질 수 있다.

[0403] 유동성 개질제

[0404] 본 발명의 세제 조성물은 또한 점성도 감소제와는 다른 1종 이상의 유동성 개질제, 구조화제 또는 증점제를 포함할 수 있다. 유동성 개질제는 비중합체 결정성 하이드록시 기능성 물질, 즉 액체 세제 조성물의 수성 액체 매트릭스에 전단 박하(shear thinning) 특징을 부여하는 중합체 유동성 개질제로 구성된 군으로부터 선택된다. 세제의 유동성 및 점도는, 예를 들어 EP 2169040에 나타낸 바와 같이, 당업계에 공지된 방법에 의해 개질 및 조절될 수 있다.

[0405] **기타 적당한 부가 물질**로서는 액상 세제 및/또는 구조 탄성화 제제용 수축방지제, 주름 방지제, 살균제, 결합제, 담체, 염료, 효소 안정제, 패브릭 유연제, 충전제, 거품 조절제, 향수성 물질, 방향제, 안료, 비누거품 저해제, 용제 및 계면활성제를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0406] 기타 물질

[0407] 본 발명의 세정 조성물에 사용하기 위한 것으로 당업계에 알려진 임의의 세제 성분들도 사용될 수 있다. 기타 선택적 세제 성분으로서는 방식제, 항수축제, 오염물 재오염 방지 제제, 주름 방지제, 살균제, 결합제, 부식 억제제, 붕해제/붕해 제제, 염료, 효소 안정화제(붕산, 붕산염, CMC 및/또는 폴리올, 예를 들어 프로필렌글리콜 포함), 패브릭 컨디셔너, 예를 들어 점토, 충전제/가공 보조제, 형광 증백제/형광 발광제, 거품 촉진제, 거품(비누거품) 조절제, 방향제, 오염물 현탁제, 유연제, 비누거품 억제제, 황갈변 억제제 및 흡상제(wicking agent) 각각 또는 이들의 조합을 포함한다. 세제에 사용하기 위한 당업계에 공지되어 있는 임의의 성분이 사용될 수 있다. 이와 같은 성분의 선택은 당업자의 숙련된 기술 내에 충분히 포함된다.

[0408] **세제 제품의 제형**

[0409] 세제 조성물은 임의의 편리한 형태, 예를 들어 바, 균질 정제, 2개 이상의 층을 가지는 정제, 표준 분말 또는 압축 분말, 과립, 페이스트, 젤, 그리고 표준, 압축 또는 농축 액체의 형태를 가질 수 있다. 기타 세제 제형에는 층상형이나 파우치형과 같은 단일 단위 용량 형태가 있다.

[0410] 파우치들은 단일 구획 또는 다수 구획으로서 구성될 수 있다. 파우치는, 예를 들어 물과 접촉되기 전 파우치로부터 조성물이 방출되지 않도록 조성물을 수용하기 적당한 물질로 이루어질 수 있으며, 이에 적당한 임의의 형태 및 모양을 가질 수 있다. 파우치는 구획으로 나눌 수 있는 내부 용적을 둘러싸는 수용성 필름으로 제조된다. 바람직한 필름은 중합체 물질, 바람직하게는 필름이나 시트로 성형되는 중합체이다. 바람직한 중합체, 공중합체 또는 이것들의 유도체들은 폴리아크릴산염, 수용성 아크릴산염 공중합체, 메틸 셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스, 나트륨 덱스트린, 에틸 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스, 말토덱스트린, 폴리메타크릴산염, 가장 바람직하게는 폴리비닐알코올 공중합체, 그리고 하이드록시프로필메틸 셀룰로스(HPMC)로부터 선택된다. 바람직하게는 필름에서 중합체의 수준은 적어도 약 60%이다. 바람직한 평균 분자량은 전형적으로 약 20,000 내지 약 150,000일 것이다. 필름은 또한 가수 분해에 의해 분해될 수 있고 수용성인 중합체 배합물, 예를 들어 폴리락티드 및 폴리비닐알코올과, 가소제, 예를 들어 글리세롤, 에틸렌글리세롤, 프로필렌글리콜, 솔비톨 및 이들의 혼합물을 포함하는 배합 조성물일 수도 있다. 파우치들은, 고체인 세탁용 세정 조성물 또는 이의 일부 성분, 및/또는 액체인 세정 조성물 또는 이의 일부 성분을 수용성 필름에 의해 격리한 채로 포함할 수 있다. 액체인 성분들에 대한 구획은 조성면에서 고체들을 담고있는 구획들과 상이할 수 있다(예를 들어 미국 특허 제2009/0011970 A1호 참조).

[0411] 세제 성분은 물에 용해될 수 있는 파우치 또는 상이한 층의 정제로 구획에 의해 물리적으로 서로 분리될 수 있어서, 성분들 사이의 부정적인 보관 상호 작용을 피할 수 있다. 구획 각각의 상이한 용해 프로필은 또한 세척 용액 중 선택된 성분의 용해 지연을 유발할 수도 있다.

[0412] 단위 용량화되지 않는 액체 또는 젤 세제는, 전형적으로 20 중량% 이상 내지 95 중량% 이하의 물, 예를 들어, 약 70 중량% 이하의 물, 약 65 중량% 이하의 물, 약 55 중량% 이하의 물, 약 45 중량% 이하의 물, 또는 약 35 중량% 이하의 물을 포함하여 수성일 수 있다. 농축된 액체 세제는 수분 함량이 더 낮을 수 있으며, 예를 들어 약 30% 이하이거나 약 20% 이하, 예를 들어 약 1% 내지 약 20%, 예를 들어 약 2% 내지 약 15%의 범위일 수 있다. 이하로 제한되는 것은 아니지만, 알칸올, 아민, 디올, 에테르 및 폴리올을 포함하는 다른 유형의 액체가 수성 액체 또는 젤 중에 포함될 수 있다. 수성 액체 또는 젤 세제는 0% 내지 30%의 유기 용매를 포함할 수 있다. 액체 또는 젤 세제는 대안적으로 비수성일 수 있다.

[0413] 액체 세제 조성물은 예를 들어 약 6 내지 약 10, 예를 들어 약 pH 7, 약 pH 8 또는 약 pH 9의 적당한 pH를 갖도

록 제형화될 수 있거나, 예를 들어 약 10 내지 약 12, 예를 들어 약 pH 10, 약 pH 11 또는 약 pH 12의 더 높은 pH를 갖도록 제형화될 수 있다.

[0414] 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "액체"는 농축 액체, 젤 또는 예를 들어 하나 이상의 구획이 있는 파우치의 액체 또는 젤 부분과 같은 임의의 종류의 액체 세제 조성물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0415] 과립 세제 제형

[0416] 효소를 함유하는 코어와 선택적으로 하나 이상의 코팅을 포함하는 과립 형태의 효소는 일반적으로 과립(분말) 세제에 사용된다. 코어를 제조하는 다양한 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 a) 액체 효소 함유 용액의 분무 건조, b) 예를 들어, 유동층 장치를 사용하여 미리 형성된 불활성 코어 입자 주위에 층으로 효소가 코팅된 층상 제품 생산, c) 미리 형성된 코어의 표면 위 및/또는 표면으로 효소 흡수, d) 효소 함유 페이스트의 압출, e) 용융 왁스에 효소 함유 분말을 현탁하고 분무하여 프릴 제품을 생성, f) 과립화 성분의 건조 분말 조성물에 효소 함유 액체를 첨가하여 믹서 과립화, g) 더 큰 입자, 펠릿 등을 분쇄 또는 파쇄하여 효소 함유 코어의 크기를 감소, h) 유동층 과립화 등이 있다. 효소 함유 코어는 예를 들어 유동층 건조기 또는 사료 또는 효소 산업에서 과립을 건조하는 다른 공지된 방법을 사용하여 건조하여 일반적으로 0.1 내지 10% w/w 수분의 수분 함량을 얻을 수 있다.

[0417] 효소를 함유하는 코어는 선택적으로 보관 안정성을 개선하고/하거나 먼지 형성을 줄이기 위해 코팅이 제공된다. 세제용 효소 과립에 종종 사용되는 한 가지 유형의 코팅은 염 코팅, 일반적으로 무기염 코팅이며, 이는 예를 들어 유동층을 사용하여 염 용액으로 적용될 수 있다. 사용될 수 있는 다른 코팅 재료는 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 메틸 하이드록시프로필 셀룰로스(MHPC) 및 폴리비닐 알코올(PVA)이다. 과립은 두 개 이상의 코팅을 포함할 수 있는데, 예를 들어 염 코팅에 이어서 PEG, MHPC 또는 PVA와 같은 재료의 추가 코팅이 뒤따른다.

[0418] 효소 과립 및 이의 생산에 대한 추가 정보는 WO 2013/007594 및 예를 들어 WO 2009/092699, EP 1705241, EP 1382668, WO 2007/001262, US 6,472,364, WO 2004/074419 및 WO 2009/102854를 참조한다.

[0419] 공동 과립에서의 효소 형성

[0420] 헥소사미니다제는 과립으로서, 예를 들어, 1종 이상의 효소를 조합하는 공동 과립으로서 제형화될 수 있다. 이어서, 각 효소는 더 많은 과립에 존재하여, 세제에서 효소의 더 균일한 분포를 보장할 것이다. 이는 또한 상이한 입자 크기로 인해 상이한 효소의 물리적 분리를 감소시킨다. 세제 산업에 대해 다중-효소 공동 과립을 생성하는 방법은 IP.com 공보 IPCOM000200739D에 개시되어 있다.

[0421] 공동 과립을 사용한 효소의 제형의 다른 예는 WO 2013/188331에 개시되어 있는데, 이는 세제 조성물에 관한 것으로, (a) 다중-효소 공동 과립; (b) 10 wt 미만의 제올라이트(무수물 기준); 및 (c) 10 wt 미만의 인산염(무수물 기준)을 포함하며, 상기 효소 공동 과립은 10 내지 98 wt%의 수분 싱크 성분(moisture sink component)을 포함하고, 조성물은 추가로 20 내지 80 wt% 세제 수분 싱크 성분을 포함한다.

[0422] WO 2013/188331은 또한 (i) 본원에서 특허청구되고 기재된 수성 세척액으로서 세제 조성물과 표면을 접촉시키는 단계, (ii) 표면을 헹굼 및/또는 건조시키는 단계를 포함하는 표면, 바람직하게는 패브릭 표면을 처리 및/또는 세정하는 방법에 관한 것이다.

[0423] 액체 제형

[0424] 본 발명은 또한 본 발명의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 액체 조성물에 관한 것이다. 조성물은 효소 안정화제(이의 예는 폴리올, 예를 들어 프로필렌 글리콜 또는 글리세롤, 당 또는 당 알코올, 락트산, 가역적 프로테아제 억제제, 붕산 또는 붕산 유도체, 예를 들어 방향족 붕산염 에스테르, 또는 4-포르밀페닐 보론산과 같은 페닐 보론산 유도체를 포함함)를 포함할 수 있다.

[0425] 일부 구현예에서, 이러한 조성물의 부피를 증가시키기 위해 충전제 또는 담체 물질이 포함된다. 적합한 충전제 또는 담체 물질은 황산염, 탄산염 및 규산염의 다양한 염뿐만 아니라 활석, 점토 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 액체 조성물에 적합한 충전제 또는 담체 물질은 물 또는 폴리올 및 디올을 포함하는 저분자량 1차 및 2차 알코올을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 이러한 알코올의 예는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 및 이소프로판올을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 조성물은 약 5% 내지 약 90%의 이러한 물질을 함유한다.

[0426] 일 양태에서, 액체 제형은 20% 내지 80% w/w의 폴리올을 포함한다. 일 구현예에서, 액체 제형은 0.001% 내지 2%

w/w의 보존제를 포함한다.

[0427] 다른 구현예에서, 본 발명은 다음을 포함하는 액체 제형에 관한 것이다:

[0428] (A) 0.001% 내지 25% w/w의 본 발명의 변이체;

[0429] (B) 20% 내지 80% w/w의 폴리올;

[0430] (C) 선택적으로 0.001% 내지 2% w/w의 보존제; 및

[0431] (D) 물.

[0432] 다른 구현예에서, 본 발명은 다음을 포함하는 액체 제형에 관한 것이다:

[0433] (A) 0.001% 내지 25% w/w의 본 발명의 변이체;

[0434] (B) 0.001% 내지 2% w/w의 보존제;

[0435] (C) 선택적으로 20% 내지 80% w/w의 폴리올; 및

[0436] (D) 물.

[0437] 다른 구현예에서, 액체 제형은 폴리올, 염화나트륨, 벤조산나트륨, 소르브산칼륨, 황산나트륨, 황산칼륨, 황산마그네슘, 티오황산나트륨, 탄산칼슘, 시트르산나트륨, 덱스트린, 글루코스, 수크로스, 소르비톨, 락토스, 전분, PVA, 아세테이트, 및 포스페이트로 구성된 군으로부터 선택된, 바람직하게는 황산나트륨, 덱스트린, 셀룰로스, 티오황산나트륨, 카올린, 및 탄산칼슘으로부터 선택된 제형화제와 같은 하나 이상의 제형화제를 포함한다. 일 구현예에서, 폴리올은 글리세롤, 소르비톨, 프로필렌 글리콜(MPG), 에틸렌 글리콜, 디에틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 1,2-프로필렌 글리콜 또는 1,3-프로필렌 글리콜, 디프로필렌 글리콜, 약 600 미만의 평균 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및 약 600 미만의 평균 분자량을 갖는 폴리프로필렌 글리콜(PPG)로 구성된 군으로부터 선택되고, 더 바람직하게는 글리세롤, 소르비톨, 및 프로필렌 글리콜(MPG), 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0438] 다른 구현예에서, 액체 제형은 20%~80%의 폴리올(즉, 폴리올의 총량), 예를 들어 25%~75%의 폴리올, 30%~70%의 폴리올, 35%~65%의 폴리올, 또는 40%~60%의 폴리올을 포함한다. 일 구현예에서, 액체 제형은 20%~80%의 폴리올, 예를 들어 25%~75%의 폴리올, 30%~70%의 폴리올, 35%~65%의 폴리올, 또는 40%~60%의 폴리올을 포함하고, 폴리올은 글리세롤, 소르비톨, 프로필렌 글리콜(MPG), 에틸렌 글리콜, 디에틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 1,2-프로필렌 글리콜 또는 1,3-프로필렌 글리콜, 디프로필렌 글리콜, 약 600 미만의 평균 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및 약 600 미만의 평균 분자량을 갖는 폴리프로필렌 글리콜(PPG)로 구성된 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 액체 제형은 20%~80%의 폴리올(즉, 폴리올의 총량), 예를 들어 25%~75%의 폴리올, 30%~70%의 폴리올, 35%~65%의 폴리올, 또는 40%~60%의 폴리올을 포함하고, 폴리올은 글리세롤, 소르비톨, 및 프로필렌 글리콜(MPG)로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0439] 다른 구현예에서, 보존제는 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산나트륨, 및 벤조산칼륨, 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 액체 제형은 0.02% 내지 1.5% w/w의 보존제, 예를 들어 0.05% 내지 1% w/w의 보존제, 또는 0.1% 내지 0.5% w/w의 보존제를 포함한다. 일 구현예에서, 액체 제형은 0.001% 내지 2% w/w의 보존제(즉, 보존제의 총량), 예를 들어 0.02% 내지 1.5% w/w의 보존제, 0.05% 내지 1% w/w의 보존제, 또는 0.1% 내지 0.5% w/w의 보존제를 포함하고, 보존제는 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산나트륨, 및 벤조산칼륨, 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0440] 다른 구현예에서, 액체 제형은 하나 이상의 추가 효소, 예를 들어 위에 기재된 바와 같은 효소를 추가로 포함한다.

[0441] **헥소사미니다제 변이체의 용도**

[0442] 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 세탁 또는 경질 표면 세정, 특히 세탁과 같은 세정 공정에 사용하기에 적합하다. 따라서, 본 발명의 일 양태는 물품을 세탁하는 방법과 관련되며, 여기서 물품은 텍스타일이고, 방법은 다음을 포함한다:

[0443] a) 물품을 본 발명의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세척액에 노출시키는 단계;

[0444] b) 적어도 1회의 세척 사이클을 완료하는 단계; 및 선택적으로

[0445] c) 물품을 헹구는 단계.

[0446] 액체 세척액 용액의 pH는 일반적으로 약 5.5~약 10의 범위이고, 보다 일반적으로는 약 7~약 9의 범위, 예를 들어 약 7~약 8.5 또는 약 7~약 8의 범위이다.

[0447] 세척액은 5℃ 내지 95℃의 범위, 또는 10℃ 내지 80℃의 범위, 10℃ 내지 70℃의 범위, 10℃ 내지 60℃의 범위, 10℃ 내지 50℃의 범위, 15℃ 내지 40℃의 범위 또는 20℃ 내지 30℃의 범위의 온도를 가질 수 있다.

[0448] 세척액에서 헥소사미니다제 변이체 효소의 농도는 일반적으로 0.0001 mg/l~10 mg/l의 효소 단백질, 0.0002 mg/l~10 mg/l, 0.001 mg/l~10 mg/l, 0.002 mg/l~10 mg/l, 0.01 mg/l~10 mg/l, 0.02 mg/l~10 mg/l, 0.1 mg/l~10 mg/l, 0.2 mg/l~10 mg/l, 또는 0.2 mg/l~5 mg/l의 범위에 있다.

[0449] 일 구현예에서, 헥소사미니다제 변이체 또는 이 변이체를 포함하는 세제 조성물은 경질 표면의 세정에 사용될 수 있으며, 여기서 경질 표면은 예를 들어 식기, 탁상, 벽 또는 바닥과 같은 표면, 또는 세탁기나 식기세척기와 같은 기계의 내부 표면일 수 있다.

[0450] 티셔츠나 운동복과 같은 물품을 사용할 때, 이는 사용자의 신체와 이들이 사용되는 나머지 환경으로부터 박테리아에 노출된다. 이는 물품을 세척한 후에도 물품에 악취를 유발할 수 있다. 따라서 본 발명은 또한 텍스타일의 악취를 제거하거나 감소시키는 방법에 관한 것이다. 악취는 불쾌한 냄새가 나는 화합물을 생성하는 박테리아에 의해 발생할 수 있다. 이러한 불쾌한 냄새가 나는 화합물의 한 예는 E-2-노네날이다. 악취는 아직 젖은 새로 세탁한 텍스타일에 존재할 수 있거나, 악취는 이후 건조된 새로 세탁한 텍스타일에 존재할 수 있다. 악취는 또한 세탁 후 얼마 동안 보관된 텍스타일에 존재할 수 있다. 따라서 본 발명은 또한 젖거나 건조한 텍스타일에서 E-2-노네날과 같은 악취를 감소 또는 제거하기 위한 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 용도에 관한 것이다.

[0451] 일 구현예에서, 본 발명의 헥소사미니다제 변이체는 모체 또는 서열번호 1과 같은 참조 헥소사미니다제와 비교하여 개선된 악취 제거 특성을 가지며, 여기서 악취는 WO 2017/186943의 실시예 9에 기재된 바와 같이 측정된다.

[0452] 본 발명은 다음 번호의 단락에 의해 추가로 정의된다:

[0453] 1. 서열번호 1의 헥소사미니다제 폴리펩티드의 변이체로서, 이 변이체는 서열번호 1과 비교하여

[0454] 서열번호 1의 위치 163, 227, 252 및 309에 상응하는 하나 이상의 위치, 바람직하게는 2개, 3개 또는 4개 위치에서의 치환; 및

[0455] 서열번호 1의 위치 106, 111, 120, 124, 127, 150, 170, 171, 178, 199, 208, 254, 255 및 278에 상응하는 하나 이상의 위치에서의 치환을 포함하고,

[0456] 여기서 변이체는 헥소사미니다제 활성을 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드와 적어도 60%, 예를 들어, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 변이체.

[0457] 2. 단락 1에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여, S163P, N227T, N252P 및 K309E로 구성된 군으로부터 선택된 2, 3 또는 4개의 치환을 포함하고;

[0458] V106M, V106N, D111R, T120V, Y124I, Y124K, Y124L, R127P, E150N, L170G, D171F, D171H, Q178K, S199W, S208W, F254I, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 추가로 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0459] 3. 단락 1 또는 2에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 추가로 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0460] 4. 단락 3에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 Q3I, A49W 및 N59E로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2 또는 3개 전부; 또는 Q3F, V140I, Q215K 및 N267T로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환, 바람직하게는 상기 치환 중 2, 3 또는 4개 전부를 추가로 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0461] 5. 단락 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 치환 S163P, N227T, N252P 및 K309E; 및 H15Y, S186R, S225G, E232D, G235W, N260Q, H272V, S279D, Y281P, K308Q 및 K312Q로 구성된 군으로

부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 전부를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0462] 6. 단락 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, Y124I/K/L, R127P, E150N, L170G, D171F/H, Q178K, S199W, S208W, T255D, N267T, I278V 및 K308E로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개를 포함하고; 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0463] 7. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, E150N, L170G, D171F, Q178K, S199W, S208W, T255D 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개를 포함하고; 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0464] 8. 단락 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 V106M/N, D111R, T120V, E150N, D171F 및 I278V로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환, 예를 들어, 상기 치환 중 적어도 2개를 포함하고; 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0465] 9. 단락 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 D111R, T120V 및 E150N으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개의 치환을 포함하고; 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0466] 10. 단락 9에 있어서, 변이체는 치환 D111R+T120V, D111R+E150N 또는 T120V+E150N, 또는 3개의 모든 치환 D111R+T120V+E150N을 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0467] 11. 단락 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 2와 비교하여 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

[0468] * D111R

[0469] * D111R+T120V

[0470] * D111R+T120V+E150N

[0471] * D111R+T120V+E150N+D171F+I278V

[0472] * D111R+T120V+T255D

[0473] * D111R+T120V+Y124I

[0474] * D111R+T120V+Y124K+Q178K

[0475] * D111R+T120V+Y124L+Q178K

[0476] * D111R+Y124K+D171FD171F+S208W+N267T

[0477] * D171F+T255D

[0478] * D171H

[0479] * I278V

[0480] * K308E

[0481] * N267T

[0482] * R127P

[0483] * T120V+D171F

[0484] * T120V+D171F+N267T

[0485] * T120V+S208W+N267T

[0486] * T120V+T255D

[0487] * T120V+T255D+N267T

[0488] * T120V+Y124K+Q178K

[0489] * V106M+D111R+T120V+D171F

[0490] * V106M+Q178K+T255D

[0491] * V106M+T120V+D171F+Q178K

[0492] * V106M+T120V+Y124I+D171F

[0493] * V106M+T120V+Y124I+Q178K

[0494] * V106M+T120V+Y124K+D171F

[0495] * V106M+T120V+Y124L+Q178K

[0496] * V106N+D111R+T120V+E150N

[0497] * V106N+S208W+N267T

[0498] * V106N+T120V+D171F

[0499] * V106N+T120V+D171F+S208W

[0500] * V106N+T120V+E150N+D171F+I278V

[0501] * V106N+T120V+N267T

[0502] 12. 단락 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 3과 비교하여 다음 치환 또는 치환 세트 중 적어도 1개를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

[0503] * L170G

[0504] * E150N+F254I

[0505] * F254I

[0506] * V106N

[0507] * D111R+T120V

[0508] * D111R+T120V+E150N

[0509] * D111R+T120V+E150N+D171F+I278V

[0510] * D111R+T120V+T255D

[0511] * D111R+T120V+Y124I

[0512] * D111R+T120V+Y124K+Q178K

[0513] * D111R+T120V+Y124L+Q178K

[0514] * D111R+Y124K+D171F

[0515] * D171F+S208W+N267T

[0516] * D171F+T255D

[0517] * D171H

[0518] * I278V

[0519] * K308E

[0520] * N267T

[0521] * R127P

[0522] * T120V+D171F

[0523] * T120V+D171F+N267T

[0524] * T120V+S208W+N267T

[0525] * T120V+T255D

[0526] * T120V+T255D+N267T

[0527] * T120V+Y124K+Q178K

[0528] * V106M+D111R+T120V+D171F

[0529] * V106M+Q178K+T255D

[0530] * V106M+T120V+D171F+Q178K

[0531] * V106M+T120V+Y124I+D171F

[0532] * V106M+T120V+Y124I+Q178K

[0533] * V106M+T120V+Y124K+D171F

[0534] * V106M+T120V+Y124L+Q178K

[0535] * V106N+D111R+T120V+E150N

[0536] * V106N+S208W+N267T

[0537] * V106N+T120V+D171F

[0538] * V106N+T120V+D171F+S208W

[0539] * V106N+T120V+E150N+D171F+I278V

[0540] * V106N+T120V+N267T

[0541] 13. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 다음 치환 세트 중 하나를 포함하는 것인, 헥소사미니다제 변이체:

[0542] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0543] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0544] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0545] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0546] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124I+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0547] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0548] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0549] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+D111R+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0550] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0551] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0552] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+D171H+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0553] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0554] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308E+K309E+K312Q

[0555] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0556] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+R127P+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0557] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0558] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0559] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0560] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0561] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0562] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+T120V+Y124K+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0563] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+D111R+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0564] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+T255D+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0565] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+S163P+D171F+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0566] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0567] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124I+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0568] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124K+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0569] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106M+T120V+Y124L+S163P+Q178K+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0570] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+D111R+T120V+E150N+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0571] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+S163P+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0572] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0573] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+D171F+S186R+S208W+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0574] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+E150N+S163P+D171F+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0575] * Q3I+H15Y+A49W+N59E+V106N+T120V+S163P+S186R+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0576] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0577] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0578] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+F254I+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0579] * Q3F+H15Y+V106N+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0580] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0581] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0582] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0583] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0584] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+ K309E+K312Q

[0585] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0586] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0587] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0588] * Q3F+H15Y+D111R+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0589] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0590] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0591] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0592] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0593] * Q3F+H15Y+V140I+E150N+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0594] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0595] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0596] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0597] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0598] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+L170G+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+ K312Q

[0599] * Q3F+H15Y+V140I+S163P+S186R+S199W+Q215K+S225G+N227T+E232D+G235W+N252P+N260Q+N267T+H272V+I278V+S279D+Y281P+K308Q+K309E+K312Q

[0600] 14. 단락 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 2 또는 서열번호 3과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성, 그러나 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0601] 15. 단락 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 변이체는 서열번호 1, 서열번호 2 또는 서열번호 3의 폴리펩티드, 또는 상기 치환이 없는 변이체와 동일한 아미노산 서열을 갖는 모 폴리펩티드와 비교하여 개선된 안정성을 갖는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0602] 16. 단락 15에 있어서, 개선된 안정성은 세제 안정성 및 열 안정성으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 헥소사미니다제 변이체.

[0603] 17. 단락 1 내지 16 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체 및 적어도 하나의 세제 보조 성분을 포함하는 세제 조성물.

[0604] 18. 단락 1 내지 16 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체 또는 단락 17의 세제 조성물의, 세정 공정, 예컨대, 세탁 또는 경질 표면 세정, 예컨대, 식기세척에서의 용도.

[0605] 19. 물품의 세정 방법으로서, 단락 1 내지 16 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세척액 또는 단락 17의 세제 조성물에 물품을 노출시키는 단계를 포함하는 방법.

[0606] 20. 단락 19에 있어서, 물품은 텍스타일 또는 경질 표면, 예를 들어, 식기 또는 탁상, 벽 또는 바닥과 같은 표면 또는 세탁기나 식기세척기와 같은 기계의 내부 표면인, 방법.

[0607] 21. 텍스타일을 세탁하는 방법으로서,

[0608] a) 단락 1 내지 16 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 세척액 또는 단락 17의 세제 조성물에 텍스타일을 노출시키는 단계;

[0609] b) 적어도 1회의 세척 사이클을 완료하는 단계; 및 선택적으로

[0610] c) 물품을 헹구는 단계를 포함하는 방법.

[0611] 22. 과립으로서,

[0612] (a) 단락 1 내지 17 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체를 포함하는 코어, 및 선택적으로

[0613] (b) 코어를 둘러싸는 하나 이상의 층으로 구성된 코팅을 포함하는 과립.

[0614] 23. 단락 1 내지 17 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체 및 효소 안정화제, 예를 들어, 폴리올, 예컨대,

프로필렌 글리콜 또는 글리세롤, 당 또는 당 알코올, 락트산, 가역적 프로테아제 억제제, 붕산 또는 붕산 유도체, 예를 들어 방향족 붕산염 에스테르, 또는 4-포르밀페닐 보론산과 같은 페닐 보론산 유도체를 포함하는 액체 조성물.

[0615] 24. 단락 1 내지 17 중 어느 하나의 헥소사미니다제 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 구성체 또는 발현 벡터, 또는 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 재조합 숙주 세포.

[0616] 25. 헥소사미니다제 변이체의 생산 방법으로서,

[0617] a) 변이체 발현에 적합한 조건 하에서 단락 24의 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계; 및

[0618] b) 변이체를 회수하는 단계를 포함하는 방법.

[0619] 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안 되는 하기 실시예에 의해 본 발명이 추가로 설명된다.

[0620] **실시예**

[0621] *재료 및 방법*

[0622] *헥소사미니다제 활성 검정*

[0623] 헥소사미니다제 활성은 예를 들어 다음 검정 중 하나를 사용하여 결정할 수 있다.

[0624] **검정 1**

[0625] 헥소사미니다제 폴리펩티드의 헥소사미니다제 활성은 기질로 4-니트로페닐 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드(Sigma-Aldrich)를 사용하여 결정할 수 있다. 효소 반응은 다음 조건으로 96웰 평저 폴리스티렌 마이크로타이터 플레이트(Thermo Scientific)에서 3회 반복하여 수행한다: 100 μl의 총 반응 부피 중 50 mM 2-(N-모르폴리노) 에탄설폰산 pH 6 완충액, 1.5 mg/ml 4-니트로페닐 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드 및 20 μg/ml 정제 효소 샘플. 효소가 없는 블랭크 샘플을 병행하여 실행한다. 반응을 Thermomixer comfort(Eppendorf)에서 37℃에서 수행한다. 10분간 인큐베이션 후, 각 반응 혼합물에 5 μl 1 M NaOH를 첨가하여 효소 반응을 중단한다. 흡광도는 POLARstar Omega 플레이트 판독기(BMG LABTECH)를 사용하여 405 nm에서 판독하여 4-니트로페닐 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드 기질의 효소 가수분해로 인해 방출된 4-니트로페놀레이트 이온의 형성을 추정한다. 블랭크에 대한 흡광도 증가(샘플과 블랭크 사이의 405 nm에서의 흡광도 차이)는 헥소사미니다제 활성을 나타낸다.

[0626] **검정 2**

[0627] 헥소사미니다제 폴리펩티드의 헥소사미니다제 활성은 기질로 4-메틸움벨리페릴 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드(Sigma-Aldrich)를 사용하여 결정할 수 있다. 효소 반응은 다음 조건으로 96웰 평저 폴리스티렌 마이크로타이터 플레이트(Thermo Scientific)에서 3회 반복하여 수행한다: 200 μl의 총 반응 부피 중 20 mM 3-모르폴리노프로판-1-설폰산 pH 7 완충액, 5 mM 4-메틸움벨리페릴 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드 및 20n M 정제 효소 샘플. 효소가 없는 블랭크 샘플을 병행하여 실행한다. 반응은 주변 온도 20~25℃에서 수행한다. 반응 속도론은 SpectraMax M2e 플레이트 판독기를 사용하여 효소와 기질을 혼합한 직후에 이어진다. 여기 파장은 368 nm로 설정하고 형광 방출 판독은 448 nm에서 수행한다. 반응은 60초 간격으로 30분 동안 이어진다. 형광 신호의 증가는 4-메틸움벨리페릴 N-아세틸-β-D-글루코사미나이드 기질의 효소적 가수분해로 인해 방출된 4-메틸움벨리페릴 이온의 형성을 추정하는 데 사용된다.

[0628] 결과는 3회 반복하여 수행한 각 반응에 대해 368 nm에서의 여기 및 448 nm에서의 형광 방출을 사용하여 분당 상대 형광 단위(RFU/분)로 측정한 평균 초기 반응 속도로 표현된다. 블랭크보다 증가된 값(Δ RFU/분)은 헥소사미니다제 활성을 나타낸다.

[0629] *성장 및 발현*

[0630] 헥소사미니다제 폴리펩티드를 표준 96웰 마이크로타이터 플레이트(200 μl 배양액/웰)에서 성장시킨 바실루스 숙주 세포에서 발현시켰다. 성장 및 발현에 사용된 배양액은 6 μg/ml 클로람페니콜을 보충한 Cal18-2(*Ostergaard et al., 2010, Identification and characterization of a bacterial glutamic peptidase, BMC Biochem. 11:47*)였다. 마이크로타이터 플레이트를 30℃에서 3일 동안 225 rpm으로 진탕하면서 성장시켰다. 성장 후 플레이트를 원심분리하고 상층액에 아래에 기재된 대로 스트레스를 가하고 안정성에 대해 검정하였다. 성장, 스트레스 및 검정과 관련된 모든 단계는 96웰 또는 384웰 포맷 마이크로타이터 플레이트에서 수행하였다.

[0631] *액체 세제 중 상층액에서 변이체의 안정성 측정*

[0632] 상층액을 농축된 80% (v/v) Persil® ProClean® Power Liquid 2in1 세제(Henkel)에 희석하였다. 혼합 후 샘플을 두 부분으로 나누었다. 한 부분은 선택한 스트레스 시간 동안 실온(21℃, 스트레스 없는 샘플)에서 인큐베이션하였고, 두 번째 부분은 선택한 높은 스트레스 온도와 선택한 스트레스 시간 동안 PCR 기계에서 인큐베이션하였다("스트레스 샘플"). 적용된 스트레스 조건은 아래 개별 실시예에서 찾을 수 있다. 인큐베이션 후, 샘플을 희석 완충액(100 mM Tris-HCl, 0.01% (v/v) TritonX-100, pH 8.0)에서 8배 희석한 다음, 스트레스가 없는 샘플과 스트레스가 있는 샘플의 활성을 1.0 mg/ml p-니트로페닐-N-아세틸-β-D-글루코사미나이드(Sigma Aldrich)가 보충된 35 µl 검정 용액(45 mM 시트르산 완충액 pH 5.0을 함유하는 384웰 마이크로타이터 플레이트로 5 µl 샘플을 옮겨서 결정하였다. 실온에서 9시간 동안 인큐베이션한 후, 40 µl의 정지 용액(0.4 M Na_2CO_3)을 첨가하여 반응을 중단시키고 405 nm에서 흡광도(A405)를 판독하였다. 각 샘플의 잔류 활성(RA)을 다음과 같이 계산하였다:

[0633] RA = A405(스트레스가 있는 샘플)/A405(스트레스가 없는 샘플).

[0634] 모두 A405 측정값을 RA 값을 계산하기 전에 블랭크 샘플(헥소사미니다제 없음)의 신호에 대해 보정하였다. RA 값은 변이체와 백본(서열번호 2, 서열번호 3 또는 개별 실시예에서 표시된 참조 헥소사미니다제)의 반감기를 계산하는 데 사용되었다. 반감기(분) = 각 변이체와 백본의 60(분) x Ln(0.5)/Ln(RA). 각 변이체의 경우, 반감기 개선 계수(HIF)는 다음과 같이 계산된다: HIF = 반감기(변이체)/반감기(백본). 안정성이 개선된 변이체는 HIF > 1을 갖는데, 이 설정에서 백본의 HIF는 정의상 1이기 때문이다.

[0635] *정제된 변이체*

[0636] *성장, 발현, 정제*

[0637] 정제를 위해, 헥소사미니다제 폴리펩티드를 바실루스 숙주 세포에서 발현시키고 각각 100 ml PS-1 배지를 포함하는 500 ml 진탕 플라스크에서 성장시켰다. 진탕 플라스크를 270 rpm에서 진탕하면서 30℃에서 4일 동안 성장시켰다. 배양액을 원심분리(26,000 x g, 20분)하고 상층액을 침전물에서 조심스럽게 옮겼다. 상층액을 Nalgene 0.2 µm 여과 장치를 통해 여과하여 나머지 바실루스 숙주 세포를 제거했다. 0.2 µm 여과액을 G25 Sephadex 컬럼(GE Healthcare)의 20 mM MES/NaOH, pH 6.0으로 옮겼다. G25로 옮긴 용액을 20 mM MES/NaOH, pH 6.0으로 평형화된 SOURCE Q 컬럼(GE Healthcare)에 적용하였다. 평형 완충액으로 컬럼을 광범위하게 세척한 후, 헥소사미니다제를 같은 완충액에서 선형 NaCl 구배(0→1.0 M NaCl)로 5의 컬럼 부피에 걸쳐 용출시켰다. 용출 중에 분획을 수집하고 수집된 분획을 SDS-PAGE로 분석했다. 쿠마시 염색 후 밴드가 하나만 보이는 분획을 정제된 제제로 모아 추가 실험에 사용했다.

[0638] *정제된 변이체의 안정성(반감기) 결정*

[0639] 위에 기재된 바와 같이 정제된 성숙 폴리펩티드의 안정성(반감기로 표현)을 각 변이체 샘플 300 µL, 5 µM을 96웰 평저 폴리스티렌 마이크로타이터 플레이트(Thermo Scientific)에서 37℃에서 7일 동안 다음 조건에서 인큐베이션하여 결정했다: 20 vol% EPPS(100 mM, pH 8.3), 0.01wt% Triton X-100 및 80 vol% Persil® ProClean® Power Liquid 2in1 세제(="스트레스 플레이트"). 1일, 3일 및 7일에 스트레스 플레이트의 20 µL 분획물을 기질로 4-메틸움벨리페릴 N-아세틸-D-글루코사미나이드(Sigma-Aldrich)를 사용하여 잔류 활성을 분석하였다: 스트레스 플레이트의 20 µL 샘플과 시트르산 완충액(45 mM, pH 5.3, 0.01 중량% Brij® L23)의 기질 100 µL를 6 mM 기질이 포함된 용액에서 208 nM 샘플 농도로 혼합했다. 반응 혼합물을 PCR 인큐베이터에서 90분 동안 45℃로 가열한 후 120 µL Na_2CO_3(0.6 M, pH 10.3)를 첨가하여 중단시켰다. 흡광도를 표준 플레이트 분광광도계(SpectraMax 5e)에서 405 nm에서 측정하였다.

[0640] 스트레스가 있는 샘플의 반감기를 샘플 활성 감소 데이터(로그(활성) 대 시간)의 선형화에 의해 추정하고, 그 다음 선형 회귀를 통해 샘플의 반감기(t½)를 결정했다. 반감기 개선 계수(HIF)는 헥소사미니다제 변이체의 반감기와 참조 헥소사미니다제 반감기의 비율로 계산하였다:

[0641] HIF = t½(변이체) / t½(참조)

[0642] **실시예 1: 헥소사미니다제 변이체의 안정성**

[0643] 상층액에서 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 세제 안정성을 위에 기재한 방법을 사용하여 서열번호 3의 헥소사미니다제의 반감기와 비교한 반감기로 결정하였다. 이 실시예에서 스트레스 조건은 80% Persil®

ProClean® Power Liquid 2in1 세제에서 62℃에서 210분이었다. 결과는 아래 표 1에 서열번호 3의 반감기와 비교한 반감기 개선 계수 HIF로 표현되어 있다.

표 1

[0644] 헥소사미니다제 변이체의 반감기 개선 계수, HIF

서열번호 1과 비교한 치환	서열번호 3과 비교한 치환	서열번호 3과 비교한 HIF
Q3F H15Y V140I S163P L170G S186R Q215K S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	L170G	2.87
Q3F H15Y V140I E150N S163P S186R Q215K S225G N227T E232D G235W N252P F254I N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	E150N F254I	1.69
Q3F H15Y V140I S163P S186R Q215K S225G N227T E232D G235W N252P F254I N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	F254I	2.64
Q3F H15Y V106N V140I S163P S186R Q215K S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N	3.42

[0645] **실시예 2: 헥소사미니다제 변이체의 안정성**

[0646] 상층액에서 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 세제 안정성을 위에 기재한 방법을 사용하여 서열번호 2의 헥소사미니다제의 반감기와 비교한 반감기로 결정하였으며, 스트레스 조건은 57℃의 온도와 360분의 인큐베이션 시간이다. 결과는 아래 표 2에 서열번호 2의 헥소사미니다제의 반감기와 비교한 반감기 개선 계수 HIF로 표현되어 있다.

표 2

[0647] 헥소사미니다제 변이체의 반감기 개선 계수, HIF

서열번호 1과 비교한 치환	서열번호 2와 비교한 치환	서열번호 2와 비교한 HIF
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V	1.59
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V E150N S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V E150N	1.52
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V E150N S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V I278V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V E150N D171F I278V	2.41
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P T255D N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V T255D	2.36
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V Y124I S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V Y124I	2.83
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V Y124K S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V Y124K Q178K	1.74
Q3I H15Y A49W N59E D111R T120V Y124L S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R T120V Y124L Q178K	2.04
Q3I H15Y A49W N59E D111R Y124K S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D111R Y124K D171F	2.07
Q3I H15Y A49W N59E S163P D171F S186R S208W S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D171F S208W N267T	3.25

Q3I H15Y A49W N59E S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P T255D N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D171F T255D	1.63
Q3I H15Y A49W N59E S163P D171H S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	D171H	2.81
Q3I H15Y A49W N59E S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V I278V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	I278V	1.94
Q3I H15Y A49W N59E S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308E K309E K312Q	K308E	1.75
Q3I H15Y A49W N59E S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	N267T	3.28
Q3I H15Y A49W N59E R127P S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	R127P	1.86
Q3I H15Y A49W N59E T120V S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V D171F	1.61
Q3I H15Y A49W N59E T120V S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V D171F N267T	2.88
Q3I H15Y A49W N59E T120V S163P S186R S208W S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V S208W N267T	2.70
Q3I H15Y A49W N59E T120V S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P T255D N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V T255D	2.00
Q3I H15Y A49W N59E T120V S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P T255D N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V T255D N267T	2.04
Q3I H15Y A49W N59E T120V Y124K S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	T120V Y124K Q178K	1.54
Q3I H15Y A49W N59E V106M D111R T120V S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M D111R T120V D171F	2.03
Q3I H15Y A49W N59E V106M S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P T255D N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M Q178K T255D	2.14
Q3I H15Y A49W N59E V106M T120V S163P D171F Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M T120V D171F Q178K	1.73
Q3I H15Y A49W N59E V106M T120V Y124I S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M T120V Y124I D171F	2.20
Q3I H15Y A49W N59E V106M T120V Y124I S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M T120V Y124I Q178K	2.06
Q3I H15Y A49W N59E V106M T120V Y124K S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M T120V Y124K D171F	2.85
Q3I H15Y A49W N59E V106M T120V Y124L S163P Q178K S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106M T120V Y124L Q178K	2.32
Q3I H15Y A49W N59E V106N D111R T120V E150N S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N D111R T120V E150N	2.09
Q3I H15Y A49W N59E V106N S163P S186R S208W S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N S208W N267T	1.84
Q3I H15Y A49W N59E V106N T120V S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N T120V D171F	1.53
Q3I H15Y A49W N59E V106N T120V S163P D171F S186R S208W S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N T120V D171F S208W	1.67

Q3I H15Y A49W N59E V106N T120V E150N S163P D171F S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q H272V I278V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N T120V E150N D171F I278V	1.52
Q3I H15Y A49W N59E V106N T120V S163P S186R S225G N227T E232D G235W N252P N260Q N267T H272V S279D Y281P K308Q K309E K312Q	V106N T120V N267T	3.75

[0648] **실시예 3: 헥소사미니다제 변이체의 안정성**

[0649] 상층액에서 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 세제 안정성을 위에 기재한 방법을 사용하여 서열번호 1의 S163P+Q215K+N227T+N252P+F276A+K308E+K309E+K312E 치환을 갖는 변이체인 서열번호 4의 반감기와 비교한 반감기로 결정하였다. 스트레스 조건은 62℃의 온도와 150분의 인큐베이션 시간이었다. 이 실시예에서 테스트한 변이체는 아래 표 3에 표시된 바와 같이 하나 이상의 치환이 있는 서열번호 3의 변이체였고, 결과는 서열번호 4의 참조 헥소사미니다제의 반감기와 비교한 반감기 개선 계수 HIF로 표현되었다.

표 3

[0650] 헥소사미니다제 변이체의 반감기 개선 계수, HIF

서열번호 3과 비교한 치환	참조 헥소사미니다제(서열번호 4)와 비교한 HIF
서열번호 3	1.30
D111R	1.84
D111R E150N	2.10
D111R E150N L170G	2.54
D111R E150N L170G I278V	1.71
D111R E150N S199W I278V	1.69
D111R I278V	3.73
D111R L170G	1.88
D111R L170G I278V	3.45
D111R L170G S199W	2.37
E150N	3.50
E150N I278V	3.42
E150N L170G	2.46
E150N L170G I278V	1.82
E150N S199W	1.73
I278V	3.08
L170G	2.65
L170G I278V	1.62
L170G S199W	1.53
L170G S199W I278V	2.17
S199W I278V	1.53

[0651] **실시예 4: 정제된 헥소사미니다제 변이체의 안정성**

[0652] 정제된 형태의 본 발명의 헥소사미니다제 변이체의 세제 안정성을 위에 기재한 방법(80 vol% Persil® ProClean® Power Liquid 2in1 세제에서 7일 동안 37℃)을 사용하여 서열번호 3의 헥소사미니다제의 반감기와 비교한 반감기로 결정하였다. 결과는 아래 표 4에 서열번호 3의 반감기와 비교한 반감기 개선 계수 HIF로 표현되어 있다.

표 4

[0653] 헥소사미니다제 변이체의 반감기 개선 계수, HIF

서열번호 3과 비교한 치환	서열번호 3과 비교한 HIF
V106N D111R T120V E150N	14.75
D111R T120V E150N	19.94
V106N T120V E150N D171F I278V	24.39
D111R T120V E150N D171F I278V	20.41

[0654] **실시예 5: 정제된 헥소사미니다제 폴리펩티드의 열 안정성**

[0655] 테리바실루스 사카로필루스(서열번호 1)의 야생형 헥소사미니다제와 이의 변이체 3종(서열번호 2, 3 및 4)의 열 안정성을 위에 기재한 방법을 사용하여 다음 조성의 모델 액체 세제에서 nDSF로 결정하였다:

표 5

[0656] 액체 모델 세제의 조성

성분	활성 성분 함량(% w/w)
LAS(선형 알킬벤젠 설폰산염)	12
AEO(알코올 에톡실레이트)	11
AEOS(알코올 에테르 황산염), SLES(라우릴 에테르 황산나트륨)	5
MPG(프로판-1,2-디올)	6
에탄올	3
TEA(2,2',2"-니트릴로트리에탄올)	3
코코 지방산	2.75
대두 지방산	2.75
글리세롤	2
수산화나트륨(고체 결정)	2
구연산나트륨	2
포름산나트륨	1
DTMPA(디에틸렌트리아민펜타(메틸렌포스폰산)	0.2
PCA(코폴리(아크릴산/말레산), 나트륨염)	0.2

[0657] 0, 2, 50 및 250 g/L의 세제 농도에서 용융 온도(Tm)로 표현된 결과가 아래 표 6에 제공되며, 여기서 "-"는 서열번호 1의 야생형 헥소사미니다제가 불안정하여 더 높은 세제 농도에서 Tm 값을 결정할 수 없음을 나타낸다.

표 6

[0658] 헥소사미니다제 야생형 및 변이체의 용융 온도, Tm

헥소사미니다제	Tm ℃, 0 g/L 세제	Tm ℃, 2 g/L 세제	Tm ℃, 50 g/L 세제	Tm ℃, 250 g/L 세제
서열번호 1	50.5	40.9	-	-
서열번호 2	82.2	81.4	79.9	78.6
서열번호 3	84.8	83.6	82.4	81.5
서열번호 4	74.8	74.8	72.8	70.0

[0659] 본원에 개시된 특정 양태는 본 발명의 몇몇 양태의 예시로서 의도되므로, 본원에 기재되고 청구된 본 발명은 이들 양태에 의해 범위가 제한되지 않는다. 임의의 균등한 양태는 본 발명의 범위 내인 것으로 의도된다. 실제로, 본원에 나타내고 기재되는 것들에 부가하여 본 발명의 다양한 변형이 상기 기재로부터 당업자에게 명확해질 것이다. 이러한 변형도 첨부되는 청구항의 범위 내에 속하는 것으로 한다. 상충하는 경우, 정의를 포함하는 본 개시가 우선할 것이다.

도면

도면1


SEQ1 QDQEKGITIDISRKHYTVETLKSLVDEISYNGGNYVQLHFSDNENYAIASEYLGQSSENT
SEQ2 QDIEKGITIDISRKYYTVETLKSLVDEISYNGGNYVQLHFSDNENYAIWSEYLGQSSEET
SEQ3 QDFEKGITIDISRKYYTVETLKSLVDEISYNGGNYVQLHFSDNENYAIASEYLGQSSENT
SEQ4 QDQEKGITIDISRKHYTVETLKSLVDEISYNGGNYVQLHFSDNENYAIASEYLGQSSENT
SEQ1 NNTYLTKNELLSLIAYSNDKDILVIPDIDLPAHSKGWLELIKKKDVKLYNDIVTDYSEET
SEQ2 NNTYLTKNELLSLIAYSNDKDILVIPDIDLPAHSKGWLELIKKKDVKLYNDIVTDYSEET
SEQ3 NNTYLTKNELLSLIAYSNDKDILVIPDIDLPAHSKGWLELIKKKDVKLYNDIVTDYSEET
SEQ4 NNTYLTKNELLSLIAYSNDKDILVIPDIDLPAHSKGWLELIKKKDVKLYNDIVTDYSEET
SEQ1 LDYYDNRVALDTVNQLLDEVLDLFYQPKFEGKQRIVLGGDEVSGSEVHQLDFIDFMNQIA
SEQ2 LDYYDNRVALDTVNQLLDEVLDLFYQPKFEGKQRIVLGGDEVPGSEVHQLDFIDFMNQIA
SEQ3 LDYYDNRVALDTVNQLLDEILDLFYQPKFEGKQRIVLGGDEVPGSEVHQLDFIDFMNQIA
SEQ4 LDYYDNRVALDTVNQLLDEVLDLFYQPKFEGKQRIVLGGDEVPGSEVHQLDFIDFMNQIA
SEQ1 STVKESKYEPQMWNDSITSEGIANLDDSFSILYWQQSTLSSGEESLNVEDFENWGFSVYN
SEQ2 STVKERKYEPQMWNDSITSEGIANLDDSFSILYWQQSTLSSGEEGLTVEDFDNWWFSVYN
SEQ3 STVKERKYEPQMWNDSITSEGIANLDDSFSILYWKQSTLSSGEEGLTVEDFDNWWFSVYN
SEQ4 STVKESKYEPQMWNDSITSEGIANLDDSFSILYWKQSTLSSGEESLTVEDFENWGFSVYN
SEQ1 YNAYSLYFLPSNGFTQEDINEQMDYMNWAYAHNKFFYISDYYHAVETSNVKGSSLTFWGE
SEQ2 YNAYSLYFLPSPGFTQEDIQEQMDYMNWAYAVNKFFYIDDPYHAVETSNVKGSSLTFWGE
SEQ3 YNAYSLYFLPSPGFTQEDIQEQMDYMTWAYAVNKFFYIDDPYHAVETSNVKGSSLTFWGE
SEQ4 YNAYSLYFLPSPGFTQEDINEQMDYMNWAYAHNKFAYISDYYHAVETSNVKGSSLTFWGE
SEQ1 HATDLSQKKLLKQELPLIRHYLNL
SEQ2 HATDLSQQELLQQELPLIRHYLNL
SEQ3 HATDLSQQELLQQELPLIRHYLNL
SEQ4 HATDLSQEELLEQELPLIRHYLNL

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.