



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년10월07일  
 (11) 등록번호 10-1443412  
 (24) 등록일자 2014년09월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C11D 3/386** (2006.01) **C11D 3/22** (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2009-7019430  
 (22) 출원일자(국제) 2008년03월21일  
 심사청구일자 2013년03월21일  
 (85) 번역문제출일자 2009년09월17일  
 (65) 공개번호 10-2009-0122448  
 (43) 공개일자 2009년11월30일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US2008/003788  
 (87) 국제공개번호 WO 2008/118382  
 국제공개일자 2008년10월02일  
 (30) 우선권주장  
 11/728,060 2007년03월22일 미국(US)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2002513071 A

(73) 특허권자  
**다니스코 유에스 인크.**  
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94304) 팔로 알토  
 페이지 밀 로드 925  
 (72) 발명자  
**맥도날드 휴 씨.**  
 미국 94304 캘리포니아주 팔로 알토 페이지 밀 로  
 드 925 다니스코 유에스 인크. 제넨코 디비전  
**폴로즈 에이루카란 케이**  
 미국 94304 캘리포니아주 팔로 알토 페이지 밀 로  
 드 925 다니스코 유에스 인크. 제넨코 디비전  
**슈티 자야라마 케이**  
 미국 94304 캘리포니아주 팔로 알토 페이지 밀 로  
 드 925 다니스코 유에스 인크. 제넨코 디비전  
 (74) 대리인  
**특허법인코리아나**

전체 청구항 수 : 총 14 항

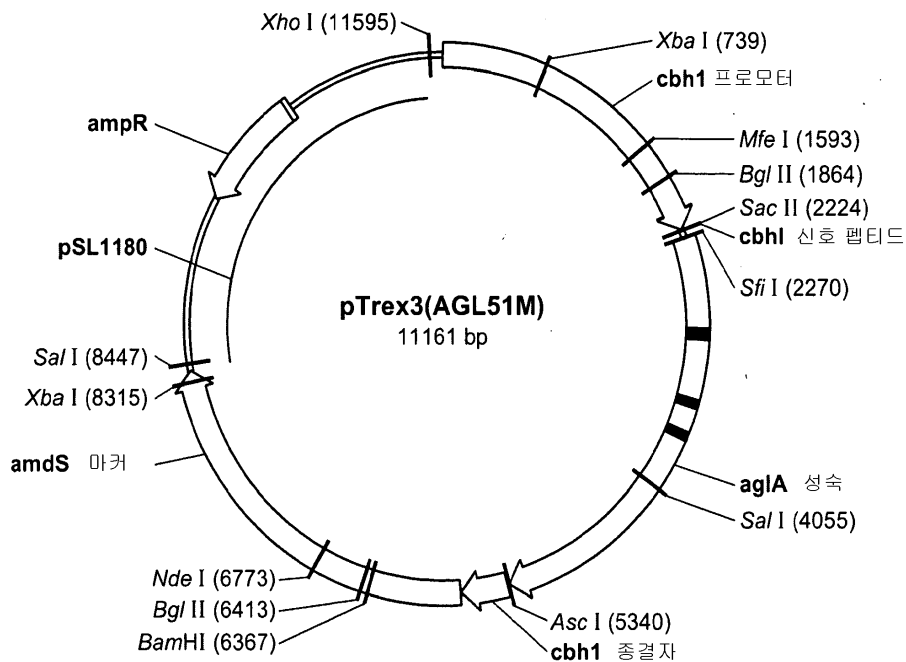
심사관 : 퇴-김성식

(54) 발명의 명칭 **트랜스글루코시다아제를 포함하는 세정 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물 및 방법은 세정 적용에서의 유용성을 발견한다.

**대표도 - 도1**



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

잔탄 겜을 분해하는 트랜스글루코시다아제 효소를 포함하는 세정 조성물로서, 상기 트랜스글루코시다아제 효소는 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*) 트랜스글루코시다아제 효소와 90% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는 조성물.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 트랜스글루코시다아제 효소가 IUBMB 명명법에 따라 EC 2.4.1.24 로서 정의되는 활성을 갖는 조성물.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 조성물이 하나 이상의 계면활성제를 추가로 포함하는 조성물.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 잔탄겜이 대상체 상에 얼룩으로서 존재하는 것인 조성물.

### 청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 대상체가 직물인 조성물.

### 청구항 6

잔탄 겜을 포함한 얼룩을 트랜스글루코시다아제 효소와 접촉시키는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 트랜스글루코시다아제는 상기 잔탄 겜을 분해하는 것이며, 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*) 트랜스글루코시다아제 효소와 90% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는 것인 방법.

### 청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 트랜스글루코시다아제 효소가 IUBMB 명명법에 따라 EC 2.4.1.24 로서 정의되는 활성을 갖는 방법.

### 청구항 8

하기를 포함하는 세정 방법:

- a) 잔탄 겜으로 오염된 대상체를 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*) 트랜스글루코시다아제 효소와 90% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는 트랜스글루코시다아제 효소를 포함하는 세정 조성물과 접촉시킴; 및
- b) 상기 대상물과 세정 조성물을, 잔탄 겜의 분해가 이뤄지기에 충분한 조건 하에서 유지하고, 이로써 대상물을 세정함.

### 청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 대상체가 상기 잔탄 겜을 함유하는 식료품으로 오염된 것인 세정 방법.

### 청구항 10

제 8 항에 있어서, 상기 대상체가 직물 및 경질 표면으로부터 선택되는 것인 세정 방법.

### 청구항 11

제 8 항에 있어서, 상기 세정 조성물이 하나 이상의 계면활성제를 추가로 포함하는 세정 방법.

### 청구항 12

제 8 항에 있어서, 상기 세정 조성물이 기타 얼룩 성분의 분해를 위해 프로테아제, 아밀라아제, 셀룰라아제, 리파아제, 큐티나아제, 만난나아제, 펙티나아제, 펙틴분해효소, 및 산화환원효소로부터 선택되는 효소를 하나 이

상 추가로 포함하는 세정 방법.

**청구항 13**

제 8 항에 있어서, 상기 세정 조성물의 pH 가 pH 5.0 내지 pH 11.5 인 세정 방법.

**청구항 14**

제 8 항에 있어서, 상기 세정 조성물이 0.01 ppm 내지 100 ppm 의 범위의 농도로 상기 효소를 포함하는 세정 방법.

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물 및 방법은 세정 적용에서의 유용성을 발견한다.

**배경기술**

[0002] 세제 및 기타 세정 조성물에는 종종 활성 성분의 복합 조합이 포함된다. 예를 들어, 많은 세정 제품은 계면활성제 시스템, 세정용 효소, 표백제, 강화제, 비누거품 억제제, 오염 현탁화제, 오염 방출제, 형광 증백제, 연화제, 분산제, 염료 전이 억제 화합물, 연마제, 살균제, 및 향수를 함유한다. 그러나, 현행 세제가 이와 같이 복잡하여도, 제거하기 어려운 얼룩이 많다. 그러므로, 다양한 얼룩의 효과적인 제거를 위한 조성물 및 방법에 대한 업계의 요구가 남아있다.

**발명의 상세한 설명**

**[0003] 발명의 요약**

[0004] 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물 및 방법은 세정 적용에서의 유용성을 발견한다.

[0005] 일부 구현예에서, 조성물은 잔탄 검과 같은 천연 검 다당류를 포함한다. 일부 추가의 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 IUBMB 명명법에 따라 EC 2.4.1.24 로서 정의된 활성을 갖는다. 일부 부가적인 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 아스페르길루스 (Aspergillus) 트랜스글루코시다아제 효소와 약 90% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 또다른 추가의 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 계면활성제를 추

가로 포함한다. 일부 부가적인 구현예에서, 천연 검 다당류는 대상체 상에 얼룩으로서 존재한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 대상체는 직물이다.

[0006] 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 하나 이상의 천연 검 다당류와 조합하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 IUBMB 명명법에 따라 EC 2.4.1.24 로서 정의된 활성을 갖는다. 일부 추가의 구현예에서, 천연 검 다당류는 잔탄 검이다.

[0007] 또한 본 발명은 천연 검 다당류로 오염된 대상체를 트랜스글루코시다아제 효소를 포함하는 세정 조성물과 접촉 시킴; 및 천연 검 다당류의 분해가 이뤄지기에 충분한 조건 하에서 대상체 및 세정 조성물을 유지하여 대상체를 세정함을 포함하는 세정 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 대상체는 하나 이상의 천연 검 다당류를 함유하는 음식으로 오염된다. 일부 추가의 구현예에서, 천연 검 다당류는 잔탄 검을 포함한다. 일부 또다른 추가의 구현예에서, 대상체는 섬유 및 경질 표면으로부터 선택된다. 일부 부가적인 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 아스페르길루스 (Aspergillus) 트랜스글루코시다아제 효소와 약 90% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 세정 조성물은 하나 이상의 계면활성제를 추가로 포함한다. 일부 추가의 구현예에서, 세정 조성물은 기타 얼룩 성분의 분해를 위해 프로테아제, 아밀라아제, 셀룰라아제, 리파아제, 큐티나아제, 만난나아제, 펙티나아제, 펙틴분해효소 및 산화환원효소로부터 선택되는 하나 이상의 효소를 추가로 포함한다. 일부 또다른 부가적인 구현예에서, 세정 조성물의 pH 는 약 pH 5.0 내지 약 pH 11.5 이다. 일부 또다른 추가의 구현예에서, 세정 조성물은 약 0.01 ppm 내지 약 100 ppm 의 범위의 농도로 트랜스글루코시다아제 효소를 포함한다.

[0008] 일부 구현예에서, 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 하나 이상의 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 천연 검 다당류는 잔탄 검 및/또는 구아 검을 포함한다. 그러나, 본 발명이 임의의 특정 검 다당류에 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다. 일부 바람직한 구현예에서, 천연 검 다당류는 대상체 (예를 들어, 직물) 상에 얼룩으로서 존재하고, 또다른 구현예에서, 이것은 용액에서 유리 상태이다. 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 아스페르길루스 (Aspergillus) 트랜스글루코시다아제와 약 70% 이상 일치, 약 80% 이상 일치, 약 85% 이상 일치, 약 90% 이상 일치, 약 95% 이상 일치, 또는 약 98% 이상 일치하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 계면활성제 및/또는 기타 세정제를 추가로 포함한다.

[0009] 본 발명은 또한 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 하나 이상의 천연 검 다당류와 조합하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 천연 검 다당류로 오염된 대상체를 트랜스글루코시다아제 효소를 포함하는 세정 조성물과 접촉시킴; 및 천연 검 다당류의 분해가 이뤄지기에 충분한 조건 하에서 대상체와 세정 조성물을 함께 유지하여 대상체를 세정함을 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, 대상체 (예를 들어, 직물) 는 하나 이상의 천연 검 다당류를 함유하는 음식 (예를 들어, 하나 이상의 잔탄 및/또는 구아 검을 함유하는 음식) 으로 오염된다. 일부 구현예에서, 세정 조성물은 기타 얼룩 성분의 분해를 위해 하나 이상의 계면활성제, 기타 세정제, 및/또는 하나 이상의 부가적인 효소 (예를 들어, 프로테아제, 아밀라아제, 셀룰라아제, 리파아제, 큐티나아제, 산화-환원 효소 등) 를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 세정 조성물의 pH 는 약 pH 5.0 내지 약 pH 11.5 의 범위이고, 트랜스글루코시다아제 효소가 약 0.01 ppm 내지 약 100 ppm 의 범위의 농도로 세정 조성물에 존재한다.

[0011] 일부 구현예에서, 본원에서 제공되는 방법은 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하지 않는 동등한 방법보다 천연 검 다당류를 함유하는 얼룩의 제거에 더욱 효과적인 결과를 낳았다.

[0012] 일부 추가의 구현예에서, 본 발명은 트리코데르마 레세이 (Trichoderma reesei) 숙주 세포에 의해 생성된 아스페르길루스 (Aspergillus) 트랜스글루코시다아제를 함유하는 단리된 효소를 제공한다. 또한 본 발명은 제공되는 효소를 함유하는 세정 조성물 (예를 들어, 세탁 세제) 뿐 아니라, 대상체 (예를 들어, 직물) 를 세정하기 위해 효소를 사용하는 방법을 제공한다.

### 실시예

[0102] 하기의 실시예는 통상의 기술자가 본 발명을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명과 함께 제공되는 것이고, 본 발명의 범주를 한정하거나 하기 실험이 수행되는 전부 또는 유일한 실험인 것을 나타내는 것으로 의도되는 것이 아니다. 사용되는 숫자 (예를 들어, 양, 온도 등) 에 관한 정확성을 증명하기 위해 노력하지만, 일부 실험오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 언급되지 않은 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중

량 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 이에 근접하다.

[0103] 실시예 1

[0104] T. 레세이 (T. reesei) 에서의 A. 니게르 (A. niger) 트랜스글루코시다아제의 발현

[0105] A. 니게르 (A. niger) 의 성숙 트랜스글루코시다아제 효소를 인코딩하는 핵산을 PCR 에 의해 A. 니게르 (A. niger) 의 게놈 DNA 로부터 증폭하였고 벡터 pTrex3 내로 클로닝하여 pTrex3(AGL51M) 을 제작하였다. pTrex3(AGL51M) 은 도 1 에 제시된다. 상기 벡터에 의해 인코딩되는 트랜스글루코시다아제 단백질은 성장 배지 내로의 분비를 용이하게 하기 위해 CBH1 신호 서열에 작동가능하게 연결되었다. 트랜스글루코시다아제 코딩 서열은 T. 레세이 (T. reesei) cbh1 프로모터 및 종결자의 측면에 위치하였다. pTrex3(AGL51M) 벡터의 발현 카세트의 뉴클레오티드 서열은 도 2 에 언급된다.

[0106] 플라스미드 pTrex3(AGL51M) 의 7.57 kb XbaI-XbaI 분절을 아가로오스 젤 전기영동에 의해 정제하고 전기천공법에 의해 T. 레세이 (T. reesei) 의 포자를 형질전환하는데 사용하였다. 전기천공법 파라미터는 하기와 같았다: 전압 - 16 kV/cm, 전기용량 - 25  $\mu$ F, 저항 - 50  $\Omega$ . 빙냉 1.2 M 소르비톨에 현탁된 새롭게 수확된 T. 레세이 (T. reesei) 포자의 현탁액을 사용하여 전기천공을 수행하였다. 전기천공법 후, 1 M 소르비톨, 0.3% 글루코오스, 0.3% 박토 펩톤 및 0.15% 효소 추출물을 함유하는 배지에서 회전 셰이커 (30  $^{\circ}$ C, 200 rpm) 에서 포자를 밤새 인큐베이션하였다. 발아 포자를 단독 질소 공급원으로서 아세타미드를 함유하는 선별 배지 (아세타미드 0.6 g/l; 염화세슘 1.68 g/l; 글루코오스 20 g/l; 2수소갈락 포스페이트 15 g/l; 환산마그네슘 6 수화물 0.6 g/l; 염화칼슘 2 수화물 0.6 g/l; 황산철 (II) 5 mg/l; 황산아연 1.4 mg/l; 염화코발트 (II) 1 mg/l; 황산망간 (II) 1.6 mg/l; 아가 20 g/l; pH 4.25) 에 깔았다. 약 1 주 내에 형질전환체가 나타났다. 개개의 형질전환체를 신선한 아세타미드 선별 플레이트 상에 옮기고, 3 ~ 4 일 동안 성장시켰다.

[0107] 선별 배지 상에 안정된 성장을 보이는 단리물을 20 x 175 mm 시험관에 5 ml 락토오스 정의 배지 (예를 들어, WO 2005/001036, p. 60 참조) 의 접종을 위해 사용하였다. 튜브를 약 45 $^{\circ}$  각도로 회전 셰이커에서 고정하고, 200 rpm 및 28  $^{\circ}$ C 에서 4-5 일 동안 교반하였다. 배양 상청액의 전기용동 분석은 대략 예상되는 분자량의 신규 단백질 밴드의 존재를 입증하였다.

[0108] 형질전환체에 의한 트랜스글루코시다아제 활성의 생성은 또한 효소 검정법을 사용하여 확인되었다. 검정법은 4 mM 파라-니트로페닐- $\alpha$ -글루코시드 및 1 mg/ml BSA 를 함유하는 100 mM 나트륨 아세테이트 완충액 (pH 4.5) 에서 수행되었다. 30  $^{\circ}$ C 에서 30 분 인큐베이션 후, 동일 부피 1 M 나트륨 카르보네이트를 첨가하여 반응을 종료시키고, OD<sub>405</sub> 를 기록하였다. 전형적으로, 형질전환체는 배양 브로스 ml 당 1-2U 트랜스글루코시다아제 활성 (분 당 방출된 파라-니트로페놀 마이크로몰로서 표현됨) 을 나타내었다. 비형질전환된 대조군에서, 활성은 검출 한계 미만이었다.

[0109] 실시예 2

[0110] 트랜스글루코시다아제는 잔탄 겔을 분해한다

[0111] 잔탄 겔에 대한 효소에 의한 가수분해 활성을 당업계에서 공지된 바와 같이 (Lever et al., Anal. Biochem., 47: 273 [1972] 참조) PAHBAH (파라-히드록시벤조산 히드라지드) 시약을 사용하는 환원당 검정법에 의해 측정하였다. 잔탄겔 (CAS 111 38-66-2) 을 [Sigma Chemicals, St. Louis MO] 로부터 구입하고, 농도 0.2% 의 50 mM 나트륨 아세테이트 완충액 (pH 6.0) 에 용해시켰다. 일부 실험을 위해 AATCC 표준 강질 액체 세제 (증백제 없는 AATCC HDL 2003, Test Fabrics, Inc. West Pittston, PA) 를 리터 당 1.5 ml (0.15%) 로 첨가하였다. AATCC HDL 액체 세제는 12% 선형 알킬 술포네이트, 8% 알코올 에톡실레이트, 8% 프로판디올, 1.2% 시트르산, 4% 지방산 및 4% 수산화나트륨을 함유하고 나머지는 물로 채워졌다.

[0112] 검정법을 24 웰 마이크로플레이트 (COSTAR 3526, Corning Incorporated, Corning, N. Y.) 에서 하기와 같이 수행하였다: 1 ml 의 완충액을 웰 1 에 첨가하고, 1 ml 의 완충액과 효소를 웰 2 에 첨가하고, 1 ml 의 완충액과 기질을 웰 3 에 첨가하고, 1 ml 의 완충액, 및 기질과 효소를 웰 4 에 첨가하였다. 통계분석 목적을 위해, 각 웰은 2 내지 4 회 설정될 수 있다. 시험되어야 하는 효소는 통상 반응 완충액에 1 내지 10 ~ 1 내지 1000 으로 희석된다. 모든 시약을 첨가한 후, 마이크로플레이트 위에 플라스틱 커버를 덮고, 증발을 방지하기 위해 커버와 플레이트 교차점을 Parafilm (Pechiney Plastic Packing, Menasha, WI) 으로 여러겹 단단하게 싸들. 반응 플레이트를 100 rpm 에서 회전하는 셰이커의 37  $^{\circ}$ C 에서 1 내지 16 시간 동안 인큐베이션하였다.

[0113] Eppendorf Mastercycler Gradient (Eppendorf Scientific, Westbury, NY) 열 사이클러를 사용하여 환원당 활성

을 측정하였고 0.2 ml 일회용 PCR (폴리머라아제 연쇄 반응) 스트립 튜브와 캡을 [VWR International, West Chester, PA] 로부터 구입하였다. 환원당 시약을 하기와 같이 제조하였다: 증류수 중의 10 ml 의 2% 수산화 나트륨에, 0.15 g 의 나트륨 칼륨 타르테이트 테트라히드레이트 (Rochelle Salt, Sigma Chemical Co.) 및 0.15 g 의 파라히드록시벤조산 히드라지드 (H-9882, Sigma Chemical Co.) 를 첨가한다. 상기 용액 ("PAHBAH 시약" 이라고 부름) 을 저어 모든 성분을 가용화하고, 사용할 때까지 암실의 빙상에 둔다. 상기 시약은 매일 새롭게 제조하였다. 샘플 분석 직전에, 0.160 ml 의 PAHBAH 시약을 PCR 스트립의 각 튜브에 첨가한 후, 5 내지 20 ul 의 효소 샘플 및 대조군에 첨가한다. 모든 튜브를 단단하게 조이고, 열 싸이클러에 넣고, 99 °C 에서 15 분 동안 인큐베이션한 후, 15 분 이상 동안 4 °C 에서 냉각하였다. 냉각 후, 스트립 튜브 캡을 제거하고 0.15 ml 의 각 샘플을 96 웰 평편 바닥 마이크로플레이트 (COSTAR 9017, Corning Inc. Corning, NY) 에 넣고, 증류수를 공란으로 하여 405 nm 에서 Spectra Max 250 Plate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 에 의해 판독하였다.

[0114] 각 효소 샘플을 다음과 같이 분석하였다: 완충액 샘플의 광학 밀도 (OD) 로부터 대조군 샘플의 광학 밀도 (OD) 를 빼고, 이 값을 기질 완충액 대조군에 더하였다. 효소와 기질 반응의 O.D. 를 기질 및 샘플 대조군의 합과 비교하였다.

[0115] 도 3 은 트리코테르마 (Trichoderma) (Trip-TG) 및 아스페르길루스 (Aspergillus) (Mega-TG) 에서 생성된 트랜스글루코시다아제가 50 mM 아세테이트 완충액 및 AATCC 강질 액체 세제 (pH 6.0) 중의 잔탄 겔에 대한 유의한 환원당 활성을 보여주었다는 것을 나타낸다.

[0116] **실시예 3**

[0117] **트랜스글루코시다아제는 얼룩진 패치로부터 오염물을 제거한다**

[0118] 염료가 있는 셸러드 드레싱 (STC CFT CS-6) 및 구아-염료 (STC CFT CS-43) 로 오염된 면 천조각을 [Test Fabrics, Inc. West Pittston, PA, USA] 로부터 취득하였고, 마이크로플레이트 검정법을 위한 천조각을 5/8" 다이 절단기가 장착된 피륙 Punch Press Model B 로 15 mm 원형 (디스크) 으로 절단하였다. 단일 천조각 디스크를 24 웰 마이크로플레이트 (Costar 3526) 의 각 웰에 넣었다. 1 리터 당, 1.5 ml AATCC HDL 세제, 50 mM Hepes 완충액, 및 50 mM Hepes 완충액 (pH 7.4) 에 희석된 6 내지 60 ppm 효소를 함유하는 1 ml 의 세정 용액을 각 웰에 첨가하였다. 마이크로플레이트를 플라스틱 뚜껑과 알루미늄 호일로 덮고, 4 내지 16 시간 동안 100 rpm 으로 천천히 회전시키면서 37 °C 에서 인큐베이션시켰다. 셰이커로부터 플레이트를 제거하고, 흡인에 의해 세제 용액을 제거하였다. 각 마이크로플레이트 웰을 1.5 ml 의 Dulbecco's PBS pH 7.3 로 3 회, 및 1.5 ml 의 증류수로 3 회 세정하였다. 웰로부터 각 디스크를 제거하고, 페이퍼타올에 두어 밤새 건조시키고 직광에 노출되지 않도록 하였다. 디스크를 시각적으로 면밀히 살핀 다음, 표준 백색 타일로 교정된 Minolta Reflectometer CR-200 로 분석하였다. 평균 L 값과 표준 편차를 계산하였다.

[0119] 도 4 에 제시된 그래프는 Trip-TG (50 mM Hepes 완충액에 1/50 희석됨) 가 50 mM Hepes 완충액 pH 7.4 와, 50 mM Hepes 완충액 pH 7.4 및 0.15% AATCC HDL 에서 셸러드 드레싱 얼룩 및 구아-염료 얼룩으로부터 오염을 제거함을 보여준다.

[0120] 도 5 는 Trip-TG 용량 반응 미세천조각 실험에서 취득된 결과를 보여준다. Trip-TG 는 0.15% AATCC 강질 액체 중 1 ppm 에서 셸러드 드레싱 오염을 제거하였다.

[0121] 도 6 은 Trip-TG 가 증백제 없는 표준 0.1% North American AATCC-1993 HDD 중의 미세천조각 세정 실험에서 셸러드 드레싱 오염을 제거하였음을 보여준다. 상기 세제는 18% 선형 알킬 술포네이트, 25% Zeolite A, 18% 소다 재, 0.5% 나트륨 실리케이트, 22% 나트륨 술페이트, 10% 수분, 및 6.3% 공중합체 또는 기타 첨가제를 함유하였다.

[0122] 상기 실험은 강질 액체 (HDL) 및 강질 고체 (HDD) 모두 중의 트랜스글루코시다아제 오염 제거 활성을 보여주었다.

[0123] **실시예 4**

[0124] **트랜스글루코시다아제의 세정 활성의 테르고토미터 분석**

[0125] 테르고토미터 연구는 30 °C 에서 유지된 6 팻 (pot) Tergotometer Model 7243S (U. S. Testing, Co. Inc. Hoboken, N. J.) 을 사용하였다. 진탕 속도는 100 rpm 으로 설정되었다. 원형의 식료품으로 오염된 [Warwick Equest Limited, Consett, County Durham, England] 로부터 취득된 면 천조각 (각 테르고토미터 팻

당 5 개) 을 6 gpg 정도 (1.735 M 염화칼슘 및 0.67 M 염화마그네슘을 함유하는 스탁 15000 gpg 정도 용액으로부터 희석됨) 및 25 mM Hepes 완충액 pH 7.4 를 함유하는 1 리터의 0.15% AATCC HDL 세제에 첨가하였다. 30 분 세정 사이클 후, 천조각을 1.5 l 의 냉각 수돗물에서 3 회 세정하고, 스핀 사이클에서 7 분 동안 스핀하여 과량의 물을 제거하고, 실온에서 밤새 건조시켰다. 반사계에 의해 각 얼룩의 분석 후 표준 방법에 의해 % 오염 방출 (%SRI) 을 계산하였다. 도 7 은 트랜스글루코시다아제가 효소가 없는 대조군 또는 미관련 단백질인 [Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA] 로부터 수득된 소 혈청 알부민 (BSA-50, Fraction V, 면역글로불린 및 프로테아제가 없음) 이 있는 대조군과 비교하여 마멀레이드를 유의하게 세정하였음을 보여준다.

[0126] 상기 실시예는 트랜스글루코시다아제가 잔탄을 효과적으로 분해하고, 먼 천조각으로부터 특정 오염물을 제거하는 것을 입증한다.

[0127] 본 명세서에 언급된 모든 특허 및 공개는 발명이 속하는 당업자의 수준을 나타내는 정도이다. 모든 특허 및 공개는 각 개별 공개가 참조로서 구체적이고 개별적으로 제시되는 경우 동일한 범위로 본원에 참조로서 인용된다.

[0128] 당업자는 본 발명이 목적을 달성하고, 언급된 결과 및 장점뿐 아니라 고유의 것을 수득하기 위해 잘 조정된다는 것을 쉽게 인지한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은 바람직한 구현예의 대표적인 것이고, 예시적이고, 본 발명의 범주를 한정하는 것으로 의도된 것은 아니다. 본 발명의 범주 및 취지를 벗어나지 않고 본원에 개시된 본 발명에 다양한 치환 및 변형이 이뤄질 수 있다는 것이 당업자에게는 매우 명백하다.

[0129] 본원에 설명으로 기재된 본 발명은 본원에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소(들), 제한(들)이 없어도 적합하게 실시될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 설명하기 위한 용어로서 사용되고 제한하고자 하는 것은 아니며, 그러한 용어 및 표현의 사용에 있어서, 제시되고 기재된 특징 또는 그의 일부의 임의의 동등물을 배제하려는 의도가 없으나, 청구된 본 발명의 범주 내에서 다양한 변형이 가능하다는 것이 인지된다. 그러므로, 본 발명이 일부의 구현예 및 임의의 특징을 참고로 하여 구체적으로 개시되어 있다 하더라도, 본원에 개시된 개념의 변형 및 변경이 당업자에 의해 재분류될 수 있고, 이러한 변형 및 변경은 청구의 범위에 의해 정의된 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 고려되는 것으로 이해되어야만 한다.

[0130] 본 발명은 본원에 광범위하고 일반적으로 기재되어 있다. 일반적인 개시 내에 포함되는 조금 더 좁은 종 및 하부 속명 그룹 각각이 또한 본 발명의 일부를 형성한다. 여기에는, 종으로부터 임의의 요지 물질을 제거하는 부정적인 제한이나 조건과 함께, 본 발명의 증명 기재가, 시행된 물질이 본원에서 구체적으로 언급되었는지의 여부와 상관없이 포함된다.

**도면의 간단한 설명**

[0013] 하기 상세한 설명의 특정 양상은 수반하는 도면과 함께 해석할 때 가장 쉽게 이해될 수 있다. 관행에 따라, 도면의 다양한 특징은 일정한 비율이 아닌 것을 강조한다. 반대로, 다양한 특징의 치수는 임의로 확장되거나 명확히 하기 위해 감소된다.

[0014] 도 1 은 pTrex3(AGL51M) 의 벡터 맵을 제공한다.

[0015] 도 2 는 pTrex3(AGL51M) 의 발현 카세트의 뉴클레오티드 서열을 제공한다 (SEQ ID NO: 1).

[0016] 도 3 은 환원당 검정법에 의해 측정된 바와 같은 0.2% 잔탄에 대한 트랜스글루코시다아제의 효소 활성을 나타내는 그래프를 제공한다.

[0017] 도 4 는 50 mM Hepes 완충액 (pH 7.4) 및 AATCC HDL 세제 (pH 7.4) 중의 구아로 오염된 미세천조각 (microswatch) (상부 패널) 및 샬러드 드레싱으로 오염된 미세천조각 (하부 패널) 에 대한 Trip-TG 의 세정 성능을 나타내는 그래프가 제시된다.

[0018] 도 5 는 Trip-TG 가 AATCC HDL 중의 1 내지 5 ppm 의 농도에서 샬러드 드레싱으로 오염된 미세천조각에 대해 활성인 것을 보여주는 용량 반응 실험 그래프를 제공한다.

[0019] 도 6 은 강질 고체 세제 (HDD) 중의 샬러드 드레싱으로 오염된 미세천조각에 대한 Trip-TG 세정 활성을 보여주는 그래프를 제공한다.

[0020] 도 7 은 0.15% AATCC HDL 을 사용하는 테르고토미터 (Tergotometer) 검정법에서 마멀레이드 얼룩에 대한 Trip-TG 세정 활성을 보여주는 그래프를 제공한다.

[0021] **발명의 설명**

[0022] 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물 및 방법은 세정 적용에서의 유용성을 발견한다.

[0023] 예시적 구현예를 더욱 상세히 기재하기 전에, 본 발명이 기재되는 특정 구현예에 제한되지 않고 물론 다양할 수 있다는 것으로 이해된다. 또한 본원에 사용되는 용어는 특정 구현예를 기술하기 위한 목적의 것이고, 제한하고자 의도되는 것은 아니라는 것으로 이해된다.

[0024] 본원에 사용되는 바와 같이 다양한 값이 제공되는 경우, 범위의 상한과 하한 사이의 각 사이 값은 문맥상 명백하게 다르게 지시되지 않는다면 하한 단위의 10 분의 1 까지, 또한 구체적으로 기재되는 것으로 이해된다. 언급된 범위 중의 임의의 언급된 값 또는 사이값과, 그 언급된 범위 중의 임의의 기타 언급된 또는 사이값 사이의 각각의 좀더 적은 범위가 본 발명에 포함된다. 이러한 좀더 적은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 범위에 포함 또는 배제될 수 있고, 어느 한계도 또는 양쪽 한계가 좀더 좁은 범위에 포함되는 각 범위가, 언급된 범위 중의 임의의 구체적으로 배제되는 것을 조건으로 하여 또한 본 발명에 포함된다. 언급된 범위에 한쪽 또는 양쪽 한계가 포함되는 경우는, 이러한 포함되는 한계의 한쪽 또는 양쪽이 배제되는 범위가 또한 본 발명에 포함된다.

[0025] 본원에 기재된 것과 유사한 또는 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있음에도 불구하고, 이제 예시적인 방법 및 물질이 기재된다. 본원에 언급되는 모든 특허 및 공개는 공개가 언급되는 것과 관련하여, 서열을 비롯한 방법 및/또는 물질을 기재 및 기술하는 것을 참조로 하여 본원에 인용된다. 본원에 언급된 임의의 GENBANK® 데이터베이스 접근은 본 특허 출원의 최초 출원일의 것에서의, 그 곳의 핵산 및 단백질 서열 및 이러한 서열의 주석을 비롯하여, 그 전체가 참조로서 인용된다.

[0026] 본원에 논의된 공개는 특허 출원 출원일 이전의 기재에 대해 단독으로 제공된다. 본원의 어느 것도 본 출원이 이전 발명에 비추어 이러한 공개에 선행하는 권리를 주지 않는다는 승인으로서 해석되지 않는다. 또한, 제공되는 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있는 실제 공개일과 상이할 수 있다.

[0027] 본원에 다르게 정의되지 않는다면, 본원에 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명에 속하는 당업자에게 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 많은 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있으나, 몇몇의 바람직한 방법 및 물질이 본원에 기재된다. 수치 범위에는 범위를 정의하는 수 뿐 아니라 사이의 모든 수가 포함된다.

[0028] **정의**

[0029] 또한, 본원에 사용되는 바와 같이, 단수 용어는 문맥상 명확히 다르게 지시되어 있지 않은 한 복수 기준을 포함한다. 그러므로, 예를 들어 "숙주 세포" 에 대한 기준에는 다수의 이러한 숙주 세포가 포함된다.

[0030] 달리 지시되지 않는 한, 핵산은 5' 에서 3' 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 표기하며; 아미노산 서열은 아미노에서 카르복시 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 각각 표기한다. 본원에 제공된 제목은 전체로서 명세서를 참조할 수 있는 본원의 다양한 양상 또는 구현예의 제한이 아니다. 따라서, 바로 하기에 정의된 용어는 전체로서 명세서에 참조로서 더욱 완전히 정의된다.

[0031] 용어 "재조합" 은 숙주 세포에서 자연적으로 발생하지 않는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 말한다. 일부 구현예에서, 재조합 분자는 자연적으로 발생하지 않는 방식으로 함께 연결된 2 개 이상의 자연 발생 서열을 함유한다. 재조합 세포는 재조합 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 함유한다.

[0032] 용어 "이종성" 이란, 일반적으로 상호간에 결합되지 않는 요소들에 지칭한다. 예를 들어, 숙주 세포가 이종성 단백질을 생성한다면, 상기 단백질은 일반적으로 상기 숙주 세포에서 생성되지 않는 단백질이다. 마찬가지로, 이종성 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 야생형 숙주 세포 내에서 보통 작동가능하게 연결되지 않는 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터이다. 폴리뉴클레오티드 또는 단백질과 관련하여, 용어 "동종성" 은 숙주 세포에서 자연적으로 발생하는 폴리뉴클레오티드 또는 단백질을 지칭한다.

[0033] 용어 "단백질" 및 "폴리펩티드"가 문맥상 상호 교환가능하게 사용된다.

[0034] "신호 서열" 은 세포로부터 성숙형태 단백질의 분비를 용이하게 하는 단백질의 N-말단 부분에 존재하는 아미노

산의 서열이다. 신호 서열은 기능적인 정의이다. 성숙형태의 세포외부 단백질에는 분비 과정 중 분열되는 신호 서열이 결핍되어 있다.

- [0035] "코딩 서열" 은 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA 절편이다.
- [0036] 용어 "핵산" 은 DNA, RNA, 단일 가닥 또는 이중 가닥 및 이의 화학적 변형을 포함한다. 용어 "핵산" 및 "폴리뉴클레오티드" 는 문맥상 상호 교환가능하게 사용된다.
- [0037] "벡터" 는 하나 이상의 숙주 세포에 핵산을 도입시키기 위해 설계된 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 적합한 벡터는 상이한 숙주 세포에서 자발적으로 복제될 수 있고, 클로닝 벡터, 발현 벡터, 셔틀 벡터, 플라스미드, 파지 입자, 카세트 등을 포함한다.
- [0038] 본원에 사용된 "발현 벡터" 는 적합한 숙주 세포에서 단백질의 발현을 초래할 수 있는 적합한 조절 서열에 작동 가능하게 연결되는 단백질-코딩 영역을 포함하는 DNA 구조체를 의미한다. 일부 구현예에서, 상기 조절 서열은 전사를 초래하는 프로모터, mRNA 를 생성하기 위한 전사를 조절하는 임의의 작동자 서열, mRNA 에 적합한 리보솜 결합 부위를 인코딩하는 서열, 및 전사와 번역의 종결을 조절하는 서열 및 인핸서(enhancer) 를 포함할 수 있다.
- [0039] "프로모터" 는 다운스트림 핵산의 전사를 시작하는 조절 서열이다.
- [0040] 용어 "작동가능하게 연결된" 은 요소를 기능적으로 연관되도록 하는 요소의 배열을 지칭한다. 예를 들어, 프로모터는 서열의 전사를 조절하는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다.
- [0041] 용어 "선별 마커" 는 도입된 핵산 또는 벡터를 함유하는 상기 숙주의 선별을 용이하게 하는 숙주에서 발현가능한 단백질을 지칭한다. 선별 마커의 예에는 항균제 (예를 들어, 하이그로마이신, 블레오마이신, 또는 클로람페니콜) 및/또는 숙주 세포에 신진대사 이익, 예컨대 영양적 이익을 주는 유전자가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.
- [0042] 용어 "유래된" 에는 용어 "~로부터 기원한", "수득된", "~로부터 수득가능한" 및 "~로부터 단리된" 이 포함된다.
- [0043] "비-병원성" 유기체는 인간 및/또는 기타 동물에 병원성이 아닌 유기체이다.
- [0044] 본원에 사용된 용어 "회수된," "단리된," 및 "분리된" 은 자연적으로 결합되는 하나 이상의 성분으로부터 제거된 단백질, 세포, 핵산 또는 아미노산을 지칭한다.
- [0045] 본원에 사용된 바와 같이, 세포에 관련하여 사용된 용어 "형질전환된," "안정적으로 형질전환된" 및 "이식유전자" 는, 세포가 이의 게놈으로 통합되는 비-고유 (예를 들어, 이종성) 핵산 서열을 갖거나, 다세대를 통해 유지되는 에피솜 플라스미드를 의미한다.
- [0046] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "발현" 은 폴리펩티드가 유전자의 핵산 서열에 기초하여 생성되는 과정을 지칭한다. 과정은 전사 및 번역 모두를 포함한다.
- [0047] 세포내로 핵산 서열을 삽입하는 문맥에서 용어 "도입된" 은, "트랜스펙션" "형질전환" 또는 "형질도입"을 의미하고, 핵산 서열이 진핵 또는 원핵 세포로 편입하는 것과 관련하여 포함하고, 여기서 핵산 서열은 세포의 게놈 (예를 들어, 염색체, 플라스미드, 색소체, 또는 미토콘드리아 DNA) 으로 도입되거나, 자발적인 레플리콘으로 전환되거나, 일시적으로 발현될 수 있다 (예를 들어, 트랜스펙션된 mRNA).
- [0048] 용어 "혼성화" 는 당업계에 공지된 바와 같이 염기쌍을 통해 상보적인 가닥과 핵산의 가닥이 결합하는 과정을 나타낸다. 2 개의 서열이 중간 ~ 매우 엄격한 혼성화 및 세정 조건 하에서 서로 특이적으로 혼성화하는 경우 핵산은 기준 핵산 서열과 "선별적으로 혼성화가능한" 것으로 여겨진다. 중간 및 매우 엄격한 혼성화 조건은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 매우 엄격한 조건의 하나의 예는 약 42 °C 로 50 % 포름아미드, 5X SSC, 5X Denhardt 용액, 0.5% SDS 및 100 ug/ml 변성된 운반체 DNA 에서 혼성화 후, 실온에서 2X SSC 및 0.5% SDS 으로 2 회, 42 °C 로 0.1 X SSC 및 0.5% SDS 에서 부가적으로 2 회 세정하는 것을 포함한다.
- [0049] 본원에서 사용되는 바와 같이, "세정 조성물" 및 "세정 제형물" 이란, 식물, 식기, 콘택트 렌즈, 기타 고체 기질, 헤어 (샴푸), 스킨 (비누 및 크림), 치아 (구강세척제, 치약) 등과 같이 세정되는 아이템에서 원하지 않는 화합물 (예를 들어, "얼룩") 을 제거하는데 있어서 유용함이 발견되는 조성물을 지칭한다. 상기 용어는 조성물이 조성물 내의 주제 효소와 혼화가능한 한, 제품 형태 (예를 들어, 액체, 젤, 과립 또는 분무 조성물) 로

특정 유형의 원하는 세정 조성물에 대해 선택되는 임의의 물질/화합물을 포함한다. 세정 조성물 물질의 특정 선별은, 세정될 표면, 아이템 및/또는 직물 및 이용하는 동안 활용되는 세정 조건에 있어서 조성물의 바람직한 형태를 고려함으로써 용이하게 이루어진다.

- [0050] 상기 용어는 세제 조성물 (예를 들어, 액체, 젤 및/또는 고체 세탁물 세제 및 극세사 직물 (fine fabric) 세제; 유리, 목재, 세라믹 및 금속 주방용 조리대 및 창문 등을 세정하는데 사용하기에 적합한 경질 표면 세정용 제형물; 카펫트 클리너; 오븐 클리너; 직물 청정제; 직물 연화제; 및 피륙 (textile) 및 세탁물 예비 얼룩 제거제 (pre-spotter), 및 접시 세제) 을 포함하나, 이에 제한되지 않는 것으로 의도된다.
- [0051] 실제로, 용어 "세정 조성물" 은 다르게 지시되지 않는 한, 본원에서 사용되는 바와 같이, 과립, 정제 또는 분말 형태의 다목적 또는 강질 (heavy-duty) 세척제, 특히 세정 세제; 액체, 젤 또는 페이스트-형태의 다목적 세척제, 특히 강질 액체 (HDL) 유형; 액체 극세사 세제; 설것이 세제 또는 경질 세척제, 특히 고발포 유형의 것들; 가정용 및 기관용의 각종 정제, 과립, 액체 및 행금보조 유형을 포함하는 기계식 식기세척제; 항균 핸드워시 유형, 세정 바 (bar), 구강세척제, 의치 세정제, 자동차 또는 카펫트 샴프, 목욕실 클리너를 포함하는 액체 세정제 및 소독제; 헤어 샴프 및 헤어 린스; 샤워젤 및 거품목욕제 및 금속 클리너; 및 표백 첨가제 및 "얼룩-스틱", "예비 처리" 및/또는 "세탁 첨가제" 와 같은 세정 보조제를 포함한다.
- [0052] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "세제 조성물" 및 "세제 제형물" 은 오염된 대상체의 세정용 세척 매질에서 사용되도록 제형화된 조성물과 관련되어 사용된다. 특정 구현예에서, 상기 용어는 직물 및/또는 의복을 세탁하는 것과 관련하여 사용된다 (예를 들어, "세탁물 세제"). 대안적인 구현예에서, 상기 용어는 기타 세제, 예컨대 접시, 칼붙이 등을 세정하는데 사용되는 것 (예를 들어 "식기세척 세제") 를 지칭한다. 본 발명은 임의의 특정 세제 제형물 또는 조성물에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 실제로, 세제 조성물은 또한 주제 효소 이외에, 계면활성제, 트랜스퍼라아제(들), 가수분해효소, 산화 환원 효소, 강화제, 표백제, 표백 활성화제, 청색화제 (bluing agent) 및 형광 염료, 케이크 저해제, 차폐제, 효소 활성화제, 항산화제 및/또는 가용화제 등을 함유할 수 있다는 것으로 의도된다.
- [0053] 본원에 사용되는 바와 같이, 세정 조성물에서 "향상된 성능" 은 표준 세탁 사이클 후 통상의 평가에 의해 측정된 바와 같은 얼룩 (특히, 천연 검 다당류-관련 얼룩, 예컨대 초콜렛 크림, 샐러드 드레싱, 구아 등을 포함하는 것) 의 세정 (예를 들어, 제거 및/또는 탈색) 을 증가시키는 것으로 정의된다.
- [0054] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "경질 표면 세정 조성물" 이란, 층계, 벽, 타일, 목욕실 및 부엌 설비 등과 같은 경질 표면을 세정하기 위한 세제 조성물을 지칭한다. 이러한 조성물은 고체, 액체, 에멀전 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 형태로 제공된다.
- [0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, "식기세척 조성물" 이란, 젤, 과립 및 액체 형태를 포함하나 이에 제한되지 않는 모든 형태의 식기 세정용 조성물을 지칭한다.
- [0056] 본원에서 사용되는 바와 같이, "직물 세정 조성물" 은 젤, 과립, 액체 및 바 형태를 포함하나 이에 제한되지 않는 모든 형태의 직물 세정용 세제 조성물을 지칭한다.
- [0057] 본원에서 사용되는 바와 같이, "피륙" 은 직포뿐 아니라, 방사, 직포, 니트 및 부직포로 전환 또는 이로서 사용되는 데 적합한 짧은 섬유 및 필라멘트를 지칭한다. 상기 용어는 천연 및 합성 (예를 들어, 제조된) 섬유로 만들어진 방사를 포함한다.
- [0058] 본원에서 사용되는 바와 같이, "피륙 물질" 은 섬유, 방사 중간체, 방사, 직물 및 직물로 만들어진 제품 (예를 들어, 의복 및 기타 성형품) 의 일반 용어이다.
- [0059] 본원에서 사용되는 바와 같이, "직물" 은 임의의 피륙 물질을 포함한다. 따라서, 상기 용어는 의복뿐 아니라, 직물, 방사, 섬유, 부직포 물질, 천연물, 합성물 및 임의의 기타 피륙물을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0060] 본원에 사용되는 바와 같이, "트랜스글루코시다아제의 유효량" 은 특이적 적용 (예를 들어, 세정 조성물 등) 에 필요한 효소 활성을 달성하기 위해 필요한 트랜스글루코시다아제 효소의 양을 지칭한다. 상기 유효량은 당업자에 의해 용이하게 확인되고, 많은 요인, 예컨대 사용된 특정 효소 변이체, 세정 적용, 세정 조성물의 특정 조성물, 및 액체 또는 건조 (예를 들어, 과립, 바) 조성물이 필요한지 여부 등에 기초한다.
- [0061] 용어 "트랜스글루코시다아제" 는 1,4- $\alpha$ -D-글루칸과 조합으로 또는 별개로 1,4- $\alpha$ -D-글루칸 중의  $\alpha$ -D-글루코실 잔기를 글루코오스의 1 차 히드록시기로 옮기는 효소를 말한다. 본원에 기재된 트랜스글루코시다아제는 IUBMB 효소 명명법에 따라, EC 2.4.1.24 로서 기재된 활성을 갖는다. 본원에 기재된 트랜스글루코시다아제

에 대한 분류명은 1,4- $\alpha$ -D-글루칸:1,4- $\alpha$ -D-글루칸(D-글루코오스) 6- $\alpha$ -D-글루코실트랜스페라아제이다. 상기 효소는 특정 문헌에서  $\alpha$ -글루코시다아제로서 언급될 수 있다.

[0062] 용어 "오염된 대상체" 는 대상체 (예를 들어, 직물 또는 식기) 를 지칭하고, 이는 2 차 조성물로 오염 (예를 들어, "얼룩진") 된 것이다. 용어 "오염된 대상체" 에 포함된 것은 더러운 직물, 예컨대 천연 검 다당류를 함유하는 식료품으로 얼룩진 더러운 의류, 린넨, 및 직물이다. 일부 구현예에서, 얼룩은 가시적인 색상을 나타내나, 다른 구현예에서, 얼룩은 가시적인 색상을 나타내지 않는다.

[0063] 용어 "천연 검 다당류" 는 저농도로 용액에서 점도를 크게 증가시킬 수 있는 천연 기원의 비-전분 다당류를 말한다. 이러한 다당류는 식품 산업에서 통상 사용되며, 많은 식료품 (예를 들어, 소스, 크림, 유제품, 아이스크림, 무스, 밀크셰이크, 샐러드 드레싱 등) 에서 증점제, 겔화제 및 안정화제로서 사용된다. 구아검 (식품 첨가물 E412), 콩과 구아콩 관목에서 추출한 식용 증점제, 및 잔탄 검 (식품 첨가물 E415), 글루코오스 또는 수크로오스의 발효로부터 생성된 다당류 (예를 들어, 잔토모나스 캄페스트리스 (*Xanthomonas campestris*)) 가 천연 검 다당류의 예들이다. 기타 천연 검 다당류에는 아가 (E406), 알긴산 (E400),  $\beta$ -글루칸, 카란기난 (E407), 치클검, 담마르 검, 겔란 검 (E418), 글루코만난 (E425), 아라비아검 (E414), 가티검, 트래거캔스 검 (E413), 카라야검 (E416), 로커스트 빈 검 (E410), 마스틱검, 나트륨 알기네이트 (E401), 스프루세 검 및 타라검 (E417) 이 포함되나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0064] 용어 "비-전분 식품 다당류 분해 효소" 는 비-전분 식품 다당류를 분해하는 효소를 지칭한다. 대표적인 효소에는 헤미셀룰라아제, 만난나아제, 펙티나아제, 자일라나아제,  $\beta$ -갈락토시다아제 및  $\alpha$ -갈락토시다아제가 포함되나, 이에 제한되지 않는다.

[0065] 용어 "작동 pH" 는 사용 중 세제의 pH 를 지칭한다. 예를 들어, 세탁 세제의 작동 pH 는 세탁기에서 밧/또는 또는 손세탁 중 직물을 세척하기 위해 사용될 때 세제의 pH 이다. 마찬가지로, 식기세척용 세제의 작동 pH 는 식기세척기에서 또는 손 식기세척에서 사용되는 세제의 pH 이다. 일부 구현예에서, 농축 또는 고체 형태의 세제는 희석되거나 용해된 후 상기 세제의 pH 가 작동 pH 가 된다.

[0066] 용어 "작동 농도" 는 사용 중 세제에서 효소의 농도를 지칭한다. 예를 들어, 세탁 세제에서 효소의 작동 농도는, 세탁 세제가 세탁기에서 또는 손세탁 중 직물을 세탁하기 위해 사용될 때 상기 효소의 농도이다. 마찬가지로, 식기세척용 세제에서 효소의 작동 농도는 식기세척기에서 또는 설거지 중 사용될 때 세제에서의 상기 효소의 농도이다. 일부 구현예에서, 농축된 또는 고체 형태의 세제는 희석되거나 용해된 후 세제에서 효소의 농도가 이의 작동 농도가 된다.

[0067] **발명의 상세한 설명**

[0068] 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류가 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질인 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위해 트랜스글루코시다아제 효소를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물 및 방법은 세정 적용에서의 유용성을 발견한다. 게다가 본 발명은 트랜스글루코시다아제 효소를 함유하는 다양한 조성물 뿐 아니라, 조성물의 사용 방법을 제공한다.

[0069] **트랜스글루코시다아제 효소-함유 조성물**

[0070] 상기 명시된 바와 같이, 본 발명은 트랜스글루코시다아제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 하나 이상의 트랜스글루코시다아제 효소, 및 천연 검 다당류를 포함하며, 상기 천연 검 다당류는 상기 트랜스글루코시다아제 효소에 대한 기질이다.

[0071] 상기 명시된 바와 같이, 트랜스글루코시다아제 효소는 일반적으로 IUBMB 효소 명명법에 따라 EC 2.4.1.24 로 정의된 활성을 가지며, 그 활성은 특정 글루칸 내의 글루코실 잔기를 글루코오스의 1 차 히드록시기로 옮긴다. 일부 구현예에서, 효소는 또한 다당류 백본을 분해하기 위해 내부 결합을 분해하거나 당 측쇄를 절단하여 천연 검 다당류 (예를 들어, 잔탄, 및 갈락토만난-함유 다당류, 예컨대 구아 검 또는 리마 빈 검) 을 분해하는 활성을 가질 수 있다.

[0072] 임의의 적합한 트랜스글루코시다아제 효소가 본 발명에 사용될 수 있다 (예를 들어, Pazur et al., Carbohydr. Res. 1986 149:137-47 [1986]; 및 Nakamura et al., J. Biotechnol., 53:75-84 [1997] 참조). 일부 구현예에서, 본 발명에 사용될 수 있는 트랜스글루코시다아제 효소는 시판된다 (예를 들어, Megazyme, Wicklow, Ireland; 또는 Danisco US Inc., Genencor Division, Palo Alto, CA 로부터 취득되는 효소를 포함하나 이에 제

한되지 않음). 일부 구현예에서, 효소는 트리코데르마 레세이 (*Trichoderma reesei*) 세포에서 생성되는 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*) 트랜스글루코시다아제이다. 일부 부가적인 구현예에서, 트랜스글루코시다아제는 야생형 진균류 트랜스글루코시다아제이다 (예를 들어, 접근 번호: D45356 (GID:2645159; 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*)), BAD06006.1 (GID:4031328; 아스페르길루스 아와모리 (*Aspergillus awamori*)), BAA08125.1 (GID:1054565; 아스페르길루스 오리자에 (*Aspergillus oryzae*)), XP\_001210809.1 (GID:115492363; 아스페르길루스 테레우스 (*Aspergillus terreus*)), XP\_001271891.1 (GID:121707620; 아스페르길루스 클라바투스 (*Aspergillus clavatus*)), XP\_001266999.1 (GID:119500484; *Neosartorya fischeri*), XP\_751811.1 (GID:70993928; 아스페르길루스 푸미가투스 (*Aspergillus fumigatus*)), XP\_659621.1 (GID:67523121; 아스페르길루스 니둘란스 (*Aspergillus nidulans*)), XP\_001216899.1 (GID:115433524; 아스페르길루스 테레우스 (*Aspergillus terreus*)) 및 XP\_001258585.1 (GID:119473371; 네오사르토르야 피체리 (*Neosartorya fischeri*)) 로서 NCBI GENBANK® 데이터베이스에 기탁된 아미노산 서열을 갖는 진균류 트랜스글루코시다아제, 또는 야생형 진균류 트랜스글루코시다아제와 약 70% 이상 일치, 약 80% 이상 일치, 약 85% 이상 일치, 약 90% 이상 일치, 약 95% 이상 일치, 또는 약 98% 이상 일치하는 아미노산 서열을 갖는 이의 변이체가 포함되나 이에 제한되는 것은 아님).

[0073] 일부 바람직한 구현예에서, 효소는 일반적으로 약 0.01 ppm (백만 당 부, w/v) 내지 약 100 ppm (예를 들어, 약 0.01 ppm 내지 약 0.05 ppm, 약 0.05 ppm 내지 약 0.1 ppm, 약 0.1 ppm 내지 약 0.5 ppm, 약 0.5 ppm 내지 약 1 ppm, 약 1 ppm 내지 약 5 ppm, 약 5 ppm 내지 약 10 ppm, 또는 약 10 ppm 내지 약 100 ppm) 의 범위의 농도로 조성물에 존재한다.

[0074] 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 세정 조성물이다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 계면활성제, 세정제, 및/또는 하기 더욱 상세히 기재되는 기타 직물 케어제를 추가로 포함한다.

[0075] 일부 구현예에서, 천연 검 다당류는 수용액으로 있는 반면, 다른 구현예에서 이것은 대상체에 부착되어 있다 (예를 들어, 직물 또는 경질 표면과 같은 대상체의 표면 상에 존재하는 얼룩과 같이). 일부 구현예에서, 천연 검 다당류는 건조된 형태로 있다. 천연 검 다당류는 통상적으로 다양한 식료품에 사용되므로, 일부 구현예에서, 대상체는 천연 검 다당류를 함유하는 식료품으로 오염된다. 천연 검 다당류를 함유하는 예시적인 식료품에는 소스, 크림, 유제품, 아이스크림, 무스, 밀크셰이크, 샐러드 드레싱, 과일 주스 음료, 통조림 과일, 젤리, 간장, 굴소스, 포장육, 치즈 및 제과류가 포함되나 이에 제한되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 천연 검 다당류는 약 0.1% 내지 약 1.5%, 약 0.1% 내지 약 0.5%, 약 0.5% 내지 약 1.0%, 약 1.0%, 또는 약 1.5% 의 농도로 식료품에 존재한다.

[0076] 일부 바람직한 구현예에서, 트랜스글루코시다아제는 통상적인 방법을 사용하여 생성된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이것은 원형질막 주위공간 내로 (예를 들어, 그람-음성 유기체, 예컨대 *E. 콜라이* (*E. coli*) 에 의해), 또는 세포외 공간 내로 (예를 들어, 그람-음성 유기체, 예컨대 바실러스 (*Bacillus*) 및 악티노마이세테스 (*Actinomycetes*)), 또는 진핵 숙주 (예를 들어, 트리코데르마 (*Trichoderma*), 아스페르길루스 (*Aspergillus*), 사카로마이세스 (*Saccharomyces*), 및 피치아 (*Pichia*)) 내로 분비된다.

[0077] 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 *T. 레세이* (*T. reesei*) 숙주 세포 내의 트랜스글루코시다아제 효소에 작동가능하게 연결된 신호 서열을 함유하는 융합 단백질을 발현하여 생성된다. 일부 이러한 구현예에서, 트랜스글루코시다아제 효소는 배지 내에 분비되고, 이로부터 수확된다. 임의의 신호 서열은 트리코데르마 (*Trichoderma*) 숙주 세포로부터의 단백질 분비가 용이한 적합한 융합 단백질에 사용된다. 일부 구현예에서, 신호 서열은 내생성인 반면, 다른 구현예에서 이것은 트리코데르마 (*Trichoderma*) 숙주 세포에 대해 비-내생성이고, 일부 구현예에서, 이것은 트리코데르마 종 (*Trichoderma sp.*) 숙주 세포로부터 고도로 분비되는 것으로 알려진 단백질의 신호 서열이다. 이러한 신호 서열에는 셀로바이오히드롤라아제 I, 셀로바이오히드롤라아제 II, 엔도글루카나아제 I, 엔도글루카나아제 II, 엔도글루카나아제 III, α-아밀라아제, 아스파르틸 프로테아제, 글루코아밀라아제, 만난나아제, 글리코시다아제 및 보리 엔토크립타다아제 B (예를 들어, Saarelainen, Appl. Environ. Microbiol., 63: 4938-4940 [1997] 참조) 의 신호 서열이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 그리고 본 명세의 실시예 섹션에서 추가로 기재되는 바와 같이, 트랜스글루코시다아제는 자기 자신의 신호 서열 (즉, AGL1, AGL2 또는 AGL3 신호 서열) 을 사용하여 분비된다.

[0078] 그러므로 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제는 트랜스글루코시다아제-인코딩 핵산에 작동가능하게 연결된 신호 서열-인코딩 핵산 (여기서 핵산의 번역은 트리코데르마 (*Trichoderma*) 숙주 세포로부터 트랜스글루코시다아제 부분의 분비에 대한 N-말단 신호 서열을 갖는 트랜스글루코시다아제 부분을 포함하는 융합 단백질을 생성

함) 을 포함하는 핵산을 사용하여 생성된다.

- [0079] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 신호 서열 이외에, *T. 레세이* 종 (*T. reesei* sp.) 숙주 세포에 의해 고도로 분비되고, 이에 내생적인 단백질의 부분인 "운반체 단백질" 을 추가로 포함한다. 적합한 운반체 단백질은 *T. 레세이* (*T. reesei*) 만난나아제 I (Man5A, 또는 MANI), *T. 레세이* (*T. reesei*) 셀로바이오히드롤라아제 II (Cel16A 또는 CBHII) (예를 들어, Paloheimo et al., Appl. Environ. Microbiol., 69:7073-7082 [2003] 참조) 또는 *T. 레세이* (*T. reesei*) 셀로바이오히드롤라아제 I (CBHI) 의 것을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 운반체 단백질은 CBH1 코어 영역 및 CBH1 연결 영역의 일부를 포함하는 절단된 *T. 레세이* (*T. reesei*) CBH1 단백질이다. 그러므로, 일부 구현예에서, 작동가능한 연결로 아미노-말단에서 카르복시-말단까지, 신호 서열, 운반체 단백질 및 주제 파이타아제를 함유하는 융합 단백질을 인코딩하는 핵산이 사용된다.
- [0080] 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제의 코딩 서열은 사용되는 숙주 세포에서 트랜스글루코시다아제의 발현을 위해 최적화된 코돈이다. 트리코데르마 레세이 (*Trichoderma reesei*) 를 비롯하여 많은 숙주 세포에서 각 코돈의 사용을 나열한 코돈 사용표는 당업계에 공지되어 있거나 (예를 들어, Nakamura et al., Nucl. Acids Res., 28: 292 [2000] 참조), 용이하게 추론가능하기 때문에, 상기 핵산은 발현되는 트랜스글루코시다아제의 아미노산 서열을 제공하기 위해 용이하게 설계될 수 있다.
- [0081] 일부 구현예에서, 코딩 서열 이외에, 핵산은 숙주 세포에서 트랜스글루코시다아제 효소의 발현에 필요한 기타 요소를 추가로 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 핵산은 코딩 서열의 전사를 위한 프로모터, 및 전사 종결자를 함유한다. 사용되는 예시적인 프로모터는 *T. 레세이* (*T. reesei*) *cbh1*, *cbh2*, *egl1*, *egl2*, *eg5*, *xln1* 및 *xln2* 프로모터, 또는 이의 잡종 또는 절단 형태를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 프로모터는 *T. 레세이* (*T. reesei*) *cbh1* 프로모터이다. 적합한 종결자는 *T. 레세이* (*T. reesei*) *cbh1*, *cbh2*, *egl1*, *egl2*, *eg5*, *xln1* 및 *xln2* 종결자, 및 예를 들어 *A. 니게르* (*A. niger*) 또는 *A. 아와모리* (*A. awamori*) 글루코아밀라아제 유전자를 비롯한, *아스페르길루스 니둘란스* (*Aspergillus nidulans*) 안트라닐레이트 신타아제 유전자, *아스페르길루스 오리자에* (*Aspergillus oryzae*) TAKA 아밀라아제 유전자, 또는 *A. 니둘란스* (*A. nidulans*) *trpC* (Punt et al., Gene 56: 117-124 [1987]) 의 종결자를 포함하는 다양한 종결자를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 프로모터 및/또는 종결자는 트리코데르마 종 (*Trichoderma* sp.) 숙주 세포에 고유하고, 한편 다른 구현예에서, 그들은 트리코데르마 종 (*Trichoderma* sp.) 숙주 세포에 대해 비-내생적이다.
- [0082] 일부 구현예에서, *T. 레세이* (*T. reesei*) 숙주 세포는 트랜스글루코시다아제 효소의 발현에 이용되고, 세포는 유전학적으로 변형되어 상기 세포에 내생적인 분비되는 단백질의 발현을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 세포는 결실되거나 비활성화된 하나 이상의 고유 유전자, 특히 분비된 단백질을 인코딩하는 유전자를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 프로테아제-인코딩 유전자 (예를 들어, *아스파르틸 프로테아제-인코딩 유전자*; Berka et al., Gene 86:153-162 [1990]; 및 미국 특허 제 6,509,171 호 참조) 또는 셀룰라아제-인코딩 유전자는 결실되거나 비활성화된다. 일부 구현예에서, 트리코데르마 종 (*Trichoderma* sp.) 숙주 세포는 WO 05/001036 에 기재된 바와 같이, *cbh1*, *cbh2* 및 *egl1*, 및 *egl2* 유전자에서 비활성화 결실을 함유하는 *T. 레세이* (*T. reesei*) 숙주 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 기술된 핵산은 트리코데르마 종 (*Trichoderma* sp.) 숙주 세포의 핵 게놈에 존재하고, 한편 다른 구현예에서, 트리코데르마 (*Trichoderma*) 숙주 세포에서 복제된 플라스미드에 존재한다.
- [0083] 트리코데르마 (*Trichoderma*) 숙주 세포에 핵산을 도입하기 위한 임의의 적합한 방법 (예를 들어, 전기 천공법, 핵 미세주사법, 형질도입, 트랜스팩션, 리포팩션 매개성 및 DEAE-텍스트린 매개성 트랜스팩션, 인산칼슘 DNA 침전물로 인큐베이션, DNA-코팅 미세투사 (microprojectile) 로 고속 조사 (high velocity bombardment), 및 원형질체 융합) 이 본 발명에 사용된다. 게다가, 일반적인 형질전환 기술은 종래기술에 공지되어 있다 (예를 들어, Campbell et al., Curr. Genet., 16:53-56 [1989]; WO 05/001036; 미국 특허 제 6,022,725 호; 미국 특허 제 6,103,490 호; 미국 특허 제 6,268,328 호; 및 공개 미국 특허 출원 일련번호 제 20060041113 호, 20060040353 호, 20060040353 호 및 20050208623 호, 이들 모두는 본원에 참조로서 인용됨). 일부 구현예에서, 형질전환을 위한 트리코데르마 (*Trichoderma*) 의 제조법은 균질의 균사체로부터 원형질체의 제조법을 포함한다. (Campbell et al., 상기 참조). 일부 구현예에서, 균사체는 발아 영양 포자 (vegetative spore) 로부터 수득된다.
- [0084] 일부 구현예에서, 배지 내로 분비되면, 트랜스글루코시다아제 효소는 임의의 적합한, 통상적인 방법 (예를

들어, 침전법, 원심분리법, 친화력법, 여과법 또는 당업계에서 공지된 임의의 기타 방법) 을 사용하여 회수된다. 예를 들어, 친화력 크로마토그래피 (Tilbeurgh et al., FEBS Lett., 16:215 [1984]); 고 분해능 물질을 사용한 이온교환 (Medve et al., J. Chromatography A 808: 153 [1998]) 을 포함하는 이온-교환 크로마토그래피법 (Goyal et al., Biores. Technol., 36:37 [1991]; Fliess et al., Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 17:314 [1983]; Bhikhabhai et al., J. Appl. Biochem. 6:336 [1984]; 및 Ellouz et al., Chromatography 396:307 [1987]); 소수성 상호작용 크로마토그래피 (Tomaz and Queiroz, J. Chromatogr. A 865: 123 [1999]; 2 상 분배 (Brumbauer et al., Bioseparation 7:287 [1999]); 에탄올 침전; 역상 HPLC; 실리카 또는 양이온-교환 수지 (예를 들어, DEAE) 상 크로마토그래피; 크로마토포커싱; SDS-PAGE; 황산암모늄 침전; 또는 겔 여과법 (예를 들어, Sephadex G-75) 에서 유용함을 발견하였다. 일부 구현예에서, 트랜스글루코시다아제는 배지의 기타 성분으로부터 정제없이 사용된다. 이들 구현예 중 일부에서, 배지는 간단히 농축시킨 다음, 성장 배지의 성분으로부터 단백질의 추가 정제 없이 사용되거나 임의의 추가 변형 없이 사용되는 반면, 기타 구현예에서, 이것은 임의의 추가 변형 또는 처리 없이 사용된다.

[0085] 또한 본 발명은 천연 검 다당류를 분해하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 방법에는 천연 검 다당류가 분해되는 조건 하에서 트랜스글루코시다아제 효소를 천연 검 다당류와 조합 (예를 들어, 혼합) 하는 것이 포함된다. 트랜스글루코시다아제 효소의 활성에 적합한 조건 (예를 들어, 온도 범위, pH 범위, 및 트랜스글루코시다아제 효소의 활성에 적합한 기타 반응 성분) 은 당업계에 공지되어 있다.

[0086] **세정 방법**

[0087] 상기 기술된 트랜스글루코시다아제-함유 조성물 이외에, 본 발명은 또한 세정 방법을 제공한다. 상기 방법에는 일반적으로 하나 이상의 천연 검 다당류로 오염된 대상체를 트랜스글루코시다아제 효소를 포함하는 세정 조성물과 접촉시킴; 및 천연 검 다당류의 분해가 이뤄지기에 충분한 조건 하에서 대상체와 세정 조성물을 함께 유지하여 대상체를 세정함이 포함된다.

[0088] 일부 바람직한 구현예에서, 상기 방법에 사용되는 세정 조성물은 식물 세정 조성물 (즉, 세탁 세제), 표면 세정 조성물, 식기류 세정 조성물, 자동 식기세척기 세제 조성물 등이다. 세정 조성물에 대한 다양한 제형물은 본원에 참조 인용되는 W00001826 에 상세히 기술되어 있는 것을 포함하나 이에 제한되지 않으면서 본 발명에 사용된다.

[0089] 일부 구현예에서, 요지인 세정 조성물 (예를 들어, 세탁 세제) 은 약 1 중량% 내지 약 80 중량% (예를 들어, 약 5 중량% 내지 약 50 중량%) 의 계면활성제 (예를 들어, 비이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 음이온성 계면활성제 또는 썬비터이온성 계면활성제 또는 이의 임의의 혼합물, 예컨대 음이온성과 비이온성 계면활성제의 혼합물) 를 하나 이상 함유한다. 예시적인 계면활성제에는 선형 알킬 벤젠 술포네이트 및 선형 알킬 나트륨 술포네이트를 비롯한 알킬 벤젠 술포네이트 (ABS), 알킬 페녹시 폴리옥시 에탄올 (예를 들어, 노닐 페녹시 에톡실레이트 또는 노닐 페놀), 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 및 모노에탄올아민이 포함되나 이에 제한되는 것은 아니다. 세제, 특히 세탁 세제에서 존재할 수 있는 예시적인 계면활성제는, 각각 참조로서 본원에 인용된 미국 특허 제 3,664,961 호, 제 3,919,678 호, 제 4,222,905 호, 및 제 4,239,659 호에 기술되어 있다.

[0090] 일부 구현예에서, 요지의 세정 조성물은 고형 (예를 들어, 분말 또는 정제 형태), 액체 또는 젤이다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 완충제 (예를 들어, 탄산나트륨, 또는 중탄산나트륨), 세제 강화제, 표백제, 표백 활성화제, 효소, 효소 안정화제, 비누거품 부스터, 억제제, 향변색제, 향부식제, 오염 현탁화제, 오염 방출제, 살균제, pH 조절제, 비강화제 알칼리원, 킬레이트제, 유기 또는 무기 충전제, 용매, 히드로트로프 (hydrotrope), 형광 증백제), 염료, 향료 등을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 세정 조성물은 사용전 세탁 첨가제로서 세제와 조합된다.

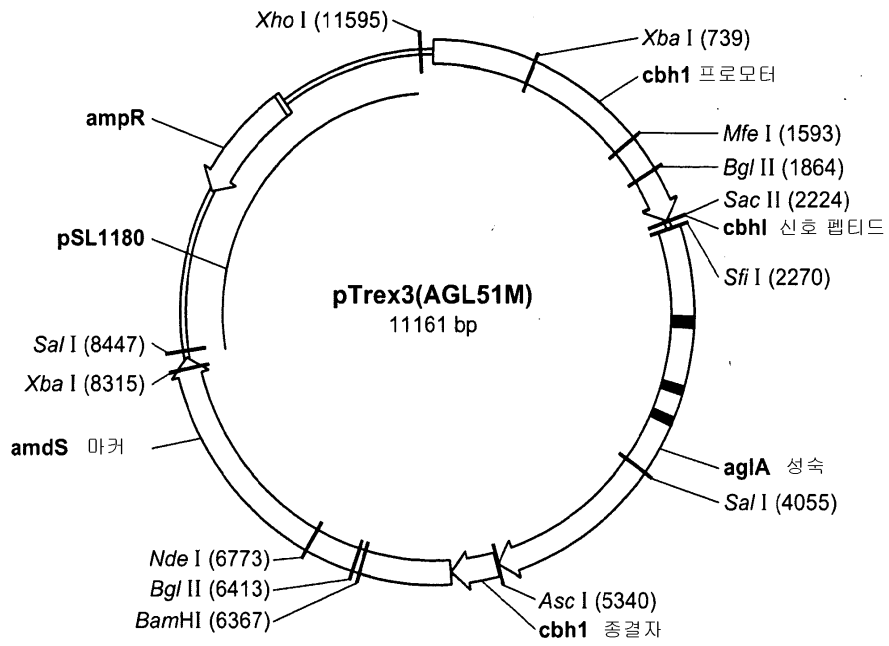
[0091] 일부 구현예에서, 세정 조성물은 기타 얼룩을 제거하기 위해, 비-전분 식품 다당류 분해 효소 (예를 들어, 헤미셀룰라아제, 만난나아제, 펙티나아제, 자일라나아제, 또는 펙틴 분해효소) 및 임의로 하나 이상의 기타 효소 (예를 들어, 프로테아제, 예컨대 서브틸리신 프로테아제 및/또는 SSI 단백질; 리파아제, 아밀라아제, 셀룰라아제, 큐티나아제, 리파아제, 산화 환원 효소 등) 를 추가로 함유한다.

[0092] 세제 세정 조성물에 유용한 광범위한 종류의 기타 성분이 기타 활성 성분, 담체, 히드로트로프, 가공 보조제, 염료 또는 안료, 액체 제형물용 용매 등을 포함하나 이에 제한되지 않으면서 본원에 제공되는 조성물에 유용함을 발견하였다. 추가 거품화 증가가 바람직한 구현예에서, C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> 알콜아미드와 같은 비누거품 부스터가 전형적으로 조성물의 약 1 내지 약 10 중량% 수준으로 조성물에 혼입된다.

- [0093] 일부 구현예에서, 세제 조성물은 물 및 담체와 같은 기타 용매를 함유한다. 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 이소프로판올로 예시되는 저분자량 1 차 또는 2 차 알코올이 이러한 담체로서 사용하기 적합하다. 일부 구현예에서, 1 가 (monohydric) 알코올이 계면활성제를 용해하는데 바람직하나, 예컨대 약 2 내지 약 6 개 탄소 원자 및 약 2 내지 약 6 개의 히드록시기 를 함유하는 폴리올 (예를 들어, 1,3-프로판디올, 에틸렌 글리콜, 글리세린 및 1,2-프로판디올) 에서 유용함이 또한 발견된다. 일부 추가의 구현예에서, 조성물은 약 5 % 내지 약 90 %, 전형적으로 약 10 % 내지 약 50 % 의 상기 담체를 포함한다.
- [0094] 일부 바람직한 구현예에서, 본원에 제공되는 세제 조성물은 수성 세정 작업 중에 사용되는 동안, 세정수의 pH 가 약 5.0 내지 약 11.5 이 되도록 제형화된다. 따라서, 완제품은 전형적으로 상기 범위 내로 제형화된다. 권고되는 취급값으로 pH 를 조절하는 기술에는, 완충액, 알칼리, 산 등을 이용하는 것이 포함되고, 이는 익히 당업자에게 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 세정 조성물은 작동 pH 가 약 pH 9.0 내지 약 pH 11.5, 약 pH 9.0 내지 약 pH 9.5, 약 pH 9.5 내지 약 pH 10.0, 약 pH 10.0 내지 약 pH 10.5, 약 pH 10.5 내지 약 pH 11.0, 또는 약 pH 11.0 내지 약 pH 11.5 의 범위에 있는 자동 식기세척기 세제를 포함한다. 일부 기타 구현예에서, 세정 조성물은 작동 pH 가 약 pH 7.5 내지 약 pH 8.5, 약 pH 7.5 내지 약 pH 8.0, 또는 약 pH 8.0 내지 약 pH 8.5 의 범위에 있는 액체 세탁 세제이다. 일부 기타 구현예에서, 세정 조성물은 작동 pH 가 약 pH 9.5 내지 약 pH 10.5, 약 pH 9.5 내지 약 pH 10.0, 또는 약 pH 10.0 내지 약 pH 10.5 의 범위에 있는 고체 세탁 세제를 포함한다.
- [0095] 퍼카르보네이트, 퍼보레이트 등과 같은 각종 표백 화합물이 또한 본 발명의 세정 조성물에서 유용함이 또한 발견되며, 전형적으로 약 1 중량% 내지 약 15 중량% 의 수준으로 존재한다. 원한다면, 상기 조성물은 또한 표백 활성화제, 예컨대, 테트라아세틸 에틸렌디아민, 노나노일옥시벤젠 술포네이트 등을 포함하며, 이는 당업계에 공지되어 있다. 취급값은 전형적으로 약 1 중량% 내지 약 10 중량% 범위이다.
- [0096] 각종 오염 방출제, 특히 음이온성 올리고에스테르 유형의 방오제, 각종 킬레이트제, 특히 아미노포스포네이트 및 에틸렌디아민디숙시네이트, 각종 점토 오염 제거제 (clay soil removal agent), 특히 에톡실화 테트라에틸렌 펜타민, 각종 분산제, 특히 폴리아크릴레이트 및 폴리아스파라테이트, 각종 증백제, 특히 음이온성 증백제, 각종 비누거품 억제제, 특히 실리콘 및 2 차 알코올, 각종 식물 연화제, 특히 스멕타이트 점토 (smectite clay) 등이 약 1 중량% 내지 약 35 중량% 의 범위 값으로 다양한 조성으로 유용함이 발견된다. 표준 제형 방식 및 공개 특허는 본 발명에 의해 제공된 조성물에 유용함이 발견되는 이러한 통상의 물질의 여러 개의, 상세화된 기재 방식을 함유한다.
- [0097] 일부 구현예에서, 효소 안정화제 또한 본원에 제공된 세정 조성물에서 유용함이 발견된다. 이러한 안정화제에는 프로필렌 글리콜 (바람직하게는 약 1 % 내지 약 10 %), 나트륨 포르메이트 (바람직하게는 약 0.1 % 내지 약 1 %), 및 칼슘 포르메이트 (바람직하게는 약 0.1% 내지 약 1%) 이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0098] 일부 구현예에서, 경질 표면 세정 조성물 및/또는 식물 세정 조성물은 약 5 중량% 내지 약 50 중량% 의 수준의 각종 강화제를 추가로 포함하여 제형화된다. 전형적인 강화제에는, 1 ~ 10 마이크론 제올라이트, 폴리카르복실레이트, 예컨대 시트레이트 및 옥시디숙시네이트, 층을 이룬 실리케이트, 포스페이트 등이 포함된다. 기타 통상적인 강화제는 표준 제형 방식에 기술되어 있고, 본 발명에서 유용함을 발견한다.
- [0099] 기타 임의의 성분들에는 킬레이트제, 점토 오염 제거/재퇴적 방지제, 중합체성 분산제, 표백제, 증백제, 비누거품 억제제, 용매 및 미용제가 포함된다.
- [0100] 본 발명에 의해 제공되는 세정 조성물은 트랜스글루코시다아제 효소를 함유하지 않은 동등한 방법보다 특정 얼룩 (예를 들어, 천연 검 다당류를 함유하는 식료품 얼룩) 제거에 더욱 효과적이다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 발명의 세정 조성물은 트랜스글루코시다아제 효소를 함유하지 않은 다른 동등한 세정 조성물과 비교하였을 때 얼룩 제거에 더욱 효과적이다. 표준 반사계-기반 검정법을 사용하면, 예를 들어 본 발명의 방법은 트랜스글루코시다아제 효소를 함유하지 않은 동등한 방법보다 약 20 % 이상, 약 40 % 이상, 약 60 % 이상, 약 80 % 이상 또는, 일부 구현예에서는 약 90 % 이상 더 얼룩을 제거하고/하거나 탈색시킨다.
- [0101] 본 발명 및 이의 이점을 추가로 증명하기 위해, 하기 특정 실시예가 본 발명을 증명하는 것으로 제공되는 것으로 이해되며 제시되며, 발명의 범주를 제한하는 임의의 방식으로 파악되서는 안된다.

도면

도면1



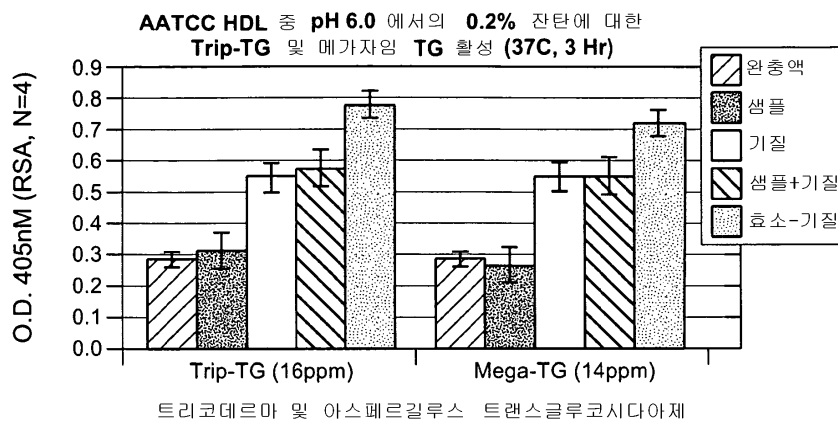
도면2a

TCTAGAGTTGTGAAGTCGGTAATCCCCTGTATAGTAATACGAGTCGCATCTAAACTCCGAA  
 GCTGCTGCGAACCCGGAGAATCGAGATGTGCTGGAAAGCTTCTAGCGAGCGGCTAAATAGCAA  
 AAGGCTATGAGAAATTC TGAGACGGCTTGTGAATCATGGCGTTCCATTCTTCGACAAGCAAA  
 GCGTTCGGTCGCAGTAGCAGGCATCATTCCC GAAAAAATCGGAGATTCCTAAGTAGCGAGAA  
 CCGGAATAATAATAAGGCAATACATGAGTTCCCTCGACGGTTGCAATGCAGGGGTA CTGAGC  
 TTGGACATAACTGTTCCGTACCCACCTCTTCTCAACCTTTGGCGTTTCCCTGATT CAGGTCCC  
 GTACAAGTCGTAATCACTATTAACCCAGACTGACCCGACGTGTTTTGCCCTTCATTTGGAGAAA  
 TAATGTCAATTCCGATGTGTAATTTGCTGCTTGACCGACTGGGGCTGTTTGAAGCCAAATTAGG  
 ATTGTTATCCGAACTCTGCTCGTAGAGGCATGTGTGAATCTGTGTCGGGCAGGACACGCCTCG  
 AAGGTTACGGCAAGGGAAACCACCGATAGCAGTGTCTAGTAGCAACCTGTAAGCGCATGCAG  
 CATCACTGGAAAATACAAACCAATGGCTAAAAGTACATAAGTTAATGCCTAAAGAAGTCATATA  
 CCAGCGGCTAATAATTGTACAATCAAGTGGCTAAACGTACCGTAATTTGCCAAGGCTTTGGGGT  
 TGCAGAAGCAACGGCAAAGCCCCACTTCCCCACGTTTGTTCCTTCACTCAGTCCAATCTCAGCT  
 GGTGATCCCCAATTGGGTCGCTTGTTCCTGTTCCGGTGAAGTGAAGAAGACGAGGTAGAATGTC  
 TGATCGGAGCGTTTTGCATACAACCAAGGCGATGATGGAAGACAGTGAATGTTGACATCA  
 AGGAGTATTTAGCCAGGGATGCTTGAGTGTATCGTGAAGGAGGTTTGTGCGGATCGACGAAT  
 ACTGTATAGTCACTTCTGATGAAGTGGTCCATATTGAAATGTAAGTCGGCACTGAACAGGCAAA  
 AGATTGAGTTGAAACTGCCTAAGATCTCGGGCCCTCGGGCTTCGGCTTTGGGTGACATGTTTG  
 TGCTCCGGGCAATGCAAAGTGTGGTAGGATCGAACACACTGCTGCCTTTACCAAGCAGCTGAG  
 GGTATGTGATAGGCAAATGTT CAGGGGCCACTGCATGGTTTCGAAAGAAAGAGAGCTTAGCCAA  
 GAACAATAGCCGATAAAGATAGCCTCATTAACCGGAATGAGCTAGTAGGCAAAGTCAGCGAATG  
 TGTATATAAAGGTTTCGAGGTCCTGCTCCCTCATGCTC FCCCATCTACTCTCAACTCAGAT  
 CCTCCAGGACTTGTACACCATCTTTTGAGGCACAGAAACCAATAGTCAACCGGGACTGCG  
 CATCATGTATCGGAAGTTGGCCGTCATCTCGGCCTTCTTGCCACAGCTCGTGTCCACCACTGC  
 CCCTTCGACCCGAGTTTACCATTCTGCTTCCGCAGATGTGGTGGCAGCTGATTGCCAAC  
 ATCGATGATCCTCAGGCTGCCGACGCGCAGTCGGTTTGTGCGGCTACAAGGTTCAAAGTGCAG  
 CACAATTCACGTGGATTCACTGCCAGTCTTCAGCTCGCGGGCAGGCCATGTAACGTATACGGCA  
 CAGATGTTGAGTCTTGACTCCACAACGCTTCTTGTTACTTTCTTCGGAAAACCTGGTCCCAG  
 ACCCAAGGCTTCCCTCAATGCATCTGTATCCAGACGACCTTTTGTGTATGGTCAAATGAGCC  
 GTCGTTCAATTTCAAGGTGATCCGAAAGGCTACAGGCGACGCGCTTTTCAGTACAGAAGGCACT  
 GTGCTCGTATATGAGAATCAGTTCATCGAATTTTGACCGGCTCCCTGAGAATATAACTTGTAT  
 GGCTTTGGGAGCATATCAGCAATTCGCCTCCAGAGAAATGCTAATCTGACCATATATCCTT  
 CGGATGATGGAACACTATTGACCAGTGAGTCTGATATCCC GCCGTTCTTCTGGTTCTACTCT  
 TGAAACTTACTCGTCTAGAAAACCTTACGGCCAACATCCCTTCTATCTGGATAACAAGATATTA  
 CAAAGGAGATAGGCAGAATGGGTCTTATATCCCGTCAAAGCAGCGGGCTGATGCCTCGCAAGA  
 TTATATCTCCCTCTCTCATGGCGTGTTC TGAGGAACCTCATGGACTTGAGATACTCTCCGG  
 TCTCAAAAATGATCTGGCGGACCCTAGTGGAGGAATCGATCTCACTTCTACTCAGGCCCCGCC  
 CCGGCCGATGTTACCAGGCAATATCTTACCAGCACTGTGGGATTACCGCCATGCAGCAATACA  
 AACTCTTGATTCACC AATGTCTGGGGCTACAACAACCTGGTGGATCTGGCGGACGTTGTTG  
 CGAACTTTGAGAAGTTTGAGATCCCGTTGGAATATATCTGGTGGATTTGACTGGTTTATGGT  
 ATCTCAAAACAGTCTAACAGGCATTAGGACCGATATTGACTACTGCACGGATATCGCAACTTTG  
 ACAACGATCAACATCGCTTTCTACAGTGAGGGCGATGAATTTCTCAGCAAGCTACATGAGAG  
 TGGACGCTACTATGTACCCATGTTGATGCGGCGCTTACATTCTAATCCGAAAATGCCTCTGA  
 TGCGTAAGTGTCTAGTGACAAATATATTA TACTGCCTGTATGCTAATTAGCGATACAGATACGCT

도면2b

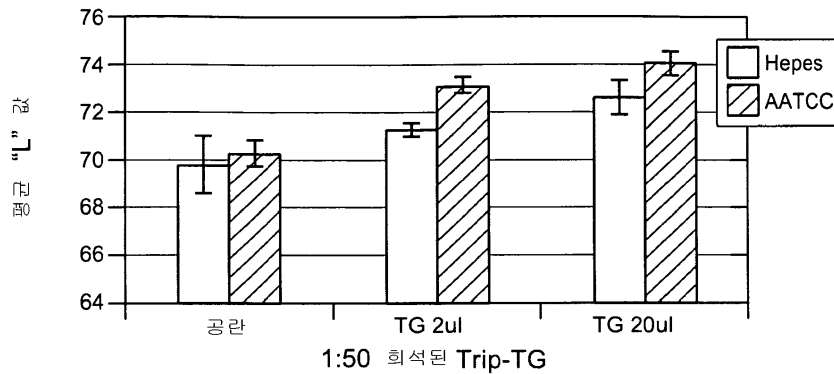
ACGTATGACAGAGGAGCTGGGACGACGTCTTCCTCAAGAATCCGATGGTAGCCTCTATATTGGA  
 GCCGTTTGGCCAGGATATACAGTCTTCCCGATTGGCATCATCCAAGGCAGTTGACTTCTGGG  
 CTAACGAGCTTGTATCGGTCGAAGAAAGTGGCGTTCGATGTGTGGTACGACATGTCGAAG  
 TTTCATCCTTCTGTGTCCGGAGCTGTGGCACAGGTAACCTGACTCTGAACCCGGCACACCATC  
 GTTCTTCTCCCGGGAGCCTGGTGATATCATATATGATACCCAGAGGCTTTCAATATCACCAA  
 CGCTACAGAGGGCGGTCAGCTTCGGCGGAGCTTCCAGTCAGGTCGAGCAACCCGGACCACC  
 ACGTGCACCTCGGATCATATCTGCGGACAACGCCACGCTGGTGTCCGCAATGTTGAGCACCCA  
 CCTATGTGATCAACCATGACCAAGAAGGCCATGATCTCAGTGCCATGCGGTGTCGCCGAATG  
 CAACGCATGTTATGGTGTGAGGAGTATGATGTGCACGTCTCTACGGACATCAAGGATTGAACG  
 CTACCTACCAAGGTCTGCTTGAGGTCGGTCTCATAAGCGGCGGCCATTTATTATTGGCCGCTC  
 AACCTTCGCGGCTCTGGCAAATGGGCAGGCCACTGGGCGGCGACAACCTATTCAAATGGTGGTC  
 CATGTACTACTCCATCTCGCAAGCCCTCTCCTTCTCACTTTTCGGCATTCCGATGTTTGGTGCG  
 GACACCTTGGGTTTAAACGGAAACTCCGATGAGGAGTCTGCAACCGATGGATGCAACTGTCCGCA  
 TTCTTCCCATTCTACCGAAACCACAATGAGCTCTCCACAATCCCACAGGAGCCTTATCGGTGGG  
 CTCTTTTATTGAAGCAACCAAGTCCGCCATGAGATTGGTACGCCATCTACCTTACTTTTATA  
 CGTTGTTTGACCTGGCCACACCACGGGCTCCACTGTAATGCGCGCACTTTCTCGGAAATCCC  
 TAAGACCCAACATTGGCTGCGGTTGAGACTCAATCATGGTTGGGCCGGCCATCATGGTGGTCCC  
 GGTATTGGAGCCTCTGGTCAATACGGTCAAGGGCGTATTCCCAGGAGTTGGACATGGCGAAGTG  
 TGTACGATTGGTACACCCAGGCTGCAGTTGATCGAAGCCCGGGTCAACACGACCATTTTCGGCA  
 CCATTGGGCCACATCCCAGTTTATGTACGAGGTGGAACATCTTGCCGATGCAAGAGCCGGCAT  
 GACCACTCGTGAAGCCCGCAAACCCGTGGCTTTGCTAGCTGCACTAGGAAGCAATGGAACCG  
 CGTCGGGGCAGCTCTATCTCGATGATGGAGAGAGCATCTACCCCAATGCCACCCTCCATGTGAC  
 TTCACGGCATCGCGGTCAAGCCTGCGCTCGCGGCTCAAGGAAGATGGAAGAGAGAAACCCGCT  
 TGCTAATGTGACGGTGTCTCGGAGTGAACAAGGAGCCCTCTGCGGTGACCCCTGAATGGACGGCG  
 TATTTCCCGGTCTGTACGTACAATTCTCGTCCCAGGTTCTTTGTTGGGGGGCTGCAAAC  
 TTGACGAAGGGCGGCGCATGGGCGGAAACTGGGTATTGGAATGGTAGTGGGCGCGCGCGGCC  
 AGCTCCGTGCGAAAGCCTGACGCACCGGAGATTCTTGGTGAAGCCGATCATGACGGCGGCGGG  
 AGCTACATGGCCCCGGGTGATTTATTTTGTATCTACTTCTGACCCTTTTCAATATACGGT  
 CAACTCATCTTCACTGGAGATGCGGCTGCTTGGTATTGCGATGTTGTGAGCTGGCAAATGTT  
 GGCTTTCGAAAACACAAAACGATTCCCTTAGTAGCCATGCATTTTAAAGATAACGAATAGAAGAAA  
 GAGGAAATTAATAAAAAAAAAAAAAAACACATCCCGTTCATAACCCGTAGAATCGCCGCTCTTCG  
 TGTATCCCAGTACCA

도면3



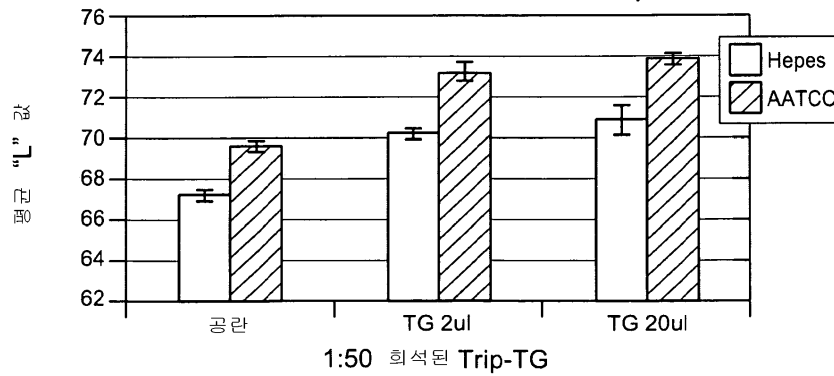
도면4

50 mM HEPES 완충액 (pH 7.4) 및 AATCC HDL 세제 (pH 7.4) 에서의  
구아로 오염된 미세천조각에 대한 Trip-TG 의 세정 성능



도 . 4A

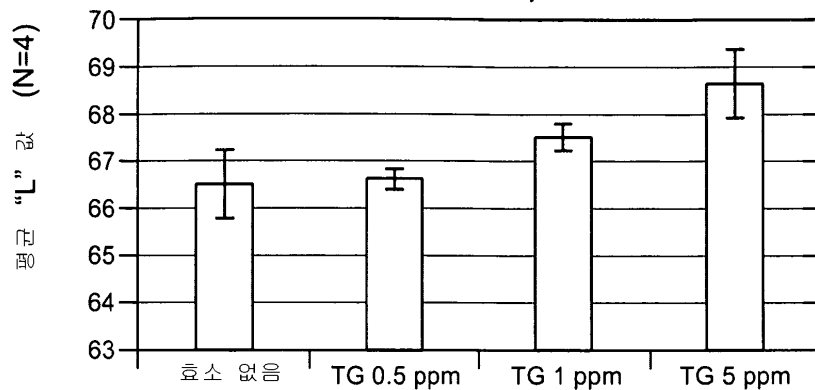
50 mM HEPES 완충액 (pH 7.4) 및 AATCC HDL 세제 (pH 7.4) 에서의  
샬러드 드레싱으로 오염된 미세천조각에 대한 Trip-TG 의 세정 성능



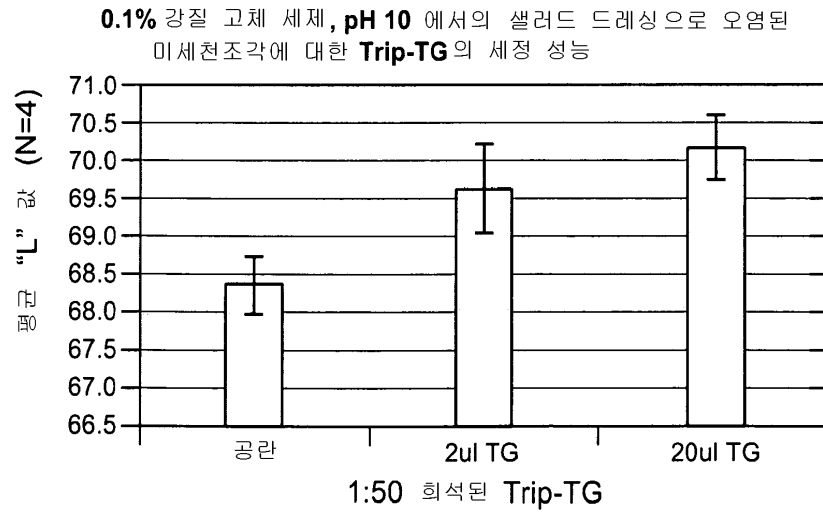
도 . 4B

도면5

50 mM HEPES pH 7.4 중의 0.15% AATCC HDL 세제 에서의  
샬러드 드레싱 오염에 대한 Trip-TG 세정

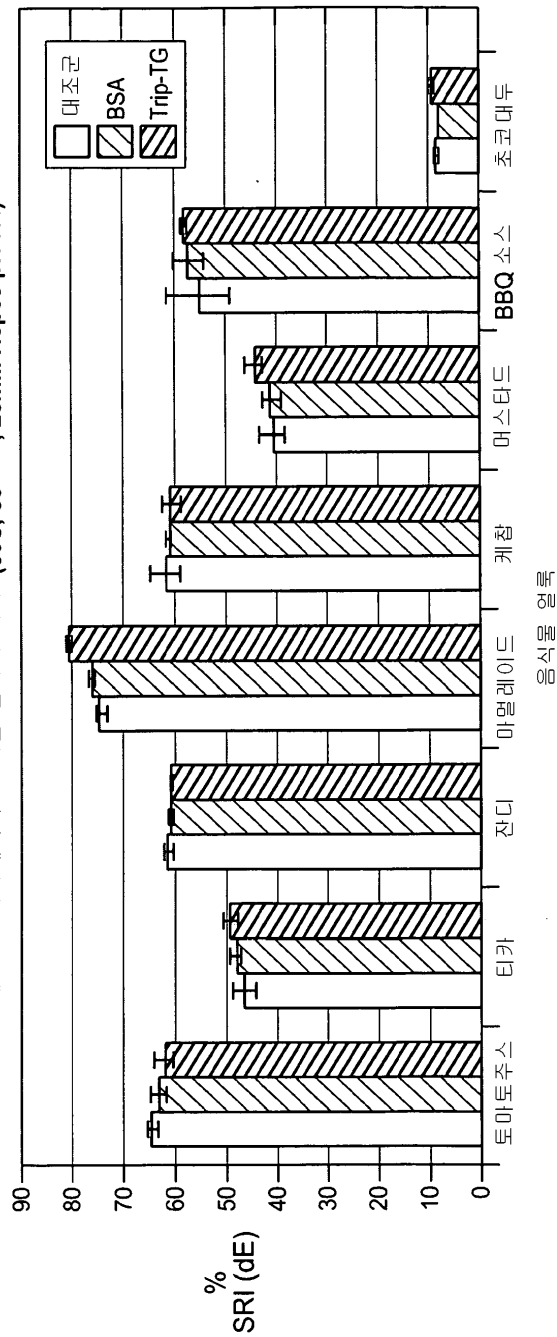


도면6



도면7

15 ppm BSA 대조군 단백질 또는 15 ppm Trip-TG 로의 0.15% AATCC HDL 중 테르그토미터에서의 음식물 잉여의 처리 (30C, 30 분, 25mM Hepes pH 7.4)



서열 목록

<110> Poulouse, Ayrookaran J.  
 McDonald, Hugh C.  
 Jayarama, Shetty K.

<120> Cleaning Compositions Comprising Transglucosidase

<130> GC970

<140> US 11/728,060  
 <141> 2007-03-22

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1  
 <211> 4879  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> synthetic pTrex3 expression cassette

<400> 1  
 tctagagttg tgaagtcggt aatcccgtg tatagtaata cgagtcgcat ctaaatactc 60  
 cgaagctgct gcgaaccgg agaatcgaga tgtgctggaa agcttctagc gagcggctaa 120  
 attagcaaaa ggctatgaga aattctggag acggcttggt gaatcatggc gttccattct 180  
 tcgacaagca aagcgttccg tcgcagtagc aggcactcat tcccgaaaaa actcggagat 240  
 tcctaagtag cgagaaccgg aataatataa taggcaatac attgagttgc ctcgacggtt 300  
 gcaatgcagg ggiactgagc ttggacataa ctgttccgta ccccacctct tctcaacctt 360  
 tggcgtttcc ctgattcagg tcccgtacaa gtcgtaatca ctattaacc agactgaccg 420  
 gacgtgtttt gccttcatt tggagaaata atgtcattgc gatgtgtaat ttgcctgctt 480  
 gaccgactgg ggctgttcga agcccaatta ggattgttat ccgaactctg ctcgtagagg 540  
 catgttgta atctgtgtcg ggcaggacac gcctcgaagg ttcacggcaa gggaaaccac 600  
 cgatagcagt gtctagtagc aacctgtaaa gcgcatgcag catcactgga aaatacaaac 660

|  |      |
|--|------|
| caatggctaa aagtacataa gttaatgcct aaagaagtca tataaccagcg gctaataatt | 720  |
| gtacaatcaa gtggctaaac gtaccgtaat ttgccaaggc tttggggttg cagaagcaac  | 780  |
| ggcaaagccc cacttcccca cgtttgtttc ttcactcagt ccaatctcag ctggtgatcc  | 840  |
| ccaattggg tcgcttgttt gttccggtga agtgaaagaa gacgaggtag aatgtctgac   | 900  |
| tcggagcgtt ttgcatacaa ccaagggcag tgatggaaga cagtgaaatg ttgacattca  | 960  |
| aggagtattt agccagggat gcttgagtgt atcgtgtaag gaggtttggt gccgatcgac  | 1020 |
| gaatactgta tagtcacttc tgatgaagtg gtccatattg aaatgtaagt cggcactgaa  | 1080 |
| caggcaaaag attgagttga aactgcctaa gatctcgggc cctcgggcct tcggctttgg  | 1140 |
| gtgacatggt tgtgctccgg gcaaatgcaa agtgtggtag gatcgaacac actgctgctt  | 1200 |
| ttaccaagca gctgagggta tgtgatagcc aaatgttcag gggccactgc atggtttcga  | 1260 |
| aagaaagaga gcttagccaa gaacaatagc cgataaagat agcctcatta aacggaatga  | 1320 |
| gctagtaggc aaagtcagcg aatgtgtata tataaaggtt cgaggtcctg gcctccctca  | 1380 |
| tgctctccca tctactctca actcagatcc tccaggagac ttgtacacca tcttttgagg  | 1440 |
| cacagaaacc caatagtcaa ccgcgactg cgcacatcatgt atcgggaagt ggccgcatc  | 1500 |
| tcggccttct tggcacagct cgtgttccac cactgccctt tcgcagccgc agtttaccat  | 1560 |
| tcctgcttcc gcagatgtcg gtgcgcagct gattgccaac atcgatgac ctcaggtgc    | 1620 |
| cgacgcgcag tcggtttgtc gggctacaag gttcaaaagt gcagcacaat tcactggat   | 1680 |
| tactgccag tcttcagctc gcgggcagcc catgtaactg atacggcaca gatgttgagt   | 1740 |
| ccttgacact gtctgtggag taccagattc ggatcgacga atattcagat tctcccact   | 1800 |
| catgttgact ccacaaagc ttcttggtac tttctttcgg aaaacctggt cccagacc     | 1860 |

aagccttccc tcaatgcac tgtatcccag acgacctttt tgtgtatggt caaatgagcc 1920

gtcgttcaat ttcaaggga tccgaaagc tacagcgac gcgcttttca gtacagaagg 1980

cactgtgctc gtatatgaga atcagttcat cgaattttga ccgctctccc tgagaatata 2040

acttgatgg ccttggggag catatcacgc aattccgctt ccagagaaat gctaacttga 2100

ccatatatcc ttcggatgat ggaacacctt ttgaccagtg agtctgatat cccgcccgtt 2160

cttctggttc tactcttgaa acttactcgt cctagaacc tctacggcca acatcccttc 2220

tatctggata caagatatta caaaggagat aggcagaatg ggtcttatat cccgtcaaaa 2280

gcagcgggct gatgcctcgc aagattatat ctccctctct catggcgtgt ttctgaggaa 2340

ctctcatgga cttgagatac tctctcggtc tcaaaaattg atctggcgga ccctagtgga 2400

ggaatcgatc tcaactctac tcagcccccg ccccggccga tgttaccagg caatatctta 2460

ccagcactgt gggattaccg gccatgcagc aatacaacac tcttgattc caccaatgtc 2520

gtggggctac aacaactggt ggatctggcg gacgttgttg cgaactttga gaagtttgag 2580

atcccgttgg aatatactg gtgcgtattg tactggttta tggatctca aaacagtcta 2640

acaggcatta ggaccgatat tgactactgc acggatatcg caactttgac aacgatcaac 2700

atcgcttttc ctacagtgag ggcgatgaat ttctcagcaa gctacatgag agtggacgct 2760

actatgtacc catgttgatg cggcgtctca cattctaac ccgaaaatgc ctctgatgcg 2820

taagtgtcta gtgacaaatt atattactgc ctgtatgcta attagcgata cagatagct 2880

acgatgaca gaggagctgg gacgacgtct tcctcaagaa tccgatgga gcctctatat 2940

tggagccgtt tggccaggat atacagtctt cccgatgg catcatcca aggcagtga 3000

cttctgggct aacgagcttg ttatcggctc aagaaagtgg cgttcgatgt gtgtggtacg 3060

acatgtctga agtttcatcc ttctgtgtcg ggagctgtgg cacagtaac ctgactctga 3120

accggcaca cccatcgttt cttctccccg ggagcctggg gatatacat atgataccca 3180

gaggctttca atatacacia cgctacagag gcggcgtcag cttcggcggg agcttccagt 3240

caggctgcag caaccgcgac caccacgtcg acttcggatc atatactcgg acaacccca 3300

cgctggtgtc cgcaatgttg agcaccacc ctatgtgac aaccatgacc aagaaggcca 3360

tgatctcagt gtccatgcgg tgtcggcaa tgcaacgat gttatggtgt tgaggagtat 3420

gatgtgcacg tctctacgga catcaaggat tgaacgtac ctaccaaggt ctgcttgagg 3480

tctggtctca taagcggcgg ccatttatta ttggccgtc aaccttcgcg gctctggcaa 3540

atgggcagge cactgggcgg cgacaactat tccaaatggt ggtccatgta ctactccatc 3600

tcgcaagccc tctccttctc acttttcggc attccgatgt ttggtgcgga caccttgggt 3660

ttaacggaaa ctccgatgag gactctgcaa ccgatggatg caactgtccg cattcttccc 3720

attctaccga aaccacaatg agctctccac aatcccacag gagccttacc ggtgggcttc 3780

tttatggaag caaccaagtc cgccatgaga ttccggtacgc catctacct tacttttata 3840

cgttggttga cctggccac accacgggct cactgtaat gcgcgactt tcttggaat 3900

tcctaagac ccaacattgg ctgcggttga gactcaatca tggttgggcc ggccatcatg 3960

gtggtcccgg tattggagcc tctggtcaat acggtcaagg gcgtattccc aggagtggga 4020

catggcgaag tgtgtacgat tggtaaccc aggtgcagt tgatcgaagc cgggggtcaa 4080

cagaccatt tcggccatc tgggccatc cccagtttat gtacgagtg gaaacatctt 4140

gccgatgcaa gagccggcat gaccactcgt gaagcccggc aaacccctg gctttgctag 4200

|  |      |
|--|------|
| ctgcactagg aagcaatgga accgcgtcgg ggcagctcta tctc gatgat ggagagagca | 4260 |
| tctaccccaa tgcaccctc catgtgactt cacggcatcg cggccaagcc tgcgctcgcg   | 4320 |
| gctcaaggaa gatgaaaga gaggaacccg cttgcta atg tgacgggtct cggagtgaac  | 4380 |
| aaggagccct ctgcggtgac cctgaatgga cggccgtatt tcccgggtct gtcacgtaca  | 4440 |
| attctcgtcc caggttctct ttgttggggg gctgcaaac ttgacgaagg gcggcgc atg  | 4500 |
| ggcggaaaac tgggtattgg aatggtagt ggcgcgcgcg cgccagctcc gtgcgaaagc   | 4560 |
| ctgacgcacc ggagattctt ggtgagcccg tatcatgacg gcggcgggag ctacatggcc  | 4620 |
| ccgggtgatt tatttttttt gtatctactt ctgaccttt tcaatatacg gtcaactcat   | 4680 |
| ctttcactgg agatgcggct gcttggatt gcgatgttgt cagcttggca aattgtggct   | 4740 |
| ttcgaaaaca caaaacgatt ccttagtagc catgcatttt aagataacga atagaagaaa  | 4800 |
| gaggaaatta aaaaaaaaaa aaaaacaaca tccgttcat aaccgtaga atcgcgcgctc   | 4860 |
| ttcgtgtatc ccagtacca   | 4879 |