

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5813753号

(P5813753)

(45) 発行日 平成27年11月17日(2015.11.17)

(24) 登録日 平成27年10月2日(2015.10.2)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 N 9/54 (2006.01)	C 1 2 N 9/54 Z N A
C 1 1 D 3/386 (2006.01)	C 1 1 D 3/386
C 1 1 D 3/50 (2006.01)	C 1 1 D 3/50
C 1 1 D 3/40 (2006.01)	C 1 1 D 3/40
C 1 1 D 3/12 (2006.01)	C 1 1 D 3/12

請求項の数 18 (全 202 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-509256 (P2013-509256)	(73) 特許権者	590005058
(86) (22) 出願日	平成23年5月5日(2011.5.5)		ザ プロクター アンド ギャンブル カ
(65) 公表番号	特表2013-524855 (P2013-524855A)		ンパニー
(43) 公表日	平成25年6月20日(2013.6.20)		アメリカ合衆国オハイオ州、シンシナティ
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/035319		ー、ワン プロクター アンド ギャンブ
(87) 国際公開番号	W02011/140316		ル ブラザ (番地なし)
(87) 国際公開日	平成23年11月10日(2011.11.10)	(73) 特許権者	595163630
審査請求日	平成24年11月12日(2012.11.12)		ダニスコ・ユーエス・インコーポレイテッ
(31) 優先権主張番号	61/392, 364		ド
(32) 優先日	平成22年10月12日(2010.10.12)		Danisco US Inc.
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国94304-1013 カ
(31) 優先権主張番号	61/392, 188		リフォルニア州パロ・アルト、ペイジ・ミ
(32) 優先日	平成22年10月12日(2010.10.12)		ル・ロード925番
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100117787
			弁理士 勝沼 宏仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プロテアーゼ変異体を有する消費者製品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含み、消費者製品である、組成物であって、

前記プロテアーゼ変異体が、親プロテアーゼの変異体であり、前記親プロテアーゼの配列が配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であり、前記プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列をバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされ、前記プロテアーゼ変異体が、T 0 2 2 Rの変異を含む、組成物。

【請求項 2】

前記プロテアーゼ変異体が、本願明細書に記載の試験方法6に従うと、少なくとも1.1の性能指数を有する、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

前記プロテアーゼ変異体が、以下の変異の組：T 0 2 2 R-W 2 4 1 R、T 0 2 2 R-V 2 4 4 R、S 0 0 9 A-T 0 2 2 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R、V 0 0 4 R-T 0 2 2 R、A 0 0 1 R-T 0 2 2 R、T 0 2 2 R-S 2 4 2 R、T 0 2 2 R-S 2 1 2 F、T 0 2 2 R-S 0 7 8 R、T 0 2 2 R-S 0 2 4 R、T 0 2 2 R-N 2 6 9 R、T 0 2 2 R-N 0 4 3 R、T 0 2 2 R-L 0 8 2 R、T 0 2 2 R-H 2 4 9 R、T 0 2 2 R-G 1 1 5 R、及びT 0 2 2 R-E 2 7 1 Lを1つ以上さらに含み、前記

10

20

変異体の総実効電荷が、バチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼの総実効電荷と比較して、0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4又は-5であり、前記総実効電荷が、N43D、R45T、N62E、N76D、S101D、P129E、A158E、G159D、G159E、S166D、S188D、A230E、N18R、G20K、G20R、T22R、S24R、N43R、G118R、Q245R、H249R、N269R、E271F及びE271Lから選択される1つ以上の置換により得られてもよく、前記プロテアーゼ変異体が、前記定義した変異の組の1つ以上に加えて、N43D、R45T、N62E、N76D、S101D、P129E、A158E、G159D、G159E、S166D、S188D、A230E、N18R、G20K、G20R、T22R、S24R、N43R、G118R、Q245R、H249R、N269R、E271Fから選択される置換を少なくとも1つ以上含んでもよい、請求項1または2に記載の組成物。

10

【請求項4】

前記プロテアーゼ変異体が、以下の変異：A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G063Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S078R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E089V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S101T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102T、G102N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S103A、V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、S105Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106V、S106F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L111V、L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、G115R、N116K、N116A、N116L、N117F、G118R、G118I、M119C、H120A、H120F、H120R、V121F、V121E、N123G、N123E、L124S、S128D、S128F、S128L、S128N、S128H、S128M、S128I、S128Q、P129E、S132A、S132E、A138G、S144R、V147L、L148I、A158E、G1

20

30

40

50

59D、G159E、G159C、S160D、S166D、S166E、Y167W、
M175V、V177C、D181A、Q182R、N183I、N183D、N183
M、N183F、N183R、N185E、N185V、N185I、R186H、R1
86K、S188E、S188D、S188R、Y192H、Y192W、A194E、
A194V、A194F、D197F、I198L、I198F、V203E、V203
C、T208S、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y2
09H、Y209G、Y209L、P210R、P210V、P210L、G211Q、
G211R、S212I、S212M、S212F、T213A、Y214F、A215
N、A215D、A215E、A215H、A215F、S216F、S216A、L2
17E、L217N、L217D、N218D、N218P、N218E、T224A、
T224G、V227I、A230E、A231I、A231C、A232V、L233
C、V234F、K235F、Q236F、Q236N、Q236H、N238R、N2
38K、N238L、P239K、P239G、P239R、P239H、P239T、
P239N、P239S、P239F、S240R、W241R、S242L、S242
R、N243F、N243R、V244R、Q245R、I246S、N248D、N2
48V、N248I、N248R、H249R、H249T、L250I、K251R、
K251S、N252I、N252F、N252R、N252K、N252H、T253
I、T253R、T253F、A254C、S256N、G258R、T260V、T2
60I、L262D、L262H、Y263F、S265F、L267V、L267N、
L267M、N269I、N269R、A270C、E271I、E271V、E271
H、E271M、E271L、E271P、E271A、E271F、E271T、A2
72F、A272F、A272R、A273F、A273I及びT274Gを1つ以上さ
らに含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。

10

20

【請求項5】

前記プロテアーゼ変異体が、以下の変異：X1R、X2S、X4R、X4S、X9A、
X10S、X14K、X16S、X17R、X18R、X20R、X22A、X24R、
X24W、X25R、X25V、X26F、X42I、X43R、X43A、X46R、
X52F、X52E、X52N、X57R、X59A、X62E、X62Q、X68A、
X68C、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X75R、X76D、
X78R、X82R、X86W、X89P、X89T、X89G、X89H、X89I、
X89V、X89W、X91N、X94N、X100S、X101A、X101N、X1
01G、X101D、X103G、X103N、X104L、X104I、X106V、
X106G、X108I、X111V、X112V、X115K、X115R、X117
F、X118I、X121F、X128D、X128F、X128L、X128N、X1
29E、X144R、X148I、X158E、X159E、X160D、X166D、
X185E、X185I、X186H、X188E、X188D、X197F、X203
E、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X2
09G、X210R、X212I、X212F、X214F、X215N、X215D、
X215E、X217E、X217N、X224A、X230E、X231I、X236
F、X238R、X238K、X239K、X239G、X239R、X239S、X2
41R、X242R、X242L、X243R、X244R、X248I、X248V、
X249R、X250I、X252R、X253R、X262D、X263F、X265
F、X267V、X267N、X269I、X269R、X271F、X271I、X2
71H、X271P、X271T、X271V、X271L及びX272Fを1つ以上さ
らに含む、並びに、以下の変異：X103A、X159D、X236H、X245R、X
248D及びX252Kを1つ以上含んでもよい、請求項1～4のいずれか一項に記
載の組成物。

30

40

【請求項6】

前記プロテアーゼ変異体が、以下の変異の組：T022R-S024R、T022R-
G115R、S009A-T022Rを1つ以上さらに含む、請求項1～5のいずれか一

50

項に記載の組成物。

【請求項7】

前記プロテアーゼ変異体が以下の変異の組：

(d) G020R-T022R-E271L、G020R-T022R-N043R、
G020R-T022R-N043R-S212F、G020R-T022R-N043
R-W241R、G020R-T022R-S024R-S242R、G020R-T0
22R-S078R-S242R、G020R-T022R-S078R-W241R、
G020R-T022R-S212F-W241R、G020R-T022R-S242
R、G020R-T022R-W241R、N018R-T022R-S024R-N0
43D-N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N043R-
N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N076D-H249
R、N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R、N0
18R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R、S009A-
T022R-N043R-S078R、S009A-T022R-S078R-S212
F、S009A-T022R-S078R-S212F-W241R、S009A-T0
22R-S212F-W241R、T022R-N043R-S101G-S103A-
V104I-A232V-Q245R、T022R-N076D-S101G-S103
A-V104I-A232V-Q245R、T022R-S087D-S101G-S1
03A-V104I-A232V-Q245R、T022R-S101G-S103A-
V104I-A232V-Q245R、

10

20

(e) T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-
Q245R、

(f) G020R-T022R-N269R、G020R-T022R-S078R-
S212F-W241R、N018R-T022R-S024R-N076D-S101
A-N116A-N183D-G211Q-H249R、V004E-T033S-S0
78R、V004R-S009A-T022R-S078R-S212F、

を1つ以上さらに含み、並びに、以下の変異：S103A、G159D、Q236H、
Q245R、N248D及びN252Kを1つ以上含んでもよい、請求項1～6のい
ずれか一項に記載の組成物。

【請求項8】

前記プロテアーゼ変異体が、N062E、S101D、P129E、A158E、G1
59D/E、S166D及び/又はS188Dからなる群から選択される帯電変異を少な
くとも1つ以上さらに含み、配列番号1の酵素と比較して0、-1、-2、-3、-4又
は-5の電荷を有する、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

前記プロテアーゼ変異体が、N018R、G020K/R、S024R、N043R、
Q245R、H249R及び/又はN269Rからなる群から選択される帯電変異を少な
くとも1つ以上さらに含み、配列番号1の酵素と比較して0、+1、+2、+3、+4又
は+5の電荷を有する、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項10】

前記プロテアーゼ変異体が、A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q0
02R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、
S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010
M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A0
15F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、
G020F、G020K、G020R、T022A、G023A、G023S、G023
F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G0
25V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、
K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031
F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S0

30

40

50

36F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、
P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043
F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R0
45T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、
P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059
F、Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G0
63V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、
G063Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068
A、V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I0
72C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、
S078R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082
F、L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P0
86L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、
E089V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092
F、K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G1
00S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、
S101T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102
T、G102N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S1
03A、V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、
S105Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106
V、S106F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L1
11V、L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、
G115R、N116K、N116A、N116L、N117F、G118R、G118
I、M119C、H120A、H120F、H120R、V121F、V121E、N1
23G、N123E、L124S、S128D、S128F、S128L、S128N、
S128H、S128M、S128I、S128Q、P129E、S132A、S132
E、A138G、S144R、V147L、L148I、A158E、G159D、G1
59E、G159C、S160D、S166D、S166E、Y167W、M175V、
V177C、D181A、Q182R、N183I、N183D、N183M、N183
F、N183R、N185E、N185V、N185I、R186H、R186K、S1
88E、S188D、S188R、Y192H、Y192W、A194E、A194V、
A194F、D197F、I198L、I198F、V203E、V203C、T208
S、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y2
09G、Y209L、P210R、P210V、P210L、G211Q、G211R、
S212I、S212M、S212F、T213A、Y214F、A215N、A215
D、A215E、A215H、A215F、S216F、S216A、L217E、L2
17N、L217D、N218D、N218P、N218E、T224A、T224G、
V227I、A230E、A231I、A231C、A232V、L233C、V234
F、K235F、Q236F、Q236N、Q236H、N238R、N238K、N2
38L、P239K、P239G、P239R、P239H、P239T、P239N、
P239S、P239F、S240R、W241R、S242L、S242R、N243
F、N243R、V244R、Q245R、I246S、N248D、N248V、N2
48I、N248R、H249R、H249T、L250I、K251R、K251S、
N252I、N252F、N252R、N252K、N252H、T253I、T253
R、T253F、A254C、S256N、G258R、T260V、T260I、L2
62D、L262H、Y263F、S265F、L267V、L267N、L267M、
N269I、N269R、A270C、E271I、E271V、E271H、E271
M、E271L、E271P、E271A、E271F、E271T、A272F、A2
72F、A272R、A273F、A273I及びT274Gから選択される変異を合計
で3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14又は15さらに含む、請

10

20

30

40

50

求項 1～9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記プロテアーゼ変異体が、

a. 以下の変異：A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G063Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S078R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E089V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S101T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102T、G102N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S103A、V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、S105Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106V、S106F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L111V、L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、G115R、N116K、N116A、N116L、N117F、G118R、G118I、M119C、H120A、H120F、H120R、V121F、V121E、N123G、N123E、L124S、S128D、S128F、S128L、S128N、S128H、S128M、S128I、S128Q、P129E、S132A、S132E、A138G、S144R、V147L、L148I、A158E、G159D、G159E、G159C、S160D、S166D、S166E、Y167W、M175V、V177C、D181A、Q182R、N183I、N183D、N183M、N183F、N183R、N185E、N185V、N185I、R186H、R186K、S188E、S188D、S188R、Y192H、Y192W、A194E、A194V、A194F、D197F、I198L、I198F、V203E、V203C、T208S、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、Y209L、P210R、P210V、P210L、G211Q、G211R、S212I、S212M、S212F、T213A、Y214F、A215N、A215D、A215E、A215H、A215F、S216F、S216A、L217E、L217N、L217D、N218D、N218P、N218E、T224A、T224G、V227I

、A230E、A231I、A231C、A232V、L233C、V234F、K235F、Q236F、Q236N、Q236H、N238R、N238K、N238L、P239K、P239G、P239R、P239H、P239T、P239N、P239S、P239F、S240R、W241R、S242L、S242R、N243F、N243R、V244R、Q245R、I246S、N248D、N248V、N248I、N248R、H249R、H249T、L250I、K251R、K251S、N252I、N252F、N252R、N252K、N252H、T253I、T253R、T253F、A254C、S256N、G258R、T260V、T260I、L262D、L262H、Y263F、S265F、L267V、L267N、L267M、N269I、N269R、A270C、E271I、E271V、E271H、E271M、E271L、E271P、E271A、E271F、E271T、A272F、A272F、A272R、A273F、A273I及びT274Gを2つ以上含み、A1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、T22A、T22R、S24R、G25V、V26F、L42I、P52F、P52E、P52N、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、S78R、E89P、E89T、E89G、E89H、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、A108I、L111V、E112V、G115K、N117F、V121F、S128D、S128F、S128L、S128N、P129E、L148I、A158E、G159E、S160D、S166D、N185E、R186H、S188E、S188D、V203E、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T224A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、N248V、H249R、L250I、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H及びA272Fを2つ以上含み、

前記変異体が、配列番号1のアミノ酸配列を有するB. レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して、0、-1、-2、-3、-4又は-5の総実効電荷を有する、請求項1～10のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか一項に記載の洗濯洗剤組成物を含む洗浄液であって、前記洗濯洗剤洗浄液が、0.1mS/cm～3mS/cmの伝導度を有する、洗浄液。

【請求項13】

前記プロテアーゼ変異体が、

(a) 以下の変異：A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、Q0

59R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063V、
 G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G063
 Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、V0
 68C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072C、
 A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S078
 R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、L0
 82T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086L、
 P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E089
 V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、K0
 94N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100S、
 G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S101
 T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102T、G1
 02N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S103A、
 V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、S105
 Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106V、S1
 06F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L111V、
 L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、G115
 R、N116K、N116A、N116L、N117F、G118R、G118I、M1
 19C、H120A、H120F、H120R、V121F、V121E、N123G、
 N123E、L124S、S128D、S128F、S128L、S128N、S128
 H、S128M、S128I、S128Q、P129E、S132A、S132E、A1
 38G、S144R、V147L、L148I、A158E、G159D、G159E、
 G159C、S160D、S166D、S166E、Y167W、M175V、V177
 C、D181A、Q182R、N183I、N183D、N183M、N183F、N1
 83R、N185E、N185V、N185I、R186H、R186K、S188E、
 S188D、S188R、Y192H、Y192W、A194E、A194V、A194
 F、D197F、I198L、I198F、V203E、V203C、T208S、Y2
 09S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、
 Y209L、P210R、P210V、P210L、G211Q、G211R、S212
 I、S212M、S212F、T213A、Y214F、A215N、A215D、A2
 15E、A215H、A215F、S216F、S216A、L217E、L217N、
 L217D、N218D、N218P、N218E、T224A、T224G、V227
 I、A230E、A231I、A231C、A232V、L233C、V234F、K2
 35F、Q236F、Q236N、Q236H、N238R、N238K、N238L、
 P239K、P239G、P239R、P239H、P239T、P239N、P239
 S、P239F、S240R、W241R、S242L、S242R、N243F、N2
 43R、V244R、Q245R、I246S、N248D、N248V、N248I、
 N248R、H249R、H249T、L250I、K251R、K251S、N252
 I、N252F、N252R、N252K、N252H、T253I、T253R、T2
 53F、A254C、S256N、G258R、T260V、T260I、L262D、
 L262H、Y263F、S265F、L267V、L267N、L267M、N269
 I、N269R、A270C、E271I、E271V、E271H、E271M、E2
 71L、E271P、E271A、E271F、E271T、A272F、A272F、
 A272R、A273F、A273I及びT274Gを2つ以上含み、以下の変異：V4
 R、H17R、N18R、G20K/R、T22R、S24R、S24W、G25R、N
 43R、N43A、G46R、P52F、P52N、T57R、Q59A、N62Q、T
 71G、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89W、E
 89T、E89I、E89H、E89V、V104L、S106V、S106G、G11
 5R、G118I、V121F、S144R、N185I、D197F、Y209N、Y
 209S、L217E、A231I、P239R、P239S、W241R、S242R

、S 2 4 2 L、N 2 4 3 R、V 2 4 4 R、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 I、H 2 4 9 R、N 2 5 2 R、T 2 5 3 R、E 2 7 1 T、E 2 7 1 V、E 2 7 1 L、E 2 7 1 H、E 2 7 1 F、E 2 7 1 P、A 1 R、S 9 A、S 2 1 2 F以下の変異：N 2 6 9 Rを2つ以上含み、並びに／あるいは、

(b) 以下の変異の組：T 0 2 2 R－S 0 2 4 R、T 0 2 2 R－G 1 1 5 R、S 0 0 9 A－T 0 2 2 Rを1つ以上含み、並びに／あるいは、

(c) 以下の変異の組：G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－E 2 7 1 L、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－N 0 4 3 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－N 0 4 3 R－S 2 1 2 F、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－N 0 4 3 R－W 2 4 1 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－S 2 4 2 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－S 2 4 2 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－W 2 4 1 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 2 1 2 F－W 2 4 1 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 2 4 2 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－W 2 4 1 R、N 0 1 8 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－N 0 4 3 D－N 0 7 6 D－H 2 4 9 R、N 0 1 8 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－N 0 7 6 D－H 2 4 9 R、N 0 1 8 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－N 0 7 6 D－S 0 8 7 D－H 2 4 9 R、N 0 1 8 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－N 0 7 6 D－V 1 5 0 L－H 2 4 9 R、S 0 0 9 A－T 0 2 2 R－N 0 4 3 R－S 0 7 8 R、S 0 0 9 A－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－S 2 1 2 F、S 0 0 9 A－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－S 2 1 2 F－W 2 4 1 R、S 0 0 9 A－T 0 2 2 R－S 2 1 2 F－W 2 4 1 R、T 0 2 2 R－N 0 4 3 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R－N 0 7 6 D－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R－S 0 8 7 D－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－V 1 5 0 L－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－N 2 6 9 R、G 0 2 0 R－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－S 2 1 2 F－W 2 4 1 R、N 0 1 8 R－T 0 2 2 R－S 0 2 4 R－N 0 7 6 D－S 1 0 1 A－N 1 1 6 A－N 1 8 3 D－G 2 1 1 Q－H 2 4 9 R、V 0 0 4 R－S 0 0 9 A－T 0 2 2 R－S 0 7 8 R－S 2 1 2 Fを1つ以上含み、

前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸配列を有するB. レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して、0、+1、+2、+3、+4又は+5の総実効電荷を有する、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項14】

請求項1～13のいずれか一項に記載の洗濯洗剤組成物を含む洗浄液であって、前記洗濯洗剤洗浄液が、3 m S / c m超～3 0 m S / c mの伝導度を有する、洗浄液。

【請求項15】

組成物又は洗浄液であって、前記補助物質が、

- a. 香料を含む、封入体、
- b. 550 nm～650 nmのピーク吸収波長を有する、塩基性、酸性、疎水性、直接及び高分子染料並びに染料結合体及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、色相剤、
- c. アニオン性洗浄性界面活性剤、非イオン性洗浄性界面活性剤、カチオン性洗浄性界面活性剤、双極性イオン洗浄性界面活性剤及び両性洗浄性界面活性剤及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、洗浄性界面活性剤、
- d. ゼオライト、リン酸塩及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、ビルダー、
- e. ケイ酸ナトリウム、ケイ酸カリウム及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、ケイ酸塩、
- f. 冷水可溶性増白剤及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、増白剤、
- g. マレエート／アクリレートランダムコポリマー又はポリアクリレートホモポリマー

及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、カルボン酸塩ポリマー、

h. テレフタレートコポリマー及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、防汚ポリマー、

i. アルキルセルロース、アルキルアルコキシアルキルセルロース、カルボキシアルキルセルロース、アルキルカルボキシアルキルセルロース及びこれらの混合物から選択される物質を含む、セルロース系ポリマー、

j. イミニウムカチオン、イミニウムポリイオン、イミニウム双性イオン、修飾されたアミン、修飾されたアミン酸化物、N-スルホニルイミン、N-ホスホニルイミン、N-アシルイミン、チアジアゾールジオキシド、ペルフルオロイミン、環状糖ケトン及び遷移金属触媒、又は遷移金属触媒形成用配位子又はこれらの混合物から選択される物質を含む、漂白触媒、

10

k. ドデカノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシ安息香酸又はその塩、3, 5, 5-トリメチルヘキサノイルオキシベンゼンスルホネート、テトラアセチルエチレンジアミン (T A E D)、ノナノイルオキシベンゼンスルホネート (N O B S) 及びこれらの混合物から選択される物質を含む、漂白活性化剤、

l. 過ホウ酸塩 (通常一又は四水和物)、過炭酸塩、過硫酸塩、過リン酸塩、過ケイ酸塩のナトリウム塩などのアルカリ金属塩を含む無機過酸化水素化物塩類及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、過酸化水素源、

m. D T P A (ジエチレントリアミン五酢酸)、H E D P (ヒドロキシエタンジホスホン酸)、D T P M P (ジエチレントリアミンペンタ (メチレンホスホン酸))、エチレンジアミンニコハク酸 (E D D S)、1, 2-ジヒドロキシベンゼン-3, 5-ジスルホン酸二ナトリウム塩水和物、からなる群から選択される物質を含む、キレート剤、前記キレート剤の誘導体、

20

n. (a) 第1の洗浄リパーゼ、(b) バクテリアクリーニングセルラーゼ、(c) α-アミラーゼ、及び(d) これらの混合物、からなる群から選択される追加の酵素、並びに、

o. これらの混合物

からなる選択される1つ以上を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の組成物又は洗浄液。

30

【請求項16】

前記組成物又は洗浄液の総重量に基づいて、

(i) 0.0005重量%～0.1重量%の前記プロテアーゼ変異体と、

(ii) 以下の1つ以上：

a. 0.00003重量%～0.1重量%の布地色相剤、

b. 0.001重量%～5重量%の香料カプセル、

c. 0.001重量%～1重量%の冷水可溶性増白剤、

d. 0.00003重量%～0.1重量%の漂白触媒、

e. 0.00003重量%～0.1重量%の第1の洗浄リパーゼ、

f. 0.00003重量%～0.1重量%のバクテリアクリーニングセルラーゼ、

40

g. 0.05重量%～20重量%のゲルベ非イオン性界面活性剤を含む、請求項1～15のいずれか一項に記載の組成物又は洗浄液。

【請求項17】

前記組成物が単区画又は多区画単位用量であり、前記プロテアーゼ変異体は任意の過酸化水素源及び／又はキレート剤とは異なる区画に存在する、請求項1～11、13、15、及び／又は16のいずれかの組成物に記載の組成物。

【請求項18】

表面の処理及び／又はクリーニング方法であって、

(i) 水性洗浄液中で前記表面を請求項1～11、13、15、及び／又は16のいずれか一項に記載の組成物に接触させる工程と、

50

(i i) 前記表面をすすぐ及び／又は乾燥させる工程と
を含み、前記水性液の温度が 5 ～ 2 5 ℃であり、前記水性液が 0 . 1 g / L ～ 3 g / L の
界面活性剤を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

本発明は、プロテアーゼを含む消費者製品、並びに、このような消費者製品 (consumer product) の製造及び使用方法に関する。

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

洗剤製造業者は、製品中にプロテアーゼを組み込むことで、良好なシミ (血液などの)
クリーニングを提供する。しかしながら、持続力、並びにより低い洗浄温度が好まれると
いう消費者動向を前提とすると、消費者の期待に沿うような利益を提供することが次第に
困難になりつつあり、これらの洗濯洗剤組成物のクリーニング特性及び洗いたて特性の改
善が必要とされたままである。本発明者らは、例えば、一態様では、色相剤 (hueing age
nt)、冷水可溶性増白剤、漂白触媒、第 1 の洗浄リパーゼ、バクテリアクリーニングセル
ラーゼ、G u e r b e t 非イオン性界面活性剤及び／又は香料カプセルを含み得る洗濯洗
剤組成物といった、消費者製品の中に特定のプロテアーゼを更に組み込むことは、このよ
うな消費者製品のクリーニング、白色度、白色度認識及び／又は洗いたて特性を改善する
ことを発見した。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 3 】

本発明は、プロテアーゼ、特に冷水プロテアーゼを含む消費者製品、並びに、このよ
うな製品の製造及び使用プロセスに関する。このような組成物は、クリーニング及び洗いた
て感の改善をもたらす。このようなプロテアーゼは親酵素から誘導され、例えば、親酵素
のアミノ酸の 1 つ以上の置換、挿入及び／又は欠失によりバチルス・レンタス (Bacillus
lentus) から誘導されるサブチリシンである。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 4 】

【図 1】例としてバチルス・アミロリケファシエンス (Bacillus amyloliquefaciens) の
サブチリシン B P N ' (配列番号 2) 及びバチルス・レンタスのサブチリシン G G 3 6 プ
ロテアーゼ (配列番号 1) が挙げられている、成熟型参照プロテアーゼのアラインメント
を提供する。各種冷水プロテアーゼ変異体が挙げられる、本明細書に記載の各種プロテ
アーゼ変異体の各アミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列をバチルス・アミ
ロリケファシエンスのサブチリシン B P N ' のアミノ酸配列とアライメントすることにより
決定される、図 1 に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシン B P N '
のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【図 2】p H P L T - G G 3 6 発現プラスミド。

【図 3】p R A 6 8 発現プラスミド。

【図 4】p R A 9 6 発現プラスミド。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 0 5 】

定義

本明細書で使用するとき、「消費者製品」は、布地ケア及びホームケア製品を意味する
。

【 0 0 0 6 】

本明細書で使用するとき、用語「布地ケア及びホームケア製品」は、販売されている形
態で使用又は消費されることが通常意図されている布地ケア及びホームケア製品であって
、布地、硬質表面及び任意の他の表面を処理するためのもの、並びに、無生物表面のケア

10

20

30

40

50

及びクリーニングのためのクリーニングシステム、並びに、布地コンディショナー製品及び特に布地のケアと維持のためにデザインされた他の製品のためのクリーニングシステム、並びに、エアフレッシュナー及び香り送達系などの空気ケア、自動車ケア、ペットケア、家畜ケア、パーソナルケア、宝石ケアのためのクリーニングシステム、食器洗浄、布地コンディショニング（柔軟性付与及び／又は洗いたて感付与）、洗濯洗剤、洗濯及びすすぎ添加剤及び／又はケア剤のためのクリーニングシステム、前処理クリーニング組成物のためのクリーニングシステム、床及び便器クリーナー、ガラスクリーナー及び／又はトリートメント、タイルクリーナー及び／又はトリートメント、セラミッククリーナー及び／又はトリートメントなどの硬質表面クリーニング及び／又は処理のためのクリーニングシステム、並びに、消費者又は業務用の他のクリーニングシステムといったクリーニングシステムすべてである、布地ケア及びホームケア製品を指す。一部の実施形態では、布地ケア及びホームケア製品は、創傷及び／又は皮膚での使用に好適である。「布地ケア及びホームケア製品」は、消費者及び業務用製品を含む。この定義は、（a）コンタクトレンズ若しくは限外濾過膜に使用することが意図される、又は、創傷の治療若しくは皮膚状態の医学的処理における、製品を含まない。このような布地ケア及びホームケア製品は、販売されている形態で使用又は消費されることが通常意図されている。

10

【0007】

本明細書で使用する時、用語「クリーニング及び／又は処理組成物」は、布地ケア及びホームケア製品の部分集合である。このような製品としては、限定するものではないが、布地、硬質面並びに布地ケア及びホームケアの領域の任意の他の表面処理用の製品（例えば、エアフレッシュナー及び香り送達系などの空気ケア、車ケア、食器洗浄、布地コンディショニング（柔軟性付与及び／又は洗いたて感付与が挙げられる）、洗濯洗剤、洗濯時及びすすぎ時添加剤及び／又はケア剤、硬質表面洗浄及び／又は処理剤、（床及び便器クリーナー）、顆粒又は粉末形態の多目的又は「ヘビーデューティー」洗浄剤、特にクリーニング用洗剤、液体、ゲル、又はペースト形態の多目的洗浄剤、特にいわゆるヘビーデューティー液体型、おしやれ着用（fine-fabric）液体洗剤、食器手洗い用洗剤又はライトデューティー食器洗浄剤、特に高起泡型のもの、食洗機用食器洗浄剤（家庭用及び業務用の、様々な錠剤型、粒剤型、液剤型及びすすぎ助剤型洗浄剤）：車又はカーペット洗浄剤、便器クリーナーを含む風呂場クリーナー、並びにクリーニング助剤（漂白剤及び「シミ抜きスティック」又は前処理型、又は乾燥機用シート（dryer added sheet）などの、基材に負担をかける製品（substrate-laden product））が挙げられる。

20

30

【0008】

本明細書で使用する時、用語「布地及び／若しくは硬質表面洗浄及び／又は処理組成物」は、別途記載のない限り、顆粒又は粉末状の多目的すなわち「ヘビーデューティー」洗浄剤、特にクリーニング用洗剤、液体、ゲル、又はペースト形態の多目的洗浄剤、特にいわゆるヘビーデューティー液体型、おしやれ着用液体洗剤、食器手洗い用洗浄剤又はライトデューティー食器洗浄剤、特に高起泡型のもの、家庭用及び業務用の各種の錠剤型、粒剤型、液剤型、及びすすぎ補助型を含む食洗機用洗剤、液体洗浄剤及び殺菌剤、車又はカーペット洗浄剤、便器クリーナーを含む浴室クリーナー、液体、固体、及び／又は乾燥機用シート形態であり得る柔軟化及び／又はフレッシュニングを含む布地コンディショニング製品、並びにクリーニング助剤（漂白剤及び「シミ抜きスティック」又は前処理型、又は乾燥機用シート（dryer added sheet）などの、基材に負担をかける製品（substrate-laden product））が挙げられる洗浄及び処理組成物の部分集合である。適用可能であるこのような製品の全ては、標準形態又は濃縮形態であり得、又は特定の態様では、このような製品は、更には非水性であり得る程度に高濃縮された形態であり得る。

40

【0009】

本明細書で使用する時、用語「冷水プロテアーゼ変異体」は、親プロテアーゼの変異体を意味し、前記親プロテアーゼの配列は、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%又は100%同一であり、以下の特徴のうちの1つ

50

以上を有する：

a) 試験方法 2 の性能指数が、少なくとも 1. 1、少なくとも 1. 2、少なくとも 1. 3、少なくとも 1. 4、少なくとも 1. 5、少なくとも 1. 6、少なくとも 1. 7、少なくとも 1. 8、少なくとも 1. 9、少なくとも 2、1. 1～約 10、1. 1～約 8、又は更には 1. 1～約 5 である、

b) 試験方法 3 の性能指数が、少なくとも 1. 1、少なくとも 1. 2、少なくとも 1. 3、少なくとも 1. 4、少なくとも 1. 5、少なくとも 1. 6、少なくとも 1. 7、少なくとも 1. 8、少なくとも 1. 9、少なくとも 2、1. 1～約 10、1. 1～約 8、又は更には 1. 1～約 5 である、

c) 試験方法 4 の性能指数が、少なくとも 1. 0、少なくとも 1. 1、少なくとも 1. 2、少なくとも 1. 3、少なくとも 1. 4、少なくとも 1. 5、少なくとも 1. 6、少なくとも 1. 7、少なくとも 1. 8、少なくとも 1. 9、少なくとも 2、1. 0～約 10、1. 0～約 8、又は更には 1. 0～約 5 である、

d) 試験方法 6 の性能指数が、少なくとも 1. 1、少なくとも 1. 2、少なくとも 1. 3、少なくとも 1. 4、少なくとも 1. 5、少なくとも 1. 6、少なくとも 1. 7、少なくとも 1. 8、少なくとも 1. 9、少なくとも 2、1. 1～約 10、1. 1～約 8、又は更には 1. 1～約 5 である、

ここで、各アミノ酸位置は、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシン BPN' のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。本発明での使用に好ましい冷水プロテアーゼは、上記 d) に定義されているような試験方法 6 に従う特徴を有する。

【0010】

試験方法 2、試験方法 3、試験方法 4 及び試験方法 6 は、以下の「試験方法」と題された項に明記される。

【0011】

本明細書で使用する時、用語「プロテアーゼ変異体」は、親プロテアーゼの変異体を意味し、前記親プロテアーゼの配列は、配列番号 1 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、少なくとも 99. 5%又は 100%同一であり、各アミノ酸位置は、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシン BPN' のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【0012】

本明細書で使用する時、「a」及び「an」のような冠詞は、特許請求の範囲で使用されるときには、1つ以上の請求又は記載されるものを意味するものと理解される。

【0013】

本明細書で使用する時、用語「包含する (include)」、「包含する (includes)」及び「包含している (including)」は、非限定的であるように意味される。

【0014】

本明細書で使用する時、用語「固体」は、顆粒、粉末、塊、及び錠剤の製品形態を含む。

【0015】

本明細書で使用する時、用語「流体」は、液体、ゲル、ペースト及びガスの製品形態を含む。

【0016】

本明細書で使用する時、用語「部位」は、布地、衣類及び硬質面を包含する。

【0017】

特記しない限り、成分又は組成物の濃度は全て、当該成分又は組成物の活性部分に関するものであり、このような成分又は組成物の市販の供給源に存在し得る不純物、例えば残留溶媒又は副生成物は除外される。

【0018】

百分率及び比率は全て、特に指示しない限り、重量で計算される。百分率及び比率は全て、特に指示しない限り、組成物全体を基準にして計算される。

【0019】

本明細書全体にわたって記載されるあらゆる最大数値限定は、それより小さいあらゆる数値限定を、そのような小さい数値限定が本明細書に明示的に記載されたものとして包含すると理解されるべきである。本明細書全体を通じて記載される最小数値限定は、それより大きいあらゆる数値限定を、そのような大きい数値限定が本明細書に明確に記載されているかのように含む。本明細書全体を通じて記載される数値範囲は、そのようなより広い数値範囲内に入るそれよりも狭いあらゆる数値範囲を、そのようなより狭い数値範囲が全て本明細書に明確に記載されているかのように含む。

10

【0020】

消費者製品

本明細書で記載のように、本明細書に開示されているプロテアーゼ変異体を含む消費者製品は、例えば、洗濯及び食器洗剤といった、クリーニング産業に特に使用を見出される。これらの用途は、様々な環境ストレス下に酵素を配置する。本発明で採用されるプロテアーゼ変異体は、様々な条件下でのこれらの安定性に少なくとも部分的に起因して、現在使用されている多くの酵素に利益をもたらす。

【0021】

実際、洗浄に関与するプロテアーゼがさらされる、様々な洗剤配合、洗浄水体積、洗浄水温度、洗浄時間の長さなどの様々な洗浄条件が存在する。加えて、異なる地理的領域で使用される洗剤配合は、洗浄水中に存在するこれらの関連成分について異なる濃度を有する。例えば、欧州の洗剤は、典型的には洗浄水中に4500～5000 ppmの洗剤成分を有し、一方、日本の洗剤は、典型的には洗浄水中に約667 ppmの洗剤成分を有する。北米では、特に米国では、洗剤は、典型的には洗浄水中に約975 ppmの洗剤成分を有する。

20

【0022】

低洗剤濃度系としては、約800 ppm未満の洗剤成分が洗浄水中に存在する洗剤が挙げられる。日本の洗剤は、約667 ppmの洗剤成分が洗浄水中に存在するので、典型的には低洗剤濃度系であると考えられる。

【0023】

中洗剤濃度としては、約800 ppm～約2000 ppmの洗剤成分が洗浄水中に存在する洗剤が挙げられる。北米の洗剤は、約975 ppmの洗剤成分が洗浄水中に存在するので、中洗剤濃度系であると通常考えられる。ブラジルは、典型的には、洗浄水中に約1500 ppmの洗剤成分が存在する。

30

【0024】

高洗剤濃度系としては、約2000 ppm超の洗剤成分が洗浄水中に存在する洗剤が挙げられる。欧州の洗剤は、約4500～5000 ppmの洗剤成分が洗浄水中に存在するので、高洗剤濃度系であると通常考えられる。

【0025】

南米の洗剤は通常、高起泡性リン酸塩ビルダー洗剤であり、南米で使用される洗剤の範囲は、洗浄水中1500 ppm～6000 ppmの範囲の洗剤成分であるので、中洗剤濃度と高洗剤濃度のどちらにも入り得る。上記のように、ブラジルは、典型的には、洗浄水中に約1500 ppmの洗剤成分が存在する。しかしながら、他の南米諸国に限らず、他の高起泡性リン酸塩ビルダー洗剤は、洗浄水中に最大約6000 ppmの洗剤成分が存在する高洗剤濃度系を有し得る。

40

【0026】

以上を考慮すると、典型的洗浄溶液中の洗剤組成物の濃度は、世界中で、例えば、日本での約667 ppmといった約800 ppm未満の洗剤組成物（「低洗剤濃度地域」）から、例えば、米国での約975 ppm及びブラジルでの約1500 ppmといった約800 ppm～約2000 ppm（「中洗剤濃度地域」）、例えば、欧州での約4500 pp

50

m～約5000ppm及び高起泡性リン酸塩ビルダー地域での6000ppmといった約2000ppm（「高洗剤濃度地域」）まで、様々であることは明かである。

【0027】

典型的な洗浄溶液の濃度は、経験的に決定される。例えば、米国では、典型的な洗濯機は、約64.4Lの体積の洗浄溶液を保持する。したがって、洗浄溶液内に約975ppmの濃度の洗剤を得るためには、約62.79gの洗剤組成物を64.4Lの洗浄溶液に添加しなければならない。この量は、洗剤と共に提供される計量カップを使用して消費者が計量して洗浄水に入れる典型的な量である。

【0028】

更なる例として、地域により、使用される洗浄温度は異なる。日本における洗浄水の温度は、典型的には、欧州で使用されるものよりも低い。例えば、北米及び日本での洗浄水の温度は典型的には約10～約30℃（例えば、20℃）であり、これに対し、欧州での洗浄水の温度は典型的には約30～約60℃（例えば、40℃）である。しかしながら、エネルギー節約のため、多くの消費者は、冷水洗浄の使用に切り替えている。加えて、更に一部の地域では、冷水は、洗濯並びに食器洗浄用途にも典型的に使用される。一部の実施形態では、本発明の「冷水洗浄」は、約10℃～約40℃、又は約20℃～約30℃、又は約15℃～約25℃、並びに、約15℃～約35℃の範囲内のすべての他の組み合わせ及び10℃～40℃内の全範囲の温水の洗浄を利用する。

【0029】

更なる例として、地域により、典型的には、水硬度は異なる。水硬度は、通常、ガロンあたりの Ca^{2+} ／ Mg^{2+} 混合物のグレインで記載される。硬度は、水中のカルシウム（ Ca^{2+} ）とマグネシウム（ Mg^{2+} ）の尺度である。米国のほとんどの水は硬質であるが、硬度は様々である。中程度に硬質（60～120ppm）から硬質（121～181ppm）の水は、60～181百万分率（百万分率から米国ガロンあたりグレインへの変換：ppmの数値17.1＝ガロンあたりのグレイン）の硬度のミネラルを有する。

【0030】

【表1】

水	ガロンあたりのグレイン	百万分率
軟質	1.0未満	17未満
わずかに硬質	1.0～3.5	17～60
中程度に硬質	3.5～7.0	60～120
硬質	7.0～10.5	120～180
非常に硬質	10.5超	180超

【0031】

欧州の水硬度は、典型的には、約179.1（例えば、約179.1～341.1）mg／L（ガロンあたり10.5（例えば約10.5～約20.0）グレイン）の Ca^{2+} ／ Mg^{2+} 混合物（例えば、約255.8mg／L（ガロンあたり15グレイン）の Ca^{2+} ／ Mg^{2+} 混合物）である。北米の水硬度は、典型的には、日本の水硬度よりも高く、欧州の水硬度よりも低い。例えば、北米の水硬度は、約51.2～約170.5mg／L（約3～約10グレイン）、約51.2～約136.4又は102.3mg／L（約3～約8グレイン又は6グレイン）であり得る。日本の水硬度は、典型的には、北米の水硬度よりも低く、通常、約68.2g／L未満、例えば、51.2mg／L（ガロンあたり約4グレイン未満、例えば、ガロンあたり約3グレイン）の Ca^{2+} ／ Mg^{2+} 混合物である。

【0032】

したがって、一部の実施形態では、本発明は、少なくとも1組の洗浄条件（例えば、水温、水硬度及び／又は洗剤濃度）で驚くべき洗浄性能を示す消費者製品を提供する。

【0033】

特に、本発明は洗浄方法を含む。

【0034】

一部の実施形態では、本発明の消費者製品は、他のサブチリシンプロテアーゼを含む他の消費者製品に対して洗浄性能で比較することができる。一部の実施形態では、本発明の消費者製品は、現在市販されているサブチリシンプロテアーゼを含む消費者製品と比較すると、洗浄性の向上を呈する。それゆえに、本発明の一部の実施形態では、本明細書で提供されるプロテアーゼ変異体を含む消費者製品は、酸化安定性の向上、熱安定性の向上、様々な条件下でのクリーニング性能の向上、及び／又は、採用される酵素のキレーター安定性の向上に少なくとも部分的に起因して、クリーニングの向上を呈する。

10

【0035】

消費者製品

これらの形態の全てにおいて、本明細書に開示されている組成物は消費者製品である。

【0036】

一態様では、補助物質 (adjunct material) と冷水プロテアーゼ変異体とを含む組成物であって、前記組成物は消費者製品である、組成物が開示される。

【0037】

試験方法2、試験方法3、試験方法4及び試験方法6は、以下の「試験方法」と題された項で説明される。

【0038】

20

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異：X1R、X2S、X2M、X2A、X2R、X2W、X3R、X4R、X4S、X4C、X8A、X9A、X9F、X9W、X10S、X10A、X10H、X10M、X12F、X12R、X14K、X14F、X14Q、X15R、X15F、X16S、X17R、X17M、X17F、X18R、X18K、X20F、X20K、X20R、X22A、X22R、X22Y、X22V、X22Q、X22L、X22W、X23A、X23S、X23F、X24R、X24F、X24W、X24Q、X24H、X24L、X25V、X25F、X25R、X26F、X27L、X27F、X27R、X27V、X28A、X28N、X28E、X29T、X30E、X31F、X33S、X33G、X33D、X34P、X35M、X36T、X36F、X36R、X38L、X38F、X38R、X40N、X40L、X40T、X40W、X40H、X40R、X42I、X43A、X43F、X43I、X43S、X43R、X43M、X43W、X43D、X45T、X46R、X48R、X50C、X51W、X51F、X51H、X52F、X52E、X52N、X55Y、X57R、X59A、X59F、X59R、X60P、X60Q、X60A、X62E、X62Q、X63V、X63M、X63T、X63I、X63A、X63S、X63H、X63Q、X63D、X63E、X63P、X64F、X64T、X68A、X68C、X69N、X69T、X69P、X69W、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X75E、X75R、X76D、X78R、X78N、X78I、X79W、X79Q、X81R、X82F、X82T、X82V、X82R、X82M、X85M、X86W、X86L、X86I、X89P、X89T、X89G、X89H、X89L、X89V、X89W、X89F、X89I、X91N、X91F、X92F、X94N、X99F、X99T、X99P、X99G、X99M、X100S、X100N、X100Q、X100I、X101A、X101N、X101G、X101T、X101D、X101E、X101P、X101F、X102A、X102T、X102N、X102H、X102E、X103G、X103N、X103D、X103A、X104L、X104I、X104E、X104D、X105T、X105E、X105Q、X106G、X106T、X106E、X106D、X106A、X106V、X106F、X107M、X107F、X108I、X108G、X109M、X111V、X111I、X112V、X112L、X112Q、X114G、X115K、X115R、X116K、X116A、X116L、X117F、X118R、X118I、X119C、X1

30

40

50

20A、X120F、X120R、X121F、X121E、X123G、X123E、X124S、X128D、X128F、X128L、X128N、X128H、X128M、X128I、X128Q、X129E、X132A、X132E、X138G、X144R、X147L、X148I、X158E、X159D、X159E、X159C、X160D、X166D、X166E、X167W、X175V、X177C、X181A、X182R、X183I、X183D、X183M、X183F、X183R、X185E、X185V、X185I、X186H、X186K、X188E、X188D、X188R、X192H、X192W、X194E、X194V、X194F、X197F、X198L、X198F、X203E、X203C、X208S、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X209G、X209L、X210R、X210V、X210L、X211Q、X211R、X212I、X212M、X212F、X213A、X214F、X215N、X215D、X215E、X215H、X215F、X216F、X216A、X217E、X217N、X217D、X218D、X218P、X218E、X224A、X224G、X227I、X230E、X231I、X231C、X232V、X233C、X234F、X235F、X236F、X236N、X236H、X238R、X238K、X238L、X239K、X239G、X239R、X239H、X239T、X239N、X239S、X239F、X240R、X241R、X242L、X242R、X243F、X243R、X244R、X245R、X246S、X248D、X248V、X248I、X248R、X249R、X249T、X250I、X251R、X251S、X252I、X252F、X252R、X252K、X252H、X253I、X253R、X253F、X254C、X256N、X258R、X260V、X260I、X262D、X262H、X263F、X265F、X267V、X267N、X267M、X269I、X269R、X270C、X271I、X271V、X271H、X271M、X271L、X271P、X271A、X271F、X271T、X272F、X272F、X272R、X273F、X273I及びX274Gを1つ以上、又は更には2つ以上、又は好ましくは3つ以上含む。

10

20

【0039】

前記組成物の好ましい態様では、前記組成物は以下の変異：X1R、X2S、X4R、X4S、X9A、X10S、X14K、X16S、X17R、X18R、X20R、X22A、X22R、X24R、X24W、X25R、X25V、X26F、X42I、X43R、X43A、X46R、X52F、X52E、X52N、X57R、X59A、X62E、X62Q、X68A、X68C、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X75R、X76D、X78R、X82R、X86W、X89P、X89T、X89G、X89H、X89I、X89V、X89W、X91N、X94N、X100S、X101A、X101N、X101G、X101D、X103G、X103N、X104L、X104I、X106V、X106G、X108I、X111V、X112V、X115K、X115R、X117F、X118I、X121F、X128D、X128F、X128L、X128N、X129E、X144R、X148I、X158E、X159E、X160D、X166D、X185E、X185I、X186H、X188E、X188D、X197F、X203E、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X209G、X210R、X212I、X212F、X214F、X215N、X215D、X215E、X217E、X217N、X224A、X230E、X231I、X236F、X238R、X238K、X239K、X239G、X239R、X239S、X241R、X242R、X242L、X243R、X244R、X248I、X248V、X249R、X250I、X252R、X253R、X262D、X263F、X265F、X267V、X267N、X269I、X269R、X271F、X271I、X271H、X271P、X271T、X271V、X271L及びX272Fを1つ以上、又は好ましくは2又は好ましくは3つ以上含む、並びに、以下の変異：X103A、X159D、X236H、X245R、X248D及びX252

30

40

50

Kを1つ以上含んでもよい。

【0040】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：X022R-X024R、X009A-X271L、X018R-X241R、X018R-X115R、X043R-X249R、X020R-X249R、X004R-X249R、X020R-X024R、X018R-X249R、X009A-X020R、X020R-X241R、X009A-X078R、X020R-X115R、X018R-X024R、X024R-X242R、X022R-X115R、X018R-X043R、X020R-X043R、X018R-X242R、X242R-X269R、X018R-X244R、X024R-X269R、X020R-X271L、X024R-X271L、X004R-X009A、X020R-X269R、X001R-X024R、X244R-X271L、X009A-X018R、X241R-X271L、X004R-X024R、X009A-X249R、X009A-X022R、X062E-X129E、X062E-X159E、X016S-X148I、X158E-X249R、X016S-X062E、X111V-X188D、X022A-X062E、X062E-X148I、X022A-X129E、X062E-X271F、X062E-X158E、X016S-X159E、X062E-X186H、X128N-X159E、X062E-X188D、X062E-X128N、X148I-X159E、X103G-X158E、X111V-X159E、X158E-X271F、X016S-X188D、X022A-X111V、X128N-X158E、X016S-X158E、X104L-X158E、X128N-X186H、X159E-X209E、X062E-X101A、X111V-X209E、X148I-X188D、X101A-X209E、X022A-X188D、X016S-X022A、X128N-X129E、X016S-X209E、X016S-X128N、X022A-X089P、X128N-X209E、X089P-X158E、X062E-X103G、X186H-X271F、X016S-X129E、X089P-X159E、X111V-X249R、X101A-X129E、X148I-X209E、X022A-X159E、X129E-X249R、X129E-X209E、X104L-X129E、X128N-X188D、X111V-X158E、X022A-X158E、X062E-X209E、X062E-X249R、X101A-X186H、X089P-X129E、X129E-X271F、X22A-X111V-X159E、X101A-X103G-X104L-X209E、X101A-X103G-X104L-X159E、X101A-X103G-X104L-X188D、X101G-X103A-X104I-X159D、X22A-X103G-X159E、X22A-X128N-X271F-X209E、X22A-X209E-X271F、X22A-X101A-X209E、X101A-X209E-X271F、X22A-X111V-X128N、X22A-X101A-X159E、X101A-X103G-X104L、X22A-X101A-X103G-X104L、X101A-X103G-X104L、X101G-X103A-X104I、X101A-X103G-X104L-X128N、X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X236H-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D、X62E-X101G-X103A-X104I

10

20

30

40

50

-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R、X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X24R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X253R、X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X249R、X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X238R、X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X76D及びX101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X271Fを1つ以上含む。

【0041】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、X1R、X2S、X2M、X2A、X2R、X2W、X3R、X4R、X4S、X4C、X8A、X9A、X9F、X9W、X10S、X10A、X10H、X10M、X12F、X12R、X14K、X14F、X14Q、X15R、X15F、X16S、X17R、X17M、X17F、X18R、X18K、X20F、X20K、X20R、X22A、X22R、X22Y、X22V、X22Q、X22L、X22W、X23A、X23S、X23F、X24R、X24F、X24W、X24Q、X24H、X24L、X25V、X25F、X25R、X26F、X27L、X27F、X27R、X27V、X28A、X28N、X28E、X29T、X30E、X31F、X33S、X33G、X33D、X34P、X35M、X36T、X36F、X36R、X38L、X38F、X38R、X40N、X40L、X40T、X40W、X40H、X40R、X42I、X43A、X43F、X43I、X43S、X43R、X43M、X43W、X43D、X45T、X46R、X48R、X50C、X51W、X51F、X51H、X52F、X52E、X52N、X55Y、X57R、X59A、X59F、X59R、X60P、X60Q、X60A、X62E、X62Q、X63V、X63M、X63T、X63I、X63A、X63S、X63H、X63Q、X63D、X63E、X63P、X64F、X64T、X68A、X68C、X69N、X69T、X69P、X69W、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X75E、X75R、X76D、X78R、X78N、X78I、X79W、X79Q、X81R、X82F、X82T、X82V、X82R、X82M、X85M、X86W、X86L、X86I、X89P、X89T、X89G、X89H、X89L、X89V、X89W、X89F、X89I、X91N、X91F、X92F、X94N、X99F、X99T、X99P、X99G、X99M、X100S、X100N、X100Q、X100I、X101A、X101N、X101G、X101T、X101D、X101E、X101P、X101F、X102A、X102T、X102N、X102H、X102E、X103G、X103N、X103D、X103A、X104L、X104I、X104E、X104D、X105T、X105E、X105Q、X106G、X106T、X106E、X106D、X106A、X106V、X106F、X107M、X107F、X108I、X108G、X109M、X111V、X111I、X112V、X112L、X112Q、X114G、X115K、X115R、X116K、X116A、X116L、X117F、X118R、X118I、X119C、X120A、X120F、X120R、X121F、X121E、X123G、X123E、X124S、X128D、X128F、X128L、X128N、X128H、X128M、X128

10

20

30

40

50

I、X128Q、X129E、X132A、X132E、X138G、X144R、X147L、X148I、X158E、X159D、X159E、X159C、X160D、X166D、X166E、X167W、X175V、X177C、X181A、X182R、X183I、X183D、X183M、X183F、X183R、X185E、X185V、X185I、X186H、X186K、X188E、X188D、X188R、X192H、X192W、X194E、X194V、X194F、X197F、X198L、X198F、X203E、X203C、X208S、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X209G、X209L、X210R、X210V、X210L、X211Q、X211R、X212I、X212M、X212F、X213A、X214F、X215N、X215D、X215E、X215H、X215F、X216F、X216A、X217E、X217N、X217D、X218D、X218P、X218E、X224A、X224G、X227I、X230E、X231I、X231C、X232V、X233C、X234F、X235F、X236F、X236N、X236H、X238R、X238K、X238L、X239K、X239G、X239R、X239H、X239T、X239N、X239S、X239F、X240R、X241R、X242L、X242R、X243F、X243R、X244R、X245R、X246S、X248D、X248V、X248I、X248R、X249R、X249T、X250I、X251R、X251S、X252I、X252F、X252R、X252K、X252H、X253I、X253R、X253F、X254C、X256N、X258R、X260V、X260I、X262D、X262H、X263F、X265F、X267V、X267N、X267M、X269I、X269R、X270C、X271I、X271V、X271H、X271M、X271L、X271P、X271A、X271F、X271T、X272F、X272F、X272R、X273F、X273I及びX274Gから選択される変異を合計で3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は更には25、好ましくは3又は4、最も好ましくは3含む。

【0042】

前記組成物の好ましい態様では、前記プロテアーゼ変異体は、X1R、X2S、V4R、V4S、X9A、X10S、X14K、X16S、H17R、X18R、X20R、X22A、X22R、X24R、X24W、X25R、X25V、X26F、X42I、X43R、X43A、G46R、X52F、X52E、X52N、T57R、Q59A、X62E、X62Q、X68A、X68C、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X75R、X76D、X78R、L82R、P86W、X89P、X89T、X89G、X89H、X89I、X89V、X89W、X91N、X94N、X100S、X101A、X101N、X101G、X101D、X103G、X103N、X104L、X104I、X106V、X106G、X108I、X111V、X112V、X115K、X115R、X117F、X118I、X121F、X128D、X128F、X128L、X128N、X129E、X144R、X148I、X158E、X159E、X160D、X166D、X185E、X185I、X186H、X188E、X188D、D197F、X203E、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X209G、X210R、X212I、X212F、X214F、X215N、X215D、X215E、X217E、X217N、X224A、X230E、X231I、X236F、X238R、X238K、X239K、X239G、X239R、X239S、X241R、X242R、X242L、X243R、X244R、X248I、X248V、X249R、X250I、X252R、X253R、X262D、X263F、X265F、X267V、X267N、X269I、X269R、X271F、X271I、X271H、X271P、X271T、X271V、X271L及びX272Fから選択される変異を合計で3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は更には25、好ましくは3又は4、最も好ましくは3含む、以下の変異：X103A、

10

20

30

40

50

X159D、X236H、X245R、X248D及びX252Kを1つ以上含む。

【0043】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：X1R、X2S、V4R、V4S、X9A、X10S、X14K、X16S、X22A、X22R、X24R、X25V、X26F、X42I、X52F、X52E、X52N、X62E、X62Q、X68A、X68C、X71G、X72C、X74C、X75A、X75F、X78R、X89P、X89T、X89G、X89H、X89W、X91N、X94N、X100S、X101A、X101N、X101G、X101D、X103G、X103N、X104L、X104I、X108I、X111V、X112V、X115K、X117F、X121F、X128D、X128F、X128L、X128N、X129E、X148I、X158E、X159E、X160D、X166D、X185E、X186H、X188E、X188D、X203E、X209S、X209N、X209F、X209T、X209E、X209H、X209G、X210R、X212I、X212F、X214F、X215N、X215D、X215E、X217E、X217N、X224A、X230E、X231I、X236F、X238R、X238K、X239K、X239G、X239R、X248V、X249R、X250I、X262D、X263F、X265F、X267V、X267N、X269I、X269R、X271F、X271I、X271H及びX272Fを2つ以上含み、並びに／あるいは

b) 以下の変異の組：X062E-X129E、X062E-X159E、X016S-X148I、X158E-X249R、X016S-X062E、X111V-X188D、X022A-X062E、X062E-X148I、X022A-X129E、X062E-X271F、X062E-X158E、X016S-X159E、X062E-X186H、X128N-X159E、X062E-X188D、X062E-X128N、X148I-X159E、X103G-X158E、X111V-X159E、X158E-X271F、X016S-X188D、X022A-X111V、X128N-X158E、X016S-X158E、X104L-X158E、X128N-X186H、X159E-X209E、X062E-X101A、X111V-X209E、X148I-X188D、X101A-X209E、X022A-X188D、X016S-X022A、X128N-X129E、X016S-X209E、X016S-X128N、X022A-X089P、X128N-X209E、X089P-X158E、X062E-X103G、X186H-X271F、X016S-X129E、X089P-X159E、X111V-X249R、X101A-X129E、X148I-X209E、X022A-X159E、X129E-X249R、X129E-X209E、X104L-X129E、X128N-X188D、X111V-X158E、X022A-X158E、X062E-X209E、X062E-X249R、X101A-X186H、X089P-X129E、X129E-X271F、X22A-X111V-X159E、X101A-X103G-X104L-X209E、X101A-X103G-X104L-X159E、X101A-X103G-X104L-X188D、X101G-X103A-X104I-X159D、X22A-X103G-X159E、X22A-X128N-X271F-X209E、X22A-X209E-X271F、X22A-X101A-X209E、X101A-X209E-X271F、X22A-X111V-X128N、X22A-X101A-X159E、X101A-X103G-X104L、X22A-X101A-X103G-X104L、X101A-X103G-X104L、X101G-X103A-X104I、X101A-X103G-X104L-X128N、X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、X

10

20

30

40

50

101G-X103A-X104L-X159D-X236H-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X245R-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X248D-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D、X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R、X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X238R、X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X76D及びX101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X271Fを1つ以上含み、前記変異体は、配列番号1のアミノ酸を有するバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して0、-1、-2、-3、-4又は-5、好ましくは0、-1、-2又は-3の総実効電荷を有する。これらのプロテアーゼ変異体は、低イオン強度又は低洗剤濃度を有する水性洗浄液の場合に特に好ましいものであり得る。

【0044】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：X4R、X17R、X18R、X20R、X22R、X24R、X24W、X25R、X43R、X43A、X46R、X52F、X52N、X57R、X59A、X62Q、X71G、X75R、X76D、X78R、X82R、X86W、X89P、X89W、X89T、X89I、X89H、X89V、X104L、X106V、X106G、X115R、X118I、X121F、X144R、X185I、X197F、X209N、X209S、X217E、X231I、X239R、X239S、X241R、X242R、X242L、X243R、X244R、X248I、X249R、X252R、X253R、X271T、X271V、X271L、X271H、X271F、X271P、X1R、X9A、X212F及びX269Rを2つ以上含み、並びに／あるいは

b) 以下の変異の組：X022R-X024R、X009A-X271L、X018R-X241R、X018R-X115R、X043R-X249R、X020R-X249R、X004R-X249R、X020R-X024R、X018R-X249R、X009A-X020R、X020R-X241R、X009A-X078R、X020R-X115R、X018R-X024R、X024R-X242R、X022R-X115R、X018R-X043R、X020R-X043R、X018R-X242R、X242R-X269R、X018R-X244R、X024R-X269R、X020R-X271L、X024R-X271L、X004R-X009A、X020R-X269R、X001R-X024R、X244R-X271L、X009A-X018R、X241R-X271L、X004R-X024R、X009A-X249R、X009A

10

20

30

40

50

-X022R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F、X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X249R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X24R、X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K及びX101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252Kを1つ以上含み、前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸を有するバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して0、+1、+2、+3、+4又は+5の総実効電荷、好ましくは正の総実効電荷、より好ましくは+1、+2又は+3の総実効電荷を有する。これらのプロテアーゼ変異体は、高いイオン強度又は高洗剤濃度を有する水性洗浄液の場合に特に好ましいものであり得る。

10

【0045】

一態様では、前記親プロテアーゼは、Novozymes A/S (Denmark) により商品名Savinase (登録商標)、Polarzyme (登録商標)、Kanasase (登録商標)、Liquanase (登録商標)、Liquanase Ultra (登録商標)、Savinase Ultra (登録商標)、Ovozyme (登録商標) で市販されている酵素、Genencor International により商品名Maxacal (登録商標)、Properase (登録商標)、Purafect (登録商標)、FN3 (登録商標)、FN4 (登録商標)、Excellase (登録商標) 及びPurafect OXP (登録商標) で販売されているもの、並びに、Henkel / Kemira から入手可能なもの、すなわち、BLAP (以下の変異：S99D+S101R+S103A+V104I+G159Sを有する米国特許第5,352,604号の図29に示されている配列、これ以降BLAPと称する) 及びBLAP X (S3T+V4I+V205Iを有するBLAP) からなる群から選択することができる。

20

【0046】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、その親がタンパク質分解活性を有するプロテアーゼ変異体 (例えば、サブチリシン変異体) を含み、前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸とは50以下、40以下、35以下、30以下、25以下、20以下、19以下、18以下、17以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下又は8以下のアミノ酸残基で異なるアミノ酸配列を含み、アミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされ、サブチリシン変異体は、以下の置換の組：

30

(a) X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K、又は

(b) X87N、又は

(c) X87N-S101G-V104N、又は

40

(d) X76D、X103A-X104I又は

(e) Y167A-R170S-A194P、又は

(f) X87N-G118V-X129Q-X130Aを1含む。

【0047】

前記組成物の一態様では、前記補助物質は、香料を含む封入体 (encapsulate)、色相剤、界面活性剤、ビルダー (builder)、キレート化剤、移染防止剤、分散剤、追加の酵素、酵素安定剤、触媒物質、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素源、高分子分散剤、粘土汚れ除去／再付着防止剤、増白剤、抑泡剤、染料、香料、構造伸縮性付与剤、布地柔軟剤、キャリア、向水性物質、加工助剤、溶媒、色素及びこれらの混合物からなる群から選択される成分を含んでもよい。

50

【0048】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、以下からなる群から選択される補助物質を含んでもよい：

- a) 香料封入体、
- b) 布地色調剤、
- c) 冷水可溶性増白剤、

d) 遷移金属触媒などの金属触媒を含んでもよい漂白触媒、より好ましくは、イミニウムカチオン、イミニウムポリイオン、イミニウム双性イオン、修飾されたアミン、修飾されたアミン酸化物、N-スルホニルイミン、N-ホスホニルイミン、N-アシルイミン、チアジアゾールジオキシド、ペルフルオロイミン、環状糖ケトン及びこれらの混合物から

10

- e) 第1の洗浄リパーゼ、
- f) バクテリアクリーニングセルラーゼ、
- g) Guerbet 非イオン性界面活性剤、並びに
- h) これらの混合物。

【0049】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異：A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、T022R、T022Y、T022V、T022Q、T022L、T022W、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G063Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S078R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E089V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S101T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102T、G102N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S103A、V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、S105Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106V、S106F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L111V、L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、G115R、N116K、N116A、N116L、N1

20

30

40

50

17F、G118R、G118I、M119C、H120A、H120F、H120R、
V121F、V121E、N123G、N123E、L124S、S128D、S128
F、S128L、S128N、S128H、S128M、S128I、S128Q、P1
29E、S132A、S132E、A138G、S144R、V147L、L148I、
A158E、G159D、G159E、G159C、S160D、S166D、S166
E、Y167W、M175V、V177C、D181A、Q182R、N183I、N1
83D、N183M、N183F、N183R、N185E、N185V、N185I、
R186H、R186K、S188E、S188D、S188R、Y192H、Y192
W、A194E、A194V、A194F、D197F、I198L、I198F、V2
03E、V203C、T208S、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、
Y209E、Y209H、Y209G、Y209L、P210R、P210V、P210
L、G211Q、G211R、S212I、S212M、S212F、T213A、Y2
14F、A215N、A215D、A215E、A215H、A215F、S216F、
S216A、L217E、L217N、L217D、N218D、N218P、N218
E、T224A、T224G、V227I、A230E、A231I、A231C、A2
32V、L233C、V234F、K235F、Q236F、Q236N、Q236H、
N238R、N238K、N238L、P239K、P239G、P239R、P239
H、P239T、P239N、P239S、P239F、S240R、W241R、S2
42L、S242R、N243F、N243R、V244R、Q245R、I246S、
N248D、N248V、N248I、N248R、H249R、H249T、L250
I、K251R、K251S、N252I、N252F、N252R、N252K、N2
52H、T253I、T253R、T253F、A254C、S256N、G258R、
T260V、T260I、L262D、L262H、Y263F、S265F、L267
V、L267N、L267M、N269I、N269R、A270C、E271I、E2
71V、E271H、E271M、E271L、E271P、E271A、E271F、
E271T、A272F、A272F、A272R、A273F、A273I及びT27
4Gの1つ以上、又は更には2つ以上を含む。

10

20

【0050】

前記組成物の好ましい態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異：A1R、Q
2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、H17R、N18R、
G20R、T22A、T22R、S24R、S24W、G25R、G25V、V26F、
L42I、N43R、N43A、G46R、P52F、P52E、P52N、T57R、
Q59A、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、
L75A、L75F、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、
E89T、E89G、E89H、E89I、E89V、E89W、Y91N、K94N、
G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103
N、V104L、V104I、S106V、S106G、A108I、L111V、E1
12V、G115K、G115R、N117F、G118I、V121F、S128D、
S128F、S128L、S128N、P129E、S144R、L148I、A158
E、G159E、S160D、S166D、N185E、N185I、R186H、S1
88E、S188D、D197F、V203E、Y209S、Y209N、Y209F、
Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212
F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T2
24A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、
P239G、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243
R、V244R、N248I、N248V、H249R、L250I、N252R、T2
53R、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、
N269R、E271F、E271I、E271H、E271P、E271T、E271
V、E271L及びA272Fを1つ以上、又は更には2つ以上含み、並びに、以下の変
異：S103A、G159D、Q236H、Q245R、N248D及びN252Kを1

30

40

50

つ以上含んでいても良い。

【0051】

本発明の好ましい態様では、補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物が提供され、前記プロテアーゼ変異体が以下の変異の組：G020R-N043R、N062E-A158E、S103G-A158E、S128N-A158E、A016S-A158E、V104L-A158E、E089P-A158E、L111V-A158E、T022A-A158E、S101A-A158E、L148I-A158E、P129E-A158E、T022A-E089P、A016S-E089P、N062E-E089P、N062E-E271F、A158E-E271F、R186H-E271F、P129E-E271F、L111V-E271F、Y209E-E271F、A016S-E271F、S188D-E271F、T022A-E271F、G159E-E271F、V104L-E271F、S101A-E271F、E089P-E271F、S128N-E271F、S103G-E271F、L148I-E271F、H249R-E271F、N062E-G159E、A016S-G159E、S128N-G159E、L148I-G159E、L111V-G159E、E089P-G159E、T022A-G159E、P129E-G159E、S103G-G159E、V104L-G159E、A158E-G159E、S101A-G159E、A158E-H249R、L111V-H249R、P129E-H249R、N062E-H249R、A016S-H249R、R186H-H249R、L148I-H249R、G159E-H249R、S101A-H249R、S188D-H249R、V104L-H249R、Y209E-H249R、T022A-H249R、S128N-H249R、S103G-H249R、E089P-H249R、T022A-L111V、S101A-L111V、A016S-L111V、V104L-L111V、N062E-L111V、S103G-L111V、E089P-L111V、A016S-L148I、N062E-L148I、T022A-L148I、P129E-L148I、V104L-L148I、S103G-L148I、S128N-L148I、S101A-L148I、E089P-L148I、L111V-L148I、A016S-N062E、T022A-N062E、N062E-P129E、T022A-P129E、S128N-P129E、A016S-P129E、S101A-P129E、V104L-P129E、E089P-P129E、S103G-P129E、L111V-P129E、N062E-R186H、S128N-R186H、S101A-R186H、T022A-R186H、A016S-R186H、A158E-R186H、E089P-R186H、P129E-R186H、G159E-R186H、S103G-R186H、V104L-R186H、L111V-R186H、L148I-R186H、N062E-S101A、T022A-S101A、A016S-S101A、E089P-S101A、N062E-S103G、T022A-S103G、A016S-S103G、S101A-S103G、E089P-S103G、N062E-S128N、A016S-S128N、T022A-S128N、S101A-S128N、V104L-S128N、E089P-S128N、S103G-S128N、L111V-S128N、L111V-S188D、N062E-S188D、A016S-S188D、L148I-S188D、T022A-S188D、S128N-S188D、S101A-S188D、V104L-S188D、E089P-S188D、P129E-S188D、G159E-S188D、R186H-S188D、S103G-S188D、A158E-S188D、A016S-T022A、A016S-V104L、T022A-V104L、S101A-V104L、N062E-V104L、S103G-V104L、E089P-V104L、G159E-Y209E、L111V-Y209E、S101A-Y209E、A016S-Y209E、S128N-Y209E、L148I-Y209E、P129E-Y209E、N062E-Y209E、T022A-Y209E、S103G-Y209E、A158E-Y209E、S188D-Y209E、V104L-Y209E、E089P-Y209E、R186H-Y209E、N018R-W241

10

20

30

40

50

R、G020R-W241R、S024R-W241R、S009A-W241R、G020R-W241R、V004R-W241R、N043R-W241R、S078R-W241R、T022R-W241R、G115R-W241R、A001R-W241R、S212F-W241R、L082R-W241R、N018R-V244R、S024R-V244R、S078R-V244R、G020R-V244R、S212F-V244R、S009A-V244R、L082R-V244R、A001R-V244R、N043R-V244R、T022R-V244R、V004R-V244R、G115R-V244R、W241R-V244R、S242R-V244R、A001R-V004R、S009A-T022R、N018R-T022R、G020R-T022R、V004R-T022R、A001R-T022R、S024R-S242R、N018R-S242R、V004R-S242R、G020R-S242R、S212F-S242R、L082R-S242R、S078R-S242R、A001R-S242R、S009A-S242R、T022R-S242R、G115R-S242R、N043R-S242R、W241R-S242R、N018R-S212F、T022R-S212F、V004R-S212F、S024R-S212F、A001R-S212F、G115R-S212F、G020R-S212F、S009A-S212F、N043R-S212F、S078R-S212F、L082R-S212F、S009A-S078R、G020R-S078R、S024R-S078R、T022R-S078R、N018R-S078R、V004R-S078R、A001R-S078R、N043R-S078R、T022R-S024R、G020R-S024R、N018R-S024R、A001R-S024R、V004R-S024R、S009A-S024R、V004R-S009A、A001R-S009A、S242R-N269R、S024R-N269R、G020R-N269R、T022R-N269R、H249R-N269R、S212F-N269R、N043R-N269R、V244R-N269R、A001R-N269R、N018R-N269R、S078R-N269R、S009A-N269R、G115R-N269R、W241R-N269R、V004R-N269R、L082R-N269R、N018R-N043R、G020R-N043R、V004R-N043R、T022R-N043R、S009A-N043R、A001R-N043R、S024R-N043R、S009A-N018R、V004R-N018R、A001R-N018R、S024R-L082R、S009A-L082R、N018R-L082R、A001R-L082R、S078R-L082R、G020R-L082R、T022R-L082R、V004R-L082R、N043R-L082R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、N018R-H249R、S009A-H249R、S212F-H249R、T022R-H249R、S024R-H249R、G115R-H249R、A001R-H249R、L082R-H249R、S242R-H249R、W241R-H249R、V244R-H249R、S078R-H249R、N018R-G115R、G020R-G115R、T022R-G115R、S078R-G115R、S009A-G115R、V004R-G115R、A001R-G115R、L082R-G115R、N043R-G115R、S024R-G115R、S009A-G020R、N018R-G020R、V004R-G020R、A001R-G020R、S009A-E271L、G020R-E271L、S024R-E271L、V244R-E271L、W241R-E271L、N043R-E271L、T022R-E271L、H249R-E271L、S212F-E271L、G115R-E271L、S242R-E271L、S078R-E271L、V004R-E271L、N269R-E271L、A001R-E271L、N018R-E271L、及びL082R-E271L、G020K-N062E、S024F-N116L、G020K-S024F、S024R-A174T、S024R-G118R、S024R-K235F、S024R-P086R、S024R-P086W、S078R-G118R、T033S-G118R、T033S-K235F、Y209A-W241R、G020R-N076D、N018

R-Q245R、S024R-R045T、A232V-Q245R、G118R-A172V、G118R-A194T、I008T-S024R、K235F-N243F、N018R-S103A、N018R-V104I、P086W-G118R、P086W-N243F、P086W-Y209A、S024C-T033S、S024R-A232V、S024R-N243F、S024R-P239Q、S024R-S101G、S024R-S141G、S024R-T033S、S024R-T274I、S024R-Y209A、S078R-P086W、S101G-A232V、T033S-L148F、T033S-P086W、T033S-P201S、T033S-S078R、T033S-W241R、T033S-Y209A、A230E-H249R、A232V-H249R、G118R-K235F、N076D-Q245R、P086W-K235F、S024R-R247H、S024R-V104A、S078R-K235F、S101G-H249R、S103A-A232V、T033S-A048T、T033S-P239T、T033S-T253A、T143A-Y209A、Y209A-K235F、N018R-R045T、Y209A-N243F、S024R-A272P、S024R-R269C、S101G-V104I、V104I-A232V、N076D-H249R、及びS024R-N076D、G020R-N076D、S024R-R045T、A230E-H249R、N018R-R045T、N018R-Q245R、S101G-A232V、S024R-A232V、A232V-Q245R、S024R-S101G、N018R-V104I、N018R-S103A、S101G-H249R、A232V-H249R、S103A-A232V、N076D-Q245R、S101G-V104I、V104I-A232V、N076D-H249R、S024R-N076D、S024F-N116L、G020K-S024F、G020K-N062E、T033S-G118R、S024R-P086W、S024R-G118R、S024R-P086R、Y209A-W241R、S024R-W241R、S024R-K235F、G118R-Y209A、S078R-G118R、T033S-K235F、S024R-A174T、P086W-Y209A、I008T-S024R、P086W-G118R、T033S-W241R、S024R-N243F、S024R-Y209A、T033S-P086W、S024R-T033S、P086W-N243F、T033S-P201S、S024R-P239Q、S078R-P086W、K235F-N243F、G118R-A172V、T033S-L148F、T033S-S078R、T033S-N243F、S024C-T033S、G118R-A194T、T033S-Y209A、S024R-S141G、S024R-T274I、P086W-K235F、A015T-T033S、Y209A-K235F、S024R-R247H、S078R-K235F、S024R-V104A、T033S-A048T、G118R-K235F、T033S-T253A、T143A-Y209A、T033S-P239T、Y209A-N243F、S024R-A272P及びS024R-R269Cを1つ以上含み、前記変異体の総実効電荷は、バチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼの総実効電荷と比較して0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4又は-5であり、総実効電荷は、N43D、R45T、N62E、N76D、S101D、P129E、A158E、G159D、G159E、S166D、S188D、A230E、N18R、G20K、G20R、T22R、S24R、N43R、G118R、Q245R、H249R、N269R、E271F及びE271Lから選択される1つ以上の置換により得られてもよく、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされ、前記組成物は消費者製品である。

【0052】

好ましい実施形態では、この組成物は、上記のようなプロテアーゼ変異体を含み、ここで、定義された組の1つ以上に加えて、この変異体の総実効電荷は、N43D、R45T、N62E、N76D、S101D、P129E、A158E、G159D、G159E

、S166D、S188D、A230E、N18R、G20K、G20R、T22R、S24R、N43R、G118R、Q245R、H249R、N269R、E271F及びE271Lからなる群から選択される1つ以上の追加の置換によりバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼ（配列番号1）と比較して0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4又は-5の総実効電荷に調整される。好ましい一実施形態では、負電荷が、N043D、R045T、N076D及びA230Eから選択される1つ以上の置換により加えられる。好ましい一実施形態では、正電荷が、G020K、S024R、G118R、Q245R、H249R、E271F及びE271Lから選択される1つ以上の置換により加えられる。

【0053】

好ましい組成物では、プロテアーゼ変異体は、G020R-N043R、N062E-A158E、S103G-A158E、S128N-A158E、A016S-A158E、V104L-A158E、E089P-A158E、L111V-A158E、T022A-A158E、S101A-A158E、L148I-A158E、P129E-A158E、T022A-E089P、A016S-E089P、N062E-E089P、N062E-E271F、A158E-E271F、R186H-E271F、P129E-E271F、L111V-E271F、Y209E-E271F、A016S-E271F、S188D-E271F、T022A-E271F、G159E-E271F、V104L-E271F、S101A-E271F、E089P-E271F、S128N-E271F、S103G-E271F、L148I-E271F、H249R-E271F、N062E-G159E、A016S-G159E、S128N-G159E、L148I-G159E、L111V-G159E、E089P-G159E、T022A-G159E、P129E-G159E、S103G-G159E、V104L-G159E、A158E-G159E、S101A-G159E、A158E-H249R、L111V-H249R、P129E-H249R、N062E-H249R、A016S-H249R、R186H-H249R、L148I-H249R、G159E-H249R、S101A-H249R、S188D-H249R、V104L-H249R、Y209E-H249R、T022A-H249R、S128N-H249R、S103G-H249R、E089P-H249R、T022A-L111V、S101A-L111V、A016S-L111V、V104L-L111V、N062E-L111V、S103G-L111V、E089P-L111V、A016S-L148I、N062E-L148I、T022A-L148I、P129E-L148I、V104L-L148I、S103G-L148I、S128N-L148I、S101A-L148I、E089P-L148I、L111V-L148I、A016S-N062E、T022A-N062E、N062E-P129E、T022A-P129E、S128N-P129E、A016S-P129E、S101A-P129E、V104L-P129E、E089P-P129E、S103G-P129E、L111V-P129E、N062E-R186H、S128N-R186H、S101A-R186H、T022A-R186H、A016S-R186H、A158E-R186H、E089P-R186H、P129E-R186H、G159E-R186H、S103G-R186H、V104L-R186H、L111V-R186H、L148I-R186H、N062E-S101A、T022A-S101A、A016S-S101A、E089P-S101A、N062E-S103G、T022A-S103G、A016S-S103G、S101A-S103G、E089P-S103G、N062E-S128N、A016S-S128N、T022A-S128N、S101A-S128N、V104L-S128N、E089P-S128N、S103G-S128N、L111V-S128N、L111V-S188D、N062E-S188D、A016S-S188D、L148I-S188D、T022A-S188D、S128N-S188D、S101A-S188D、V104L-S188D、E089P-S188D、P129E-S188D、G159E-S188D、R186H-S188D、S103G-S188D、A158E-

10

20

30

40

50

S 1 8 8 D、A 0 1 6 S-T 0 2 2 A、A 0 1 6 S-V 1 0 4 L、T 0 2 2 A-V 1 0 4
L、S 1 0 1 A-V 1 0 4 L、N 0 6 2 E-V 1 0 4 L、S 1 0 3 G-V 1 0 4 L、E 0
8 9 P-V 1 0 4 L、G 1 5 9 E-Y 2 0 9 E、L 1 1 1 V-Y 2 0 9 E、S 1 0 1 A-
Y 2 0 9 E、A 0 1 6 S-Y 2 0 9 E、S 1 2 8 N-Y 2 0 9 E、L 1 4 8 I-Y 2 0 9
E、P 1 2 9 E-Y 2 0 9 E、N 0 6 2 E-Y 2 0 9 E、T 0 2 2 A-Y 2 0 9 E、S 1
0 3 G-Y 2 0 9 E、A 1 5 8 E-Y 2 0 9 E、S 1 8 8 D-Y 2 0 9 E、V 1 0 4 L-
Y 2 0 9 E、E 0 8 9 P-Y 2 0 9 E、R 1 8 6 H-Y 2 0 9 E、N 0 1 8 R-W 2 4 1
R、G 0 2 0 R-W 2 4 1 R、S 0 2 4 R-W 2 4 1 R、S 0 0 9 A-W 2 4 1 R、G 0
2 0 R-W 2 4 1 R、V 0 0 4 R-W 2 4 1 R、N 0 4 3 R-W 2 4 1 R、S 0 7 8 R-
W 2 4 1 R、T 0 2 2 R-W 2 4 1 R、G 1 1 5 R-W 2 4 1 R、A 0 0 1 R-W 2 4 1
R、S 2 1 2 F-W 2 4 1 R、L 0 8 2 R-W 2 4 1 R、N 0 1 8 R-V 2 4 4 R、S 0
2 4 R-V 2 4 4 R、S 0 7 8 R-V 2 4 4 R、G 0 2 0 R-V 2 4 4 R、S 2 1 2 F-
V 2 4 4 R、S 0 0 9 A-V 2 4 4 R、L 0 8 2 R-V 2 4 4 R、A 0 0 1 R-V 2 4 4
R、N 0 4 3 R-V 2 4 4 R、T 0 2 2 R-V 2 4 4 R、V 0 0 4 R-V 2 4 4 R、G 1
1 5 R-V 2 4 4 R、W 2 4 1 R-V 2 4 4 R、S 2 4 2 R-V 2 4 4 R、A 0 0 1 R-
V 0 0 4 R、S 0 0 9 A-T 0 2 2 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2
R、V 0 0 4 R-T 0 2 2 R、A 0 0 1 R-T 0 2 2 R、S 0 2 4 R-S 2 4 2 R、N 0
1 8 R-S 2 4 2 R、V 0 0 4 R-S 2 4 2 R、G 0 2 0 R-S 2 4 2 R、S 2 1 2 F-
S 2 4 2 R、L 0 8 2 R-S 2 4 2 R、S 0 7 8 R-S 2 4 2 R、A 0 0 1 R-S 2 4 2
R、S 0 0 9 A-S 2 4 2 R、T 0 2 2 R-S 2 4 2 R、G 1 1 5 R-S 2 4 2 R、N 0
4 3 R-S 2 4 2 R、W 2 4 1 R-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-S 2 1 2 F、T 0 2 2 R-
S 2 1 2 F、V 0 0 4 R-S 2 1 2 F、S 0 2 4 R-S 2 1 2 F、A 0 0 1 R-S 2 1 2
F、G 1 1 5 R-S 2 1 2 F、G 0 2 0 R-S 2 1 2 F、S 0 0 9 A-S 2 1 2 F、N 0
4 3 R-S 2 1 2 F、S 0 7 8 R-S 2 1 2 F、L 0 8 2 R-S 2 1 2 F、S 0 0 9 A-
S 0 7 8 R、G 0 2 0 R-S 0 7 8 R、S 0 2 4 R-S 0 7 8 R、T 0 2 2 R-S 0 7 8
R、N 0 1 8 R-S 0 7 8 R、V 0 0 4 R-S 0 7 8 R、A 0 0 1 R-S 0 7 8 R、N 0
4 3 R-S 0 7 8 R、T 0 2 2 R-S 0 2 4 R、G 0 2 0 R-S 0 2 4 R、N 0 1 8 R-
S 0 2 4 R、A 0 0 1 R-S 0 2 4 R、V 0 0 4 R-S 0 2 4 R、S 0 0 9 A-S 0 2 4
R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A、A 0 0 1 R-S 0 0 9 A、S 2 4 2 R-N 2 6 9 R、S 0
2 4 R-N 2 6 9 R、G 0 2 0 R-N 2 6 9 R、T 0 2 2 R-N 2 6 9 R、H 2 4 9 R-
N 2 6 9 R、S 2 1 2 F-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-N 2 6 9 R、V 2 4 4 R-N 2 6 9
R、A 0 0 1 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 2 6 9 R、S 0 7 8 R-N 2 6 9 R、S 0
0 9 A-N 2 6 9 R、G 1 1 5 R-N 2 6 9 R、W 2 4 1 R-N 2 6 9 R、V 0 0 4 R-
N 2 6 9 R、L 0 8 2 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R、G 0 2 0 R-N 0 4 3
R、V 0 0 4 R-N 0 4 3 R、T 0 2 2 R-N 0 4 3 R、S 0 0 9 A-N 0 4 3 R、A 0
0 1 R-N 0 4 3 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R、S 0 0 9 A-N 0 1 8 R、V 0 0 4 R-
N 0 1 8 R、A 0 0 1 R-N 0 1 8 R、S 0 2 4 R-L 0 8 2 R、S 0 0 9 A-L 0 8 2
R、N 0 1 8 R-L 0 8 2 R、A 0 0 1 R-L 0 8 2 R、S 0 7 8 R-L 0 8 2 R、G 0
2 0 R-L 0 8 2 R、T 0 2 2 R-L 0 8 2 R、V 0 0 4 R-L 0 8 2 R、N 0 4 3 R-
L 0 8 2 R、N 0 4 3 R-H 2 4 9 R、G 0 2 0 R-H 2 4 9 R、V 0 0 4 R-H 2 4 9
R、N 0 1 8 R-H 2 4 9 R、S 0 0 9 A-H 2 4 9 R、S 2 1 2 F-H 2 4 9 R、T 0
2 2 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-H 2 4 9 R、G 1 1 5 R-H 2 4 9 R、A 0 0 1 R-
H 2 4 9 R、L 0 8 2 R-H 2 4 9 R、S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、W 2 4 1 R-H 2 4 9
R、V 2 4 4 R-H 2 4 9 R、S 0 7 8 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 1 1 5 R、G 0
2 0 R-G 1 1 5 R、T 0 2 2 R-G 1 1 5 R、S 0 7 8 R-G 1 1 5 R、S 0 0 9 A-
G 1 1 5 R、V 0 0 4 R-G 1 1 5 R、A 0 0 1 R-G 1 1 5 R、L 0 8 2 R-G 1 1 5
R、N 0 4 3 R-G 1 1 5 R、S 0 2 4 R-G 1 1 5 R、S 0 0 9 A-G 0 2 0 R、N 0
1 8 R-G 0 2 0 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0 R、A 0 0 1 R-G 0 2 0 R、S 0 0 9 A-
E 2 7 1 L、G 0 2 0 R-E 2 7 1 L、S 0 2 4 R-E 2 7 1 L、V 2 4 4 R-E 2 7 1
L、W 2 4 1 R-E 2 7 1 L、N 0 4 3 R-E 2 7 1 L、T 0 2 2 R-E 2 7 1 L、H 2

49R-E271L、S212F-E271L、G115R-E271L、S242R-E271L、S078R-E271L、V004R-E271L、N269R-E271L、A001R-E271L、N018R-E271L及びL082R-E271Lからなる群から選択される変異の組を1つ以上有するプロテアーゼ変異体から選択される。

【0054】

別の態様では、本発明者らは、好ましいプロテアーゼが、N062E、S101D、P129E、A158E、G159D/E、S166D及び/又はS188Dからなる群から選択される帯電変異を少なくとも1又は更には2つ以上含むことを発見した。このようなプロテアーゼは、好ましくは低イオン強度又は低洗剤濃度を有する洗浄液を作るための水への添加に好適である洗剤組成物への組み込みにとって特に好ましい。それゆえに、本発明の好ましい態様では、これらのプロテアーゼは、手による洗浄又は機械による洗浄プロセスのいずれかについて、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に添加される洗剤組成物の部分を形成し、洗浄液の伝導度は、約0.1mS/cm〜約3mS/cm、約0.3mS/cm〜約2.5mS/cm、又は更には約0.5mS/cm〜約2mS/cmである。

10

【0055】

更なる態様では、N062E、S101D、P129E、A158E、G159D/E、S166D及び/又はS188Dからなる群から選択される帯電変異を少なくとも1又は更には2つ以上含むプロテアーゼは、配列番号1の酵素と比較して0、-1、-2、-3、-4又は-5、好ましくは0、-1、-2又は-3、最も好ましくは-1又は-2の電荷を有する。所望の実効電荷に達するための好ましい変異は、G20K、S024R、G118R、Q245R、H249R及びE271F/Lからなる群から選択される変異を1、2又はそれ以上含む。

20

【0056】

本発明によると、本発明での使用に特に好ましいプロテアーゼは、

(a) N062E、S101D、P129E、A158E、G159D/E、S166D及び/又はS188Dからなる群から選択される帯電変異を1つ以上含む、並びに/あるいは、

(b) 配列番号1の酵素と比較して0、-1、-2、-3、-4又は-5、好ましくは0、-1、-2又は-3、最も好ましくは-1又は-2の電荷を有する、並びに/あるいは、

30

(c) G20K、S024R、G118R、Q245R、H249R及び/又はE271F/Lからなる群から選択される所望の実効電荷に達するための変異を1、2、3又はそれ以上含む。

【0057】

「所望の実効電荷に達するための変異」により、酵素変異体をパチルス・レントスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較したときに、パチルス・レントスのサブチリシンGG36と比較した変異体の総実効電荷が、好ましくは、例えば上記(c)に列挙されている同定された変異から選択される更なる変異を1つ以上選択することにより、好ましい範囲内になるように調整できることを意味することが意図される。

40

【0058】

好ましくは、これらの好ましいプロテアーゼは、手又は機械による洗浄プロセスのいずれかで、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に添加される洗剤組成物の部分を形成し、洗浄液の伝導度は、約0.1mS/cm〜約3mS/cm、約0.3mS/cm〜約2.5mS/cm、又は更には約0.5mS/cm〜約2mS/cmである。

【0059】

理論に束縛されるものではないが、所望の実効電荷に達するためのこれらの変異は、低イオン強度条件又は低洗剤濃度を有する洗浄液にとって分子の最適な電荷を確保することにより、プロテアーゼの性能全体の向上をもたらすと考えられる一特定の変異を注意深く組み合わせることによってのみこのような好ましいプロテアーゼを入手できる。

50

【0060】

別の態様では、本発明者らは、好ましいプロテアーゼが、N018R、G020K/R、T022R、S024R、Q245R、N043R、H249R及び／又はN269Rからなる群から選択される帯電変異を少なくとも1又は2つ以上含むことを発見した。このようなプロテアーゼは、好ましくは高イオン強度又は高洗剤濃度を有する洗浄液を作るための水へ添加する洗剤組成物への組み込みにとって特に好ましい。例えば、これらの好ましいプロテアーゼは、手による洗浄又は機械による洗浄のいずれかにとって、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に添加される洗剤組成物の部分を形成してもよく、洗浄液の伝導度は、約3mS/cm～約30mS/cm、約3.5mS/cm～約20mS/cm、又は更には約4mS/cm～約10mS/cmである。

10

【0061】

更なる態様では、N018R、G020K/R、T022R、S024R、N043R、Q245R、H249R及び／又はN269Rからなる群から選択される帯電変異を少なくとも1又は2又は更にはそれ以上含むプロテアーゼは、配列番号1の酵素と比較して0、+1、+2、+3、+4又は+5、好ましくは+1、+2又は+3、最も好ましくは+2の電荷を有する。所望の実効電荷に達するための好ましい変異は、N043D、R045T、N076D及び／又はA230Eからなる群から選択される変異を1、2又はそれ以上含む。

【0062】

特に好ましいプロテアーゼは、

20

(a) N018R、G020K/R、T022R、S024R、N043R、Q245R、H249R及び／又はN269Rからなる群から選択される帯電変異を1又は2つ以上含む、並びに／あるいは、

(b) 配列番号1の酵素と比較して、0、+1、+2、+3、+4又は+5、好ましくは+1、+2又は+3、最も好ましくは+2の電荷を有する、並びに／あるいは、

(c) N043D、R045T、N076D及び／又はA230Eからなる群から選択される所望の実効電荷に達するための変異を含む。

【0063】

好ましくは、これらの好ましいプロテアーゼは、手又は機械による洗浄プロセスのいずれかで、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に添加される洗剤組成物の部分を形成し洗浄液の伝導度は、約3mS/cm超～約30mS/cm、約3.5mS/cm～約20mS/cm、又は更には約4mS/cm～約10mS/cmである。

30

【0064】

理論に束縛されるものではないが、所望の実効電荷に達するためのこれらの変異は、高イオン強度又は高洗剤濃度条件でプロテアーゼの性能全体の向上をもたらすと考えられる一特定の変異を注意深く組み合わせることによってのみこのような好ましいプロテアーゼを入手できる。

【0065】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：T022R-S024R、S009A-E271L、N018R-W241R、N018R-G115R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、G020R-S024R、N018R-H249R、S009A-G020R、G020R-W241R、S009A-S078R、G020R-G115R、N018R-S024R、S024R-S242R、T022R-G115R、N018R-N043R、G020R-N043R、N018R-S242R、S242R-N269R、N018R-V244R、S024R-N269R、G020R-E271L、S024R-E271L、V004R-S009A、G020R-N269R、A001R-S024R、V244R-E271L、S009A-N018R、W241R-E271L、V004R-S024R、S009A-H249R、S009A-T022R、N062E-P129E、N062E-G159E、A016S-L148I、A158E-H249R、A0

40

50

16S-N062E、L111V-S188D、T022A-N062E、N062E-
 L148I、T022A-P129E、N062E-E271F、N062E-A158
 E、A016S-G159E、N062E-R186H、S128N-G159E、N0
 62E-S188D、N062E-S128N、L148I-G159E、S103G-
 A158E、L111V-G159E、A158E-E271F、A016S-S188
 D、T022A-L111V、S128N-A158E、A016S-A158E、V1
 04L-A158E、S128N-R186H、G159E-Y209E、N062E-
 S101A、L111V-Y209E、L148I-S188D、S101A-Y209
 E、T022A-S188D、A016S-T022A、S128N-P129E、A0
 16S-Y209E、A016S-S128N、T022A-E089P、S128N-
 Y209E、E089P-A158E、N062E-S103G、R186H-E271
 F、A016S-P129E、E089P-G159E、L111V-H249R、S1
 01A-P129E、L148I-Y209E、T022A-G159E、P129E-
 H249R、P129E-Y209E、V104L-P129E、S128N-S188
 D、L111V-A158E、T022A-A158E、N062E-Y209E、N0
 62E-H249R、S101A-R186H、E089P-P129E、P129E-
 E271F、T22A-L111V-G159E、S101A-S103G-V104L
 -Y209E、S101A-S103G-V104L-G159E、S101A-S10
 3G-V104L-S188D、S101G-S103A-V104I-G159D、T
 22A-S103G-G159E、T22A-S128N-E271F-Y209E、T
 22A-Y209E-E271F、T22A-S101A-Y209E、S101A-Y
 209E-E271F、T22A-L111V-S128N、T22A-S101A-G
 159E、S101A-S103G-V104L、T22A-S101A-S103G-
 V104L、S101A-S103G-V104L、S101G-S103A-V104
 I、S101A-S103G-V104L-S128N、S103A-V104I-G1
 59D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-
 V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252
 K、S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N2
 48D-N252K、S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-
 Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159
 D-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V1
 04L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K、S101G-
 S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252
 K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q2
 45R-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-
 Q236H-Q245R-N248D、N62E-S101G-S103A-V104I
 -G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、N62E-S101
 G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H2
 49R、T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q
 245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D
 -A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104
 I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R、S101G-S1
 03A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、
 T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R
 -N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159E-A23
 2V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G
 159D-A232V-Q245R-N248D-N238R、S101G-S103A
 -V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S10
 1G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D、S
 101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D

10

20

30

40

50

－E 2 7 1 F、S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－G 1 5 9 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－N 7 6 D及びS 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－G 1 5 9 E－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－E 2 7 1 Fを1つ以上、好ましくは2つ以上、又は3つ以上含む。

【0066】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：G 0 2 0 K－G 0 2 3 A－N 0 4 3 W－G 1 1 8 R－S 1 2 8 I－P 1 2 9 E－G 1 5 9 D－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－G 0 2 3 A－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L、G 0 2 0 K－G 0 2 3 A－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－G 0 2 3 A－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D－T 2 1 3 A、G 0 2 0 K－G 1 0 0 S－N 1 1 6 L－A 1 5 8 E－S 1 6 6 D－N 2 4 3 F、G 0 2 0 K－N 0 4 3 W－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－N 0 6 2 E、G 0 2 0 K－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L、G 0 2 0 K－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－T 2 1 3 A、G 0 2 0 K－N 0 6 2 E－S 1 8 8 D－T 2 1 3 A、G 0 2 0 K－S 0 2 4 F－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－G 1 1 8 R－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－S 0 2 4 F－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、G 0 2 0 K－S 0 2 4 F－N 0 6 2 E－S 1 8 8 D－T 2 1 3 A、G 0 2 3 A－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、G 0 2 3 A－S 0 2 4 F－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－T 2 1 3 A、N 0 4 3 R－N 0 7 6 D－S 1 0 1 A－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－L 2 1 7 E－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R－E 2 7 1 F、N 0 4 3 R－S 1 0 1 A－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－L 2 1 7 E－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、N 0 4 3 W－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L、N 0 4 3 W－S 1 0 1 D－S 2 1 2 M－N 2 4 3 F、N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－G 1 1 8 R－S 1 8 8 D、N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－G 1 1 8 R－T 2 1 3 A、N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D－T 2 1 3 A、S 0 2 4 F－G 1 1 8 R－S 1 2 8 I－P 1 2 9 E－G 1 5 9 D、S 0 2 4 F－N 0 6 2 E－N 1 1 6 L－S 1 8 8 D、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－N 1 8 3 D－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－L 2 1 7 E－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－P 1 2 9 Q－A 1 5 8 E－N 1 8 3 D－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－P 1 2 9 Q－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－P 1 2 9 Q－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－L 2 1 7 E－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－S 1 2 8 L－P 1 2 9 Q－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－S 1 3 0 A－A 1 5 8 E－N 1 8 3 D－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 0 2 4 R－S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－S 1 3 0 A－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 1 0 1 D－S 1 0 3 N－N 1 1 6 L－S 1 4 4 R－A 2 1 5 D、S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、S 1 0 1 G－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－S 1 3 0 A－A 1 5 8 E－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－Q 2 4 5 R－N 2 4 8 D－H 2 4 9 R、T 0 2 2 A－N 0 4 3 R－S 1 0 3 A－V 1 0 4 I－G 1 1 8 R－S 1 2 8 I－P 1 2 9 E－G 1 5 9 D－S 1 8 8 D－A 2 3 2 V－N 2 4 8 D－E 2 7 1 F、T 0 2 2 A－N 0 4 3 R－S 1 0 3 A－V 1

10

20

30

40

50

0 4 I - S 1 2 8 I - P 1 2 9 E - G 1 5 9 D - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R -
N 2 4 8 D、T 0 2 2 A - S 0 2 4 R - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - G 1 1 8 R - S 1 2 8
I - P 1 2 9 E - G 1 5 9 D - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - N 2 4 8 D、T 0 2 2 A - S 1
0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - G 1 5 9 D - L 2 1 7 E - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R -
N 2 4 8 D - E 2 7 1 F、T 0 2 2 A - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - G 1 5 9
D - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 4 8 D - E 2 7 1 F、T 0 2 2 L - T 0
3 8 F - A 0 4 8 R - N 0 6 2 E - G 1 0 0 S - R 1 8 6 K、T 0 3 3 S - N 0 4 3 W -
N 2 1 8 D - P 2 3 9 G - N 2 4 3 F、V 0 2 6 F - A 0 4 8 R - S 1 0 5 T - T 2 1 3
A - N 2 1 8 D - T 2 2 4 A、V 0 2 6 F - L 0 3 1 F - S 0 7 8 N - G 1 0 2 A - S 1
6 0 D、V 0 2 6 F - V 0 5 1 W - V 1 0 4 L - S 1 0 6 E、V 1 0 4 L - S 1 0 5 T - 10
T 2 1 3 A - L 2 1 7 E - S 2 5 6 N、A 0 1 6 S - N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - H 2 4 9
R、A 0 1 6 S - N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - E 2 7 1 F、A 0 1 6 S - N 0
6 2 E - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - H 2 4 9 R、A 0 1 6 S - N 0 6 2 E - V 1 0 4 L -
A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - E 2 7 1 F、A 0 1 6 S - S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3
A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 4 8 D - H 2
4 9 R、G 0 2 0 K - G 0 2 3 A - N 0 6 2 E - S 1 8 8 D、G 0 2 0 K - G 0 2 3 A -
S 0 2 4 F - N 0 6 2 E - G 1 1 8 R - S 1 8 8 D - T 2 1 3 A、G 0 2 0 K - N 0 4 3
W - N 0 6 2 E - N 1 1 6 L - S 1 8 8 D - T 2 1 3 A - P 2 3 9 G、G 0 2 0 K - S 0
2 4 F - N 0 6 2 E - S 1 8 8 D - P 2 3 9 G、G 0 2 3 A - N 0 6 2 E - N 1 1 6 L - 20
G 1 1 8 R、G 0 2 3 A - N 0 6 2 E - N 1 1 6 L - G 1 1 8 R - S 1 8 8 D - P 2 3 9
G、G 0 2 3 A - S 0 2 4 F - N 0 6 2 E - N 1 1 6 L - G 1 1 8 R、H 0 1 7 R - T 0
2 2 A - N 0 7 6 D - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - G 1 5 9 D - S 1 8 8 D -
A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 4 8 D - E 2 7 1 F、N 0 4 3 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1
A - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2
4 8 D - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - G 1 5 9 E - H 2 4 9 R、
N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - E 2 7 1
F、N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - R 1
8 6 H - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R、
N 0 6 2 E - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - G 1 5 9
E - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - G 1 5 9 E - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - G 1 30
5 9 E - R 1 8 6 H - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - G 1 5 9 E - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R、
N 0 6 2 E - R 1 8 6 H - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - S 1 0 1
A - A 1 5 8 E - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - E 2
7 1 F、N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、
N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - G 1 5 9 E - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - R 1 8 6
H - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R、N 0 6 2 E - S 1
0 1 A - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - S 1 0 1 A - V 1 0 4 L -
A 1 5 8 E - R 1 8 6 H - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - S 1 2 8 N - A 1 5 8 E - G 1 5 9
E - E 2 7 1 F、N 0 6 2 E - V 1 0 4 L - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - H 2 4 9 R - E 2
7 1 F、N 0 7 6 D - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - M 2 2 2 Q - 40
Q 2 4 5 R、S 0 2 4 F - N 0 6 2 E - N 1 1 6 L - P 2 3 9 G、S 0 2 4 F - N 0 6 2
E - S 1 8 8 D - T 2 1 3 A、S 0 2 4 F - N 1 1 6 L、S 0 2 4 R - N 0 4 3 R - N 0
7 6 D - S 1 0 1 A - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - L 2 1 7 E -
A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 4 8 D - H 2 4 9 R、S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3
A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - G 1 5 9 E - A 2 3 2 V - N 2 3 8 R - Q 2 4 5 R - N 2
4 8 D、S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - G 1 5 9 E -
S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 4 8 D、S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3
A - V 1 0 4 I - A 1 5 8 E - S 1 8 8 D - A 2 3 2 V - N 2 3 8 R - Q 2 4 5 R - N 2
4 8 D、S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R -
N 2 4 8 D - H 2 4 9 R、S 0 2 4 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - G 1 5 9 50

E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D、S024R-S1
 01G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-
 N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188
 D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S1
 03A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D、
 S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-S188
 D-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V1
 04I-L148I-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-
 S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248
 D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A1
 58E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、
 S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188
 D-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V1
 04I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-
 H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159
 E-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V1
 04I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-
 H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148
 I-A158E-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S1
 03A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-
 N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188
 D-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V1
 04I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、
 S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-A232
 V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-S1
 28N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、
 S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232
 V-Q245R-N248D、S101A-S103A-V104I-A158E-S1
 88D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101A-S103A-
 V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249
 R-E271F-E271F、S101A-S103A-V104L-A158E-S1
 88D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101A-S128N-
 A158E-R186H-E271F、S101A-S128N-A158E-Y209
 E-H249R、S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-H2
 49R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-
 N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-A158E-G159
 E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V1
 04I-A158E-S188D-M222Q-A232V-Q245R-N248D-
 H249R、S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222
 S-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V1
 04I-A232V-M222Q-Q245R、S101G-S103A-V104I-
 P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249
 R、S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q2
 45R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-P129E-
 S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D、S101G-S103
 A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H2
 49R、S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-
 N248D-H249R、S101G-S103G-V104I-A158E-S188
 D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103S-V1
 04I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、

10

20

30

40

50

10
20
30
40
50

1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A
 -S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3
 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A
 -S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V-N 2 3
 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P
 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D
 、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-S 1 8
 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S
 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R
 -N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-S 1 8
 8 D-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S
 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R
 -N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2
 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S
 1 2 8 N-A 1 5 8 E-H 2 4 9 R、V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-H 2 4 9 R
 、V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-E 2 7 1 F、V 1 0 4 L-S 1 2
 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R及び／又はV 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5
 8 E-S 1 8 8 D-H 2 4 9 Rを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異体は、(i)
 水性洗浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接触させ、(i
 i) 次に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又クリーニング方法での
 使用に非常に好ましいプロテアーゼ変異体であり、水性洗浄液は好ましくは低イオン強度
 及び／又は低洗剤濃度を有する。

10

20

【0067】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：A 0 1 6 S-
 N 0 6 2 E-A 1 5 8 E-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、A 0 1 6 S-N 0 6 2 E-S 1 2 8
 N-R 1 8 6 H-E 2 7 1 F、A 0 1 6 S-N 0 6 2 E-V 1 0 4 L-R 1 8 6 H-S 1
 8 8 D-E 2 7 1 F、A 0 1 6 S-S 1 0 1 A-S 1 2 8 N-R 1 8 6 H、A 0 1 6 S-
 S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H、A 0 1 6 S-V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-R 1 8 6
 H-E 2 7 1 F、A 0 1 6 S-V 1 0 4 L-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R、A 1 5 8 E-R 1
 8 6 H-H 2 4 9 R、A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、
 G 0 2 0 K-G 0 2 3 A-N 1 1 6 L-S 1 8 8 D、G 0 2 0 K-G 0 2 3 A-S 0 2 4
 F-N 0 6 2 E-N 1 1 6 L-S 1 8 8 D-T 2 1 3 A、G 0 2 0 K-N 0 4 3 W-N 0
 6 2 E-N 1 1 6 L-P 2 3 9 G、G 0 2 0 K-S 0 2 4 F-N 0 4 3 W-N 0 6 2 E-
 N 1 1 6 L-T 2 1 3 A、G 0 2 0 K-S 0 2 4 F-N 0 6 2 E、G 0 2 3 A-N 0 4 3
 W-N 0 6 2 E-N 1 1 6 L-G 1 1 8 R-T 2 1 3 A、G 0 2 3 A-T 0 3 8 F-S 0
 7 8 N-G 1 0 0 S-S 2 1 2 M-A 2 1 5 D、G 1 0 0 S-N 1 1 6 L-A 1 5 8 E-
 T 2 1 3 A、G 1 0 2 A-S 1 0 3 N-S 1 0 5 T-A 1 9 4 E、H 0 1 7 R-T 0 2 2
 A-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2
 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-
 V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 6 6 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8
 D-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1
 5 8 E-S 1 6 6 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、
 N 0 4 3 W-N 0 6 2 E-N 1 1 6 L-S 1 8 8 D、N 0 6 2 E-A 1 5 8 E-H 2 4 9
 R-E 2 7 1 F、N 0 6 2 E-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R、N 0
 6 2 E-L 1 4 8 I-G 1 5 9 E、N 0 6 2 E-N 1 1 6 L-S 1 8 8 D、N 0 6 2 E-
 R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、N 0 6 2 E-S 0 7 8 N-G 1 0 2 A-N 1 1 6 L-S 1 4 4
 R-L 2 5 0 I、N 0 6 2 E-S 1 0 1 A-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、N 0
 6 2 E-S 1 0 1 A-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R、N 0 6 2 E-S 1 0 1 A-
 R 1 8 6 H、N 0 6 2 E-S 1 0 1 A-R 1 8 6 H-E 2 7 1 F、N 0 6 2 E-S 1 0 1

30

40

50

A-R186H-H249R-E271F、N062E-S101A-R186H-S188D-E271F、N062E-S101A-R186H-S188D-H249R、
N062E-S101A-V104L-R186H-S188D-E271F、N062E-S128N-A158E、N062E-S128N-G159E-H249R、N062E-S188D-P239G、N062E-V104L-G159E-H249R、
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、N076D-S101G-S103A-V104I-A114V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R、S024F-A048R-G118R-S166D-L217E、S024F-N062E-N116L、
S024F-N062E-N116L-T213A-P239G、S024F-N062E-S188D-P239G、S024F-S101D-G118R-A215D-L250I-A272F、S024R-K027R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D、S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D、S078N-V104L-G118R-S128D、S101A-A158E-R186H-H249R、S101A-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S101A-S103G-A158E-R186H-H249R、S101A-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101A-S103S-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101A-S128N-

A 1 5 8 E-H 2 4 9 R、S 1 0 1 A-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-Y 2 0 9
E-E 2 7 1 F、S 1 0 1 A-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-Y 2 0 9 E、S 1 0 1 A-S 1
2 8 N-P 1 2 9 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、S 1 0 1 A-V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-
R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、S 1 0 1 A-V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-S 1 8 8
D-E 2 7 1 F、S 1 0 1 A-V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-E 2
7 1 F、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-
Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-G 1 5 9
E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1
0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-N 1 8 3 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-
N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 6 6 10
D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、S 1
0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-
N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-M 2 2 2 S-Q 2 4 5
R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2
3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9
R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2
3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
P 1 2 9 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 20
G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2
4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 Q-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-
A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4
I-P 1 2 9 Q-S 1 3 0 A-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2
4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 L-P 1 2 9 Q-
A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1
G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 L-S 1 3 0 A-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-L 2
1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8
D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-A 2 3 2 V-Q 2
4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 3 0 A-A 1 5 8 E- 30
N 1 8 3 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9
R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2
4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-
A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 S-S 1 0 3 A-V 1 0 4
I-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 S-S 1
0 3 S-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-
H 2 4 9 R、S 1 0 1 S-S 1 0 3 S-V 1 0 4 V-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2
V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-N 0 6 2 E-S 1
0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-
E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 40
I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0
2 2 A-N 0 4 3 R-S 1 0 1 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-P 1 2 9 E-
G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3
R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2
4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-
G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3
R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-A 2
3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
G 1 1 8 R-S 1 2 8 I-P 1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8
D、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 50

8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-S 1 2 8 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 1 4 8 I-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-L 1 4 8 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-P 1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 1 0 1 A-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D、T 0 2 2 L-L 0 3 1 F-G 1 0 2 A-S 1 2 8 D-T 2 2 4 A-N 2 4 3 F、T 0 2 2 L-T 0 3 8 F-V 1 2 1 F-S 1 6 0 D-A 2 7 2 F、V 0 2 6 F-S 0 7 8 N-G 1 5 9 C-R 1 8 6 K-N 2 4 3 F、V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-H 2 4 9 R、V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R、V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H-S 1 8 8 D-E 2 7 1 F、V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-G 1 5 9 E-E 2 7 1 F、V 1 0 4 L-S 1 2 8

N-R186H-S188D-H249R及び／又はV121F-N185E-T224A-P239Gを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異体は、(i) 水性洗浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接触させ、(ii) 次に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又はクリーニング方法での使用に好ましい変異体であり、水性洗浄液は好ましくは低イオン強度及び／又は低洗剤濃度を有する。

【0068】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：A016S-S128N-R186H-E271F、N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、T022A-S101G-G102A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F、A016S-A158E-H249R、A016S-A158E-H249R-E271F、A016S-A158E-R186H-H249R、A016S-L111V-S188D、A016S-T022A-A158E-R186H-E271F、A048R-S078N-N116L-N185E-L217E-P239G、A048R-S128D-N185E-P239G、A158E-R186H-H249R-E271F、E089P-S101A-P129E-R186H、G020K-G023A-N043W-N116L-S188D-T213A-P239G、G020K-G023A-N062E-N116L-G118R-T213A、G020K-G023A-S024F-N062E-S188D-T213A-P239G、G020K-K027R-P129E-S166D-P239G、G020K-S024F-N062E-P239G、G020K-S024F-T033S-P129E-A194E、G023A-G100S-A194E-S212M、G023A-N043W-N116L-G118R-S188D、G023A-S024F-G118R-S188D-P239G、G023A-S024F-K027R-N062E、G023A-S024F-N043W-N062E-N116L-G118R、G023A-S024F-N116L-G118R-S188D-T213A、G023A-S024F-N116L-S188D-P239G、K027R-G100S-G118R-S160D-S188D-N243F、K027R-S101D-S103N-S105T-A272F、N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、N062E-S078N-N116L-T224A、N062E-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R、N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F、S024F-G102A-R186K-T213A-L217E-N243F、S024F-N043W-G118R-S188D、S024F-N043W-V104L-V121F-P129E、S024F-N116L-G118R-S188D-P239G、S024F-S103N-V104L-G118R-S188D、S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S02

10

20

30

40

50

4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-L
2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4
5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 0 2 4 R
-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-S 1 8
8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D
、S 1 0 1 A-L 1 1 1 V-P 1 2 9 E、S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 L-G 1 5
9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 A-S 1 0 3 S-V
1 0 4 L-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 0 1 A
-V 1 0 4 L-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0
4 I-P 1 2 9 E-L 1 4 8 I-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S
1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V
-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2
8 N-P 1 2 9 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S
1 0 1 G-S 1 0 3 S-V 1 0 4 L-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D
-H 2 4 9 R、S 1 0 1 S-S 1 0 3 A-V 1 0 4 L-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4
5 R-N 2 4 8 D-H 2 4 9 R、S 1 2 8 N-P 1 2 9 E-R 1 8 6 H、T 0 2 2 A-A
1 5 8 E-R 1 8 6 H-H 2 4 9 R-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 0 2 4 K-S 1 0 1 G
-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4
5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S
1 2 8 N-P 1 2 9 E-A 1 5 8 E-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D
-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 I-G 1 5
9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-L 1 4 8 I-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A
-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-G 1 5 9 E-A 2 3 2 V-Q 2 4
5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 N-P
1 2 9 E-A 1 5 8 E-A 2 3 2 V-N 2 3 8 R-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A
-S 1 2 8 N-A 1 5 8 E-R 1 8 6 H、T 0 2 2 A-S 1 2 8 N-R 1 8 6 H-S 1 8
8 D-、T 0 2 2 A-V 1 0 4 L-A 1 5 8 E-H 2 4 9 R、T 0 2 2 A-V 1 0 4 L-
R 1 8 6 H-S 1 8 8 D-H 2 4 9 R、T 0 2 2 L-G 0 2 3 A-K 0 2 7 R-S 1 0 1
D-V 1 0 4 L-S 2 1 6 F、T 0 2 2 L-S 0 7 8 N-N 1 1 6 L-P 1 2 9 E-S 2
5 6 N、T 0 2 2 L-S 0 7 8 N-S 1 2 8 D-T 2 1 3 A、T 0 3 3 S-G 1 1 8 R-
P 1 2 9 E-A 1 9 4 E-P 2 3 9 G、T 0 3 3 S-S 1 0 5 T-S 1 8 8 D-S 2 1 6
F、V 0 2 6 F-V 1 0 4 L-S 2 5 6 N-A 2 7 2 F、T 0 2 2 A-N 0 4 3 R-S 1
0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-
N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8
R-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-A 2 3 2 V-N 2 4 8 D、T 0 2 2 A-S 1
0 1 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 8 R-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-L 2 1 7 D-
A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4
I-G 1 1 8 R-P 1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2
4 8 D-E 2 7 1 F、T 0 2 2 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-
L 2 1 7 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D-E 2 7 1 F及び／又はT 0 2 2 A-
S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 1 2 8 I-P 1 2 9 E-G 1 5 9 D-S 1 8 8 D-A 2 3 2
V-N 2 4 8 D-E 2 7 1 Fを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異体は、(i) 水
性洗浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接触させ、(ii)
次に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又はクリーニング方法での
使用に特に有用であり、水性洗浄液は好ましくは低イオン強度及び／又は低洗剤濃度を有
する。

10

20

30

40

50

【0069】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：G118R-Y209A、G118R-Y209A-N243F、L021M-S024R-T033S、P005S-S078R-G118R-W241R、P086W-G118R-A133V、P086W-G118R-N243F、P086W-G118R-Y209A、P086W-Y209A-N243F、S024R-A174T、S024R-G118R、S024R-G118R-Y209A、S024R-G118R-Y209A-K235F、S024R-G118R-Y209A-N243F、S024R-K235F、S024R-P086R、S024R-P086S-S141G、S024R-P086W、S024R-P086W-G118R、S024R-P086W-G118R-V203I、S024R-P086W-N243F、S024R-P086W-Y209A、S024R-S078R-P086W、S024R-S078R-P086W-G118R-A270T、S024R-S078R-P086W-N243F、S024R-T033S-A133V、S024R-T033S-G118R、S024R-T033S-P086S-S085N-K235F、S024R-T033S-P086S-S087N-Y209A、S024R-T033S-P086W、S024R-T033S-P086W-G118R、S024R-T033S-S078R-P086W、S024R-T033S-S078R-P086W-G118R、S024R-T033S-S078R-Y209A、S024R-T033S-W241R、S024R-T033S-Y209A-K235F、S024R-Y209A-W241R、S078R-G118R、S078R-P086W-K235F、S078R-P086W-N243F、S078R-P086W-Y209A、S078R-Y209A-K235F、T033S-A172V-Y209A、T033S-G118R、T033S-G118R-G159D-Y209A、T033S-G118R-N243F、T033S-G118R-W241R、T033S-G118R-Y209A-N243F、T033S-K235F、T033S-P086W-G118R、T033S-P086W-G118R-Y209A-N243F、T033S-P086W-N243F、T033S-S078R-P086W、T033S-S078R-P086W-G118R-Y209A、T033S-S078R-Y209A、T033S-Y209A-N243F、Y209A-W241R、A001R-S009A-N043R、A001R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、A001T-N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R、A194F-G211Q-Q236N、E089I-N116A-N117F-T224A-H249R、G020R-G025R-N116A-Y167W、G020R-H249R-N269R、G020R-N043D-N076D-A230E-H249R、G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、G020R-N043R-A230E、G020R-N043R-A230E-S242R、G020R-N043R-E271L、G020R-N043R-H249R、G020R-N043R-H249R-E271L、G020R-N043R-N269R、G020R-N043R-R045T-A230E、G020R-N043R-R045T-S101A-N269R、G020R-N043R-R045T-S242R、G020R-N043R-S101A-N116A-T213A-A215F、G020R-N043R-S101A-N269R、G020R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-N043R-S212F、G020R-N043R-S212F-W241R、G020R-N043R-S242R、G020R-N043R-S242R-E271L、G020R-N043R-S242R-H249R、G020R-N043R-V244R、G020R-N043R-W241R、G020R-N062Q-E089I-R186K-S212M、G020R-N076D、

G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245
R、G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q2
45R-N269R、G020R-N116A-N269R、G020R-P052N-
N062Q-Y091F-Y192W、G020R-Q059A-S144R-Y192
W-T224A、G020R-S024R-K27E-N043R-N076D-A23
0E、G020R-S024R-N043D-H249R、G020R-S024R-N
043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V
-Q245R、G020R-S024R-N043D-S242R、G020R-S02
4R-N043R-R045T、G020R-S024R-N043R-R045T-H
249R、G020R-S024R-N043R-R045T-N116A、G020R 10
-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A、G020R-S02
4R-N043R-R045T-S101A-N269R、G020R-S024R-N
043R-R045T-S101A-T213A、G020R-S024R-N043R
-S242R、G020R-S024R-N076D-H249R、G020R-S02
4R-N116A、G020R-S024R-N116A-A215F、G020R-S
024R-N116A-T213A、G020R-S024R-N116A-T213A
-A215F、G020R-S024R-P052N-Q059A-S216F、G02
0R-S024R-R045T-A230E-S242R、G020R-S024R-R
045T-N116A-N269R、G020R-S024R-R045T-N269R 20
、G020R-S024R-S101A-A215F、G020R-S024R-S10
1A-N116A、G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-L
217E-A232V-Q245R-H249R、G020R-S024R-S242R
-H249R、G020R-S024R-T213A、G020R-S024R-T21
3A-A215F、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N
116A-N183D-T213A-A232V-Q245R、G020R-S078R
-S101G-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S10
3A-V104I-A215F-A232V-Q245R、G020R-S078R-S
101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V
-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N11 30
6A-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V
104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R、G020R-S078R
-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q24
5R、G020R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q
245R、G020R-S101A-N116A-N269R、G020R-S101A
-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R、G020R-S10
1A-S103A-V104I-G118R-A232V-Q245R、G020R-S
101A-S103A-V104L-A232V-Q245R、G020R-S101A
-S103A-V104V-A232V-Q245R、G020R-S101A-S10
3S-V104I-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103S-V
104V-A232V-Q245R、G020R-S101G-I198L-A215F 40
-A232V-Q245R、G020R-S101G-S103A-A232V-Q24
5R、G020R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q
245R、G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R
、G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N26
9R、G020R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A
215F-A232V-Q245R、G020R-S101G-S103A-V104I
-N116A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S101G-S10
3A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S
101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R、G020R
-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R、G020R-S10 50

1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 V-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S
1 0 3 G-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 S
-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 S-V 1 0
4 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-T 2 1 3 A-A
2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I
-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 A-V 1 0 4 V-A 2 3
2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 G-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q
2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 G-V 1 0 4 V-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
、G 0 2 0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 S-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2
0 R-S 1 0 1 S-S 1 0 3 S-V 1 0 4 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 10
1 0 1 S-S 1 0 3 S-V 1 0 4 V-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 3 N
-S 2 1 6 F-Q 2 3 6 N-N 2 5 2 R、G 0 2 0 R-S 1 4 4 R-N 1 8 5 I-L 2 3
3 C-Q 2 3 6 N、G 0 2 0 R-S 2 1 2 F-H 2 4 9 R、G 0 2 0 R-S 2 4 2 R-N
2 6 9 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-E 2 7 1 L、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-N 0 4 3 R
、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-N 0 4 3 R-S 2 1 2 F、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-N 0 4
3 R-W 2 4 1 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-S 0 2 4 R-S 2 4 2 R、G 0 2 0 R-T
0 2 2 R-S 0 7 8 R-S 2 4 2 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-S 0 7 8 R-W 2 4 1 R
、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-S 2 1 2 F-W 2 4 1 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-S 2 4
2 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-W 2 4 1 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S
1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V
-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0
4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S
0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A
-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0
3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 S-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G
0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A
-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0
3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T
0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D
-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0
1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q
2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I
-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2
2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q
2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V
-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1
1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R
-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1
3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 3 8 A-N 0 4 3 R-S 1 0 1 A、G
0 2 0 R-T 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-
N 1 8 3 D-A 2 3 2 V、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A
-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2
W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2
1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 1 0 1 A-
S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 1 0 1 A
-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2
0 R-T 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0
2 0 R-T 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q

2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、
G 0 2 3 A-P 0 5 2 N-S 1 4 4 R-Y 1 9 2 W-S 2 1 6 F、G 0 2 3 A-P 0 5 2
N-Y 1 9 2 W-I 1 9 8 L-N 2 5 2 R、G 0 2 3 A-S 0 2 4 R-N 1 1 7 F-S 2
1 2 M-S 2 1 6 F、G 0 2 3 A-S 0 7 8 R-S 2 1 6 F-Q 2 3 6 N-H 2 4 9 R、
G 0 2 3 A-Y 0 9 1 F-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-N 2 5 2 R、G 0 2 3 A-Y 0 9 1
F-V 1 2 1 F-Y 1 9 2 W-Q 2 3 6 N、G 0 2 5 R-E 0 8 9 I-N 1 1 6 A-P 2
3 9 S-A 2 7 0 C、G 0 2 5 R-G 0 4 6 R-V 1 2 1 F、G 0 2 5 R-N 0 4 3 A-
E 0 8 9 I-N 1 1 7 F、G 0 2 5 R-S 1 0 3 N-R 1 8 6 K-A 1 9 4 F-T 2 2 4
A、G 0 4 6 R-A 1 9 4 F-S 2 1 2 M、G 0 4 6 R-E 0 8 9 I-Y 0 9 1 F-S 1
0 1 A-N 1 1 6 A、G 0 4 6 R-E 0 8 9 I-Y 1 9 2 W-L 2 3 3 C-A 2 7 0 C、
G 0 4 6 R-N 1 8 3 D-N 2 3 8 L、G 0 4 6 R-Q 0 5 9 A-S 1 0 3 N-G 2 1 1
Q-S 2 1 2 M、G 0 4 6 R-Q 0 5 9 A-S 1 0 6 G-L 2 1 7 E-H 2 4 9 R、L 1
4 8 I-T 2 1 3 A-N 2 5 2 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D、N 0 1 8 R-
G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-A 2 3 0 E-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3
D-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0
1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-A 2 3 0 E、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-
N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6
D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 2
4 2 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-R 0 4 5 T、N 0 1 8 R-G 0 2 0
R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-L 2 3 3 I-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-G 0
2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-A 2 3 0 E、N 0 1 8 R-
G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 0 8 7 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0
R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-V 1 5 0 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0
2 4 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-
Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3
A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-S 0
7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-
N 0 4 3 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2
V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3
A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-N 0
7 6 D-A 2 3 0 E、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-
N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0
4 3 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-
N 0 4 3 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9
R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D-S 0
7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-
N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-Q 2 4 5
R、N 0 1 8 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-
S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-R 0 4 5
T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0
1 8 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、
N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-A 2 3 0 E、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3
D-N 0 7 6 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-H 2
4 9 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-
H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-H 2 4 9 R、N 0 1 8

R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q2
45R、N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-
A232V-Q245R-N269R、N018R-S024R-N043R-N076
D-H249R、N018R-S024R-N043R-N076D-H249R-N2
69R、N018R-S024R-N043R-N076D-S087D-H249R、
N018R-S024R-N043R-N076D-V150L-H249R、N018
R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R、N018R-S0
24R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R、N018R-
S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R、N018R-S024
R-N076D-H249R、N018R-S024R-N076D-H249R-N2
69R、N018R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R、
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249
R、N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R、N0
18R-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R、
N018R-S024R-N076D-S078R-H249R、N018R-S024
R-N076D-S078R-S087D-H249R、N018R-S024R-N0
76D-S078R-V150L-H249R、N018R-S024R-N076D-
S087D-H249R-N269R、N018R-S024R-N076D-S087
D-S242R-H249R、N018R-S024R-N076D-S087D-V1
50L-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-A215F-
H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213
A-A215F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-I1
98L-G211Q-A215V-H249R、N018R-S024R-N076D-
S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R、N018R-S024
R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R、N018R-S0
24R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R、N018R-
S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R、N018
R-S024R-N076D-S242R-H249R、N018R-S024R-N0
76D-T213A-A215F-H249R、N018R-S024R-N076D-
V104I-H249R、N018R-S024R-N076D-V150L-H249
R、N018R-S024R-R045T-S242R、N018R-S024R-S1
01G-V104I、N018R-S024R-S101G-V104I-A232V、
N018R-S024R-S242R、N018R-S024R-V104I-H249
R、N018R-S024R-V244R、N018R-S078R-S101G-S1
03A-V104I-A232V-Q245R、N018R-S087D-S101G-
S103A-V104I-A232V-Q245R、N018R-S101G-Q245
R、N018R-S101G-S103A-H249R、N018R-S101G-S1
03A-Q245R、N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-
Q245R、N018R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232
V-Q245R、N018R-S101G-V104I-A232V-H249R、N0
18R-S101G-V104I-A232V-Q245R、N018R-S101G-
V104I-H249R、N018R-S103A-A232V-H249R、N018
R-S103A-V104I-H249R、N018R-T022R-S024R-N0
43D-N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N043R-
N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N076D-H249
R、N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R、N0
18R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R、N018R-
T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R、N018
R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R、N0
18R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-

H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8
L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1
1 6 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-T 2 2 K-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S
1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-
N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R
-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-V 1 0
4 I-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、N 0 4 3 A-N 0 6 2 Q-A 1 9 4 F-G 2 1 1 Q、N
0 4 3 A-T 0 5 7 R-N 1 1 7 F-S 1 4 4 R-N 1 8 3 D、N 0 4 3 D-N 0 7 6 D
-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6
9 R、N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-H 2 4 9 R、N 0 4 3 D-S 0 7 8 R-S 10
1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 D-S 0 7 8 R
-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4
3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N
0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V
-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3
2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A
2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R
、N 0 4 3 R-N 1 1 6 A-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7
8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-R
0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R 20
、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4
5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A
2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-S 0 8 7 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I
-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-A 2 1
5 F-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S
1 0 1 A-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 A
-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-T 2 1 3 A-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0
1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 G-S
1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-E 2 7 1 L、N 0 4 3 R-S 1 0 1 G
-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 30
1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-S
1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-S 2 4 2 R-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R
-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4
3 R-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、N
0 6 2 Q-S 1 0 3 N-N 1 1 7 F-A 1 9 4 F、N 0 6 2 Q-S 1 0 3 N-V 1 2 1 F
-S 1 4 4 R-H 2 4 9 R、N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0
4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A
-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0
4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 40
1 0 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 1 0 9 R-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D
-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-S 2 1 2 P-E 2 7 1 V、N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0
4 I-S 2 1 2 P-Q 2 4 5 L-E 2 7 1 V、N 0 7 6 D-S 8 7 R-S 1 0 3 A-V 1
0 4 I-S 2 1 2 P-E 2 7 1 V、N 1 1 7 F-A 1 9 4 F-T 2 1 3 A-A 2 7 0 C、
N 1 1 7 F-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F、P 0 5 2 N-S 0 7 8 R-S 1 0 3 N-L 1 4 8
I-T 2 1 3 A、P 0 5 2 N-S 1 0 3 N-N 1 1 6 A-L 1 4 8 I-Y 1 9 2 W、R 0
1 9 H-G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1
G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、R 0 4 5 T-S 0
7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、R 0 4 5 T- 50

S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9
R、S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-S 2 1 2 F、S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-N 0
4 3 R-W 2 4 1 R、S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R、S 0 0 9 A-
N 0 4 3 R-S 0 7 8 R、S 0 0 9 A-N 0 4 3 R-S 0 7 8 R-S 2 4 2 R、S 0 0 9
A-N 0 4 3 R-S 2 1 2 F、S 0 0 9 A-N 0 4 3 R-W 2 4 1 R、S 0 0 9 A-T 0
2 2 R-N 0 4 3 R-S 0 7 8 R、S 0 0 9 A-T 0 2 2 R-S 0 7 8 R-S 2 1 2 F、
S 0 0 9 A-T 0 2 2 R-S 0 7 8 R-S 2 1 2 F-W 2 4 1 R、S 0 0 9 A-T 0 2 2
R-S 2 1 2 F-W 2 4 1 R、S 0 2 4 R-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-G 0 2 5 R-N 1 8 3 D-Y 1 9 2 W-P 2 3 9 S、
S 0 2 4 R-N 0 4 3 A-N 1 1 7 F-A 1 9 4 F-G 2 1 1 Q、S 0 2 4 R-N 0 4 3 10
D-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-A 2 1 5
F、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-A 2 3 0 E、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-A 2 3 0 E-S 2
4 2 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-
H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3
A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1
0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-
N 1 1 6 A-A 2 1 5 F、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 1 1 6 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9
R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 1 1 6 A-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 1 20
1 6 A-T 2 1 3 A-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-
A 2 3 0 E-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 2 6 9 R、S 0 2 4
R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、S 0
2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-N 2 6 9 R、
S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 2 4 2 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5
T-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-A 2
1 5 F、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-
N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 A-N 1 1 6
A-A 2 1 5 F-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-S 2 4 2 R、S 0 2 4 R- 30
N 0 6 2 Q-V 1 0 4 L-S 1 0 6 G-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8
R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 0
2 4 R-N 0 7 6 D-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 1 1 6 A-
T 2 1 3 A-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-R 0 4 5 T、S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6
D-A 2 3 0 E-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0
7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、
S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
R-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-S 0 7 8 R-S 2 1 2 F、S 0 2 4 R-S 0 7 8 R-V 1
0 4 L-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D、S 0 2 4 R-S 0 8 7 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-S 1 0 1 A-H 1 2 0 F-A 1 9 4 40
F-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-S 1 0 1 A-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1
0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-V 1 0 4
I-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1
0 4 I-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R、
S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-Y 1 6 7 W-T 2 2 4
A-H 2 4 9 R、S 0 7 8 R-S 0 8 7 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-
Q 2 4 5 R、S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
R-N 2 6 9 R、S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 50

3 2 V-Q 2 4 5 R、S 0 7 8 R-S 1 0 3 N-S 1 0 6 G-Y 1 6 7 W-Q 2 3 6 N、
 S 0 7 8 R-V 1 0 4 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-T 2 2 4 A、S 0 7 8 R-Y 0 9 1
 F-V 1 2 1 F-L 2 3 3 C-N 2 5 2 R、S 0 8 7 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 0 8 7 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
 V 1 0 4 I-Q 1 0 9 R-S 2 1 2 P-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-E 2 7 1 V、S 0 9 9
 F-S 1 4 4 R-Y 1 6 7 W-N 2 5 2 R、S 1 0 1 A-H 1 2 0 F-Y 1 9 2 W-A 2
 1 5 F-T 2 2 4 A、S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-
 Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-E 2 7 1 L、S 1
 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G- 10
 S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3
 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
 0 4 I-A 2 3 2 V-S 2 4 2 R-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
 A 2 3 2 V-V 2 4 4 R-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 1 5
 R-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-T 2
 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
 Q 1 0 9 R-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 1 0 9
 R-S 2 1 2 P-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 1
 0 9 R-S 2 1 2 P-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-E 2 7 1 V、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A- 20
 V 1 0 4 I-S 2 1 2 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4
 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 1 0 5 T-S 1 2 8 N-
 S 1 4 4 R-L 1 4 8 I-S 2 1 2 M、S 1 0 6 G-N 1 1 7 F-N 2 3 8 L、S 1 4 4
 R-G 2 1 1 Q-N 2 3 8 L-P 2 3 9 S-H 2 4 9 R、T 0 2 2 R-N 0 4 3 R-S 1
 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R-N 0 7 6 D-
 S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R-S 0 8 7
 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、T 0 2 2 R-S 1
 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-
 Y 1 6 7 W-S 2 1 2 M-A 2 7 0 C、T 0 5 7 R-E 0 8 9 I-I 1 9 8 L、T 0 5 7
 R-S 0 9 9 F-S 1 0 5 T-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A、T 0 5 7 R-S 0 9 9 F-V 1 30
 2 1 F-N 1 8 5 I-Y 1 9 2 W、T 0 5 7 R-Y 1 6 7 W-H 2 4 9 R、V 0 0 4 R-
 G 0 2 0 R-H 2 4 9 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0
 R-S 0 2 4 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-H 2 4 9 R、V 0 0 4 R-G 0
 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-
 S 2 4 2 R、V 0 0 4 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-V 2 4 4 R、V 0 0 4 R-N 0 4 3
 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、V 0 0 4 R-S 0
 0 9 A-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-
 S 2 4 2 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-S 2 4 2 R、V 0 0 4
 R-S 0 0 9 A-G 0 2 0 R-S 2 4 2 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-N 0 4 3 R-W 2
 4 1 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-W 2 4 1 R、V 0 0 4 R- 40
 S 0 0 9 A-S 0 7 8 R-W 2 4 1 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-W 2 4 1 R、V 0 0 4
 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、V 1 0 4 L-L 2
 1 7 E-T 2 2 4 A-H 2 4 9 R-N 2 5 2 R、V 1 0 4 L-T 2 1 3 A-S 2 1 6 F、
 V 1 2 1 F-N 2 5 2 R-A 2 7 0 C及び／又はY 0 9 1 F-S 0 9 9 F-S 1 0 1 A-
 S 1 0 5 T-Y 1 6 7 Wを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異体は、(i) 水性洗
 浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接触させ、(ii) 次
 に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又はクリーニング方法での使用
 に非常に好ましいプロテアーゼ変異体であり、水性洗浄液は好ましくは高イオン強度及び
 ／又は高洗剤濃度を有する。

【0070】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：S101G-S103A-V104I-A232V-Q236H-Q245R-N252K、S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R、S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D、A232V-Q245R、E089I-N117F-N185I-A215F-L233C、G020R-E089I-L217E、G020R-G023A-V104L-Y192W-L233C、G020R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R、G020R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、G020R-N043R-N076D-A230E-H249R、G020R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、G020R-N116A-A215F-N269R、G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、G020R-R045T-N116A-N269R、G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S024R-A215F、G020R-S024R-K27R-N043D-S242R-H249R、G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、G020R-S024R-N043R-N076D、G020R-S024R-N043R-R045T-A215F、G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R、G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A-A215F、G020R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S024R-T38I-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A131V-N183D-T213A-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-T180A-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103A-V104I-

T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3
 G-V 1 0 4 V-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
 0 4 I-N 1 1 6 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
 V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1
 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-、G
 0 2 0 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 2 4 2 R
 -H 2 4 9 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0
 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S
 1 0 3 A-V 1 0 4 I-I 1 9 8 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W
 -S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1
 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S
 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A
 -A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0
 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A
 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A
 -V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2
 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A
 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A
 -I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、G 0 2 0 R-T 0 2
 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G
 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
 、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-A 2 3
 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G
 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-G
 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2
 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T
 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2
 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G
 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A
 -V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 1 1 4 T-T
 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N
 1 8 3 D-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3
 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N
 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W
 -S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 1
 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
 1 0 4 I-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
 、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 3 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3
 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q
 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W-S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
 N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 2 2 W
 -S 0 7 8 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1

3A-A232V-Q245R、G020R-T22W-S101A-S103A-V1
 04I-G211Q-A215F-A232V-Q245R、G020R-T22W-S
 101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V
 -Q245R、G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116
 A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-T2
 2W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A
 232V-Q245R、G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-
 N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R、G025
 R-N043A-Y091F-I198L-A270C、G025R-S105T-S1
 28N-S144R-A270C、G046R-E089I-S099F-R186K-
 S212M、G118R-A172V、G118R-A194T、G118R-Y209
 A-K235F、H017Y-S024R-T033S-P086W、I008T-S0
 24R、K027R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-
 Q245R-N269R、K027R-R045T-N076D-S078R-S101
 G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、K235F-N2
 43F、N018R-G020R-H249R、N018R-G020R-N043D-
 H249R、N018R-G020R-N043D-R045T-A230E-S242
 R、N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S242R、N0
 18R-G020R-N043D-R045T-S240P、N018R-G020R-
 N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245
 R、N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A2
 32V-Q245R、N018R-G020R-N043R、N018R-G020R-
 N043R-N076D、N018R-G020R-N043R-N076D-A230
 E-S242R、N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-H2
 49R、N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-S101G-
 S103A-V104I-A232V-Q245R、N018R-G020R-N076
 D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、N0
 18R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-
 Q245R、N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S242
 R、N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-S242R、N0
 18R-G020R-S024R-N043R-N076D-H249R、N018R-
 G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-H249R、N018
 R-G020R-S024R-N076D-A215F-H249R、N018R-G0
 20R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R、N018R-
 G020R-S024R-N076D-L217E-H249R、N018R-G020
 R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R、N018R-G0
 20R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R、
 N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198
 L-G211Q-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-N1
 16A-N183D-T213A-A215F-H249R、N018R-G020R-
 S024R-N076D-N183D-H249R、N018R-G020R-S024
 R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R、N0
 18R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-
 A215F-H249R、N018R-G020R-S101G-S103A-V104
 I-A232V-Q245R-H249R、N018R-G020R-T022W-S0
 24R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R、
 N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116
 A-N183D-H249R、N018R-G020R-T22W-S024R-N07
 6D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R、N018R-N
 043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V

10

20

30

40

50

-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0
 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-N
 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R
 、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 1
 8 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A
 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A
 -V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-S 1 0
 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N
 0 4 3 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
 -H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-A 2 3 0 E-S 2 4 2 R-H 2 4
 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A
 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 2 4 2 R
 -H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-A 2 3 0 E-S 2 4
 2 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 6 T-S 1 0 1 G-S
 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-A 2 7 3 T、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R
 -R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T
 -N 0 7 6 D-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 2 4 2 R、N 0 1
 8 R-N 0 7 6 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N
 0 7 6 D-S 1 0 1 G-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D-S 1 0
 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N
 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D
 -S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0
 4 I-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-A 2 3 0 E
 -H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-A 2 3 0 E-S 2 4 2 R、N 0 1
 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N
 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R
 -S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2
 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-V 1 5 0 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N
 0 4 3 D-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R
 、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-L 2 1 7 E-H 2 4 9 R、N 0 1
 8 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S
 0 2 4 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-A 2 3 0 E-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
 -N 0 7 6 D、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、N 0 1
 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N
 0 7 6 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
 -N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2
 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S
 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 M-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R
 、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-L 0 8 8 I-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9
 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N
 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
 -N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1
 6 A-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N
 1 1 6 A-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R-V 2 6 8 G、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
 -N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4
 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T

2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L
-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-T 2 1
3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-Y
2 0 9 H-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A
-M 1 1 7 I-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7
6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N
0 7 6 D-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1
8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N
0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R 10
、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1
8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N
0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2
4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N
0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R
-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1
8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-H
2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L 20
-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0
1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S
0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A
-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-T 2 1
3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N
1 8 3 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A
-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0
1 G-A 2 3 2 V、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-A 2 3 2 V-Q
2 4 5 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R
-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-V 1 0 4 I、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-Q 2 4 5 R、N 0 1
8 R-S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-A 2 3 0 E-S 2 4 2 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-R 30
0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0
3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-S
2 4 2 R、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-V 1 0 4 I、N 0 1 8 R-S 0 2 4 R-V 3 0 S-
L 3 1 S-D 3 2 I-T 3 3 Q-G 3 4 V-I 3 5 F、N 0 1 8 R-S 0 7 8 R-S 1 0
1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-S
1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I、N 0 1 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I
-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I、N 0 1
8 R-S 1 0 3 A、N 0 1 8 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V、N 0 1 8 R-T 40
0 2 2 K-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1
8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N
0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R
、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-H 2 4
9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A
2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A
-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7
6 D-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S
0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R
、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-T 2 1 50

3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-T
2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
-S 1 0 1 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7
6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N
0 7 6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W
-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-Q 2 4 5 R、N 0 1
8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T
2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2
2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 10
0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q
-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1
6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N
0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R
-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1
1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N
1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R
-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1
1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 20
1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R
-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4
9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I
1 9 8 L-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
-S 1 0 1 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2
4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S
0 2 4 R-N 0 7 6 D-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-
S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-
S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2
W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0
1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 30
2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-A 2 1 5 F-
H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q
-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1
A-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7
6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T
2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、
N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L
-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-T 2 1 3
A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-V 1 0 4 I、N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 0
7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 D- 40
N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9
R、N 0 4 3 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2
4 5 R-N 2 6 9 R-A 2 7 2 V、N 0 4 3 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R-R 2 7 5 S、N 0 4 3 D-S 1 0 1
G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1
0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-
S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9
R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2
4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 50

R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-V234I-Q245R、N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-N218S-A232V-Q245R、N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、N062Q-S101A-Q236N-N252R-A270C、N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R、P005S-S024R-T033S-N243F、P014L-G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-A215F、P052N-V104L-N183D-S216F-H249R、P086W-G118R、P086W-N243F、P086W-Y209A、Q012H-G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R、R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、R045T-S242R-H249R、S024C-T033S、S024R-A232V、S024R-G046R-Y091F-V121F、S024R-G118R-K235F、S024R-N043A-S105T-S106G-I198L、S024R-N043D-R045T-S242R-H249R、S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、S024R-N043D-S242R-H249R、S024R-N043R-N076D、S024R-N043R-N076D-A230E-S242R、S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、S024R-N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、S024R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、S024R-N043R-R045T-S242R-H249R、S024R-N043R-S101A-T213A、S024R-N076D-Q245R、S024R-N076D-S101G-A232V-Q245R、S024R-N076D-S101G-M175L-A232V-Q245R、S024R-N076D-S101G-Q245R、S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、S024R-N076D-S103A-V104I-Q245R、S024R-N076D-V104I-Q245R、S024R-N243F、S024R-P086R-G118R、S024R-P086W-Y209A-K235F、S024R-P239Q、S024R-Q245R-H249R、S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、S024R-S101G、S024R-S101G-Q245R、S024R-S101G-V104I-H249R、S024R-S103A-A232V、S024R-S103A-M175L-A232V-H249R、S024R-S141G、S024R-T033S、S024R-T033S-A194T、S024R-T033S-G118R-K235F、S024R-T033S-G118R-Y209A、S024R-T033S-K235F、S024R-T033S-S078R-G118R、S024R-T033S-S078R-N243F、S024R-T033S-Y209A、S024R-T033S-Y209A-

N243F、S024R-T274I、S024R-V104I-H249R、S024R-V104I-Q245R、S024R-Y091F-I198L-A215F-P239S、S024R-Y209A、S024R-Y209A-K235F、S024R-Y209A-S242P、S078R-P086W、S078R-S099F-N116A-R186K-T224A、S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、S101G-A232V、S101G-S103A-V104I-A232V-H249R、S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R、S101G-S103A-V104I-Q245R、S105T-G211Q-S216F、S106G-N185I-S216F-Q236N、T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R、T033S-G118D-A138V-Y209A、T033S-G118R-Y209A、T033S-L148F、T033S-N243F、T033S-P086W、T033S-P201S、T033S-S078R、T033S-W241R、T033S-Y209A、T033S-Y209A-K235F、V004M-N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R、V104I-A232V-H249R及び／又はV104L-H120F-R186K-S216F-N252Rを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異体は、(i) 水性洗浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接触させ、(ii) 次に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又はクリーニング方法での使用に好ましいプロテアーゼ変異体であり、水性洗浄液は好ましくは高イオン強度及び／又は高洗剤濃度を有する。

【0071】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、以下の変異の組：A015T-T033S、A016T-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、A230E-H249R、A232V-H249R、E089I-S105T-N116A-A215F-S216F、E089I-Y091F-N185I-G211Q-A270C、G020R-A090S-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R、G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、G020R-N043R-N076D、G020R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-P052N-S101A-I198L-L233C、G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R、G020R-S024R-N043D-N076D-H249R、G020R-S024R-N043D-R045T-A230E-S242R、G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、G020R-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R、G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S024R-R045T-N076D-S242R-H249R、G020R-S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G115E-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R、G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R、G020R-S101A-

10

20

30

40

50

S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2
1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-T 2 7 4 I、G 0 2 0 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-
V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5
F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1
1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-
S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0
R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2
4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-
G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 10
A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0
2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-
T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3
A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2
4 5 R、G 0 2 0 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-
T 2 1 3 A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 R-N 2 6 9 R、G 0 2 0
R-T 0 2 2 R-S 0 7 8 R-S 2 1 2 F-W 2 4 1 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1
0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-
Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6
A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 S、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 20
0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-
T 2 7 4 I、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6
A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0
2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-
G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2
W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0
R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-A 2
1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 A-S 1 0 3 A- 30
V 1 0 4 I-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0
R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-A 2
3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-
N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 3 S、G 0 2 0
R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2
1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-
S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3
A-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1
0 4 I-N 1 8 3 D-A 2 1 5 F-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 0 R-T 0 2 2 W-
S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-N 1 8 3 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、G 0 2 5 40
R-N 0 6 2 Q-S 1 2 8 N-S 1 4 4 R-N 1 8 5 I、G 0 2 5 R-N 1 1 6 A-H 1
2 0 F-T 2 2 4 A-A 2 7 0 C、G 1 1 8 R-K 2 3 5 F、K 0 2 7 R-N 0 4 3 R-
R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5
R、N 0 1 8 K-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2
1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-
N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2
V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 2 4 2 R-H 2
4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-H 2 4 9 R、
N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3
A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-R 0 50

4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-A 2 3 0 E-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-N 0 7 6 D、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-A 1 3 1 T-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-N 2 4 3 D-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R-N 2 6 9 S、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 2 0 4 D-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R-N 2 6 9 D、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-G 0 2 0 R-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3

A-A215F-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-S1
01A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R、N018R-
G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213
A-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N1
16A-N183D-G211Q-A215F-H249R、N018R-G020R-
S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213
A-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N1
16A-N183D-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-
S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249
R、N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N1
83D-I198L-T213A-H249R、N018R-G020R-S024R-
N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R、N018
R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A2
15F-H249R、N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-
N116A-T213A-H249R、N018R-G020R-S024R-N076
D-S101A-N183D-G211Q-H249R、N018R-G020R-S0
24R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R、
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198
L-G211Q-T213A-H249R、N018R-G020R-S024R-N0
76D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R、N018R-
G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215
F-H249R、N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S1
01G-S103A-V104I-A232V-Q245R、N018R-G020R-
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、N018
R-G020R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H2
49R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-
I198L-H249R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076
D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R、N018R-G0
20R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-
T213A-A215F-H249R、N018R-G020R-T022W-S024
R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H2
49R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-
N183D-T213A-H249R、N018R-G020R-T022W-S024
R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R、N018R-G0
20R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-
H249R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101
A-A215F-H249R、N018R-G020R-T022W-S024R-N0
76D-S101A-G211Q-A215F-H249R、N018R-G020R-
T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215
F-H249R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S1
01A-G211Q-T213A-H249R、N018R-G020R-T022W-
S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R、N018
R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G2
11Q-T213A-A215F-H249R、N018R-G020R-T022W-
S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R、N018
R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H2
49R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-
N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R、N018
R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I1
98L-H249R、N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-

S 1 0 1 A - N 1 1 6 A - N 1 8 3 D - G 2 1 1 Q - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0
R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 1 6 A - N 1 8 3 D - G 2
1 1 Q - T 2 1 3 A - A 2 1 5 F - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W -
S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 1 6 A - N 1 8 3 D - I 1 9 8 L - A 2 1 5
F - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1
0 1 A - N 1 1 6 A - N 1 8 3 D - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - A 2 1 5 F - H 2 4 9 R、
N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 1 6
A - N 1 8 3 D - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0
2 0 R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 1 6 A - N 1 8 3 D -
T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6
D - S 1 0 1 A - N 1 1 6 A - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0
2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 8 3 D - A 2 1 5 F - H 2 4 9 R、
N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 A - N 1 8 3
D - G 2 1 1 Q - A 2 1 5 F - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - G 0 2 0 R - T 0 2 2 W - S 0
2 4 R - N 0 7 6 D - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - A 2 3 0 E -
H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - N 0 7 6 D - S 0 7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3
A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - N 0
7 6 D - S 2 4 2 R - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - R 0 4 5 T - N 0 7 6 D -
S 0 7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 6 9
R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - R 0 4 5 T - N 0 7 6 D - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1
0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 6 9 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 D - R 0 4 5 T -
S 0 7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - A 2 7 2
D、N 0 1 8 R - N 0 4 3 R - N 0 7 6 D - A 2 3 0 E - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0
4 3 R - N 0 7 6 D - S 2 4 2 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 R - R 0 4 5 T - A 2 3 0 E -
S 2 4 2 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 R - R 0 4 5 T - S 0 7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3
A - V 1 0 4 I - L 2 1 7 E - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R - N 0 4 3 R - S 0
7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R -
N 0 4 3 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - H 2 4 9
R、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - A 2 3 2 V - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - S 0
7 8 R - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - L 2 1 7 E - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R、
N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - S 1 0 1 G - I 1 9 8 T - A 2 3 2 V、N 0 1 8 R - N 0 7 6
D - S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - Q 2 4 5 R、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - S 1
0 1 G - V 1 0 4 I、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - S 2 4 2 R、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D -
S 2 4 2 R - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - N 0 7 6 D - V 1 0 4 I - Q 2 4 5 R - H 2 4 9
R、N 0 1 8 R - R 0 4 5 T - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - R 0 4 5 T - S 1 0 1 G - S 1
0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - R 0 4 5 T -
S 1 0 1 G - S 1 0 3 A - V 1 0 4 I - A 2 3 2 V - Q 2 4 5 R - N 2 6 9 R、N 0 1 8
R - S 0 2 4 R - N 0 4 3 D - N 0 7 6 D - S 0 8 7 D - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - S 0
2 4 R - N 0 4 3 D - N 0 7 6 D - S 2 4 2 R、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D -
A 0 8 6 V - S 1 0 1 A - N 1 8 3 D - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - H 2 4 9 R、N 0 1 8
R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - A 2 1 5 F - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0
7 6 D - A 2 3 2 V、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - I 1 9 8 L - A 2 1 5 F -
H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - H 2 4 9
R、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - T 2 1 3 A - A 2
1 5 F - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - I 1 9 8 L - H 2 4 9 R、
N 0 1 8 R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - I 1 9 8 L - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8
R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - L 2 1 7 E - H 2 4 9 R - N 2 6 9 R、N 0 1 8 R - S 0
2 4 R - N 0 7 6 D - N 1 1 6 A - A 1 5 0 T - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8 R -
S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - N 1 1 6 A - G 2 1 1 Q - T 2 1 3 A - H 2 4 9 R、N 0 1 8
R - S 0 2 4 R - N 0 7 6 D - N 1 1 6 A - I 1 9 8 L - G 2 1 1 Q - H 2 4 9 R、N 0

50

R、N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I1
98L-G211Q-T213A-H249R、N018R-S024R-N076D-
S101A-N116A-N183D-I198L-H249R、N018R-S024
R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-A2
15F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-
N183D-T213A-A215F-H249R、N018R-S024R-N076
D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R、N018R-S0
24R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R、N018R-
S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215
F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-H2 10
49R、N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-
A215F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-N183
D-I198L-G211Q-H249R、N018R-S024R-N076D-S1
01A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R、
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211
Q-T213A-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-N1
83D-I198L-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-
N183D-I198L-T213A-A215F-H249R、N018R-S024
R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R、N0
18R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F- 20
H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-T213A-A215
F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101A-V197A-T2
13A-A215F-H249R、N018R-S024R-N076D-S101G、
N018R-S024R-N076D-S101G-Q245R、N018R-S024
R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V、N018R-S0
24R-N076D-S103A-H249R、N018R-S024R-N076D-
S103A-V104I-L135I-A232V、N018R-S024R-N076
D-T213A-A215F-H249R-T260K、N018R-S024R-N0
76D-V150L-S242R-H249R、N018R-S024R-R045T-
A230E-H249R、N018R-S101G-S103A-V104I-A232 30
V-Q245R-H249R、N018R-T022R-S024R-N076D-S1
01A-N116A-N183D-G211Q-H249R、N018R-T022W-
S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022
W-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R、N0
18R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-
H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-H249
R、N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H2
49R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-A215F-
H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211
Q-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N0 40
76D-N116A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-
N116A-I198L-A215F-H249R、N018R-T022W-S024
R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R、N0
18R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-
T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076
D-N116A-I198L-H249R、N018R-T022W-S024R-N0
76D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R、N018R-
T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249
R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G2
11Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D- 50

N116A-N183D-G211Q-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-Q245R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A209V-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-Y209H-G211Q-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R、N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R、N018R-T0

2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R-L 2 6 7 I、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 1 6 T-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-I 1 9 8 L-Y 2 0 9 H-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-N 1 8 3 D-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-G 2 1 1 Q-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-N 1 1 6 A-I 1 9 8 L-T 2 1 3 A-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-T 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-I 1 9 8 L-H 2 4 9 R、N 0 1 8 R-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V、N 0 4 3 A-Q 0 5 9 A-S 1 0 1 A-S 2 1 6 F-T 2 2 4 A、N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 D-R 0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 D-S 2 4 2 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-A 2 3 0 E-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 T-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-L 2 1 7 E-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、N 0 4 3 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、N 0 7 6 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R、N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、N 0 7 6 D-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R、P 0 0 5 S-N 0 1 8 R-T 0 2 2 W-S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 A-T 2 1 3 A-A 2 1 5 F-H 2 4 9 R、P 0 8 6 W-K 2 3 5 F、P 0 8 6 W-Y 2 0 9 A-K 2 3 5 F、Q 0 1 2 H-V 1 0 4 A-G 1 1 8 R、R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q

2 4 5 R-H 2 4 9 R、R 0 4 5 T-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V
 -Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-G 1 1 8 R-N 2 4 3 F-R 2 6 9 H、S 0 2 4 R-K 2 3
 5 F-N 2 4 3 F、S 0 2 4 R-N 0 4 3 D-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V
 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 6 9 R、S 0 2 4 R-N 0 4 3 R-N 0 7 6 D
 -A 2 3 0 E-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、S 0 2
 4 R-N 0 7 6 D-S 0 7 8 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q
 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D
 -S 1 0 1 G-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0
 3 A-A 2 3 2 V、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-M
 1 7 5 L-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I 10
 -Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-H 2 4
 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S
 1 0 3 A-Q 2 4 5 R、S 0 2 4 R-N 0 7 6 D-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-H 2 4 9 R
 、S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-N 0 7 6 D-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3
 2 V-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-R 0 4 5 T-S 2 4 2 R-A 2 7 3 V、S
 0 2 4 R-R 2 4 7 H、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G
 -S 1 0 3 A-A 2 3 2 V、S 0 2 4 R-S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I、S 0 2
 4 R-S 1 0 3 A-Q 2 4 5 R-H 2 4 9 R、S 0 2 4 R-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I、S
 0 2 4 R-S 1 0 6 G-N 1 1 6 A-S 2 1 2 M-T 2 2 4 A、S 0 2 4 R-T 0 3 3 S
 -A 1 5 1 V、S 0 2 4 R-T 0 3 3 S-A 1 7 4 V-K 2 3 5 F、S 0 2 4 R-T 0 3 20
 3 S-A 2 2 8 T、S 0 2 4 R-T 0 3 3 S-K 2 3 5 F-W 2 4 1 R、S 0 2 4 R-T
 0 3 3 S-N 2 4 3 F、S 0 2 4 R-V 1 0 4 A、S 0 2 4 R-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V
 、S 0 2 4 R-Y 2 0 9 A-N 2 4 3 F、S 0 7 8 R-K 2 3 5 F、S 0 8 7 D-S 1 0
 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-S 2 4 2 R-Q 2 4 5 R、S 0 9 9 F-S
 1 0 5 T-S 1 0 6 G-A 1 9 4 F-S 2 1 2 M、S 1 0 1 G-H 2 4 9 R、S 1 0 1 G
 -S 1 0 3 A-V 1 0 4 I、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q
 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R
 -N 2 4 8 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-V 1 5 0 L-A 2 3 2 V-Q 2 4
 5 R、S 1 0 3 A-A 2 3 2 V、S 1 0 3 A-A 2 3 2 V-H 2 4 9 R、S 1 0 3 A-A 30
 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-Q 2 4 5 R、S 1 0 3 N-H 1 2 0 F
 -Y 1 6 7 W-I 1 9 8 L-L 2 3 3 C、T 0 2 2 W-A 1 9 4 F-T 2 1 3 A-L 2 3
 3 C-N 2 3 8 L、T 0 2 2 W-E 0 8 9 I-S 2 1 6 F、T 0 3 3 S-A 0 4 8 T、T
 0 3 3 S-P 0 8 6 W-S 1 5 6 L-Y 2 0 9 A、T 0 3 3 S-P 2 3 9 T、T 0 3 3 S
 -T 2 5 3 A、T 0 5 7 R-N 1 8 3 D-Q 2 3 6 N、T 1 4 3 A-Y 2 0 9 A、V 0 0
 4 E-T 0 3 3 S-S 0 7 8 R、V 0 0 4 R-S 0 0 9 A-T 0 2 2 R-S 0 7 8 R-S
 2 1 2 F及び／又はY 2 0 9 A-K 2 3 5 Fを1つ以上含む。これらのプロテアーゼ変異
 体は、(i) 水性洗浄液中で表面を補助物質と、プロテアーゼ変異体とを含む組成物に接
 触させ、(i i) 次に表面をすすぐ及び／又は乾燥させる、表面の処理及び／又はクリー
 ニング方法での使用に有用なプロテアーゼ変異体であり、水性洗浄液は好ましくは高イオン
 強度及び／又は高洗剤濃度を有する。 40

【0072】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、位置1、2、3、4、8、9、
 10、12、14、15、16、17、18、20、22、23、24、25、26、2
 7、28、29、30、31、33、34、35、36、38、40、42、43、45
 、46、48、50、51、52、55、57、59、60、62、63、64、68、
 69、71、72、74、75、76、78、79、81、82、85、86、89、9
 1、92、94、99、100、101、102、103、104、105、106、1
 07、108、109、111、112、114、115、116、117、118、1
 19、120、121、123、124、128、129、132、138、144、1 50

47、148、158、159、160、166、167、175、177、181、182、183、185、186、188、192、194、197、198、203、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、224、227、230、231、232、233、234、235、236、238、239、240、241、242、243、244、245、246、248、249、250、251、252、253、254、256、258、260、262、263、265、267、269、270、271、272、273及び274を含む位置群内に変異を3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は更には25含む。

【0073】

10

前記組成物の好ましい一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、位置1、2、4、9、10、14、16、17、18、20、22、24、25、26、42、43、46、52、57、59、62、68、71、72、74、75、76、78、82、86、89、91、94、100、101、103、104、106、108、111、112、115、117、118、121、128、129、144、148、158、159、160、166、185、186、188、197、203、209、210、212、214、215、217、224、230、231、236、238、239、241、242、243、244、248、249、250、252、253、262、263、265、267、269、271及び272を含む位置群内に変異を3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は更には25含む。

20

【0074】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、T022R、T022Y、T022V、T022Q、T022L、T022W、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P040T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P052F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G063Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S078R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E089V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S101T、S101D、S101E、S101P、S101F、G1

30

40

50

O 2 A、G 1 0 2 T、G 1 0 2 N、G 1 0 2 H、G 1 0 2 E、S 1 0 3 G、S 1 0 3 N、
 S 1 0 3 D、S 1 0 3 A、V 1 0 4 L、V 1 0 4 I、V 1 0 4 E、V 1 0 4 D、S 1 0 5
 T、S 1 0 5 E、S 1 0 5 Q、S 1 0 6 G、S 1 0 6 T、S 1 0 6 E、S 1 0 6 D、S 1
 0 6 A、S 1 0 6 V、S 1 0 6 F、I 1 0 7 M、I 1 0 7 F、A 1 0 8 I、A 1 0 8 G、
 Q 1 0 9 M、L 1 1 1 V、L 1 1 1 I、E 1 1 2 V、E 1 1 2 L、E 1 1 2 Q、A 1 1 4
 G、G 1 1 5 K、G 1 1 5 R、N 1 1 6 K、N 1 1 6 A、N 1 1 6 L、N 1 1 7 F、G 1
 1 8 R、G 1 1 8 I、M 1 1 9 C、H 1 2 0 A、H 1 2 0 F、H 1 2 0 R、V 1 2 1 F、
 V 1 2 1 E、N 1 2 3 G、N 1 2 3 E、L 1 2 4 S、S 1 2 8 D、S 1 2 8 F、S 1 2 8
 L、S 1 2 8 N、S 1 2 8 H、S 1 2 8 M、S 1 2 8 I、S 1 2 8 Q、P 1 2 9 E、S 1
 3 2 A、S 1 3 2 E、A 1 3 8 G、S 1 4 4 R、V 1 4 7 L、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、
 G 1 5 9 D、G 1 5 9 E、G 1 5 9 C、S 1 6 0 D、S 1 6 6 D、S 1 6 6 E、Y 1 6 7
 W、M 1 7 5 V、V 1 7 7 C、D 1 8 1 A、Q 1 8 2 R、N 1 8 3 I、N 1 8 3 D、N 1
 8 3 M、N 1 8 3 F、N 1 8 3 R、N 1 8 5 E、N 1 8 5 V、N 1 8 5 I、R 1 8 6 H、
 R 1 8 6 K、S 1 8 8 E、S 1 8 8 D、S 1 8 8 R、Y 1 9 2 H、Y 1 9 2 W、A 1 9 4
 E、A 1 9 4 V、A 1 9 4 F、D 1 9 7 F、I 1 9 8 L、I 1 9 8 F、V 2 0 3 E、V 2
 0 3 C、T 2 0 8 S、Y 2 0 9 S、Y 2 0 9 N、Y 2 0 9 F、Y 2 0 9 T、Y 2 0 9 E、
 Y 2 0 9 H、Y 2 0 9 G、Y 2 0 9 L、P 2 1 0 R、P 2 1 0 V、P 2 1 0 L、G 2 1 1
 Q、G 2 1 1 R、S 2 1 2 I、S 2 1 2 M、S 2 1 2 F、T 2 1 3 A、Y 2 1 4 F、A 2
 1 5 N、A 2 1 5 D、A 2 1 5 E、A 2 1 5 H、A 2 1 5 F、S 2 1 6 F、S 2 1 6 A、
 L 2 1 7 E、L 2 1 7 N、L 2 1 7 D、N 2 1 8 D、N 2 1 8 P、N 2 1 8 E、T 2 2 4
 A、T 2 2 4 G、V 2 2 7 I、A 2 3 0 E、A 2 3 1 I、A 2 3 1 C、A 2 3 2 V、L 2
 3 3 C、V 2 3 4 F、K 2 3 5 F、Q 2 3 6 F、Q 2 3 6 N、Q 2 3 6 H、N 2 3 8 R、
 N 2 3 8 K、N 2 3 8 L、P 2 3 9 K、P 2 3 9 G、P 2 3 9 R、P 2 3 9 H、P 2 3 9
 T、P 2 3 9 N、P 2 3 9 S、P 2 3 9 F、S 2 4 0 R、W 2 4 1 R、S 2 4 2 L、S 2
 4 2 R、N 2 4 3 F、N 2 4 3 R、V 2 4 4 R、Q 2 4 5 R、I 2 4 6 S、N 2 4 8 D、
 N 2 4 8 V、N 2 4 8 I、N 2 4 8 R、H 2 4 9 R、H 2 4 9 T、L 2 5 0 I、K 2 5 1
 R、K 2 5 1 S、N 2 5 2 I、N 2 5 2 F、N 2 5 2 R、N 2 5 2 K、N 2 5 2 H、T 2
 5 3 I、T 2 5 3 R、T 2 5 3 F、A 2 5 4 C、S 2 5 6 N、G 2 5 8 R、T 2 6 0 V、
 T 2 6 0 I、L 2 6 2 D、L 2 6 2 H、Y 2 6 3 F、S 2 6 5 F、L 2 6 7 V、L 2 6 7
 N、L 2 6 7 M、N 2 6 9 I、N 2 6 9 R、A 2 7 0 C、E 2 7 1 I、E 2 7 1 V、E 2
 7 1 H、E 2 7 1 M、E 2 7 1 L、E 2 7 1 P、E 2 7 1 A、E 2 7 1 F、E 2 7 1 T、
 A 2 7 2 F、A 2 7 2 F、A 2 7 2 R、A 2 7 3 F、A 2 7 3 I 及び T 2 7 4 G から選
 択される変異を合計で 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15
 、16、17、18、19、20、21、22、23、24 又は更には 25 含む。

【0075】

前記組成物の好ましい態様では、前記プロテアーゼ変異体は、A 1 R、Q 2 S、V 4 R
 、V 4 S、S 9 A、R 1 0 S、P 1 4 K、A 1 6 S、H 1 7 R、N 1 8 R、G 2 0 R、T
 2 2 A、T 2 2 R、S 2 4 R、S 2 4 W、G 2 5 R、G 2 5 V、V 2 6 F、L 4 2 I、N
 4 3 R、N 4 3 A、G 4 6 R、P 5 2 F、P 5 2 E、P 5 2 N、T 5 7 R、Q 5 9 A、N
 6 2 E、N 6 2 Q、V 6 8 A、V 6 8 C、T 7 1 G、I 7 2 C、A 7 4 C、L 7 5 A、L
 7 5 F、L 7 5 R、N 7 6 D、S 7 8 R、L 8 2 R、P 8 6 W、E 8 9 P、E 8 9 T、E
 8 9 G、E 8 9 H、E 8 9 I、E 8 9 V、E 8 9 W、Y 9 1 N、K 9 4 N、G 1 0 0 S、
 S 1 0 1 A、S 1 0 1 N、S 1 0 1 G、S 1 0 1 D、S 1 0 3 G、S 1 0 3 N、V 1 0 4
 L、V 1 0 4 I、S 1 0 6 V、S 1 0 6 G、A 1 0 8 I、L 1 1 1 V、E 1 1 2 V、G 1
 1 5 K、G 1 1 5 R、N 1 1 7 F、G 1 1 8 I、V 1 2 1 F、S 1 2 8 D、S 1 2 8 F、
 S 1 2 8 L、S 1 2 8 N、P 1 2 9 E、S 1 4 4 R、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、G 1 5 9
 E、S 1 6 0 D、S 1 6 6 D、N 1 8 5 E、N 1 8 5 I、R 1 8 6 H、S 1 8 8 E、S 1
 8 8 D、D 1 9 7 F、V 2 0 3 E、Y 2 0 9 S、Y 2 0 9 N、Y 2 0 9 F、Y 2 0 9 T、
 Y 2 0 9 E、Y 2 0 9 H、Y 2 0 9 G、P 2 1 0 R、S 2 1 2 I、S 2 1 2 F、Y 2 1 4
 F、A 2 1 5 N、A 2 1 5 D、A 2 1 5 E、L 2 1 7 E、L 2 1 7 N、T 2 2 4 A、A 2

10

20

30

40

50

30E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、N248V、H249R、L250I、N252R、T253R、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H、E271P、E271T、E271V、E271L及びA272Fから選択される変異を合計で3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は更には25含み、並びに、以下の変異：S103A、G159D、Q236H、Q245R、N248D及びN252Kを1つ以上含んでもよい。

【0076】

10

前記組成物の一態様では、特に高洗剤濃度又は高イオン強度での使用について、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：A1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、T22A、T22R、S24R、G25V、V26F、L42I、P52F、P52E、P52N、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、S78R、E89P、E89T、E89G、E89H、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、A108I、L111V、E112V、G115K、N117F、V121F、S128D、S128F、S128L、S128N、P129E、L148I、A158E、G159E、S160D、S166D、N185E、R186H、S188E、S188D、V203E、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T224A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、N248V、H249R、L250I、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H及びA272Fを2つ以上含み、並びに／あるいは、

20

b) 以下の変異の組：N062E-P129E、N062E-G159E、A016S-L148I、A158E-H249R、A016S-N062E、L111V-S188D、T022A-N062E、N062E-L148I、T022A-P129E、N062E-E271F、N062E-A158E、A016S-G159E、N062E-R186H、S128N-G159E、N062E-S188D、N062E-S128N、L148I-G159E、S103G-A158E、L111V-G159E、A158E-E271F、A016S-S188D、T022A-L111V、S128N-A158E、A016S-A158E、V104L-A158E、S128N-R186H、G159E-Y209E、N062E-S101A、L111V-Y209E、L148I-S188D、S101A-Y209E、T022A-S188D、A016S-T022A、S128N-P129E、A016S-Y209E、A016S-S128N、T022A-E089P、S128N-Y209E、E089P-A158E、N062E-S103G、R186H-E271F、A016S-P129E、E089P-G159E、L111V-H249R、S101A-P129E、L148I-Y209E、T022A-G159E、P129E-H249R、P129E-Y209E、V104L-P129E、S128N-S188D、L111V-A158E、T022A-A158E、N062E-Y209E、N062E-H249R、S101A-R186H、E089P-P129E、P129E-E271F、T22A-L111V-G159E、S101A-S103G-V104L-Y209E、S101A-S103G-V104L-G159E、S101A-S103G-V104L-S188D、S101G-S103A-V104I-G159D、T22A-S103G-G159E、T22A-S128N-E271F-Y209E、T22A-Y209E-E271F、T22

30

40

50

A-S101A-Y209E、S101A-Y209E-E271F、T22A-L11
 1V-S128N、T22A-S101A-G159E、S101A-S103G-V1
 04L、T22A-S101A-S103G-V104L、S101A-S103G-V
 104L、S101G-S103A-V104I、S101A-S103G-V104L
 -S128N、S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q24
 5R-N248D-N252K、S101G-V104I-G159D-A232V-Q
 236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-G159D
 -A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S10
 3A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S
 101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D
 -N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q24
 5R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A
 232V-Q236H-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L
 -G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K、S101G-S10
 3A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D、N
 62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-
 N248D-E271F、N62E-S101G-S103A-V104I-G159D
 -A232V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103
 A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S1
 01G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-
 S24R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R
 -N248D-T253R、S101G-S103A-V104I-A158E-A23
 2V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103A-V1
 04I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-
 S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249
 R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N2
 48D-N238R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-
 Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159
 D-A232V-Q245R-N248D、S101G-S103A-V104I-G1
 59D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-
 V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D及びS101
 G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E2
 71Fを1つ以上含み、

前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸配列を有するバチルス・レンタスの
 サブチリシンGG36プロテアーゼと比較して、0、+1、+2、+3、+4又は+5の
 総実効電荷を有し、好ましくは正の総実効電荷を有し、最も好ましくは+1、+2又は+
 3の総実効電荷を有する。

【0077】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ
 変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、X1R、X230E、X271L
 、X115R、X20R、X249R、X235F、X27V/F/L、X75E、X8
 2R、X18R、X269R、X43D、X43R、X76D、X45T、X212F、
 X242R、X24R、X78R、X9A、X22R、X121E、X244R、X28
 E、X30E、X4R及びX241Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むア
 ミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されて
 いるB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させるこ
 とにより番号付けされる。

【0078】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA1R、A2
 30E、E271L、G115R、G20R、H249R、K235F、K27V/F/

L、L 7 5 E、L 8 2 R、N 1 8 R、N 2 6 9 R、N 4 3 D、N 4 3 R、N 7 6 D、R 4 5 T、S 2 1 2 F、S 2 4 2 R、S 2 4 R、S 7 8 R、S 9 A、T 2 2 R、V 1 2 1 E、V 2 4 4 R、V 2 8 E、V 3 0 E、V 4 R及びW 2 4 1 Rから選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

10

【0079】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA 1 R、A 2 3 0 E、E 2 7 1 L、G 1 1 5 R、G 2 0 R、H 2 4 9 R、K 2 3 5 F、K 2 7 V/F/L、L 7 5 E、L 8 2 R、N 1 8 R、N 2 6 9 R、N 4 3 D、N 4 3 R、N 7 6 D、R 4 5 T、S 2 1 2 F、S 2 4 2 R、S 2 4 R、S 7 8 R、S 9 A、T 2 2 R、V 1 2 1 E、V 2 4 4 R、V 2 8 E、V 3 0 E、V 4 R及びW 2 4 1 Rから選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なり、並びに、S 1 0 3 A、G 1 5 9 D、Q 2 3 6 H、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 D及びN 2 5 2 Kからなる群から選択される変異を少なくとも1含む、アミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含んでもよく、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

20

【0080】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、X 1 6 S、X 1 8 R、X 2 0 R、X 2 2 A、X 2 4 R、X 4 3 R/D、X 4 5 T、X 7 6 D、X 1 0 1 A、X 1 0 3 G、X 1 0 4 L、X 1 1 1 V、X 1 2 8 N、X 1 4 8 I、X 2 3 0 E、X 2 4 2 R及びX 2 4 9 Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

30

【0081】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、A 1 6 S、N 1 8 R、G 2 0 R、T 2 2 A、S 2 4 R、N 4 3 R、N 4 3 D、R 4 5 T、N 7 6 D、S 1 0 1 A、S 1 0 3 G、V 1 0 4 L、L 1 1 1 V、S 1 2 8 N、L 1 4 8 I、A 2 3 0 E、S 2 4 2 R及びH 2 4 9 Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

40

【0082】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 4 9 R、X 2 0 R-X 2 2 R-X 4 3 R、X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 4 2 R、X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 7 1 L、X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 4 4 R、X 2 0 R-X 2 4 R-X 4 3 R-X 2 4 2 R、X 9 A-X 2 2 R-X 7 8 R-X 2 1 2 F-X 2 4 1 R、X 9 A-X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 1 2 F、X 9 A-X 4 3 R-X 2 1 2 F、X 2 0 R-X 4 3 R-X 2 1 2

50

F、X20R-X22R-X43R-X212F、X24R-X78R-X212F、X9A-X43R-X78R、X9A-X43R-X78R-X242R、X9A-X20R-X43R-X78R、X20R-X24R-X43R-X78R-X242R、X22R-X24R-X78R-X212F、X9A-X20R-X43R-X78R-X242R、X20R-X43R-X78R-X249R、X20R-X43R-X78R、X9A-X78R-X212F、X9A-X22R-X43R-X78R、X9A-X20R-X24R-X43R、X9A-X22R-X78R-X212F、X4R-X9A-X22R-X78R-X212F、X20R-X24R-X43R、X1R-X9A-X43R、X20R-X24R-X43R-X115R、X9A-X24R-X43R、X20R-X22R-X24R-X43R、X1R-X24R-X43R、X9A-X20R-X24R-X43R-X242R、X9A-X20R-X22R-X78R-X212F、X9A-X24R-X43R-X244R、X9A-X24R-X43R-X242R、X4R-X9A-X22R-X24R-X212F及びX22R-X24R-X43Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0083】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、A1R、A230E、E271L、G115R、G20R、H249R、K235F、K27V/F/L、L75E、L82R、N18R、N269R、N43D、N43R、N76D、R45T、S212F、S242R、S24R、S78R、S9A、T22R、V121E、V244R、V28E、V30E、V4R、W241R、G20R-N43R-H249R、G20R-T22R-N43R、G20R-N43R-S242R、G20R-N43R-E271L、G20R-N43R-V244R、G20R-S24R-N43R-S242R、S9A-T22R-S78R-S212F-W241R、S9A-G20R-N43R-S212F、S9A-N43R-S212F、G20R-N43R-S212F、G20R-T22R-N43R-S212F、S24R-S78R-S212F、S9A-N43R-S78R、S9A-N43R-S78R-S242R、S9A-G20R-N43R-S78R、G20R-S24R-N43R-S78R-S242R、T22R-S24R-S78R-S212F、S9A-G20R-N43R-S78R-S242R、G20R-N43R-S78R-H249R、G20R-N43R-S78R、S9A-S78R-S212F、S9A-T22R-N43R-S78R、S9A-G20R-S24R-N43R、S9A-T22R-S78R-S212F、V4R-S9A-T22R-S78R-S212F、G20R-S24R-N43R、A1R-S9A-N43R、G20R-S24R-N43R-G115R、S9A-S24R-N43R、G20R-T22R-S24R-N43R、A1R-S24R-N43R、S9A-G20R-S24R-N43R-S242R、S9A-G20R-T22R-S78R-S212F、S9A-S24R-N43R-V244R、S9A-S24R-N43R-S242R、V4R-S9A-T22R-S24R-S212F、及びT22R-S24R-N43Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0084】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、X101G-X103A-X104I-X232V-X245R-X248D、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D、X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248R、X101G-X103A-X104I-X

10

20

30

40

50

2 3 2 V-X 2 4 5 R、X 1 0 1 G-X 1 0 3 A-X 1 0 4 I-X 2 3 2 V-X 2 4 5 R-X 2 4 8 R、X 1 0 1 G-X 1 0 3 A-X 1 0 4 I-X 1 5 9 R-X 2 3 2 V-X 2 4 5 R-X 2 4 8 R及びX 1 0 1 G、X 1 0 3 A、X 1 0 4 I、X 2 3 2 V、X 2 3 6 H、X 2 4 5 R及びX 2 5 2 Kから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0085】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 R-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 D、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 D-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 R、S 1 0 1 G-S 1 0 3 A-V 1 0 4 I-G 1 5 9 R-A 2 3 2 V-Q 2 4 5 R-N 2 4 8 R、S 1 0 1 G、S 1 0 3 A、V 1 0 4 I、A 2 3 2 V、Q 2 3 6 H及びQ 2 4 5 Rから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0086】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、X 1 6 S、X 2 2 A、X 2 4 R、X 6 2 E、X 7 6 D、X 8 9 P、X 1 0 1 A/G、X 1 0 3 G/A、X 1 0 4 L/I、X 1 1 1 V、X 1 2 8 N、X 1 2 9 E、X 2 3 2 V、X 1 4 8 I、X 1 5 8 E、X 1 5 9 D/E、X 1 6 6 D、X 1 8 6 H、X 1 8 8 D、X 2 0 9 E、X 2 3 6 H、X 2 3 8 R、X 2 4 5 R、X 2 4 8 D/R、X 2 4 9 R、X 2 5 2 K/R、X 2 5 3 R及びX 2 7 1 Fから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0087】

前記組成物の一態様では、前記組成物はプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体はタンパク質分解活性を有する成熟形態であり、A 1 6 S、T 2 2 A、S 2 4 R、N 6 2 E、N 7 6 D、E 8 9 P、S 1 0 1 A/G、S 1 0 3 G/A、V 1 0 4 L/I、L 1 1 1 V、S 1 2 8 N、P 1 2 9 E、A 2 3 2 V、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、G 1 5 9 D/E、R 1 8 6 H、S 1 8 8 D、Y 2 0 9 E、Q 2 3 6 H、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 D/R、H 2 4 9 R、N 2 5 2 K/R、T 2 5 3 R及びE 2 7 1 Fから選択されるアミノ酸置換の組み合わせを含むアミノ酸配列を含み、サブチリシン変異体のアミノ酸位置は、配列番号2として記載されているB. アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列と対応させることにより番号付けされる。

【0088】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA 1 6 S、T 2 2 A、S 2 4 R、N 6 2 E、N 7 6 D、E 8 9 P、S 1 0 1 A/G、S 1 0 3 G/A、V 1 0 4 L/I、L 1 1 1 V、S 1 2 8 N、P 1 2 9 E、A 2 3 2 V、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、G 1 5 9 D/E、R 1 8 6 H、S 1 8 8 D、Y 2 0 9 E、Q 2 3 6 H、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 D/R、H 2 4 9 R、N 2 5 2 K/R、T 2 5 3 R及びE 2 7 1 Fからなる群から選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、プロテアーゼ変異体のア

10

20

30

40

50

ミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【0089】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、プロテアーゼ変異体の総実効電荷は、バチルス・レントスのサブチリシンGG36プロテアーゼの総実効電荷と比較して0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4又は-5であり、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

10

【0090】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、H17R、N18R、G20R、T22A、T22R、S24R、S24W、G25R、G25V、V26F、L42I、N43R、N43A、G46R、P52F、P52E、P52N、T57R、Q59A、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89T、E89G、E89H、E89I、E89V、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、S106V、S106G、A108I、L111V、E112V、G115K、G115R、N117F、G118I、V121F、S128D、S128F、S128L、S128N、P129E、S144R、L148I、A158E、G159E、S160D、S166D、N185E、N185I、R186H、S188E、S188D、D197F、V203E、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T224A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、N248V、H249R、L250I、N252R、T253R、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H、E271P、E271T、E271V、E271L及びA272Fからなる群から選択される変異の2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なり、並びに、S103A、G159D、Q236H、Q245R、N248D及びN252Kからなる群から選択される変異を少なくとも1含む、アミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含んでもよく、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

20

30

40

【0091】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA16S、T22A、S24R、N62E、N76D、E89P、S101A/G、S103G/A、V104L/I、L111V、S128N、P129E、A232V、L148I、A158E、G159D/E、R186H、S188D、Y209E、Q236H、Q245R、N248D/R、H249R、N252K/R、T253R及びE271Fからなる

50

群から選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【0092】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とはA1R、A230E、E271L、G115R、G20R、H249R、K235F、K27V/F/L、L75E、L82R、N18R、N269R、N43D、N43R、N76D、R45T、S212F、S242R、S24R、S78R、S9A、T22R、V121E、V244R、V28E、V30E、V4R及びW241Rから選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【0093】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、配列番号1のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含むプロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸配列とはA1R、A230E、E271L、G115R、G20R、H249R、K235F、K27V/F/L、L75E、L82R、N18R、N269R、N43D、N43R、N76D、R45T、S212F、S242R、S24R、S78R、S9A、T22R、V121E、V244R、V28E、V30E、V4R及びW241Rから選択される2以下、3以下、4以下、5以下、6以下、7以下、8以下、9以下、10以下、11以下、12以下、13以下、14以下、15以下、16以下、17以下、18以下、19以下、20以下、21以下、22以下、23以下、24以下又は25以下の変異で異なり、並びに、S103A、G159D、Q236H、Q245R、N248D及びN252Kからなる群から選択される変異を少なくとも1つ含んでもよく、アミノ酸配列を含み、プロテアーゼ変異体のアミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を配列番号2に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

【0094】

前記組成物の一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：V4R、H17R、N18R、G20R、T22R、S24R、S24W、G25R、N43R、N43A、G46R、P52F、P52N、T57R、Q59A、N62Q、T71G、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89W、E89T、E89I、E89H、E89V、V104L、S106V、S106G、G115R、G118I、V121F、S144R、N185I、D197F、Y209N、Y209S、L217E、A231I、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、H249R、N252R、T253R、E271T、E271V、E271L、E271H、E271F、E271P、A1R、S9A、S212F及びN269Rを2つ以上含み、並びに／

あるいは

b) 以下の変異の組：T022R-S024R、S009A-E271L、N018R-W241R、N018R-G115R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、G020R-S024R、N018R-H249R、S009A-G020R、G020R-W241R、S009A-S078R、G020R-G115R、N018R-S024R、S024R-S242R、T022R-G115R、N018R-N043R、G020R-N043R、N018R-S242R、S242R-N269R、N018R-V244R、S024R-N269R、G020R-E271L、S024R-E271L、V004R-S009A、G020R-N269R、A001R-S024R、V244R-E271L、S009A-N018R、W241R-E271L、V004R-S024R、S009A-H249R、S009A-T022R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K及びS101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252Kを1つ以上含み、

10

前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸配列を有するバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して、0、-1、-2、-3、-4又は-5、好ましくは0、-1、-2又は-3の総実効電荷を有する。

20

【0095】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、

a) サブチリシン (EC 3. 4. 21. 62)、

b) トリプシン様又はキモトリプシン様プロテアーゼ、

c) メタロプロテアーゼ、並びに

d) これらの混合物を含む群から選択される、免疫当量ではない第2のプロテアーゼを含む。

【0096】

30

前記組成物の一態様では、前記組成物は、

a) 枯草菌 (*B. subtilis*)、*B. アミロリケファシエンス*、バチルス・プミルス (*Bacillus pumilus*) 及びバチルス・ギブソニィ (*Bacillus gibsonii*) から誘導されるサブチリシン (EC 3. 4. 21. 62)、

b) セルロモナス (*Cellulomonas*) から誘導されるトリプシンプロテアーゼ及び／又はキモトリプシンプロテアーゼ、

c) バチルス・アミロリケファシエンスから誘導されるメタロプロテアーゼ、並びに

d) これらの混合物を含む群から選択される、免疫当量ではない第2のプロテアーゼを含む。

【0097】

40

前記組成物の一態様では、前記組成物は、ヘミセルラーゼ、ペルオキシダーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼ、セロビオース脱水素酵素、キシログルカナーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼ、エステラーゼ、クチナーゼ、ペクチナーゼ、マンナナーゼ、ペクチン酸リアーゼ、ケラチナーゼ、レダクターゼ、オキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、リボキシゲナーゼ、リグニナーゼ、プルラナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、リケナーゼグルカナーゼ、アラビノシダーゼ、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、ラッカーゼ、アミラーゼ及びこれらの混合物からなる群から選択された追加の酵素を含む。

【0098】

前記組成物の一態様では、前記追加の酵素は、

a) 第1の洗浄リパーゼ、

50

- b) α -アミラーゼ、
- c) バクテリアクリーニングセルラーゼ、及び
- d) これらの混合物、からなる群から選択される。

【0099】

前記組成物の一態様では、前記組成物中の前記補助物質に関しては、

- a) 前記香料を含む封入体は、香料マイクロカプセルを含む、
- b) 前記色相剤は、550nm～650nmのピーク吸収波長を有する、塩基性、酸性、疎水性、直接及び高分子染料並びに染料結合体及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- c) 前記洗浄性界面活性剤は、アニオン性洗浄界面活性剤、非イオン性洗浄界面活性剤、カチオン性洗浄界面活性剤、双極性イオン洗浄界面活性剤及び両性洗浄界面活性剤及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- d) 前記ビルダーは、ゼオライト、リン酸塩及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- e) 前記ケイ酸塩は、ケイ酸ナトリウム、ケイ酸カリウム及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- f) 前記増白剤は好ましくは、冷水可溶性増白剤及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- g) 前記カルボン酸塩ポリマーは、マレアート／アクリレートランダムコポリマー又はポリアクリレートホモポリマー及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- h) 前記防汚 (soil release) ポリマーは、テレフタレートコポリマー及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- i) 前記セルロース系ポリマーは、アルキルセルロース、アルキルアルコキシアルキルセルロース、カルボキシアルキルセルロース、アルキルカルボキシアルキルセルロース及びこれらの混合物から選択される物質を含む、

- j) 前記漂白触媒は、遷移金属触媒、又は遷移金属触媒形成用配位子、あるいは好ましくはイミニウムカチオン、イミニウムポリイオン、イミニウム双性イオン、修飾されたアミン、修飾されたアミン酸化物、N-スルホニルイミン、N-ホスホニルイミン、N-アシルイミン、チアジアゾールジオキシド、ペルフルオロイミン、環状糖ケトン及びこれらの混合物から選択される物質を含む、

- k) 前記漂白活性化剤は、ドデカノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシ安息香酸又はその塩、3,5,5-トリメチルヘキサノイルオキシベンゼンスルホネート、テトラアセチルエチレンジアミン (T A E D)、ノナノイルオキシベンゼンスルホネート (N O B S) 及びこれらの混合物から選択される物質を含む、

- l) 前記過酸化水素源は、過ホウ酸塩 (通常一又は四水和物)、過炭酸塩、過硫酸塩、過リン酸塩、過ケイ酸塩のナトリウム塩などのアルカリ金属塩を含む無機過酸化水素化塩類 (inorganic perhydrate salts) 及びこれらの混合物からなる群から選択される物質を含む、

- m) 前記キレート剤は、D T P A (ジエチレントリアミン五酢酸)、H E D P (ヒドロキシエタンジホスホン酸)、D T P M P (ジエチレントリアミンペンタ (メチレンホスホン酸))、エチレンジアミンニコハク酸 (E D D S)、1,2-ジヒドロキシベンゼン-3,5-ジスルホン酸二ナトリウム塩水和物、前記キレート剤の誘導体からなる群から選択される物質を含む、並びに、

- n) これらの混合物。

【0100】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、

- a) 染料、
- b) カチオン性塩基性染料及びスメクタイト粘土を少なくとも1含む、染料-粘土結合

体、並びに

c) これらの混合物、からなる群から選択された布地色相剤を含む。

【0101】

前記組成物の一態様では、前記組成物は、

a) 小分子染料、高分子染料及びこれらの混合物、

b) カチオン性塩基性染料及びスメクタイト粘土を少なくとも1含む、染料-粘土結合体、並びに

c) これらの混合物、からなる群から選択された布地色相剤を含む。

【0102】

前記固体洗濯洗剤組成物の一態様では、前記組成物は、組成物の合計重量に基づいて、

a) 約0.0005重量%～約0.1重量%、約0.001重量%～約0.05重量%、又は更には約0.002重量%～約0.03重量%の前記プロテアーゼ変異体と、

b) 以下のものの1つ以上とを含む：

(i) 約0.00003重量%～約0.1重量%の布地色相剤、

(ii) 約0.001重量%～約5重量%の香料カプセル、

(iii) 約0.001重量%～約1重量%の冷水可溶性増白剤、

(iv) 約0.00003重量%～約0.1重量%の漂白触媒、

(v) 約0.00003重量%～約0.1重量%の第1の洗浄リパーゼ、

(vi) 約0.00003重量%～約0.1重量%のバクテリアクリーニングセルラーゼ、

(vii) 約0.05重量%～約20重量%のGuert非イオン性界面活性剤

。

【0103】

本明細書に開示されている消費者製品のいずれかによる組成物であって、前記組成物が単区画又は多区画単位用量である、組成物が開示される。

【0104】

本明細書に開示されている消費者製品のいずれかによる組成物であって、前記組成物が多区画単位用量である、組成物では、プロテアーゼ変異体は、任意の過酸化水素源及び／又はキレート剤とは異なる区画に存在する。

【0105】

一態様では、消費者製品を含む水性洗浄液が開示され、前記消費者製品は補助物質と、プロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：A1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、T22A、T22R、S24R、G25V、V26F、L42I、P52F、P52E、P52N、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、S78R、E89P、E89T、E89G、E89H、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、A108I、L111V、E112V、G115K、N117F、V121F、S128D、S128F、S128L、S128N、P129E、L148I、A158E、G159E、S160D、S166D、N185E、R186H、S188E、S188D、V203E、Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T224A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、N248V、H249R、L250I、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H及びA272Fを2つ以上含み、並びに／あるいは

b) 以下の変異の組：N062E-P129E、N062E-G159E、A016S-L148I、A158E-H249R、A016S-N062E、L111V-S18

10

20

30

40

50

50

V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D及びS101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271Fを1つ以上含み、前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸を有するバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して0、-1、-2、-3、-4又は-5、好ましくは0、-1、-2又は-3の総実効電荷を有し、

前記水性洗浄液は、好ましくは、約0.1mS/cm～約3mS/cm、約0.3mS/cm～約2.5mS/cm、又は更には約0.5mS/cm～約2mS/cmの伝導度を有する。

【0106】

消費者製品を含む水性洗浄液が開示され、前記消費者製品は補助物質と、プロテアーゼ変異体を含み、前記プロテアーゼ変異体は、

a) 以下の変異：V4R、H17R、N18R、G20R、T22R、S24R、S24W、G25R、N43R、N43A、G46R、P52F、P52N、T57R、Q59A、N62Q、T71G、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89W、E89T、E89I、E89H、E89V、V104L、S106V、S106G、G115R、G118I、V121F、S144R、N185I、D197F、Y209N、Y209S、L217E、A231I、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、H249R、N252R、T253R、E271T、E271V、E271L、E271H、E271F、E271P、A1R、S9A、S212F及びN269Rを2つ以上含み、並びに／あるいは

b) 以下の変異の組：T022R-S024R、S009A-E271L、N018R-W241R、N018R-G115R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、G020R-S024R、N018R-H249R、S009A-G020R、G020R-W241R、S009A-S078R、G020R-G115R、N018R-S024R、S024R-S242R、T022R-G115R、N018R-N043R、G020R-N043R、N018R-S242R、S242R-N269R、N018R-V244R、S024R-N269R、G020R-E271L、S024R-E271L、V004R-S009A、G020R-N269R、A001R-S024R、V244R-E271L、S009A-N018R、W241R-E271L、V004R-S024R、S009A-H249R、S009A-T022R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K及びS101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252Kを1つ以上含み、前記プロテアーゼ変異体は、配列番号1のアミノ酸を有するバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼと比較して0、+1、+2、+3、+4又は+5、好ましくは正の総実効電荷、最も好ましくは+1、+2又は+3の総実効電荷を有し、前記洗濯洗剤洗浄液は、約3mS/cm超～約30mS/cm、約3.5mS/cm～約20mS/cm、又は更には約4mS/cm～約10mS/cmの伝導度を有する。

【0107】

一態様では、このような消費者製品は、粒状又は粉末洗濯洗剤であってもよい。

【0108】

一態様では、本明細書に開示されている消費者製品のどれも、多区画単位用量の形態であってもよい。前記多区画単位用量の一態様では、プロテアーゼ変異体は、任意の追加の酵素及び／又はキレート剤とは異なる区画に存在し得る。

【0109】

一態様では、このような組成物は、液体洗濯洗剤、食器洗浄製品及び／又は粒状若しくは粉末洗剤であってもよい。

【0110】

一態様では、本明細書に開示されている消費者製品のどれも、多区画単位用量の形態であってもよい。前記多区画単位用量の一態様では、プロテアーゼは、任意の追加の酵素及び／又はキレート剤とは異なる区画に存在し得る。

【0111】

消費者製品は、液体又は固体などの任意の形態を取り得る。消費者製品は、特に液体の形態の場合には、単位用量小袋の形態であってもよく、典型的にはこの消費者製品は、少なくとも部分的に、又は更には完全に、水溶性フィルム内に封止されている。

10

【0112】

前記消費者製品の1つ以上の態様では、このような消費者製品は、前記に詳細を説明したパラメーター及び／又は特徴の任意の組み合わせを有し得る。

【0113】

追加のプロテアーゼの開示

好適なプロテアーゼ変異体としては、親プロテアーゼから誘導された酵素が挙げられ、前記親プロテアーゼの配列は、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%又は100%同一であり、前記変異体は以下の特徴を1つ以上有する：

20

a) 試験方法2の性能指数が、少なくとも1.1、少なくとも1.2、少なくとも1.3、少なくとも1.4、少なくとも1.5、少なくとも1.6、少なくとも1.7、少なくとも1.8、少なくとも1.9、少なくとも2、1.1～約10、1.1～約8、又は更には1.1～約5である、

b) 試験方法3の性能指数が、少なくとも1.1、少なくとも1.2、少なくとも1.3、少なくとも1.4、少なくとも1.5、少なくとも1.6、少なくとも1.7、少なくとも1.8、少なくとも1.9、少なくとも2、1.1～約10、1.1～約8、又は更には1.1～約5である、

c) 試験方法4の性能指数が、少なくとも1.0、少なくとも1.1、少なくとも1.2、少なくとも1.3、少なくとも1.4、少なくとも1.5、少なくとも1.6、少なくとも1.7、少なくとも1.8、少なくとも1.9、少なくとも2、1.0～約10、1.0～約8、又は更には1.0～約5である。

30

【0114】

好ましいプロテアーゼ変異体は、前記試験方法2で定義された特徴を有する。

【0115】

好適なプロテアーゼは、サブチリシンから誘導することができ、特に配列番号1のバチルス・レンタスのサブチリシンから誘導されるものであり、一態様では、以下の変異：

A1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、H17R、N18R、G20R、T22A、T22R、S24R、S24W、G25R、G25V、V26F、L42I、N43R、N43A、G46R、P52F、P52E、P52N、T57R、Q59A、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89T、E89G、E89H、E89I、E89V、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、S106V、S106G、A108I、L111V、E112V、G115K、G115R、N117F、G118I、V121F、S128D、S128F、S128L、S128N、P129E、S144R、L148I、A158E、G159E、S160D、S166D、N185E、N185I、R186H、S188E、S188D、D197F、V203E、Y209S、Y209N、

40

50

Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209G、P210R、S212I、S212F、Y214F、A215N、A215D、A215E、L217E、L217N、T224A、A230E、A231I、Q236F、N238R、N238K、P239K、P239G、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、N248V、H249R、L250I、N252R、T253R、L262D、Y263F、S265F、L267V、L267N、N269I、N269R、E271F、E271I、E271H、E271P、E271T、E271V、E271L及び／又はA272Fを1つ以上を含み得る。好ましい一態様では、酵素変異体は、前記変異を少なくとも2含み得る。

【0116】

一態様では、好適なプロテアーゼとしては、以下の変異、挿入又は欠失の組：

T022R-S024R、S009A-E271L、N018R-W241R、N018R-G115R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、G020R-S024R、N018R-H249R、S009A-G020R、G020R-W241R、S009A-S078R、G020R-G115R、N018R-S024R、S024R-S242R、T022R-G115R、N018R-N043R、G020R-N043R、N018R-S242R、S242R-N269R、N018R-V244R、S024R-N269R、G020R-E271L、S024R-E271L、V004R-S009A、G020R-N269R、A001R-S024R、V244R-E271L、S009A-N018R、W241R-E271L、V004R-S024R、S009A-H249R、S009A-T022R、N062E-P129E、N062E-G159E、A016S-L148I、A158E-H249R、A016S-N062E、L111V-S188D、T022A-N062E、N062E-L148I、T022A-P129E、N062E-E271F、N062E-A158E、A016S-G159E、N062E-R186H、S128N-G159E、N062E-S188D、N062E-S128N、L148I-G159E、S103G-A158E、L111V-G159E、A158E-E271F、A016S-S188D、T022A-L111V、S128N-A158E、A016S-A158E、V104L-A158E、S128N-R186H、G159E-Y209E、N062E-S101A、L111V-Y209E、L148I-S188D、S101A-Y209E、T022A-S188D、A016S-T022A、S128N-P129E、A016S-Y209E、A016S-S128N、T022A-E089P、S128N-Y209E、E089P-A158E、N062E-S103G、R186H-E271F、A016S-P129E、E089P-G159E、L111V-H249R、S101A-P129E、L148I-Y209E、T022A-G159E、P129E-H249R、P129E-Y209E、V104L-P129E、S128N-S188D、L111V-A158E、T022A-A158E、N062E-Y209E、N062E-H249R、S101A-R186H、E089P-P129E、P129E-E271F；

(b) T22A-L111V-G159E、S101A-S103G-V104L-Y209E、S101A-S103G-V104L-G159E、S101A-S103G-V104L-S188D、S101G-S103A-V104I-G159D、T22A-S103G-G159E、T22A-S128N-E271F-Y209E、T22A-Y209E-E271F、T22A-S101A-Y209E、S101A-Y209E-E271F、T22A-L111V-S128N、T22A-S101A-G159E、S101A-S103G-V104L、T22A-S101A-S103G-V104L、S101A-S103G-V104L、S101G-S103A-V104I、S101A-S103G-V104L-S128N、S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、

10

20

30

40

50

S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D、N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D及び／又はS101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271Fを1つ以上含み得るサブチリシン、特に配列番号1のバチルス・レントスが挙げられる。

10

20

【0117】

一態様では、好適なプロテアーゼは、サブチリシンの変異体、特に配列番号1のバチルス・レントスのものが挙げられ、前記変異体は、位置1、2、4、9、10、14、16、17、18、20、22、24、25、26、42、43、46、52、57、59、62、68、71、72、74、75、76、78、82、86、89、91、94、100、101、103、104、106、108、111、112、115、117、118、121、128、129、144、148、158、159、160、166、185、186、188、197、203、209、210、212、214、215、217、224、230、231、236、238、239、241、242、243、244、248、249、250、252、253、262、263、265、267、269、271及び272を含む位置群内に変異を3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14又は15更には25含む。

30

【0118】

好ましい一態様では、好適なプロテアーゼとしては、サブチリシン変異体、特に配列番号1のバチルス・レントスのものが挙げられ、前記変異体は、A1R、Q2S、V4R、V4S、S9A、R10S、P14K、A16S、H17R、N18R、G20R、T22A、T22R、S24R、S24W、G25R、G25V、V26F、L42I、N43R、N43A、G46R、P52F、P52E、P52N、T57R、Q59A、N62E、N62Q、V68A、V68C、T71G、I72C、A74C、L75A、L75F、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89T、E89G、E89H、E89I、E89V、E89W、Y91N、K94N、G100S、S101A、S101N、S101G、S101D、S103G、S103N、V104L、V104I、S106V、S106G、A108I、L111V、E112V、G11

40

50

5 K、G 1 1 5 R、N 1 1 7 F、G 1 1 8 I、V 1 2 1 F、S 1 2 8 D、S 1 2 8 F、S 1 2 8 L、S 1 2 8 N、P 1 2 9 E、S 1 4 4 R、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、G 1 5 9 E、S 1 6 0 D、S 1 6 6 D、N 1 8 5 E、N 1 8 5 I、R 1 8 6 H、S 1 8 8 E、S 1 8 8 D、D 1 9 7 F、V 2 0 3 E、Y 2 0 9 S、Y 2 0 9 N、Y 2 0 9 F、Y 2 0 9 T、Y 2 0 9 E、Y 2 0 9 H、Y 2 0 9 G、P 2 1 0 R、S 2 1 2 I、S 2 1 2 F、Y 2 1 4 F、A 2 1 5 N、A 2 1 5 D、A 2 1 5 E、L 2 1 7 E、L 2 1 7 N、T 2 2 4 A、A 2 3 0 E、A 2 3 1 I、Q 2 3 6 F、N 2 3 8 R、N 2 3 8 K、P 2 3 9 K、P 2 3 9 G、P 2 3 9 R、P 2 3 9 S、W 2 4 1 R、S 2 4 2 R、S 2 4 2 L、N 2 4 3 R、V 2 4 4 R、N 2 4 8 I、N 2 4 8 V、H 2 4 9 R、L 2 5 0 I、N 2 5 2 R、T 2 5 3 R、L 2 6 2 D、Y 2 6 3 F、S 2 6 5 F、L 2 6 7 V、L 2 6 7 N、N 2 6 9 I、N 2 6 9 R、E 2 7 1 F、E 2 7 1 I、E 2 7 1 H、E 2 7 1 P、E 2 7 1 T、E 2 7 1 V、E 2 7 1 L 及び A 2 7 2 F を含む群から選択される変異を合計で 3 含み、並びに、以下の変異：S 1 0 3 A、G 1 5 9 D、Q 2 3 6 H、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 D 及び N 2 5 2 K を 1 つ以上含んでもよく、好ましくは前記変異体は、前記変異を 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 又は 15 含み、以下の変異：S 1 0 3 A、G 1 5 9 D、Q 2 3 6 H、Q 2 4 5 R、N 2 4 8 D 及び N 2 5 2 K を 1 つ以上含んでもよい。

【0119】

一態様では、前記プロテアーゼは、配列番号 1 を有するサブチリシン G G 3 6 の変異体であり、変異を 1 つ以上含み、サブチリシン G G 3 6 の野生型と比較して -5、-4、-3、-2、-1 又は 0 の総実効電荷を有する前記変異体が開示される。

【0120】

一態様では、前記プロテアーゼ変異体は、低イオン強度プロテアーゼである。このような低イオン強度プロテアーゼは、配列番号 1 を有するサブチリシン G G 3 6 の変異体であり、前記変異体は、好ましくは前記に定義したような、変異を 1 つ以上含み、サブチリシン G G 3 6 の野生型と比較して -5、-4、-3、-2、-1 又は 0、好ましくは 0、-1、-2 又は 3 の、ゼロ又は負の総実装電荷を有する。したがって、本発明の好ましい態様に従って、このようなゼロ又は負の総実装電荷のプロテアーゼと、補助物質とを含む水性洗浄液中で布地を洗浄することを含む、布地の洗浄プロセスが提供され、前記洗浄液は、低イオン強度を有する。低イオン強度により、伝導度が約 0.1 mS/cm ~ 約 3 mS/cm、約 0.3 mS/cm ~ 約 2.5 mS/cm、又は更には約 0.5 mS/cm ~ 約 2 mS/cm である洗浄液が意味される。好ましくは、このようなプロテアーゼ変異体は、低濃度洗剤組成物で使用される。

【0121】

このプロテアーゼは好ましくは、

(a) 以下の変異：A 1 R、Q 2 S、V 4 R、V 4 S、S 9 A、R 1 0 S、P 1 4 K、A 1 6 S、T 2 2 A、T 2 2 R、S 2 4 R、G 2 5 V、V 2 6 F、L 4 2 I、P 5 2 F、P 5 2 E、P 5 2 N、N 6 2 E、N 6 2 Q、V 6 8 A、V 6 8 C、T 7 1 G、I 7 2 C、A 7 4 C、L 7 5 A、L 7 5 F、S 7 8 R、E 8 9 P、E 8 9 T、E 8 9 G、E 8 9 H、E 8 9 W、Y 9 1 N、K 9 4 N、G 1 0 0 S、S 1 0 1 A、S 1 0 1 N、S 1 0 1 G、S 1 0 1 D、S 1 0 3 G、S 1 0 3 N、V 1 0 4 L、V 1 0 4 I、A 1 0 8 I、L 1 1 1 V、E 1 1 2 V、G 1 1 5 K、N 1 1 7 F、V 1 2 1 F、S 1 2 8 D、S 1 2 8 F、S 1 2 8 L、S 1 2 8 N、P 1 2 9 E、L 1 4 8 I、A 1 5 8 E、G 1 5 9 E、S 1 6 0 D、S 1 6 6 D、N 1 8 5 E、R 1 8 6 H、S 1 8 8 E、S 1 8 8 D、V 2 0 3 E、Y 2 0 9 S、Y 2 0 9 N、Y 2 0 9 F、Y 2 0 9 T、Y 2 0 9 E、Y 2 0 9 H、Y 2 0 9 G、P 2 1 0 R、S 2 1 2 I、S 2 1 2 F、Y 2 1 4 F、A 2 1 5 N、A 2 1 5 D、A 2 1 5 E、L 2 1 7 E、L 2 1 7 N、T 2 2 4 A、A 2 3 0 E、A 2 3 1 I、Q 2 3 6 F、N 2 3 8 R、N 2 3 8 K、P 2 3 9 K、P 2 3 9 G、P 2 3 9 R、N 2 4 8 V、H 2 4 9 R、L 2 5 0 I、L 2 6 2 D、Y 2 6 3 F、S 2 6 5 F、L 2 6 7 V、L 2 6 7 N、N 2 6 9 I、N 2 6 9 R、E 2 7 1 F、E 2 7 1 I、E 2 7 1 H 及び A 2 7 2 F の 2 つ以上、並びに／あるいは

(b) 以下の変異の組：N062E-P129E、N062E-G159E、A016S-L148I、A158E-H249R、A016S-N062E、L111V-S188D、T022A-N062E、N062E-L148I、T022A-P129E、N062E-E271F、N062E-A158E、A016S-G159E、N062E-R186H、S128N-G159E、N062E-S188D、N062E-S128N、L148I-G159E、S103G-A158E、L111V-G159E、A158E-E271F、A016S-S188D、T022A-L111V、S128N-A158E、A016S-A158E、V104L-A158E、S128N-R186H、G159E-Y209E、N062E-S101A、L111V-Y209E、L148I-S188D、S101A-Y209E、T022A-S188D、A016S-T022A、S128N-P129E、A016S-Y209E、A016S-S128N、T022A-E089P、S128N-Y209E、E089P-A158E、N062E-S103G、R186H-E271F、A016S-P129E、E089P-G159E、L111V-H249R、S101A-P129E、L148I-Y209E、T022A-G159E、P129E-H249R、P129E-Y209E、V104L-P129E、S128N-S188D、L111V-A158E、T022A-A158E、N062E-Y209E、N062E-H249R、S101A-R186H、E089P-P129E、P129E-E271F、T22A-L111V-G159E、S101A-S103G-V104L-Y209E、S101A-S103G-V104L-G159E、S101A-S103G-V104L-S188D、S101G-S103A-V104I-G159D、T22A-S103G-G159E、T22A-S128N-E271F-Y209E、T22A-Y209E-E271F、T22A-S101A-Y209E、S101A-Y209E-E271F、T22A-L111V-S128N、T22A-S101A-G159E、S101A-S103G-V104L、T22A-S101A-S103G-V104L、S101A-S103G-V104L、S101G-S103A-V104I、S101A-S103G-V104L-S128N、S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D、N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G15

9D-A232V-Q245R-N248D、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D及びS101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271Fの1つ以上、から選択される変異を含む。

【0122】

一態様では、前記低イオン強度プロテアーゼは、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に希釈される洗剤組成物の部分を形成し、洗浄液の伝導度は、約0.1mS/cm～約3mS/cm、約0.3mS/cm～約2.5mS/cm、又は更には約0.5mS/cm～約2mS/cmである。

10

【0123】

一態様では、前記プロテアーゼは、高イオン強度プロテアーゼである。このような高いイオン強度プロテアーゼは、配列番号1を有するサブチリシンGG36の変異体であり、前記変異体は、好ましくは前記に定義したような、変異を2つ以上含み、サブチリシンGG36の野生型と比較して+5、+4、+3、+2、+1又は0の総実効電荷、好ましくは正の総実効電荷、最も好ましくは+1、+2又は+3の総実効電荷を有する。したがって、本発明の好ましい態様に従って、このようなゼロ又は正の総実装電荷のプロテアーゼと、補助物質とを含む水性洗浄液中で布地を洗浄することを含む、布地の洗浄プロセスが提供され、前記洗浄液は、高イオン強度を有する。高イオン強度により、伝導度が3mS/cm超～約30mS/cm、約3.5mS/cm～約20mS/cm、又は更には約4mS/cm～約10mS/cmである洗浄液が意味される。

20

【0124】

この実施形態では、プロテアーゼにおける変異は、好ましくは、

a) 以下の変異：V4R、H17R、N18R、G20R、T22R、S24R、S24W、G25R、N43R、N43A、G46R、P52F、P52N、T57R、Q59A、N62Q、T71G、L75R、N76D、S78R、L82R、P86W、E89P、E89W、E89T、E89I、E89H、E89V、V104L、S106V、S106G、G115R、G118I、V121F、S144R、N185I、D197F、Y209N、Y209S、L217E、A231I、P239R、P239S、W241R、S242R、S242L、N243R、V244R、N248I、H249R、N252R、T253R、E271T、E271V、E271L、E271H、E271F、E271P、A1R、S9A、S212F及びN269Rの2つ以上、並びに／あるいは

30

b) 以下の変異の組：T022R-S024R、S009A-E271L、N018R-W241R、N018R-G115R、N043R-H249R、G020R-H249R、V004R-H249R、G020R-S024R、N018R-H249R、S009A-G020R、G020R-W241R、S009A-S078R、G020R-G115R、N018R-S024R、S024R-S242R、T022R-G115R、N018R-N043R、G020R-N043R、N018R-S242R、S242R-N269R、N018R-V244R、S024R-N269R、G020R-E271L、S024R-E271L、V004R-S009A、G020R-N269R、A001R-S024R、V244R-E271L、S009A-N018R、W241R-E271L、V004R-S024R、S009A-H249R、S009A-T022R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F、S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R、S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K、S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245

40

50

R-N 2 4 8 D-N 2 5 2 K の 1 つ以上、から選択される。

【0125】

一態様では、前記高イオン強度プロテアーゼは、典型的には洗浄機内で、洗浄液を形成するために、水に希釈される洗剤組成物の部分を形成し、洗浄液の伝導度は、約 3 mS/cm 超～約 30 mS/cm、約 3.5 mS/cm～約 20 mS/cm、又は更には約 4 mS/cm～約 10 mS/cm である。

【0126】

プロテアーゼ変異体の電荷は、配列番号 1 のアミノ酸配列を有するサブチリシン GG36 の野生型と比較して表される。負電荷を 1 付与するアミノ酸は D 及び E であり、正電荷を 1 付与するアミノ酸は R、H 及び K である。電荷を変化させる配列番号 1 に対するアミノ酸変化を使用して、プロテアーゼ変異体の電荷を計算する。例えば、野生型の、電荷が中性である位置に負電荷変異を導入すると、-1 の実効電荷が冷水プロテアーゼ変異体に加えられる一方で、野生型の正電荷のアミノ酸残基 (R、H 又は K) に負電荷変異 (D 又は E) を導入すると、-2 の実効電荷が加えられることになる。配列番号 1 のアミノ酸配列を有するサブチリシン GG36 プロテアーゼの野生型とは異なっている、すべてのアミノ酸残基の電荷変化の合計から、プロテアーゼ変異体の電荷変化が与えられる。

【0127】

プロテアーゼの、低伝導度洗濯洗剤溶液で使用するのに好ましい電荷範囲は、-5、-4、-3、-2、-1、0 であり、特に -2、-1 である。

【0128】

プロテアーゼの、高伝導度洗濯洗剤溶液で使用するのに好ましい電荷範囲は、+5、+4、+3、+2、+1、0 であり、特に +2、+1 である。電荷を正確に選択することで、クリーニング性能のレベルを、予想を超えるほど改善することができる。

【0129】

「低伝導度溶液」は、約 0.1 mS/cm～約 3 mS/cm、約 0.3 mS/cm～約 2.5 mS/cm、又は更には約 0.5 mS/cm～約 2 mS/cm の伝導度を有するものとして定義される。

【0130】

「高伝導度溶液」は、約 3 mS/cm～約 30 mS/cm、約 3.5 mS/cm～約 20 mS/cm、又は更には約 4 mS/cm～約 10 mS/cm の伝導度を有するものとして定義される。

【0131】

冷水プロテアーゼの製造方法

本発明の改変ポリヌクレオチドを生成するのに好適な様々な方法が当該技術分野において既知であり、限定するものではないが、例えば、部分飽和変異、系統の変異導入法、挿入変異、欠失変異、ランダム変異、部位特異的変異導入、及び定向進化、並びに様々な他の組み換え手法が挙げられる。一般に使用される方法としては、DNA シャフリング (Stemmer, Proc Natl Acad Sci U S A. 25:10747～51 [1994] を参照されたい)、遺伝子の非相同組み換えに基づく方法 (例えば、ITCHY (Ostermeier et al., Bioorg Med Chem. 7:2139～44 [1999])、SCRATCHY (Lutz et al. Proc Natl Acad Sci USA. 98:11248～53 [2001])、SHIPREC (Sieber et al., Nat Biotechnol., 19:456～60 [2001]) 及び NRR (Bittker et al., Nat Biotechnol., 20:1024～9 [2001]; Bittker et al., Proc Natl Acad Sci. USA. 101:7011～6 [2004])、並びに、ランダム及び標的変異、ランダム及び標的欠失並びに／又はランダム及び標的挿入を導入するためにオリゴヌクレオチドの使用に頼る方法 (Ness et al., Nat Biotechnol. 20:1251～5 [2002]; Coco et al., Nat Biotechnol., 20:1246～50 [2002]; Zh

a et al., Chembiochem. 3:34~9 [2003], Glaser et al., J Immunol., 149:3903~13 [1992], Sondek and Shortle, Proc Natl Acad Sci USA 89:3581~5 [1992], Ymmez et al., Nucleic Acids Res., 32:e158 [2004], Osuna et al., Nucleic Acids Res., 32:e136 [2004], Gaytn et al., Nucleic Acids Res., 29:E9 [2001] 及び Gayt 矣 n et al., Nucleic Acids Res., 30:e84 [2002]) が挙げられる。

【0132】

一実施形態では、完全長の親ポリヌクレオチドを適切な発現プラスミド中にライゲーションし、以降の変異導入方法を用いることで本発明の改変プロテアーゼの作成が促進されるが、他の方法を使用することもできる。方法は、Pisarchik et al. により記載される方法 (Pisarchik et al., Prot. Eng. Des. Select. 20:257~265 [2007]) に基づくものである。一部の実施形態では、認識配列の外側を本明細書で使用される制限酵素が切断すると、任意のヌクレオチド配列を実際に消化することが可能になり、制限部位の損壊が防止されるなどの更なる利点が提供される。まず、本明細書に記載のように、完全長プロテアーゼをコードしている天然に生じた遺伝子を手に入れ、配列決定し、1つ以上のアミノ酸にて変異 (欠失、挿入、置換又はこれらの組み合わせ) を作るのが所望される1つ以上の部位についてスキャンする。配列を変化させて所望の配列と一致させるための遺伝子変異は、概して既知の方法を踏まえるプライマー伸長法により実施される。Eam1104I 制限部位を含ませて、変異の所望される部位の左側及び右側に向かうフラグメントをPCRにより増幅する。左側及び右側フラグメントをEam1104Iで消化し、相補的な3塩基が突出した複数のフラグメントを生成し、次いでこれらのフラグメントをプールし、ライゲーションして、1つ以上の変異を含有している改変配列のライブラリを作成する。この方法は、フレームシフト変異の発生を避けるものである。加えて、すべてのオリゴヌクレオチドが同じ制限部位を有するように合成することができることから、並びに、一部の他の方法では必要とされる、制限部位を生成するための合成リンカーが必要とされないことから、この方法は変異導入プロセスを単純なものにする。

【0133】

冷水プロテアーゼを製造するために使用される方法の非限定的な組は、実施例31~43に与えられる。

【0134】

適切な布地色調剤

蛍光増白剤は、少なくとも何らかの可視光線を放出する。対照的に布地色調剤は、可視光線スペクトルの少なくとも一部を吸収するため、表面の色合いを変えることができる。適切な布地色調剤としては、本明細書の試験方法の項に記載の試験方法1の要件を満たす染料、染料-粘土結合体、及び顔料が挙げられる。適切な染料としては、小分子染料及びポリマー染料が挙げられる。好適な小分子染料としては、色指数分類 (Colour Index (C. I.)) において、ダイレクト・ブルー、ダイレクト・レッド、ダイレクト・バイオレット、アシッド・ブルー、アシッド・レッド、アシッド・バイオレット、ベーシック・ブルー、ベーシック・バイオレット及びベーシック・レッド、又はこれらの混合物に該当する染料からなる群から選択される染料が挙げられる。

【0135】

色調染料は、布地の白さの認識を改善するために、洗浄液から布地上に付着するように配合される。一態様では、色調剤染料は、青又は紫である。一態様では、シェーディング染料は、550nm~650nm、又は一態様では570nm~630nmのピーク吸収波長を有し得る。単一染料がポリエステルに対して550nm~650nm、又は570nm~630nmのピーク吸収波長を有するように、染料の組み合わせは、一緒になって

、ヒトの目への視覚的効果を有する。これは、例えば、赤と緑－青の染料とを混合して、青又は紫の色合いを生じさせることにより、提供され得る。

【0136】

染料は、界面活性剤を含有する水性媒体に可溶性である有色有機分子である。染料は、'Industrial Dyes', Wiley VCH 2002, K. Hunger (editor)に記載されている。染料は、英国染料染色学会(Society of Dyers and Colourists)及び米国繊維化学技術・染色技術協会(the American Association of Textile Chemists and Colorists)により公開されているColor Index Internationalに列挙されている。染料は典型的には、塩基性、酸性、疎水性、直接及び高分子染料、並びに染料結合体の部類から選択される。洗剤配合の業者であれば、これらの公開データから好適な色調染料を選択することができる。高分子色調染料は、例えば、Milliken (Spartanburg, South Carolina, USA)から市販されている。

10

【0137】

好適な染料の例は、ダイレクトバイオレット7、ダイレクトバイオレット9、ダイレクトバイオレット11、ダイレクトバイオレット26、ダイレクトバイオレット31、ダイレクトバイオレット35、ダイレクトバイオレット40、ダイレクトバイオレット41、ダイレクトバイオレット51、ダイレクトバイオレット66、ダイレクトバイオレット99、アシッドバイオレット50、アシッドブルー9、アシッドバイオレット17、アシッドブラック1、アシッドレッド17、アシッドブルー29、ソルベントバイオレット13、ディスパースバイオレット27、ディスパースバイオレット26、ディスパースバイオレット28、ディスパースバイオレット63及びディスパースバイオレット77、ベーシックブルー16、ベーシックブルー65、ベーシックブルー66、ベーシックブルー67、ベーシックブルー71、ベーシックブルー159、ベーシックバイオレット19、ベーシックバイオレット35、ベーシックバイオレット38、ベーシックバイオレット48；ベーシックブルー3、ベーシックブルー75、ベーシックブルー95、ベーシックブルー122、ベーシックブルー124、ベーシックブルー141、チアゾリウム染料、リアクティブブルー19、リアクティブブルー163、リアクティブブルー182、リアクティブブルー96、Liquitint (登録商標) Violet CT (Milliken (Spartanburg, USA))及びアゾ－CM－セルロース(Megazyme (Bray, Republic of Ireland))である。

20

30

【0138】

上述の布地色調剤は、組み合わせて使用することができる(布地色調剤の任意の混合物を使用することができる)。適切な布地色調剤は、Aldrich (Milwaukee, Wisconsin, USA)、Ciba Specialty Chemicals (Basel, Switzerland)、BASF (Ludwigshafen, Germany)、Dayglo Color Corporation (Mumbai, India)、Organic Dyestuffs Corp. (East Providence, Rhode Island, USA)、Dystar (Frankfurt, Germany)、Lanxess (Leverkusen, Germany)、Megazyme (Wicklow, Ireland)、Clariant (Muttens, Switzerland)、Avecia (Manchester, UK)から購入可能であり、及び／又は本明細書に記載の実施例に従って調製可能である。

40

【0139】

更に好適な色調剤は、米国特許第7,208,459(B2)号により詳細に記載されている。

【0140】

封入

前記消費者製品の一態様では、前記消費者製品は、消費者製品の合計重量に基づいて、前記香料を含む封入体を約0.001重量%～約5重量%、約0.01重量%～約2重量

50

％、又は更には約0.03重量％～約0.5重量％含んでもよく、一態様では前記香料封入体は、香料カプセルを含む。好適な封入体は、典型的には、コアと、内側表面と外側表面を有するシェルと、を含み、前記シェルは前記コアを封入する。このカプセルの一態様では、このコアは、香料、増白剤、染料、防虫剤、シリコーン、ワックス、香味料、ビタミン、布地用柔軟剤、スキンケア剤、一態様ではパラフィン、酵素、抗菌剤、漂白剤、感覚剤、及びこれらの混合物なる群から選択された材料を含むことができ、並びにこのシェルはポリエチレン、ポリアミド、ポリスチレン、ポリイソプレン、ポリカーボネート、ポリエステル、ポリアクリレート、アミノ樹脂、一態様では、アミノ樹脂は、ポリウレア、ポリウレタン、及び／又はポリウレアウレエタン（一態様では、ポリウレアにはポリオキシメチレンウレアを含み得る）、及び／又はメラミンホルムアルデヒドを含み得る、ポリオレフィン、多糖、一態様では、多糖にはアルギネート及び／又はキトサンを含み得る、ゼラチン、セラック、エポキシ樹脂、ビニルポリマー、水溶性無機物、シリコーン、及びこれらの混合物からなる群から選択された材料を含むことができる。

10

【0141】

このカプセルの一態様では、このコアは香料を含んでよい。

【0142】

このカプセルの一態様では、このシェルはメラミンホルムアルデヒド、及び／又は架橋したメラミンホルムアルデヒドを含んでよい。

【0143】

一態様では、コア材料及びシェルを含むことができ、このシェルがこのコア材料を少なくとも部分的に取り囲む、好適なカプセルが開示される。このカプセルの少なくとも75％、85％、又は更には90％は、約0.2MPa～約10MPa、約0.4MPa～約5MPa、約0.6MPa～約3.5MPa、又は更には約0.7MPa～約3MPaの破壊強度、並びに0％～約30％、0％～約20％、又は更には0％～約5％の有益剤漏出率を有し得る。

20

【0144】

一態様では、このカプセルの少なくとも75％、85％、又は更には90％は、約1マイクロメートル～約80マイクロメートル、約5マイクロメートル～60マイクロメートル、約10マイクロメートル～約50マイクロメートル、又は更には約15マイクロメートル～約40マイクロメートルの粒径を有し得る。

30

【0145】

一態様では、このカプセルの少なくとも75％、85％、又は更には90％は、約30nm～約250nm、約80nm～約180nm、又は更には約100nm～約160nmの粒子壁厚を有し得る。

【0146】

一態様では、このカプセルのコア材料は、香料原料、並びに／又はヒマシ油（caster oil）、ココナッツ油、綿実油、ブドウ油、菜種、大豆油、コーン油、パーム油、亜麻仁油、ベニバナ油、オリーブ油、ピーナッツ油、ココナッツ油、パーム核油、ヒマシ油（castor oil）、レモン油及びこれらの混合物などの、純粋植物油又はブレンドされた植物油などの、植物油、植物油のエステル、ジブチルアジパート、ジブチルフタレート、ブチルベンジルアジパート、ベンジルオクチルアジパート、トリクレシルホスフェート、トリオクチルホスフェート及びこれらの混合物などのエステル、約80℃を超える沸点を有する直鎖若しくは分枝鎖炭化水素などの、直鎖若しくは分枝鎖炭化水素、部分水素化テルフェニル、ジアルキルフタレート、モノイソプロピルビフェニルなどのアルキルビフェニル、ジプロピルナフタレンなどのアルキル化ナフタレン、ケロシンなどの石油スピリット、鉱油及びこれらの混合物、ベンゼン、トルエン及びこれらの混合物などの芳香族溶媒、シリコーン油、並びにこれらの混合物からなる群から選択される材料からなる群から選択される材料を含んでもよい。

40

【0147】

一態様では、このカプセルの壁材料は、アルデヒドとアミンの反応生成物などの好適な

50

樹脂を含んでもよく、好適なアルデヒドとしてはホルムアルデヒドが挙げられる。好適なアミンとしては、メラミン、尿素、ベンゾグアナミン、グリコールウリル、及びこれらの混合物が挙げられる。好適なメラミンとしては、メチロールメラミン、メチル化メチロールメラミン、イミノメラミン及びこれらの混合物が挙げられる。好適な尿素としては、ジメチロール尿素、メチル化ジメチロール尿素、尿素－レゾルシノール、及びこれらの混合物が挙げられる。

【0148】

一態様では、好適なホルムアルデヒドスカベンジャーは、封入体（例えばカプセルスラリー）と共に採用することができ、及び／又は、封入体をこのような消費者製品に加える前に、加えるときに、加えた後に選択することができる。

10

【0149】

好適なカプセル剤は、米国特許第2008/0305982(A1)号、及び／又は同第2009/0247449(A1)号の教示に従うことにより、製造することができる。あるいは、好適なカプセル剤は、Appleton Papers Inc. (Appleton, Wisconsin USA) から購入することもできる。

【0150】

加えて、前記封入体を製造するための材料は、Solutia Inc. (St Louis, Missouri U. S. A.)、Cytec Industries (West Paterson, New Jersey U. S. A.)、Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri U. S. A.)、CP Kelco Corp (San Diego, California, USA)、BASF AG (Ludwigshafen, Germany)、Rhodia Corp. (Cranbury, New Jersey, USA)、Hercules Corp. (Wilmington, Delaware, USA)、Agrum Inc. (Calgary, Alberta, Canada)、ISP (New Jersey U. S. A.)、Akzo Nobel (Chicago, IL, USA)、Stroever Shellac Bremen (Bremen, Germany)、Dow Chemical Company (Midland, MI, USA)、Bayer AG (Leverkusen, Germany)、Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, Missouri, USA.) から入手することができる。

20

30

【0151】

親プロテアーゼの変異体の製造方法

プロテアーゼを製造するために使用される方法の非限定的な組は、実施例31～43に与えられる。

【0152】

プロテアーゼのアミノ酸番号、酵素命名法及び追加定義

本特許で使用されるアミノ酸位置の番号は、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンのBPN'番号付けシステムである。各プロテアーゼ変異体が挙げられる各プロテアーゼ変異体の各アミノ酸位置は、プロテアーゼ変異体のアミノ酸配列を図1に示されるバチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列とアライメントすることにより決定される、バチルス・アミロリケファシエンスのサブチリシンBPN'のアミノ酸配列中の対応するアミノ酸位置の番号に従い番号付けされる。

40

【0153】

別の番号付けスキームは、配列番号1のアミノ酸配列を有する、バチルス・レントスのサブチリシンGG36プロテアーゼの特定のアミノ酸配列を番号付けするものである。本明細書に記載の、プロテアーゼ変異体が挙げられるプロテアーゼ変異体のアミノ酸位置に、この別の番号付けスキームを用いて番号付けされたものはない。

【0154】

本明細書においてプロテアーゼ変異体を説明する際、参照し易くするために以下の命名法、元のアミノ酸、位置、置換したアミノ酸、が使用される。

50

【0155】

変異体は、親アミノ酸の1文字コード、続いて3桁の数字による位置番号、次に変異アミノ酸の1文字コードにより名付けられる。例えば、位置87でグリシン（G）がセリン（S）に置き換わる変異が生じている場合、「G087S」又は「G87S」と表される。複数の変異は、「-」を変異の間に挿入することで示される。位置87及び90における変異は、「G087S-A090Y」又は「G87S-A90Y」又は「G87S+A90Y」又は「G087S+A090Y」のいずれかで表される。欠失に関しては、1文字コード「Z」が使用される。親配列に対する挿入に関し、「Z」は位置番号の左側に存在する。欠失に関し、1文字コード「Z」は、位置番号の右側に存在する。挿入に関し、位置番号は、アミノ酸を挿入する前のものであり、各アミノ酸に対し0.01が加えられる。例えば、3つのアミノ酸；アラニン（A）、セリン（S）、及びチロシン（Y）が、位置87及び88の間に挿入された場合、「Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y.」と記される。したがって、前記のすべての変異に加え、位置100での欠失を組み合わせると：「G087S-Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y-A090Y-A100Z」になる。

10

【0156】

すべての場合において、一般に認められたIUPACの一文字又は三文字アミノ酸略記を採用する。単独の文字Xは、20のアミノ酸のいずれかを指す。

【0157】

アミノ酸配列又は核酸配列に関して、用語「野生型」は、アミノ酸配列又は核酸配列がネイティブであるか、又は天然に生じた配列であることを意味する。本明細書で使用する時、用語「天然に生じた」は、自然に見出される（すなわち、組み換え法により操作を受けていない）任意のものを指す（例えば、タンパク質、アミノ酸、又は核酸配列）。本明細書で使用する時、用語「天然に生じたものではない」は、自然界に見出すことのない任意のものを指す（例えば、研究室で製造される組み換え核酸）。

20

【0158】

本明細書でアミノ酸残基の位置に関して使用するとき、用語「対応する（「corresponding to」又は「corresponds to」又は「corresponds」）」は、タンパク質又はペプチド中の数え上げられた位置のアミノ酸残基、あるいはタンパク質又はペプチド中の数え上げられた残基に対して類似、相同、又は等価であるアミノ酸残基を指す。本明細書で使用する時、用語「対応する領域」は、概して、関連するタンパク質又は参照タンパク質に従っての類似の位置を指す。

30

【0159】

用語「から誘導される」及び「から得られる」は、対象とする生物株により産生されるあるいは産生され得るプロテアーゼだけでなく、このような株から単離されるDNA配列によりコードされるプロテアーゼ、及びこのようなDNA配列を含有している宿主生物で産生されるプロテアーゼも指す。更にこれらの用語は、合成DNA配列及び／又はcDNA由来のDNA配列によりコードされ、かつ対象とするプロテアーゼと同一の特徴を有する、プロテアーゼを指す。例示すると、「バチルスから誘導されるプロテアーゼ」は、バチルスにより天然に産生された、タンパク質分解活性を有する酵素、並びにバチルス供給源により産生されるが、遺伝子工学技術の使用を介して、セリンプロテアーゼをコードしている核酸でバチルスではない生命体を形質転換することにより産生される、セリンプロテアーゼ様の酵素を指す。

40

【0160】

2つの核酸又はポリペプチド配列の文脈において、用語「同一」は、以下の配列比較又は解析アルゴリズムのうちの1つを用いて評価する際に、最も一致するようにアライメントしたときに、2つの配列中の残基が同じのものであることを指す。

【0161】

本明細書で使用する時、用語「相同の遺伝子」は、互いに対応し、かつ同一であるか又は互いに非常に類似している、異なるが通常は関連する種由来の遺伝子のペアを指す。

50

用語は、種分化（すなわち、新種の発生）により分離される遺伝子（例えば、オルソログス遺伝子）、並びに遺伝子複製により分離されている遺伝子（例えば、パラログス遺伝子）を包含する。

【0162】

用語、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの「成熟」形態は、シグナルペプチド配列及びプロペプチド配列を含まない、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの機能形態を指す。

【0163】

本明細書で使用する時、用語「相同性」は、配列の類似性又は同一性を指し、同一性を指す方が好ましい。相同性は、当該技術分野において既知の標準的な技術を用いて判定することができる（例えば、Smith及びWaterman、Adv. Appl. Math. 2:482 [1981]；Needleman及びWunsch、J. Mol. Biol. 48:443 [1970]；Pearson及びLipman、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 [1988]；Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, Madison, WI) のGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTAなどのソフトウェアプログラム；並びにDevereuxら、Nucleic Acid Res. 12:387~395 [1984] を参照されたい）。有用なアルゴリズムの一例はPILEUPである。PILEUPは、累進ペアワイズアライメントを用いて、関連する配列群から複数の配列アライメントを作成する。このアルゴリズムは、アライメントを作成するために使用されるクラスタの関係性を示す、樹形図をプロットすることもできる。PILEUPは、Feng及びDoolittleの累進アライメント法を単純化したものを使用する（Feng及びDoolittle、J. Mol. Evol. 35:351~360 [1987] を参照されたい）。この方法は、Higgins及びSharpにより記載されるものと類似のものである（Higgins及びSharp、CABIOS 5:151~153 [1989] を参照されたい）。有用なPILEUPパラメーターは、デフォルトのギャップ・ウェイト：3.00、デフォルトのギャップ長・ウェイト：0.10、及びエンド・ギャップのウェイト化を含む。有用なアルゴリズムの他の例は、Altschul et al. により記載されるBLASTアルゴリズムである（Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403~410 [1990]；並びにKarlin and Altschul、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873~5787 [1993] を参照されたい）。特に有用なBLASTプログラムはWU-BLAST-2プログラムである（Altschul et al., Meth. Enzymol. 266:460~480 [1996] を参照されたい）。WU-BLAST-2は、いくつかの検索パラメーターを用いる。このパラメーターのほとんどにデフォルト値を設定する。調節可能なパラメーターは、以下の値に設定する：overlap span=1、overlap fraction=0.125、word threshold (T)=11。HSP S及びHSP S2パラメーターは、動的な値であり、検索される対象となる配列に対し、特定のデータベースの特定の配列及び組成物の組成に基づきプログラム自体によって制定される。しかしながら、値は感度が上昇するよう調整することができる。

【0164】

参照配列と対象とする試験配列との配列同一率は、当業者により用意に判定することができる。ポリヌクレオチド又はポリペプチド配列により共有される同一率は、配列をアライメントし、当該技術分野において既知の方法により同一性を判定することによって分子間での配列情報を直接比較することにより、判定される。配列類似性を判定するのに好適なアルゴリズムの一例は、BLASTアルゴリズムである（Altschul et al., J. Mol. Biol., 215:403~410 [1990] を参照されたい）。BLAST解析を実行するためのソフトウェアは、米国国立生物工学情報センター（the National Center for Biotechnology Information）により公開されている。このアル

10

20

30

40

50

ゴリズムは、まず始めに、データベース配列中の同じ長さのワードとアライメントさせた場合に、クエリー配列中の、何らかの正に値付けされた閾値スコア T と一致するか又は基準を満たす長さ W の短い配列を同定することで、H S P (high scoring sequence pairs) を同定することを包含する。これらの最初に隣接するワードは、ヒットすると、それらのワードを含有しているより長いH S Pを発見するための開始点として機能する。ワードのヒットは、累積アライメントスコアが増加し得る限り、比較される2つの配列の各々の両方向に向かって進められる。ヒットするワードの延長は、累積アライメントスコアが、得られる最大の値から、数量 X だけ落ち込んだ場合、累積スコアが0以下になった場合、又はいずれかの配列が末端に達した場合に停止される。B L A S Tアルゴリズムパラメーター W 、 T 、及び X は、アライメントの感度及び速度を決定する。B L A S Tプログラムは、ワード長 (W) 11、B L O S U M 62スコア行列 (Henikoff及びHenikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 [1992] を参照されたい) : アライメント (B) 50、期待値 (E) 10、 $M' 5$ 、 $N' -4$ 、及び両方のストランドの比較をデフォルトとして使用する。

【0165】

次いで、B L A S Tアルゴリズムは、類似する2つの配列間の統計解析を実行する（例えば、上掲Karlin及びAltschulを参照されたい）。B L A S Tアルゴリズムにより提供される類似性の測定法のうちの1つは、偶然に生じ得る2つのヌクレオチド又はアミノ酸配列間の一致による見込みを識別する、最小合計類似度 (smallest sum probability) ($P(N)$) である。例えば、試験核酸をセリンプロテアーゼの核酸と比較した際の最小合計類似度が、約0.1未満、より好ましくは約0.01未満、及び最も好ましくは約0.001未満である場合、核酸は本発明のセリンプロテアーゼ核酸と類似していると考えられる。セリンプロテアーゼポリペプチドをコードしている試験核酸は、最小合計類似度の比較結果が約0.5未満、及びより好ましくは約0.2未満である場合に、特定のセリンプロテアーゼ核酸と類似していると考えられる。

【0166】

2つ以上の核酸又はポリペプチド配列についての文脈において、「同一率 (percent identical or percent identity)」は、2つ以上の配列を最も一致するように比較及びアライメントし、配列比較アルゴリズムを用いて又は目視検査を用いて判定したときに、2つ以上の配列が、同一であるか、あるいは核酸残基又はアミノ酸残基と、表記される割合で同一であることを指すものである。参照（すなわち、クエリー）アミノ酸配列に対する、対象とするアミノ酸配列の、「配列同一率」又は「同一率 (%)」又は「配列同一率 (%)」又は「アミノ酸配列同一率」は、対象とするアミノ酸配列が、配列を最適にアライメントした際の比較長さにわたってクエリーアミノ酸配列に対して表記される割合（すなわち、アミノ酸とアミノ酸を並べたときの同一度）だけ同一であることを意味する。したがって、2つのアミノ酸配列に対するアミノ酸配列同一率80%又は同一率80%は、最適にアライメントした2つのアミノ酸配列中のアミノ酸残基のうち80%が同一であることを意味する。

【0167】

参照（すなわち、クエリー）核酸配列に対する、対象とする核酸配列の、「配列同一率」又は「同一率 (%)」又は「配列同一率 (%)」又は「核酸配列同一率 (%)」は、対象とする核酸配列が、配列を最適にアライメントした際の比較長さにわたってクエリー配列に対して表記される割合（すなわち、ヌクレオチドとヌクレオチドを並べたときの同一度）だけ同一であることを意味する。したがって、2つの核酸配列に対するヌクレオチド配列同一率80%又は同一率80%は、最適にアライメントした2つの核酸配列中のヌクレオチド残基のうち80%が同一であることを意味する。

【0168】

一部の実施形態では、クエリー配列に対する対象とする配列の「配列同一率又は配列同一率 (%)」、又は「同一率 (%)」は、2つの配列を最適にアライメントし、比較長さにわたって、2つの最適にアライメントした配列を比較することで、算出することができ

る。最適なアライメントにおいて、両方の配列の残基が一致している位置の数は、一致する位置の数を求め、一致する位置の数を比較長さ（別途記載のない限り、クエリー配列の長さである）のうちの位置の合計数で除することで決定される。得られる数に100を乗じることで、クエリー配列に対する対象とする配列の配列同一率を算出する。

【0169】

「最適なアライメント」又は「最適にアライメントされた」は、最も高い同一率のスコアを与える、2つ（又は2つ以上）の配列のアライメントを指す。例えば、2つのタンパク質配列の最適なアライメントは、各配列中の同一のアミノ酸残基が最多数アライメントされるように、配列を手動でアライメントさせることで、あるいはソフトウェアプログラム又は本明細書に記載の若しくは当該技術分野において既知の手順を用いることで、達成することができる。例えば、2つの核酸配列の最適なアライメントは、各配列中の同一のヌクレオチド残基が最多数アライメントされるように、配列を手動でアライメントさせることで、あるいはソフトウェアプログラム又は本明細書に記載の若しくは当該技術分野において既知の手順を用いることで、達成することができる。

【0170】

一部の実施形態では、2つのポリペプチド配列は、配列対に関し可能性のある最も高い類似性スコアが得られるように、定義されたアミノ酸置換行列、ギャップ開始ペナルティ（ギャップオープンペナルティとも呼ばれる）、及びギャップ伸長ペナルティなどの定義されたパラメーターを用いてアライメントされたときに、「最適にアライメントされた」と見なされる。BLOSUM62スコア行列（上掲のHenikoff及びHenikoffを参照されたい）は、多くの場合、ポリペプチド配列アライメントアルゴリズム（例えば、BLASTP）でデフォルトのスコア置換行列として使用される。アライメントされた配列のうちの一方に導入された単独のアミノ酸ギャップに対し、ギャップ開始ペナルティが課せられ、ギャップの各残基位置に対しギャップ伸長ペナルティが課せられる。採用される例示的なアライメントパラメーターは：BLOSUM62スコア行列、ギャップ開始ペナルティ=11、及びギャップ伸長ペナルティ=1である。アライメントスコアは、アラインメントが開始及び終了する（例えば、アライメント・ウインドウ）各配列のアミノ酸位置によって、及び、最も高い類似性スコアが得られるように、配列の他方又は両方に1つ以上のギャップを挿入することによっても、決定される。

【0171】

2つ以上の配列間の最適なアライメントは、目視検査により手動で、又は限定するものではないが、例えば、アミノ酸配列用のBLASTPプログラム、及び核酸配列用のBLASTNプログラムなどのように、コンピュータを用いることで決定することができる（例えば、Altschulら、Nucleic Acids Res. 25（17）：3389～3402（1997）を参照されたい；the National Center for Biotechnology Information（NCBI）websiteも参照されたい）。

【0172】

免疫当量ではない酵素、及び／又は追加の酵素

消費者製品は、洗浄性能及び／又は布地ケア効果を提供する1つ以上の酵素を含むことができる。好適な酵素の例としては、ヘミセルラーゼ、ペルオキシダーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼ、エステラーゼ、クチナーゼ、ペクチナーゼ、マンナーゼ、ペクテートリアーゼ、ケラチナーゼ、レダクターゼ、オキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ、リグニナーゼ、プルナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、マラーゼ、 β -グルカナーゼ、アラビノシダーゼ、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、ラッカーゼ及びアミラーゼ、又はこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。典型的な組み合わせは、例えば、プロテアーゼ及びリパーゼをアミラーゼとともに含んでよい酵素反応混液である。前記追加の酵素は、消費者製品中に存在する場合、消費者製品の約0.00001重量%～約2重量%、約0.0001重量%～約1重量%、又は更には約0.001重量%～約0.5重量%の酵素タ

ンパク質の濃度で存在してよい。

【0173】

一態様では、好適な酵素としては、プロテアーゼが挙げられる。好適なプロテアーゼとしては、メタロプロテアーゼ及びセリンプロテアーゼが挙げられ、後者にはサブチリシン（EC 3. 4. 21. 62）などの、中性又はアルカリ性微生物セリンプロテアーゼが挙げられる。好適なプロテアーゼとしては、動物、植物、又は微生物起源のものが挙げられる。一態様では、そのような好適なプロテアーゼは、微生物起源のものとすることができる。好適なプロテアーゼとしては、前述の好適なプロテアーゼの化学修飾又は遺伝子組み換えの突然変異体が挙げられる。一態様では、好適なプロテアーゼは、アルカリ性微生物プロテアーゼ又は／及びトリプシン型プロテアーゼなどのセリンプロテアーゼであり得る。好適な中性又はアルカリ性プロテアーゼの例としては、以下のものが挙げられる：

10

(a) 米国特許第6, 312, 936 (B1)号、同第5, 679, 630号、同第4, 760, 025号、同第7, 262, 042号及び国際公開第09/021867号に記載のバチルス・レンタス、B. アルカロフィルス (B. alkalophilus)、枯草菌、B. アミロリケファシエンス、バチルス・プミルス及びバチルス・ギブソニィなどのバチルスから誘導されたものなどのサブチリシン（EC 3. 4. 21. 62）。

【0174】

(b) 米国特許第5288627号に記載のフザリウムプロテアーゼ、米国特許出願公開第2008/0063774 (A1)号に記載のセルロモナスから誘導されたキモトリプシンプロテアーゼが挙げられる、トリプシン（例えばブタ又はウシ由来）などのトリプシン型又はキモトリプシン型プロテアーゼ。

20

【0175】

(c) 米国特許出願公開第2008/0293610 (A1)号に記載のバチルス・アミロリケファシエンスから誘導されたものなどのメタロプロテアーゼ。

【0176】

好適なプロテアーゼとしては、バチルス・ギブソニィ又はバチルス・レンタスから誘導されたものが挙げられる。

【0177】

好適な市販のプロテアーゼとしては、Novozymes A/S (Denmark) により商品名Alcalase (登録商標)、Savinase (登録商標)、Primase (登録商標)、Durazym (登録商標)、Polarzyme (登録商標)、Kannase (登録商標)、Liquanase (登録商標)、Liquanase Ultra (登録商標)、Savinase Ultra (登録商標)、Ovozyme (登録商標)、Neutrase (登録商標)、Everlase (登録商標) 及びEsperase (登録商標) で販売されているもの、Genencor International により商品名Maxatase (登録商標)、Maxacal (登録商標)、Maxapem (登録商標)、Properase (登録商標)、Purafect (登録商標)、Purafect Prime (登録商標)、Purafect Ox (登録商標)、FN3 (登録商標)、FN4 (登録商標)、Excellase (登録商標) 及びPurafect OXP (登録商標) で販売されているもの、Solvay Enzymes により商品名Opticlean (登録商標) 及びOptimase (登録商標) 販売されているもの、Henkel/Kemira から入手可能なもの、すなわち、すべてHenkel/Kemira からの、BLAP (以下の変異S99D+S101R+S103A+V104I+G159Sを有する米国特許第5, 352, 604号の図29に示される以降BLAPとして参照する)、BLAP R (S3T+V4I+V199M+V205I+L217Dを有するBLAP)、BLAP X (S3T+V4I+V205Iを有するBLAP) 及びBLAP F49 (S3T+V4I+A194P+V199M+V205I+L217Dを有するBLAP)、並びに、花王からのKAP (変異A230V+S256G+S259Nを有するバチルス・アルカロフィルスのサブチリシン) が挙げられる。

30

40

50

【0178】

一態様では、消費者製品は、本発明のプロテアーゼに対して免疫当量ではないプロテアーゼを含み得る。本発明の目的に関し、免疫的当量のプロテアーゼはBPN'と同一性の高いものであり(>80%)、かつ同じ抗体で交差反応し得るものである。好適な、免疫当量ではない酵素としては、*Bacillus Lentus*、*Bacillus gibsonii*から誘導されるもの、及びサブチリシンから誘導されるメタロプロテアーゼが挙げられる。

【0179】

好適なアルファアミラーゼとしては、細菌又は真菌由来のものが挙げられる。化学的又は遺伝子学的に改変された変異型(変異体)が含まれる。好適なアルカリ性アミラーゼは、バチルス・リケニフォルミス、バチルス・アミロリケファシエンス、バチルス・ステアロテルモフィルス(即ち*acillus stearothermophilus*)、バチルス・ズブチルス、あるいは、バチルス種NCIB 12289、NCIB 12512、NCIB 12513、DSM 9375(米国特許第7,153,818号)、DSM 12368、DSMZ no. 12649、KSM AP1378(米国特許第6,979,731号)、KSM K36又はKSM K38(米国特許第6,916,645号)などの他のバチルス種の株から誘導され得る。好適なアミラーゼとしては次のものが挙げられる。

【0180】

(a) 国際公開第94/02597号、米国特許第6,297,037号、同第7,378,264号及び同第5,763,385号に記載の変異体、特に、米国特許第7,378,264号に配列番号2として列挙されている酵素に対して、以下の位置:15、23、105、106、124、128、133、154、156、181、188、190、197、202、208、209、243、264、304、305、391、408及び444の1つ以上で置換を有する変異体。

【0181】

(b) 米国特許第5,856,164号及び同第6,673,589号、同第6,093,562号、同第6,187,576号及び米国特許出願公開第2008/0193999(A1)号に記載の変異体、特に、米国特許出願公開第2008/0193999(A1)号に配列番号12として列挙されているAA560酵素に対して、以下の位置:

26、30、33、82、37、106、118、128、133、149、150、160、178、182、186、193、203、214、231、256、257、258、269、270、272、283、295、296、298、299、303、304、305、311、314、315、318、319、339、345、361、378、383、419、421、437、441、444、445、446、447、450、461、471、482、484の1つ以上で置換を有する変異体であって、好ましくはD183*及びG184*の欠損を含有する変異体。

【0182】

(c) 米国特許出願公開第2008/0193999(A1)号における配列番号4(バチルスSP722からの野生型酵素)と少なくとも90%の同一性を呈する変異体、特に位置183及び184で欠損を有する変異体、並びに、本明細書に参照により組み込まれる米国特許第6,187,576号に記載の変異体。

【0183】

(d) バチルス種707(米国特許第6,093,562号の配列番号7)からの野生型酵素と少なくとも95%の同一性を呈する変異体、特に以下の変異M202、M208、S255、R172及び/又はM261を1つ以上含むもの。一態様では、前記アミラーゼは、M202L、M202V、M202S、M202T、M202I、M202Q、M202W、S255N及び/又はR172Qの1つ以上を含む。M202L又はM202Tの変異を含むものは、特に好適である。

【0184】

好適な市販のαアミラーゼとしては、DURAMYL(登録商標)、LIQUEZY

10

20

30

40

50

ME（登録商標）、TERMAMYL（登録商標）、TERMAMYL ULTRA（登録商標）、NATALASE（登録商標）、SUPRAMYL（登録商標）、STAINZYME（登録商標）、STAINZYME PLUS（登録商標）、FUNGAMYL（登録商標）及びBAN（登録商標）（Novozymes A/S、Bagsvaerd、Denmark）、KEMZYM（登録商標）AT 9000（Biozym Biotech Trading GmbH：Wehlistrasse 27b A-1200 Wien Austria）、RAPIDASE（登録商標）、PURASTAR（登録商標）、ENZYSIZE（登録商標）、OPTISIZE HT PLUS（登録商標）及びPURASTAR OXAM（登録商標）（Genencor International Inc.（Palo Alto：California））及びKAM（登録商標）（花王：日本、103～8210、東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号）が挙げられる。一態様では、好適なアミラーゼとしては、NATALASE（登録商標）、STAINZYME（登録商標）及びSTAINZYME PLUS（登録商標）、並びにこれらの混合物が挙げられる。

10

【0185】

一態様では、このような追加の酵素は：米国特許第6,939,702（B1）号及び米国特許出願公開第2009/0217464号に記載されるもののような、「第一サイクルリパーゼ」が挙げられる、リパーゼからなる群から選択されてよい。一態様では、リパーゼは第1の洗浄リパーゼであり、一態様ではT231R及びN233Rの変異を含む、子囊菌（*Thermomyces lanuginosus*）由来の野生型リパーゼの変異体である。野生型配列は、Swissprotの受け入れ番号SwissProt O59952の、（子囊菌（好温性糸状菌（*Humicola lanuginosa*））由来の）269個のアミノ酸（アミノ酸23～291）である。好適なリパーゼとしては、Novozymes（Bagsvaerd, Denmark）製の、Lipex（登録商標）、Lipolex（登録商標）、及びLipoclean（登録商標）の商標名で販売のものが挙げられる。

20

【0186】

一態様では、組成物は、野生型のアミノ酸と90%を超える相同性を有し、T231及び／又はN233、好ましくはT231R及び／又はN233Rの置換を含む、子囊菌リパーゼの変異体を含む。

【0187】

一態様では、他の酵素としては、細菌又は真菌由来のセルラーゼが挙げられる。化学修飾された変異体又は改質されたタンパク質変異体が含まれる。好適なセルロースにはバチルス属（genera *Bacillus*）、シュードモナス（*Pseudomonas*）属、糸状菌（*Humicola*）属、フサリウム（*Fusarium*）属、チエラビア（*Thielavia*）属、アクレモニウム（*Acremonium*）属由来のセルロースを挙げることができ、例えば、フミコラ・インソレンス（*Humicola insolens*）、ミセリオフトラ・テルモフィラ（*Myceliophthora thermophila*）から作成される真菌セルラーゼ、及び米国特許第4,435,307号、同第5,648,263号、同第5,691,178号、同第5,776,757号及び同第5,691,178号に開示されているフザリウム・オキスポラム（*Fusarium oxysporum*）が挙げられる。好適なセルラーゼとしては、色ケアの利点を有する、アルカリ性セルラーゼ又は中性セルラーゼが挙げられる。このようなセルラーゼの例は、米国特許第5,520,838号、同第5,948,672号、同第5,919,691号、同第6,001,639号、国際公開第98/08940号に記載されているセルラーゼである。他の例は、米国特許第6,114,296号、同第5,457,046号、同第5,457,046号、同第5,686,593号、同第5,763,254号、同第6,117,664号、米国特許出願公開第2009/0170747（A1）号及び国際出願PCT/DK98/00299号に記載されているものなどのセルラーゼ変異体である。市販のセルラーゼとしては、Celluzyme（登録商標）及びCarezyme（登録商標）（Novozymes A/S）、Clazinas（登録商標）及びPuradax HA（登録商標）（Genencor International Inc.）、並びにKAC-500

30

40

50

(B) (登録商標) (花王) が挙げられる。

【0188】

一態様では、セルラーゼは、バクテリアクリーニングセルラーゼであり得る。このようなバクテリアクリーニングセルラーゼは、エンドβ1, 4-グルカナーゼであり、クラスAの炭水化物結合モジュール(CBM)を含まない構造を有する。クラスAのCBMは、A. B. Boraston et al. Biochemical Journal 2004, Volume 382 (part 3) p. 769~781に定義されている。特に、セルラーゼは、ファミリー1、2a、3、5及び10からのクラスAのCBMを含まない。

【0189】

一態様では、バクテリアクリーニングセルラーゼは、非晶質セルロース基質に対して酵素活性を有するグリコシル加水分解酵素であってもよく、このグリコシル加水分解酵素は、GHファミリー5、7、12、16、44又は74から選択される。一態様では、セルラーゼは、GHファミリー5から選択されるグリコシル加水分解酵素であってもよい。一態様では、セルラーゼは、Novozymesにより供給されているCelluclean (登録商標) であってもよい。このセルラーゼは、米国特許第7, 141, 403号に更に詳細に記載されている。グリコシル加水分解酵素(GH)ファミリーの定義は、Biochem J. 1991, v280, 309~316により更に詳しく記述されている。

【0190】

別の好適なバクテリアクリーニングセルラーゼは、キシログルカン基質及び非晶質セルラーゼ基質の両方に対して酵素活性を有するグリコシル加水分解酵素であり、このグリコシル加水分解酵素は、GHファミリー5、12、44又は74から選択される。一態様では、グリコシル加水分解酵素は、GHファミリー44から選択される。グリコシル加水分解酵素は、グリコシル加水分解酵素ファミリー44に属し得る。

【0191】

好適なグリコシル加水分解酵素は、米国特許第7, 361, 736号に記載のXYG1006などのパエニバチルス・ポリミクサ(Paenibacillus polyxyma) (野生型) からのGHファミリー44のグリコシル加水分解酵素若しくはその変異体、米国特許第6, 268, 197号に記載の配列番号1などのバチルス・リケニフォルミス(野生型) からのGHファミリー12のグリコシル加水分解酵素若しくはその変異体、バチルス・アガラドヘレンス(Bacillus agaradhaerens) (野生型) からのGHファミリー5のグリコシル加水分解酵素若しくはその変異体、米国特許第6, 630, 340号に記載のXYG1034及びXYG1022などのパエニバチルス(野生型) からのGHファミリー5のグリコシル加水分解酵素若しくはそれらの変異体、国際公開第2002/077242号に記載のXYG1020などのジョネシア(Jonesia) 種(野生型) からのGHファミリー74のグリコシル加水分解酵素若しくはその変異体、並びに、米国特許第7, 172, 891号の配列番号2により詳細に記載されている酵素などのトリコデルマ・リーゼイ(Trichoderma Reesei) (野生型) からのGHファミリー74のグリコシル加水分解酵素若しくはその変異体からなる群から選択され得る。

【0192】

好適なグリコシル加水分解酵素は、XYG1006などのパエニバチルス・ポリミクサ(野生型) からのGHファミリー44のグリコシル加水分解酵素からなる群から選択されるか、又はその変異体である。

【0193】

好適なバクテリアクリーニングセルラーゼは、商品名Celluclean (登録商標) 及びWhitezyme (登録商標) で販売されている(Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)。

【0194】

一態様では、組成物は、17kDa~30kDaの分子量を有する、グリコシル加水分

10

20

30

40

50

解酵素ファミリー４５に属する真菌洗浄セルラーゼ、例えば、商品名Biotouch（登録商標）NCD、DCC及びDCL（AB Enzymes, Darmstadt, Germany）で販売されているエンドグルカナーゼを含み得る。

【0195】

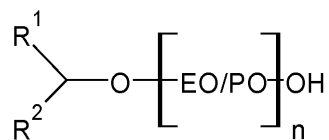
他の好適な酵素としては、商品名Pectawash（登録商標）、Pectaway（登録商標）で販売されているペクチン酸リアーゼ、及び商品名Mannaway（登録商標）（すべてNovozymes A/S（Bagsvaerd, Denmark）から市販）、並びにPurabrite（登録商標）（Genencor International Inc. : Palo Alto, California）で販売されているマンナーゼが挙げられる。

10

【0196】

一態様では、組成物は、Guerbet非イオン性界面活性剤を含む。Guerbet非イオン性界面活性剤は、下式を有する二級アルコール系洗浄界面活性剤である：

【化1】



式中、 R^1 = 直鎖又は分枝鎖、置換又は非置換、飽和又は不飽和の、 $C_2 \sim 8$ アルキル；

20

R^2 = 直鎖又は分枝鎖、置換又は非置換、飽和又は不飽和の、 $C_2 \sim 8$ アルキル；

$R^1 + R^2$ 部分内に存在する炭素原子の合計数は、7～13の範囲であり、EO/POは、エトキシ、プロポキシ又はこれらの混合物から選択されるアルコキシ部分であり、

n は、平均アルコキシ化度であり、4～10の範囲にある。

【0197】

ビルダー

市販の洗濯洗剤は強力無機ビルダーを含み、典型的にはトリポリリン酸ナトリウム（STPP）であるリン酸塩ビルダーか又は典型的にはアルミノケイ酸ナトリウムであるゼオライトかのいずれかが優勢な強力ビルダーとして使用されている。通常このような強力ビルダーは、15～20重量%の比較的高い濃度又は更に高濃度、例えば、更には最高40重量%で、存在する。本発明の好ましい態様によると、リン酸塩及び／又はゼオライトから選択される強力ビルダーの量は、洗剤組成物の合計重量に基づいて10重量%以下、好ましくは8重量%未満、又は更により好ましくは5重量%未満若しくは4重量%未満若しくは3重量%未満若しくは2重量%未満若しくは1重量%未満である。

30

【0198】

それゆえに、本発明の好ましい組成物は、0重量%～10重量%のゼオライトビルダーと、0重量%～10重量%のリン酸塩ビルダーとを含む低ビルダー組成物であり、リン酸塩及び／又はゼオライトの合計量は前記のように10重量%を超えず、好ましくは10重量%未満である。好ましくは、本発明の組成物は、0重量%～8重量%、又は0重量%～5若しくは4重量%、又は0重量%～3若しくは更には2重量%未満のゼオライトビルダーを含む。組成物は、ゼオライトビルダーを本質的に含まないことが好ましい場合もある。ゼオライトビルダーを本質的に含まないとは、一般には、組成物が、故意に添加されたゼオライトビルダーを含まないことを意味する。このことは、非水溶性残留物（例えば、これは織物表面に沈着する可能性がある）の量を最小限にするために、組成物が非常に溶解性が高いことが望ましい場合、及び同様に透明な洗浄溶液を有することがきわめて望ましい場合に、特に好ましい。ゼオライトビルダーとしては、ゼオライトA、ゼオライトX、ゼオライトP及びゼオライトMAPが挙げられる。

40

【0199】

本発明の組成物は、0重量%～10重量%のリン酸塩ビルダーを含み得る。組成物は、好ましくは、0重量%～8重量%、又は0重量%～5若しくは4重量%、又は0重量%～

50

3 若しくは更には2重量%のリン酸塩ビルダーを含む。組成物は、リン酸塩ビルダーを本質的に含まないことが好ましい場合もある。リン酸塩ビルダーを本質的に含まないとは、一般には、組成物が、故意に添加されたリン酸塩ビルダーを含まないことを意味する。このことは、組成物がきわめて良好な環境プロファイルを有するのが望ましい場合に、特に好ましい。リン酸塩ビルダーとしては、トリポリリン酸ナトリウムが挙げられる。

【0200】

本発明の更に好ましい態様では、層状ケイ酸塩（SKS-6）、クエン酸、クエン酸塩及びニトリロ三酢酸若しくはその塩から選択される弱ビルダーの合計濃度は、洗剤組成物の合計重量に基づいて、15重量%未満、より好ましくは8重量%未満、より好ましくは4重量%未満、又は更には3若しくは2重量%未満である。典型的には、層状ケイ酸塩、
ケイ酸塩、クエン酸及びニトリロ三酢酸若しくはその塩は、組成物の合計重量に基づいて、10重量%未満又は更には5重量%未満である。

10

【0201】

ビルダーは様々な利点を配合者にもたらすが、これらの主な役割は、二価金属イオン（カルシウムイオン及びマグネシウムイオンなど）を洗浄溶液から隔離することであり、隔離されないとこれらは表面活性剤系と相互作用して悪影響を及ぼす。ビルダーはまた、金属イオン及び無機質汚れを布地表面から除去することにも有効であり、微粒子及び飲料のシミの除去の改善をもたらす。したがって、これらの濃度の低減は、クリーニング性能に負の影響を与えると予期され、したがって、請求されているリン酸塩ビルダー及びゼオライトビルダーの濃度を低減しているのに有効である洗剤組成物の調製は、驚異的なことである。

20

【0202】

予備アルカリ度

本明細書で使用するとき、「予備アルカリ度」という用語は、洗剤組成物の1%（重量／容量）溶液を塩酸によってpH 7.5まで（すなわち、以下で定義する様な予備アルカリ度を計算するために）滴定することによって決定される、洗剤組成物（g／NaOH／100g洗剤組成物）の緩衝能の尺度である。

【数1】

NaOHのg／100g製品でのアルカリ%としての予備アルカリ度（pH 7.5まで）＝
$$\frac{T \times M \times 40 \times \text{容量}}{10 \times \text{重量} \times \text{アリコート}}$$

30

T = pH 7.5までの滴定量（mL）

M = HClのモル濃度 = 0.2

40 = NaOHの分子量

容量 = 全容量（すなわち、1000mL）

W = 製品重量（10g）

アリコート = （100mL）

【0203】

完全に配合された洗剤組成物の試料10gを小数点第二位まで正確に量り取る。試料は、ダストキャビネット内でパスカルサンプラー（Pascall sampler）を使用して取り分ける必要がある。10gの試料をプラスチック製ビーカーに加え、200mLの二酸化炭素フリーの脱イオン水を加える。攪拌用プレート上で磁性攪拌器を使用し完全に溶解するまで少なくとも15分間150rpmで攪拌する。ビーカーの内容物を、1リットルのメスフラスコに移し、脱イオン水で1リットルにする。十分に混同し、100mLピペットを使用して、100mLア1mLのアリコートを直ちに取る。ア0.01pH単位まで読み取り可能なpH計を使用して、攪拌しながら、温度を21℃+／-2℃に確保しつつ、試料のpH及び温度を測定し、記録する。攪拌しながら、pHの測定値が正確に7.5になるまで0.2M塩酸で滴定する。使用した塩酸のミリリットル数を記録する。3回の同一反復の平均滴定量を得る。前述した計算を行い、pH 7.5にするためのRAを計算する。

40

【0204】

50

発明の洗剤組成物のRAは、7.5よりも大きくてもよく、好ましくは8より大きい。RAは、9より大きくてもよく、又は更に9.5より大きくても、又は10以上でもよい。RAは、20以下又はそれ以上であってもよい。

【0205】

例えば、1つ以上のアルカリ金属ケイ酸塩（結晶性層状ケイ酸塩を除く）、典型的に非晶質ケイ酸塩、一般的に1.2～2.2比のナトリウム塩、アルカリ金属（典型的には、炭酸ナトリウム、重炭酸塩及び／又はセスキ炭酸塩）によって、適切な予備アルカリ度が提供されてもよい。STPP及び過ホウ酸塩及び過炭酸塩などの過酸基塩も、アルカリ性に寄与する。汚れの酸性度、特にリパーゼ酵素によって遊離された脂肪酸に対抗しつつ、アルカリ性pHを洗浄工程中に維持するためには、緩衝が必要である。

10

【0206】

洗剤組成物は、好ましくは、0重量%～50重量%のケイ酸塩、より一般的には5～30重量%のケイ酸塩、又は7～20重量%のケイ酸塩、一般的にはケイ酸ナトリウムを含む。

【0207】

好ましい予備アルカリ度を提供するために、本発明の洗剤組成物は、炭酸塩、典型的には1重量%～70重量%、又は5重量%～50重量%、又は10重量%～30重量%の炭酸塩を含み得る。好ましい炭酸塩は、炭酸ナトリウム及び／又は重炭酸ナトリウム及び／又はセスキ炭酸ナトリウムである。炭酸塩は、バーカイトなどの混合塩を介して、全体的に又は部分的に洗剤組成物中に組み込まれ得る。きわめて好ましい炭酸塩は、炭酸ナトリウムである。好ましくは、組成物は、5重量%～50重量%の炭酸ナトリウム、又は10～40重量%又は更には15～35重量%の炭酸ナトリウムを含み得る。また、組成物が1重量%～20重量%又は更には2～10若しくは8重量%の重炭酸ナトリウムを含むことが所望され得る。

20

【0208】

ゼオライトが存在する場合、炭酸ナトリウム及び／又はケイ酸ナトリウムとゼオライトビルダーとの重量比が、少なくとも5：1、好ましくは少なくとも10：1、又は少なくとも15：1、又は少なくとも20：1、又は更には少なくとも25：1であることが所望され得る。

【0209】

炭酸塩又は少なくともその一部は、典型的には粒状形態であり、典型的には200～500マイクロメートルの範囲内の重量平均粒径を有する。しかしながら、炭酸塩又は少なくともその一部は、微粉化された微粒子形態であり、典型的には4～40マイクロメートルの範囲内の重量平均粒径を有することが好ましいものであり得、このことは、炭酸塩又は少なくともその一部が、アルコキシル化アニオン性洗浄界面活性剤などの洗浄界面活性剤との、共同微粒子混合体の形態である場合に特に好ましい。

30

【0210】

必要とされる予備アルカリ度を提供するために、好ましくは、炭酸塩及び／又はケイ酸塩（典型的には炭酸ナトリウムとケイ酸ナトリウム）の濃度は、組成物の合計重量に基づいて10～70重量%、又は10若しくは更には15～50重量%である。

40

【0211】

補助物質

本明細書において先に開示した物質に加えて、本発明の目的上必須ではないが、以下に示されている補助の非限定的なリストは、即時消費者製品に用いるのに好適であり、例えば、クリーニング性能を補助若しくは向上させるために、クリーニングすべき基材の処理のために、又は香料、着色剤、染料及びこれらに類するものを用いる場合のような消費者製品の審美性を変化させるために、望ましくは本発明の特定の実施形態に組み込まれ得る。組み込みに関して前記に引用した任意の材料に加え、補助は任意の消費者製品に任意の濃度で組み込まれる。これらの追加の成分／補助物質の正確な性質、及びこれらの組み込み濃度は、消費者製品の物理形態、並びに、消費者製品が使用されるクリーニング操作の性

50

質に依存して決まる。好適な補助物質としては、界面活性剤、ビルダー、キレート剤、移染防止剤、分散剤、追加の酵素及び酵素安定剤、触媒物質、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素源、予備形成済み過酸、ポリマー分散剤、粘土汚れ欠失／再付着防止剤、増白剤、泡抑制剤、染料、香料、構造伸縮性付与剤、柔軟仕上げ剤、キャリア、向水性物質、加工助剤、溶媒、及び／又は顔料が挙げられるが、これらに限らない。下記開示に加えて、このような他の補助の好適な例、及び使用濃度は、米国特許第 5, 576, 282 号、同第 6, 306, 812 (B1) 号及び同第 6, 326, 348 (B1) 号に見られ、これらは参照により組み込まれる。

【0212】

記載するとき、補助成分は、出願者らの消費者製品に必須ではない。したがって、本出願人らの消費者製品の特定の実施形態には、界面活性剤、ビルダー、キレート剤、移染防止剤、分散剤、追加の酵素及び酵素安定剤、触媒物質、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素源、予備形成済み過酸、ポリマー分散剤、粘土汚れ除去／再付着防止剤、増白剤、泡抑制剤、染料、香料、構造弾性化剤、柔軟仕上げ剤、キャリア、向水性物質、加工助剤、溶媒、及び／又は顔料という補助物質が 1 つ以上含まれていない。しかし、1 つ以上の補助が存在する場合、このような 1 つ以上の補助は、以下に詳述されるように存在することも可能である。

【0213】

漂白剤一本発明の消費者製品は、1 つ以上の漂白剤を含んでもよい。漂白触媒以外の適切な漂白剤としては、光漂白剤、漂白活性化剤、過酸化水素、過酸化水素源、予備形成過酸、及びこれらの混合物が挙げられる。一般に、漂白剤を使用する場合には、本発明の消費者製品は、本発明の消費者製品の約 0.1 重量％～約 50 重量％、又は更には約 0.1 重量％～約 25 重量％の漂白剤を含み得る。適切な漂白剤の例としては、以下のものが挙げられる。

【0214】

(1) 光漂白剤、例えば、スルホン化亜鉛フタロシアニン、スルホン化アルミニウムフタロシアニン、キサンテン染料、及びこれらの混合物。

(2) 予備形成済み過酸、適切な予備形成済み過酸としては、過カルボン酸及び塩、過炭酸及び塩、ペルイミド酸及び塩、ペルオキシ硫酸及び塩（例えばオキソン (Oxone)

(登録商標) など)、並びに、これらの混合物からなる群から選択される化合物が挙げられるが、これらに限らない。適切な過カルボン酸としては、化学式 $R-(C=O)O-O-M$ を有する疎水性及び親水性過酸が挙げられる（式中、R はアルキル基であり、所望により、分枝状であり、過酸が疎水性の場合には、6～14 個の炭素原子、又は 8～12 個の炭素原子を有し、過酸が親水性の場合には、6 個未満の炭素原子、又は更には 4 個未満の炭素原子を有し、M は、対イオン（例えば、ナトリウム、カリウム又は水素）である、

(3) アルカリ金属塩、例えば、過ホウ酸塩（通常は、一又は四水和物）、過炭酸塩、過硫酸塩、過リン酸塩、過ケイ酸塩、及びこれらの混合物のナトリウム塩を含む、過酸化水素供給源（例えば、無機過酸化水素化塩類）。本発明の一態様では、無機過酸化水素化塩類は、過ホウ酸塩、過炭酸塩、及びこれらの混合物のナトリウム塩からなる群から選択される。採用される場合、無機過酸化水素化塩類は、典型的には、消費者製品全体の 0.05～40 重量％、又は 1～30 重量％の量で存在し、典型的にはコーティングされ得る結晶質の固体としてこのような消費者製品に組み込まれる。好適なコーティングとしては、無機塩（アルカリ金属ケイ酸塩、炭酸塩若しくはホウ酸塩、又はこれらの混合物など）、又は有機物質（水溶性若しくは分散性ポリマー、ワックス、油又は脂肪石鹸など）が挙げられる、及び、

(4) $R-(C=O)-L$ を有する漂白活性化剤（式中、R はアルキル基であり、所望により分枝状であり、漂白活性化剤が疎水性の場合には、6～14 個の炭素原子、又は 8～12 個の炭素原子を有し、漂白活性化剤が親水性の場合、6 個未満の炭素原子、又は更に 4 個未満の炭素原子を有し、L は脱離基である）。好適な脱離基の例は、安息香酸及びそれらの誘導体一特にベンゼンスルホネートである。好適な漂白活性化剤としては、ドデ

10

20

30

40

50

カノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシベンゼンスルホネート、デカノイルオキシ安息香酸又はその塩、3, 5, 5-トリメチルヘキサノイルオキシベンゼンスルホネート、テトラアセチルエチレンジアミン (T A E D) 及びノナノイルオキシベンゼンスルホネート (N O B S) が挙げられる。好適な漂白活性化剤は、米国特許第6, 380, 144号にも開示されている。いかなる好適な漂白活性化剤も使用してもよいが、本発明の一態様では、本消費者製品は、N O B S、T A E D又はこれらの混合物を含んでもよい。

【0215】

存在する場合、過酸及び／又は漂白活性化剤は、一般的に、消費者製品に基づいて、約0.1～約60重量%、約0.5～約40重量%、又は更には約0.6～約10重量%の量で消費者製品中に存在する。1つ以上の疎水性の過酸又はそれらの前駆体は、1つ以上の親水性過酸又はそれらの前駆体と組み合わせて使用してもよい。

10

【0216】

過酸化水素源及び過酸又は漂白活性化剤の量は、有効酸素（過酸化水素源からのもの）と過酸とのモル比が1:1～35:1、又は更には2:1～10:1になるように選択してもよい。

【0217】

界面活性剤一本発明による消費者製品は、界面活性剤又は界面活性剤系を含んでもよく、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、両性界面活性剤、双極性界面活性剤、半極性非イオン性界面活性剤及びこれらの混合物から選択され得る。存在する場合、界面活性剤は、典型的には、本消費者製品の約0.1重量%～約60重量%、約1重量%～約50重量%、又は更には約5重量%～約40重量%の濃度で存在する。

20

【0218】

好適なアニオン性洗浄界面活性剤としては、サルフェート洗浄界面活性剤及びスルホネート洗浄界面活性剤が挙げられる。

【0219】

好適なスルホネート洗浄界面活性剤としては、一態様では、C₁₀～C₁₃アルキルベンゼンスルホネートなどの、アルキルベンゼンスルホネートが挙げられる。好適なアルキルベンゼンスルホネート (L A S) は、市販の直鎖アルキルベンゼン (L A B) をスルホン化することによって得ることができ、好適なL A Bとしては、S a s o lにより商品名I s o c h e m（登録商標）で供給されているもの、又はP e t r e s aにより商品名P e t r e l a b（登録商標）で供給されているものなどの、低級2-フェニルL A Bが挙げられ、他の好適なL A Bとしては、S a s o lにより商品名H y b l e n e（登録商標）で供給されているものなどの、高級2-フェニルL A Bが挙げられる。好適なアニオン性洗浄界面活性剤は、D E T A L触媒方法によって得られるアルキルベンゼンスルホネートであるが、H Fなどの他の合成経路もまた好適な場合がある。

30

【0220】

好適なサルフェート洗浄界面活性剤としては、アルキルサルフェート、一態様では、C₈～C₁₈アルキルサルフェート、又は主にC₁₂アルキルサルフェートが挙げられる。

40

【0221】

別の好適なサルフェート洗浄界面活性剤は、アルキルアルコキシル化サルフェートであり、一態様ではC₈～C₁₈アルキルアルコキシル化サルフェートであり、別の態様ではC₈～C₁₈アルキルエトキシル化サルフェートであり、典型的にはアルキルアルコキシル化サルフェートは、0.5～20、又は0.5～10の平均アルコキシル化度を有し、典型的にはアルキルアルコキシル化サルフェートは、0.5～10、0.5～7、0.5～5、又は更には0.5～3の平均エトキシル化度を有するC₈～C₁₈アルキルエトキシル化サルフェートである。

【0222】

アルキルサルフェート、アルキルアルコキシル化サルフェート及びアルキルベンゼンス

50

ルホネートは、直鎖又は分枝鎖であってもよく、置換又は非置換であってもよい。

【0223】

洗浄界面活性剤は、中鎖分枝状洗浄界面活性剤であってもよく、一態様では中鎖分枝状アニオン性洗浄界面活性剤であり、一態様では中鎖分枝状アルキルサルフェート及び／又は中鎖分枝状アルキルベンゼンスルホネート、例えば、中鎖分枝状アルキルスルホネートである。一態様では、中鎖分枝は、 $C_{1\sim4}$ アルキル基、典型的にはメチル及び／又はエチル基である。

【0224】

好適な非イオン性洗浄界面活性剤は、Shell製のNEODOL（登録商標）非イオン性界面活性剤などの $C_8\sim C_{18}$ アルキルエトキシレート；アルコキシレート単位がエチレンオキシ単位、プロピレンオキシ単位又はこれらの混合物であり得る、 $C_6\sim C_{12}$ アルキルフェノールアルコキシレート；BASF製のPluronic（登録商標）などの、エチレンオキシド／プロピレンオキシドブロックポリマーとの、 $C_{12}\sim C_{18}$ アルコール縮合物及び $C_6\sim C_{12}$ アルキルフェノール縮合物； $C_{14}\sim C_{22}$ 分枝状アルコール；典型的には1～30のアルコキシル化度を有する $C_{14}\sim C_{22}$ 中鎖分枝状アルキルアルコキシレート；アルキル多糖、一態様ではアルキルポリグルコシド；ポリヒドロキシ脂肪酸アミド；エーテル末端保護ポリ（オキシャルキル化）アルコール界面活性剤；並びにこれらの混合物からなる群から選択される。

【0225】

好適な非イオン性洗浄界面活性剤としては、アルキルポリグルコシド及び／又はアルキルアルコキシル化アルコールが挙げられる。

【0226】

一態様では、非イオン性洗浄界面活性剤としては、アルキルアルコキシル化アルコール、一態様では $C_8\sim C_{18}$ アルキルアルコキシル化アルコール、例えば、 $C_8\sim C_{18}$ アルキルエトキシル化アルコールが挙げられ、このアルキルアルコキシル化アルコールは、1～50、1～30、1～20、又は1～10の平均アルコキシル化度を有し得る。一態様では、このアルキルアルコキシル化アルコールは、1～10の、又は1～7の、更には1～5の、又は3～7の平均エトキシル化度を有する、 $C_8\sim C_{18}$ アルキルエトキシル化アルコールであってもよい。アルキルアルコキシル化アルコールは、直鎖又は分枝鎖であってもよく、置換又は非置換であってもよい。

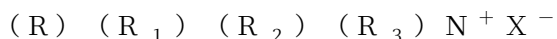
【0227】

好適なカチオン性洗浄界面活性剤としては、アルキルピリジニウム化合物、アルキル四級アンモニウム化合物、アルキル四級ホスホニウム化合物、アルキル三級スルホニウム化合物、及びこれらの混合物が挙げられる。

【0228】

好適なカチオン性洗浄界面活性剤は、次の一般式を有する第四級アンモニウム化合物である。

【0229】



式中、Rは直鎖又は分枝鎖、置換又は非置換の、 $C_6\sim C_{18}$ アルキル又はアルケニル部分であり、 R_1 及び R_2 は、独立して、メチル又はエチル部分から選択され、 R_3 は、ヒドロキシル、ヒドロキシメチル、又はヒドロキシエチル部分であり、Xは、電気的中性を提供するアニオンであり、好適なアニオンとしては、例えば、塩化物といったハロゲン化物、サルフェート、及びスルホネートが挙げられる。好適なカチオン性洗浄界面活性剤は、モノ $C_6\sim C_{18}$ アルキルモノヒドロキシエチルジメチル第四級アンモニウムクロリドである。非常に好適なカチオン性洗浄界面活性剤は、モノ $C_8\sim C_{10}$ アルキルモノヒドロキシエチルジメチル第四級アンモニウムクロリド、モノ $C_{10}\sim C_{12}$ アルキルモノヒドロキシエチルジメチル第四級アンモニウムクロリド、及びモノ C_{10} アルキルモノヒドロキシエチルジメチル第四級アンモニウムクロリドである。

【0230】

10

20

30

40

50

ビルダー—本発明の消費者製品は、1つ以上の洗剤ビルダー又はビルダー系を含んでもよい。ビルダーを使用する場合、本消費者製品は、典型的には本消費者製品の少なくとも約1重量%、約2重量%～約60重量%、又は更には約5重量%～約10重量%のビルダーを含む。組成物は、更にはビルダーを実質的に含まなくてもよく、「実質的に含まない」は、ゼオライト及び／又はリン酸塩が「意図的に添加されていない」ことを意味する。典型的なゼオライトビルダーとしては、ゼオライトA、ゼオライトP及びゼオライトMAPが挙げられる。典型的なリン酸塩ビルダーは、トリポリリン酸ナトリウムである。

【0231】

キレート剤—本明細書の消費者製品は、キレート剤を含有してもよい。好適なキレート剤としては、銅、鉄及び／又はマンガンキレート剤、並びにこれらの混合物が挙げられる。キレート剤を使用する場合、本消費者製品は、本消費者製品の約0.005重量%～約15重量%、又は更には約3.0重量%～約10重量%のキレート剤を含み得る。好適なキレート剤としては、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸）、HEDP（ヒドロキシエタンジホスホン酸）、DTPMP（ジエチレントリアミンペンタ（メチレンホスホン酸））、1,2-ジヒドロキシベンゼン-3,5-ジスルホン酸二ナトリウム塩水和物、エチレンジアミン、ジエチレントリアミン、エチレンジアミンニコハク酸（EDDS）、N-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸（HEDTA）、トリエチレンテトラアミン六酢酸（TTHA）、N-ヒドロキシエチルイミノ二酢酸（HEIDA）、ジヒドロキシエチルグリシン（DHEG）、エチレンジアミンテトラプロピオン酸（EDTP）、及びこれらの誘導体が挙げられる。

【0232】

移染防止剤—本発明の消費者製品はまた、1つ以上の移染防止剤を含んでもよい。好適な高分子移染防止剤としては、ポリビニルピロリドンポリマー、ポリアミンN-オキシドポリマー、N-ビニルピロリドンとN-ビニルイミダゾールのコポリマー、ポリビニルオキサゾリドン及びポリビニルイミダゾール又はこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。本消費者製品中に存在する場合、移染防止剤は、消費者製品の約0.0001重量%～約10重量%、約0.01重量%～約5重量%、又は更には約0.1重量%～約3重量%の濃度で存在し得る。

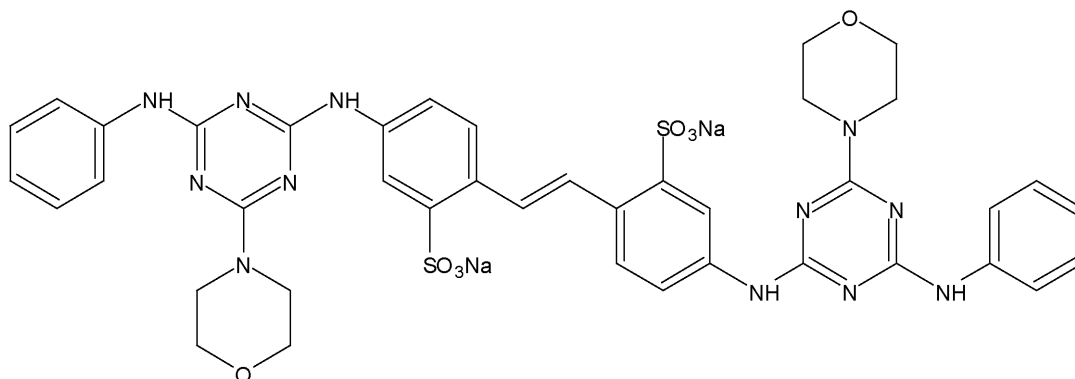
【0233】

増白剤—本発明の消費者製品は、クリーニングされる物品に色付けることのできる追加成分（蛍光増白剤など）も含有することができる。

【0234】

組成物は、C. I. 蛍光増白剤260を、好ましくは、以下の構造を有するα-結晶質形態で、含み得る：

【化2】



【0235】

一態様では、増白剤は、α-結晶質形態のC. I. 蛍光増白剤260などの可溶性増白剤である。

【0236】

一態様では、光沢剤は、主に一結晶質形態にあり、これは、典型的には少なくとも50

重量%、少なくとも75重量%、少なくとも90重量%、少なくとも99重量%又は実質的にすべてのC. I. 蛍光増白剤260が単一結晶質形態にあることを意味する。

【0237】

増白剤は、好ましくは、3~30マイクロメートル、3マイクロメートル~20マイクロメートル、又は3~10マイクロメートルの範囲内の重量平均一次粒径を有する、微粉化粒子形態にすることができる。

【0238】

組成物は、β-結晶質形態のC. I. 蛍光増白剤260を含んでもよく、(i)粗α-結晶質形態のC. I. 蛍光増白剤260の、(ii)β-結晶質形態のC. I. 蛍光増白剤260に対する、重量比率は、少なくとも0.1又は少なくとも0.6であり得る。

10

【0239】

BE680847は、α-結晶質形態のC. I. 蛍光増白剤260の製造プロセスに関する。

【0240】

好適な蛍光増白剤濃度としては、約0.01重量%、約0.05重量%、約0.1重量%、更には約0.2重量%の低い濃度から、0.5重量%又は更に0.75重量%の高い濃度までが挙げられる。

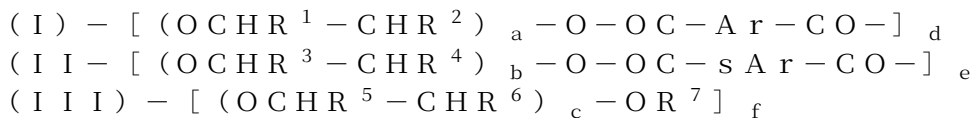
【0241】

カルボン酸塩ポリマー-本発明の消費者製品はまた、マレエート/アクリレートランダムコポリマー又はポリアクリレートホモポリマーなどのカルボン酸塩ポリマーを1つ以上含んでもよい。一態様では、カルボン酸塩ポリマーは、4,000Da~9,000Da、又は6,000Da~9,000Daの分子量を有する、ポリアクリレートホモポリマーである。

20

【0242】

防汚ポリマー-本発明の消費者製品はまた、以下の構造(I)、(II)又は(III)の1つにより定義される構造を有する防汚ポリマーを1つ以上含んでもよい：



式中、

a、b、及びcは、1~200であり、

d、e、及びfは、1~50であり、

Arは、1,4-置換フェニレンであり、

sArは、位置5をSO₃Meにより置換された、1,3-置換フェニレンであり、

Meは、Li、K、Mg/2、Ca/2、Al/3、アンモニウム、モノー、ジー、トリー、若しくはテトラアルキルアンモニウム（アルキル基は、C₁~C₁₈アルキル又はC₂~C₁₀ヒドロキシアルキル）、又はこれらの混合物であり、

R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、及びR⁶は、独立して、H、又はC₁~C₁₈n-若しくはイソアルキルから選択され；

R⁷は、直鎖若しくは分枝鎖C₁~C₁₈アルキル、又は直鎖若しくは分枝鎖C₂~C₃₀アルケニル、又は炭素原子を5~9個有するシクロアルキル基、又はC₈~C₃₀アリール基、又はC₆~C₃₀アリールアルキル基である。

30

40

【0243】

好適な防汚ポリマーは、Rhodiaにより供給されているRepel-o-tex SF、SF-2及びSRP6が挙げられるRepel-o-texポリマーなどのポリエステル防汚ポリマーである。他の好適な防汚ポリマーとしては、Clariantにより供給されているTexcare SRA100、SRA300、SRN100、SRN170、SRN240、SRN300及びSRN325などのTexcareポリマーが挙げられる。他の好適な防汚ポリマーは、Sasolにより供給されているMarloquest SLなどのMarloquestポリマーである。

50

【0244】

セルロース系ポリマー — 本発明の消費者製品はまた、アルキルセルロース、アルキルアルコキシセルロース、カルボキシアルキルセルロース、アルキルカルボキシアルキルセルロースから選択されるものなどのセルロース系ポリマーを1つ以上含んでもよい。一態様では、セルロース系ポリマーは、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロース、メチルカルボキシメチルセルロース及びこれらの混合物を含む群から選択される。一態様では、カルボキシメチルセルロースは、0.5～0.9のカルボキシメチル置換度と、100,000Da～300,000Daの分子量をと有する。

【0245】

漂白触媒 — 本発明の消費者製品はまた、遷移金属触媒、又は、例えば、欧州特許第1109965号若しくは同第1240378号若しくは同第1240379号に記載されているような遷移金属触媒を形成可能な配位子、又は、ペルオキシ酸及び／若しくはその塩から酸素原子を受容してその酸素原子を酸化可能基材に移すことができる1つ以上の漂白触媒を含んでもよい。好適な漂白触媒としては、米国特許出願公開第2007/0173430(A1)号に記載されているように、イミニウムカチオン及びポリイオン、イミニウム双性イオン、修飾されたアミン、修飾されたアミノキシド、N-スルホニルイミン、N-ホスホニルイミン、N-アシルイミン、チアジアゾールジオキシド、ペルフルオロイミン、環状糖ケトン、並びにこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。

【0246】

別の態様では、洗濯洗剤組成物は漂白成分を含み、この漂白成分は、0以下、-0.5以下、-1.0以下、-1.5以下、-2.0以下、-2.5以下、-3.0以下、又は更には-3.5以下の $\log P_o/w$ を有する。 $\log P_o/w$ を判定するための方法は、以下でより詳細に説明する。

【0247】

典型的には、漂白成分は、0.01～約0.30、好ましくは0.05～約0.25、又は更により好ましくは約0.10～0.20の X_{SO} を有する漂白種を生成することが可能である。 X_{SO} を判定するための方法は、以下でより詳細に説明する。例えば、イソキノリニウム構造を有する漂白成分は、オキサジリジニウム構造を有する漂白種を生成することが可能である。この例では、 X_{SO} は、オキサジリジニウム漂白種のものである。

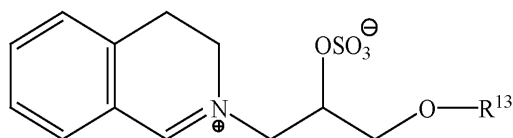
【0248】

理論に束縛されるものではないが、本発明者らは、この上述の記載のように求電子性及び疎水性を制御することによって、実質的に、より疎水性の布地領域であり、かつ高度に求電子性の酸化剤による漂白を受けやすい、可視発色団を含めた電子豊富な汚れを含む布地領域のみに、漂白成分を供給することが可能になると考える。

【0249】

一態様では、漂白触媒は、以下の一般式による構造を有する：

【化3】



式中、 R^{13} は、2-エチルヘキシル、2-プロピルヘプチル、2-ブチルオクチル、2-ペンチルノニル、2-ヘキシルデシル、n-ドデシル、n-テトラデシル、n-ヘキサデシル、n-オクタデシル、イソノニル、イソデシル、イソトリデシル及びイソペンタデシルである。

【0250】

$\log P_o/w$ を判定する方法

$\log P_o/w$ は、Brooke, D. N., Dobbs, A. J., Williams, N, Ecotoxicology and Environmental Saf

10

20

30

40

50

ety (1986) 11 (3) : 251~260に見出される方法に従って判定する。

【0251】

Xsoを判定する方法

パラメーターXsoは、Adam, W. , Haas, W. , Lohray, B. B. Journal of the American Chemical Society (1991) 113 (16) 6202~6208に記載の方法に従って判定する。

【0252】

ケイ酸塩一本発明の消費者製品はまた、ケイ酸ナトリウム又はケイ酸カリウムなどのケイ酸塩を含有することができる。組成物は、0重量%~10重量%未満、9重量%以下又は8重量%以下又は7重量%以下又は6重量%以下又は5重量%以下又は4重量%以下又は3重量%以下又は更には2重量%以下のケイ酸塩、好ましくは0重量%超又は5重量%以上、又は更には1重量%以上のケイ酸塩を含み得る。好適なケイ酸塩は、ケイ酸ナトリウムである。

10

【0253】

分散剤一本発明の消費者製品はまた、分散剤を含有することができる。好適な水溶性有機物質としては、ホモポリマー又はコポリマーの酸又はそれらの塩が挙げられ、それらのうちのポリカルボン酸は、互いに炭素原子2個を超えない程度に離れている少なくとも2個のカルボキシルラジカルを含む。

【0254】

酵素安定剤一種々の技法によって、洗剤で使用する酵素を安定化させることができる。本明細書に用いられる酵素は、カルシウムイオン及び／又はマグネシウムイオンを酵素に供給する消費者製品中に、それらのイオンの水溶性供給源を存在させることによって安定化させることができる。プロテアーゼを含む消費者製品の場合、可逆性プロテアーゼ阻害剤（ホウ素化合物など）又は化合物（ギ酸カルシウム、ギ酸ナトリウム及び1, 2-プロパンジオールなど）を加えて更に安定性を改善することができる。

20

【0255】

触媒金属錯体一本出願人らの組成物は、触媒金属錯体を包含してもよい。金属含有漂白触媒の1つの種類は、銅、鉄、チタン、ルテニウム、タングステン、モリブデン、又はマンガンの陽イオンのような、限定された漂白触媒活性の遷移金属陽イオン、亜鉛又はアルミニウムの陽イオンのような、漂白触媒活性をほとんど又は全くもたない補助金属陽イオン、並びに触媒金属及び補助金属の陽イオンに対して限定された安定度定数を有する金属イオン封鎖剤、特にエチレンジアミン四酢酸、エチレンジアミンテトラ（メチレンホスホン酸）及びそれらの水溶性の塩類を含む触媒系である。このような触媒は、米国特許第4, 430, 243号に開示されている。

30

【0256】

所望する場合、本明細書の組成物はマンガン化合物を用いて触媒可能である。このような化合物及び使用濃度は当該技術分野で周知であり、例えば、米国特許第5, 576, 282号に開示されるマンガン系触媒が挙げられる。

【0257】

本明細書において有用なコバルト漂白触媒は既知であり、例えば、米国特許第5, 597, 936号、米国特許第5, 595, 967号に記載される。このようなコバルト触媒は、例えば米国特許第5, 597, 936号及び米国特許第5, 595, 967号に教示されているような、既知の手順によって容易に調製される。

40

【0258】

本明細書の組成物はまた、配位子の遷移金属錯体（例えば、ビスピドン（米国特許第7, 501, 389号）及び／又は大多環状剛性配位子（「MRL」と略される）を適切に含んでもよい。実際問題として、限定するためではないが、本明細書の組成物及び方法は、水性洗浄媒体において、少なくとも1億分の1のオーダーの活性MRL種を提供するように調整することができ、通常、約0.005ppm~約25ppm、約0.05ppm~約10ppm、又は更に約0.1ppm~約5ppmのMRLを洗浄溶液中に提供する

50

。

【0259】

本遷移金属漂白触媒における好適な遷移金属としては、例えばマンガン、鉄及びクロムが挙げられる。好適なMRLとしては、5，12-ジエチル-1，5，8，12-テトラアザピシクロ〔6．6．2〕ヘキサデカンが挙げられる。

【0260】

好適な遷移金属MRLは、既知の手順、例えば米国特許第6，225，464号で教示されているような手順によって容易に製造される。

【0261】

溶剤—好適な溶媒としては、水及び他の溶剤（例えば、親油性流体）が挙げられる。好適な親油性流体の例としては、シロキサン、その他のシリコーン、炭化水素、グリコールエーテル、例えばグリセリンエーテルなどのグリセリン誘導体、ペルフルオロ化アミン、ペルフルオロ化及びハイドロフルオロエーテル溶媒、低揮発性の非フッ素化有機溶媒、ジオール溶媒、環境に優しいその他の溶媒、並びにこれらの混合物が挙げられる。

【0262】

消費者製品の製造プロセス

本発明の消費者製品は任意の好適な形状で配合可能であり、配合者により選択される任意のプロセスによって調製可能であり、それらの非限定例は、出願者らの実施例、及び米国特許第4，990，280号、同第20030087791（A1）号、同第20030087790（A1）号、同第20050003983（A1）号、同第20040048764（A1）号、同第4，762，636号、同第6，291，412号、同第20050227891（A1）号、欧州特許第1070115（A2）号、米国特許第5，879，584号、同第5，691，297号、同第5，574，005号、同第5，569，645号、同第5，565，422号、同第5，516，448号、同第5，489，392号、同第5，486，303号に記載されており、これらのすべては参照により本案件に組み込まれる。

【0263】

使用方法

本発明は、ある場所、とりわけ布地表面を洗浄及び／又は処理する方法を含む。このような方法は、本出願者らのクリーニング消費者製品の実施形態を、未希釈形態で、又は洗浄液中で希釈して、部位の少なくとも一部に接触させてから、このような布地表面をすすぐ工程を含んでもよい。この部位は、前述のすすぐ工程の前に洗浄工程にさらされてもよい。本発明の目的上、洗浄には、擦ること及び機械的攪拌が挙げられるが、これらに限定されない。それゆえに、本発明は布地を洗濯するための方法を含む。この方法は、洗濯されるべき布地を、本出願者らの消費者製品の少なくとも一実施形態を含む前記クリーニング洗濯溶液と接触させる工程を含む。布地は、標準的な消費者の使用条件で洗濯され得る大抵の任意の布地を含んでもよい。溶液は、典型的には約7～約11のpHを有する。消費者製品は、溶液中で約500ppm～約15，000ppmの濃度で用いてよい。水温は、典型的には約5℃～約90℃の範囲である。水対布地の比率は典型的には、約1：1～約30：1である。

【0264】

一態様では、本明細書で開示される任意の消費者製品により処理される部位を開示する。

。

【0265】

試験方法

試験方法1

染料又は顔料物質が本発明の意図する布地色調剤であるかどうかを定義するための手順プロトコルを以下に記載する。

1) 2つのターゴトメーターポットに、Newcastle upon Tyne (UK) の水道水（総硬度約204．6（約12グレイン／米ガロン）、Northumbr

10

20

30

40

50

ian Water, Pity Me, Durham, Co. (Durham, UK)) を800mL注ぐ。

2) ポットをターゲットメーターに挿入する。試験中は水温を30℃に制御し、攪拌を40rpmに設定する。

3) 各ポットにIEC-B洗剤(IEC 60456 Washing Machine Reference Base Detergent Type B)、wfk(Brggen-Bracht))から供給)を4.8g加える。u

4) 2分後、第1のポットに活性着色剤を2.0mg加える。

5) 1分後、5cmラ5cmの材料見本に切断した平坦な綿肌着(Warwick Equest Consett, County Durham, UK)から供給)50gを各ポットに加える。

6) 10分後、ポットを排水し、硬度14.4(イギリスクラーク硬度)を有しカルシウム対マグネシウムのモル比3:1で再充填する(16℃)。

7) 2分間すすいだ後、布地を取り出す。

8) 同じ処理を用いて更に3回のサイクルで工程3~7を繰り返す。

9) 布地を収集し、屋内で12時間自然乾燥させる。

10) D65光源及びUVA遮断フィルタを取り付けたハンターミニスキャン(Hunter Miniscan)分光ロメーターを使用して材料見本を分析し、ハンターa(赤-緑軸)及びハンターb(黄-青軸)値を得る。

11) 各組の布地についてハンターa及びハンターb値の平均値を計算する。着色剤で処理した評価対象布地がa軸又はb軸のいずれかにおいて平均で0.2単位より大きい色相の差を示した場合、本発明の意図する布地色調剤であると判断される。

【0266】

試験方法2~6

提供されるプロトコルからの偏差は、関連する実施例において示される。

【0267】

Biomek FX Robot(Beckman Coulter)又は多チャネル分注器(例えば、Rainin Pipet Lite, Mettler-Toledo)及びSpectraMAX MTP Reader(340型;Molecular Devices)を用いて、アッセイを行った。

【0268】

96ウェルマイクロタイタープレートでタンパク質含量を測定するためのTCAアッセイ。

【0269】

枯草菌培地を37℃にて2~3日生育させ、加湿通気しながら250℃~300rpmにて振盪した。遠心分離及び/又は濾過により、細胞を酵素含有培養上清から取り出した。TCA沈殿アッセイを用いて、プロテアーゼ濃度を測定した。0.25NのHClを100μL/ウェル含有する96ウェル平底マイクロタイタープレート(MTP;Costar 9017培地結合性透明ポリスチレンプレート)に、培養上清のアリコート(20~25uL)を移した。5秒混合した後、405nmでの光散乱/吸光度読み取りにより、「基準」読み取り値を測定した。100μL/ウェルの30%トリクロロ酢酸(TCA)をHCl含有プレートに添加し、室温にて10分にわたってインキュベートして、タンパク質沈殿を即した。5秒混合した後、この「試験」プレートの405nmでの光散乱/吸光度を測定した。試料における濁度/光散乱の増加は、培養上清中の沈殿可能なタンパク質の合計量に相関する。(TCAの添加後に得られた)「試験」読み取り値から(HClの添加後に得られた)「基準」読み取り値を減算することにより計算を行って、存在する総タンパク質の相対尺度を得た。所望される場合、既知の比活性を有するクロンのAAPFプロテアーゼアッセイ(下記を参照されたい)でTCA読み取り値を較正することにより、標準曲線を作製することができる。しかしながら、TCA結果は、50~500百万分率のタンパク質濃度(ppm)(ここで、1ppmは1mg/Lに相当する)に対

して直線であることから、所望の性能を有する変異体を選択するために、酵素性能に対して直接プロットすることができる。

【0270】

96ウェルマイクロタイタープレートでのAAPFプロテアーゼアッセイ

セリンプロテアーゼ変異体のプロテアーゼ活性を測定するために、N-スクシニル-L-アラニル-L-アラニル-L-プロリル-L-フェニル-p-ニトロアニリド (suc-AAPF-pNA) の加水分解を計測した。使用した試薬溶液は、以下のものであった：0.005%のTWEEN（登録商標）-80を含有している100mMのトリス/HCl (pH 8.6)（トリス希釈緩衝液）、1mMのCaCl₂と0.005%のTWEEN（登録商標）-80とを含有している100mMのトリス緩衝液 (pH 8.6)（トリス/Ca緩衝液）、並びに160mMのsuc-AAPF-pNAのDMSO溶液 (suc-AAPF-pNA原液)（Sigma：S-7388）。suc-AAPF-pNA希釈標準溶液を調製するために、1mLのsuc-AAPF-pNA原液を100mLのトリス/Ca緩衝液に加え、少なくとも10秒にわたってウェルをよく混合した。10μLの希釈プロテアーゼ溶液を96ウェルMTPの各Lウェルに加え、直ちに1mg/mLのsuc-AAPF-pNA希釈標準溶液190μLを加えてアッセイを実施した。溶液を5秒にわたって混合し、吸光度の変化を、25℃にて、405nmで、MTPリーダーの動的解析モードにより読み取りした（5分毎に25回読み取り）。プロテアーゼ活性はAUとして表記される（活性 = $\Delta OD \cdot \text{min}^{-1} \text{mL}^{-1}$ ）。

【0271】

エグリンC阻害アッセイ

本明細書に記載のセリンプロテアーゼ濃度及び比活性を、エグリンcと呼ばれる阻害剤による滴定で測定した。エグリンc (*leech Hirudo medicinalis*) は、サブチリシン及びASPプロテアーゼとの相互作用が強いタンパク質阻害剤であり (Heinz et al., Biochemistry, 31:8755~66 [1992])、それゆえプロテアーゼ酵素濃度を測定するのに使用することができ、ひいては比活性の算出が可能になる。エグリンc遺伝子を合成し、標準法によりE. coliで発現させた。特性及び阻害強度はSigmaから購入したエグリンcと同様であった。

【0272】

(i) エグリンC原液の濃度測定

既知の比活性を有するバチルス・レンタスのサブチリシンの試料を、1mMのCaCl₂と0.005%のTWEEN（登録商標）-80とを含有している100mMのトリス緩衝液（トリス/Ca緩衝液）(pH 8.6)で、前記のAAPFプロテアーゼアッセイに適切な濃度に希釈した。トリス/Ca緩衝液で、エグリンc原液の希釈物もいくつか調製した。各希釈エグリンc溶液のアリコート、等量の、Bacillus Lentusの希釈サブチリシン溶液と混合した。エグリンcの非存在下での、阻害されていないサブチリシンの活性を測定するために、エグリンcを不含のトリス/Ca緩衝液のみのアリコートも、等量の、Bacillus Lentusの希釈サブチリシン溶液と混合した。混合溶液を室温で15~30分インキュベートし、次いで各サンプルのプロテアーゼ活性を前記のAAPFアッセイにより測定した。既知の比活性を有するBacillus Lentusのサブチリシンを用いて、各サンプル中の活性プロテアーゼ濃度を測定した。次いで各サンプル中のエグリンc濃度を、トリス/Ca緩衝液のみ（エグリンc不含）と混合した未阻害のサブチリシンサンプルと比較し、観察されるプロテアーゼ活性の減少度に基づいて算出した。したがって、希釈度及び容量が既知のエグリンc溶液を用い、原液中のエグリンcの濃度を測定した。

【0273】

(ii) サブチリシン変異体の濃度及び比活性の測定

サブチリシン変異体サンプルを、1mMのCaCl₂及び0.005% TWEEN（登録商標）-80（トリス/Ca緩衝液）を含有している100mMのトリス緩衝液 (pH 8.6)で希釈した。トリス/Ca緩衝液で、既知の濃度のエグリンc原液の希釈物

もいくつか調製した。各希釈エグリン c 溶液のアリコートを、等量のサブチリシン変異体溶液と混合した。混合溶液を室温で 15～30 分インキュベートし、次いで各サンプルのプロテアーゼ活性を A A P F アッセイにより測定した。各エグリン c サンプル及び既知の濃度のエグリン c の添加に基づくプロテアーゼ活性の減少を観察することで、各サブチリシン酵素変異体を完全に阻害するのに必要とされるエグリン c 濃度を算出した。この濃度はサンプル中の酵素濃度と等価である。同様に、エグリン c は不含の、トリス／Ca 緩衝液のみのアリコートを各サブチリシン変異体サンプルと混合し、エグリン c の非存在下でのプロテアーゼ活性を A A P F アッセイにより測定した。次いでサブチリシン変異体の比活性を、前記のように測定した酵素濃度を用い算出した。

【0274】

10

BMI マイクロ材料見本アッセイ (BMI アッセイ)

96 ウェルマイクロタイタープレート (MTP; Corning 3641) 内にある 5.5 ミリメートルの円直径のすずぎ済み、穿孔済みの血液、牛乳及びインク (BMI) のシミを付けたマイクロ材料見本 (EMPA116) を Center for Test materials BV (Vlaardingen, The Netherlands) から入手した。

【0275】

表 1-1 及び表 6-4 に記載のように、ミリ Q 水中で適切な水硬度レベル (3:1 Ca:Mg. - CaCl₂:MgCl₂・6H₂O) を有する pH 10.3 に緩衝した 2 mM の炭酸ナトリウムを少なくとも 30 分にわたって混合することにより、洗剤を調製した。洗剤を 50 mL 円錐管 (Falcon) 中に等分にし、遠心分離にかけて沈殿を除去し、使用前 30 分にわたって氷冷した。

20

【0276】

精製済み GG36 (配列番号 1 の酵素) の標準と比較して 20～50 ppm の範囲にある所望の固定濃度に酵素濃度を等しくした。基質として A A P F を用いた GG36 の比活性を使用して、基準を減算した TCA 値を ppm 単位の酵素濃度に変換した。いったん酵素濃度を ppm 単位で測定してから、単純な数式を用いて、所望の原液酵素濃度を達成するために固定容量の緩衝液 (300～600 µL) に添加することが必要とされる各変異体の容量を計算した：

$$x = (\text{標的 ppm}) (v_b) / (y - \text{標的 ppm})$$

30

式中、x = 酵素の容量、y = 酵素濃度、v_b = 緩衝液容量

Versispan 8 チャネルアームを備える Perkin-Elmer Janus ロボットを用いて、供給源プレート (TCA 酵素濃度アッセイで使用された変異体を採取してプールした Axygen 社の半深ウェルプレート) から導電チップを使用して可変容量の酵素を緩衝液充填済みの移動先プレートの中に分注した。ピペットで上下させることにより、試料を 3 回混合した。均一化されたプレートの A A P F 活性を測定し、これを供給源プレートの A A P F 活性と比較することにより、酵素希釈の正確さを確認して、正しい希釈が行われたことを実証した。

【0277】

均質化した後、5～15 µL の酵素溶液を洗剤充填済みマイクロ材料見本プレートに添加したところ、約 200 µL の最終容量に到達した。場合によっては、酵素試料は均質化されず、その代わりに、すべて原液プレートから等しく希釈して、0.1～5 ppm の作動範囲を与えた。所与の洗剤についてこの範囲にわたってのクリーニング活性を測定して、用量反応曲線から各アッセイについての最適標的濃度を判定した。

40

【0278】

MTP を箔 (Bio-Rad) で封止し、4℃ に設定した冷室の中で、又はベンチトップで 32℃ にて、予め 16℃ に設定した iEMS インキュベーター／振盪器 (熱／ラボシステム) において 1400 rpm にて 30 分にわたってインキュベートした。インキュベーション後、120 µL の上清を新しい MTP (Corning 9017) に移し、SpectraMax リーダーを用いて 600 nm にて読み取りした。各値からブランク対

50

照（酵素不含）を減算することにより、真の吸光度読み取り値を得た。

【0279】

各変異体について性能指数（P I）を計算した。性能指数は、固定酵素濃度での G G 3 6 クリーニングにより生成された吸光度に対する酵素変異体クリーニングにより生成された上清の吸光度の比率である。均質化プレートについては、変異体の吸光度を所与のプレート上での対照の吸光度により除算することにより、P I 値を計算した。非均質化プレートについては、対照の活性及び酵素濃度から標準曲線（例えば、L a n g m u i r 又は 4 つのパラメーターの対数非直線回帰モデルが適合）を作成する。この標準曲線を使用して、変異体の性能を任意の酵素濃度にて対照と直接比較することができる。変異体の吸光度を同じ酵素濃度での対照について計算した吸光度により除算することにより、P I を判定する。

10

【0280】

1 を超える性能指数（P I）（ $P I > 1$ ）は、標準（例えば、G G 3 6）と比較して変異体によるより優れたクリーニングを示し、一方、1 に等しい P I（ $P I = 1$ ）は、変異体が標準と同じに機能することを示し、1 未満である P I（ $P I < 1$ ）は、標準よりも劣って機能する変異体を示す。

【0281】

【表 2】

表1-1: BMI マイクロ材料見本アッセイに使用した最終的な洗剤、水硬度、及び緩衝液濃度			
界面活性剤	最終的な洗剤濃度 (g/L)	最終的な水硬度* (mg/L (gpg))	最終的な炭酸ナトリウム 緩衝液濃度 (mM)
実施例26	0.808	102.3(6)	2
実施例27	1	51.2(3)	2
実施例28	2.3	204.6(12)	2
実施例29	5.9	204.6(12)	2
実施例30	8.3	204.6(12)	2

20

* (3 : 1 C a : M g) 本文中に詳細に説明した通りの濃度

試験方法 2 — 試験方法 2 では、実施例 2 9 の洗剤を用いて B M I マイクロ材料見本アッセイを実施する。洗剤を硬度 2 0 4 . 6 m g / L (1 2 g p g) の水に溶解し、温度を 1 6 °C に調整する。次いで、記載される B M I マイクロ材料見本アッセイ毎に酵素変異体の性能を測定する。性能指数は、配列番号 1 の酵素の性能と変異体の性能を比較することで決定される。すべての場合で酵素投与量範囲は 0 . 1 ~ 5 p p m である。性能指数 1 . 1 以上の酵素が、冷水プロテアーゼとして示される。

【0282】

試験方法 3 — 試験方法 3 では、実施例 2 6 の洗剤を用いて B M I マイクロ材料見本アッセイを実施する。洗剤を硬度 1 0 2 . 3 m g / L (6 g p g) の水に溶解し、温度を 1 6 °C に調整する。次いで、記載される B M I マイクロ材料見本アッセイ毎に酵素変異体の性能を測定する。性能指数は、配列番号 1 の酵素の性能と変異体の性能を比較することで決定される。すべての場合で酵素投与量範囲は 0 . 1 ~ 5 p p m である。性能指数 1 . 1 以上の酵素が、冷水プロテアーゼとして示される。

40

【0283】

試験方法 4 — 試験方法 4 では、実施例 2 6 の洗剤を用いて B M I マイクロ材料見本アッセイを実施する。洗剤を硬度 1 0 2 . 3 m g / L (6 g p g) の水に溶解し、温度を 1 6 °C に調整する。次いで、記載される B M I マイクロ材料見本アッセイ毎に酵素変異体の性能を測定する。性能指数は、変異体の性能を参照酵素（変異が存在する配列番号 1 の酵素）の性能と比較することにより、決定される。これらのすべての場合で酵素投与量範囲は

50

0.1～5 ppmである。A158E性能指数1.0以上の酵素が、冷水プロテアーゼとして示される。

【0284】

試験方法5－水溶液の伝導度をASTM D1125標準法に従ってアッセイし、単位ミリジーメンズ/cm（本特許ではmS/cmと略記）で記録した。

【0285】

試験方法6－試験方法6では、実施例36a～36nの洗剤のうちの1つを用いてBMI材料見本アッセイを実施する。表6－4に指定されている硬度を有する水に洗剤を溶解し、温度を16℃に調整する。次いで、記載されるBMIマイクロ材料見本アッセイ毎に酵素変異体の性能を測定する。性能指数は、配列番号1の酵素の性能と変異体の性能を比較することで決定される。すべての場合で酵素投与量範囲は0.1～5 ppmである。性能指数1.1以上の酵素が、冷水プロテアーゼとして示される。

【実施例】

【0286】

（実施例1～8）

フロントローディング式自動洗濯機に好適な液体洗濯洗剤組成物

【表3】

成分	組成物 (組成物の重量%)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
アルキルベンゼンスルホン酸	7	11	4.5	1.2	1.5	12.5	5.2	4
C _{12~14} アルキルエトキシ三硫酸ナトリウム	2.3	3.5	4.5	4.5	7	18	1.8	2
C _{14~15} アルキル8-エトキシレート	5	8	2.5	2.6	4.5	4	3.7	2
C ₁₂ アルキルジメチルアミノキシド	—	—	0.2	—	—	—	—	—
C _{12~14} アルキルヒドロキシエチルジメチルアンモニウムクロリド	—	—	—	0.5	—	—	—	—
C _{12~18} 脂肪酸	2.6	4	4	2.6	2.8	11	2.6	1.5
クエン酸	2.6	3	1.5	2	2.5	3.5	2.6	2
プロテアーゼ*	0.05	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02
アミラーゼ(Natalase(登録商標))	0.1	0.2	0.15	—	0.05	0.5	0.1	0.2
マンナーゼ(Mannaway(登録商標))	0.05	0.1	0.05	—	—	0.1	0.04	—
ランダムグラフトコポリマー ¹	1	0.2	1	0.4	0.5	2.7	0.3	1
次の一般構造:ビス((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(CH ₃)—N ⁺ —C ₆ H _{2x} —N ⁺ —(CH ₃)—ビス((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(式中、nは20～30であり、xは3～8である)を有する化合物、又はこのサルフェート化若しくはスルホネート化変異体	0.4	2	0.4	0.6	1.5	1.8	0.7	0.3
エトキシル化ポリエチレニミン ²	—	—	—	—	—	0.5	—	—
両親媒性アルコキシル化グリース洗浄ポリマー ³	0.1	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3
ジエトキシル化ポリ(1,2プロピレンテレフタレート)のショートブロック汚れ分散ポリマー。	—	—	—	—	—	—	0.3	—
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン)酸	0.2	0.3	—	—	0.2	—	0.2	0.3
ヒドロキシエタンジホスホン酸	—	—	0.45	—	—	1.5	—	0.1
FWA	0.1	0.2	0.1	—	—	0.2	0.05	0.1
溶媒(1,2プロパンジオール、エタノール)、安定剤	3	4	1.5	1.5	2	4.3	2	1.5
硬化ヒマシ油から誘導された構造化剤	0.4	0.4	0.3	0.1	0.3	—	0.4	0.5
ホウ酸	1.5	2.5	—	1.5	1.5	0.5	1.5	1.5
ギ酸ナトリウム	—	—	—	1	—	—	—	—
可逆的プロテアーゼ抑制剤 ⁴	—	—	0.002	—	—	—	—	—
香料	0.5	0.7	0.5	0.5	0.8	1.5	0.5	0.8
香料マイクロカプセルスラリー(30%am)	0.2	0.3	0.7	0.2	0.05	0.4	0.9	0.7
エトキシル化チオフェン色調染料 ⁵	0.005	0.007	0.010	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008
緩衝剤(水酸化ナトリウム、モノエタノールアミン)	pH 8.2まで							
水及び微量物質(消泡剤、審美剤など)	100%まで							

【0287】

（実施例9～16）

トップローディング式自動洗濯機に好適な液体洗濯洗剤組成物

【表 4】

成分	組成物 (組成物の重量%)							
	9	10	11	12	13	14	15	16
C ₁₂₋₁₈ アルキルエトキシ(1.8)サルフェート	20.1	15.1	20.0	15.1	13.7	16.7	10.0	9.9
C ₁₁₋₈ アルキルベンゼンスルホネート	2.7	2.0	1.0	2.0	5.5	5.6	3.0	3.9
C ₁₈₋₁₇ 分枝鎖アルキルサルフェート	6.5	4.9		4.9	3.0	9.0	2.0	
C ₁₂₋₁₄ アルキル-9-エトキシレート	0.8	0.8	0.8	0.8	8.0	1.5	0.3	11.5
C ₁₂ ジメチルアミノオキシド			0.9					
クエン酸	3.8	3.8	3.8	3.8	3.5	3.5	2.0	2.1
C ₁₂₋₁₈ 脂肪酸	2.0	1.5	2.0	1.5	4.5	2.3		0.9
プロテアーゼ*	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
アミラーゼ(Natalase(登録商標))	0.7	0.3	0.6	0.3	0.6	0.4		
アミラーゼ(Termamyl Ultra(登録商標))								1.1
マンナーゼ(Mannaway(登録商標))	0.1					0.1		
ペクチン酸リアーゼ(Pectawash(登録商標))	0.1					0.2		
ホウ砂	3.0	3.0			2.0	3.0	3.0	3.3
Na&Ca硫酸塩	0.2	0.2		0.2	0.2		0.7	
次の一般構造:ビス((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n) (CH ₃) ₂ N ⁺ -C ₂ H _{2x} -N ⁺ (CH ₃)-ビス ((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n) (式中、nは20~30であり、 xは3~8である)を有する化合物、又はこの サルフェート化若しくはスルホネート化変異体	1.6	1.6	3.0	1.6	2.0	1.6	1.3	1.2
ランダムグラフトコポリマー ¹	0.4	0.2	1.0	0.5	0.6	1.0	0.8	1.0
ジエチレントリアミン五酢酸	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2	0.3	0.8	
Tinopal AMS-GX	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	
Tinopal CBS-X						0.1		0.2
両親媒性アルコキシル化グリース洗浄ポリマー ³	1.0	1.3	1.3	1.4	1.0	1.1	1.0	1.0
Texcare 240N(Clarant)				1.0				
エタノール	2.6	2.6	2.6	2.6	1.8	3.0	1.3	
プロピレングリコール	4.6	4.6	4.6	4.6	3.0	4.0	2.5	
ジエチレングリコール	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.7	3.6	
ポリエチレングリコール	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.1	1.4
モノエタノールアミン	2.7	2.7	2.7	2.7	4.7	3.3	1.7	0.4
トリエタノールアミン								0.9
NaOH	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.3まで	pH 8.5まで
抑泡剤								
染料	0.01	0.01	0.01		0.01	0.01	0.01	0.0
香料	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.8	0.6
香料マイクロカプセルスラリー(30%am)	0.2	0.5	0.2	0.3	0.1	0.3	0.9	1.0
エトキシル化チオフェン色調染料 ⁵	0.003	0.002	0.002	0.005	0.002	0.004	0.004	0.003
水	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部

【0 2 8 8】

(実施例 1 7 ~ 2 2)

下記は、布地洗濯に適した、本発明に従って製造された顆粒状洗剤組成物である。

【表 5】

	17	18	19	20	21	22
脂肪酸炭素鎖長さがC ₁₁ ~C ₁₂ の直鎖アルキルベンゼンスルホネート	15	12	20	10	12	13
その他の界面活性剤	1.6	1.2	1.9	3.2	0.5	1.2
リン酸塩ビルダー	2	3	4			
ゼオライト		1		1	4	1
ケイ酸塩	4	5	2	3	3	5
炭酸ナトリウム	2	5	5	4	0	3
ポリアクリレート(MW 4500)	1	0.6	1	1	1.5	1
カルボキシメチルセルロース (CPKelcoからのFinnfix BDA)	1	—	0.3	—	1.1	—
Celluclean(登録商標)(15.6mg/g)	0.23	0.17	0.5	0.2	0.2	0.6
プロテアーゼ*	0.23	0.17	0.05	0.2	0.03	0.1
Stainzyme Plus(登録商標)(14mg/g)	0.23	0.17	0.5	0.2	0.2	0.6
Mannaway 4.0T(4mg/g)	0.1			0.1		0.1
Lipex 100T(18.6mg/g)	0.2		0.1		0.3	
蛍光増白剤	0.16	0.06	0.16	0.18	0.16	0.16
ジエチレントリアミン五酢酸又はエチレンジアミン四酢酸	0.6		0.6	0.25	0.6	0.6
MgSO ₄	1	1	1	0.5	1	1
漂白剤及び漂白活性剤	6.88		6.12	2.09	1.17	4.66
エトキシル化チオフェン色調染料 ⁵	0.002	0.001	0.003	0.003	—	—
Ciba Specialty ChemicalsからのDirect Violet 9				0.0006	0.0004	0.0006
硫酸塩/クエン酸/重炭酸ナトリウム/水分/香料	100%にする残部					

¹ ランダムグラフトコポリマーは、ポリエチレンオキシド主鎖と複数のポリビニルアセテート側鎖とを有する、ポリビニルアセテートグラフト化ポリエチレンオキシドコポリマーである。ポリエチレンオキシド主鎖の分子量は約6000であり、ポリ酢酸ビニルに対するポリエチレンオキシドの重量比は約40:60であり、エチレンオキシド単位50個当たりグラフト点は1個以下である。

² —NHにつき20個のエトキシル基を有するポリエチレンジアミン(MW=600)。

³ 両親媒性グリース洗浄ポリマーは、—NHにつき24個のエトキシル基、及び—N

10

20

30

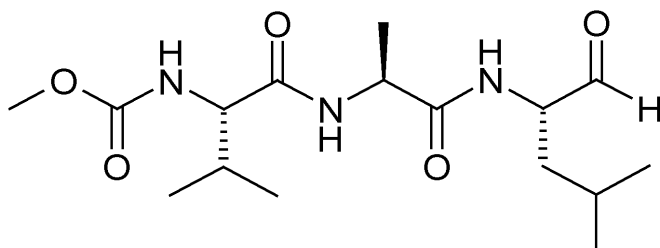
40

50

Hにつき16個のプロポキシル基を有するポリエチレンイミン (MW=600) である。

⁴ 次の構造を有する可逆性プロテアーゼ抑制剤。

【化 4】



⁵ エトキシ化チオフェン色調染料については米国特許第 7, 208, 459 (B2) 号に記述されている。

* 注：製品に添加した活性タンパク質%として表されるプロテアーゼ（本発明のもの）を除き、すべての酵素濃度は酵素原材料%として表される。

【 0 2 8 9 】

(実施例 23 ~ 25)

以下は、縦型自動洗濯機（２３及び２４）及びドラム式洗濯機（２５）に好適な液体洗濯洗剤組成物である。

【表 6】

成分	組成物 (組成物の重量%)		
	23	24	25
C _{12~15} アルキルエトキシ(1. 8)サルフェート	14. 7	11. 6	
C _{11. 8} アルキルベンゼンスルホネート	4. 3	11. 6	8. 3
C _{16~17} 分枝鎖アルキルサルフェート	1. 7	1. 29	
C _{12~14} アルキル-9-エトキシレート	0. 9	1. 07	
C12ジメチルアミノオキシド	0. 6	0. 64	
クエン酸	3. 5	0. 65	3
C _{12~18} 脂肪酸	1. 5	2. 32	3. 6
ホウ酸ナトリウム(ホウ砂)	2. 5	2. 46	1. 2
C _{12~14} アルキルエトキシ三硫酸ナトリウム			2. 9
C _{14~15} アルキル7-エトキシレート			4. 2
C _{12~14} アルキル-7-エトキシレート			1. 7
ギ酸カルシウム	0. 09	0. 09	
次の一般構造:ビス((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(CH ₃)-N ⁺ -C _x H _{2x} -N ⁺ -(CH ₃)-ビス((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(式中、nは20~30であり、xは3~8である)を有する化合物、又はこのサルフェート化若しくはスルホネート化変異体			1. 2
ランダムグラフトコポリマー ¹		1. 46	0. 5
エトキシ化ポリエチレンイミン ²	1. 5	1. 29	
ジエチレントリアミン五酢酸	0. 34	0. 64	
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン酸)			0. 3
Tinopal AMS-GX		0. 06	
Tinopal CBS-X	0. 2	0. 17	
両親媒性アルコキシル化グリース洗浄ポリマー ³	1. 28	1	0. 4
エタノール	2	1. 58	1. 6
プロピレングリコール	3. 9	3. 59	1. 3
ジエチレングリコール	1. 05	1. 54	
ポリエチレングリコール	0. 06	0. 04	
モノエタノールアミン	3. 05	2. 41	0. 4
NaOH	2. 44	1. 8	
クメンスルホン酸ナトリウム			1
ギ酸ナトリウム		0. 11	
水、審美剤(染料、香料)及び微量成分(酵素、溶媒、構造剤)	残部	残部	残部

¹ ランダムグラフトコポリマーは、ポリエチレンオキシド主鎖と複数のポリビニルアセテート側鎖とを有する、ポリビニルアセテートグラフト化ポリエチレンオキシドコポリ

マーである。ポリエチレンオキシド主鎖の分子量は約6000であり、ポリ酢酸ビニルに対するポリエチレンオキシドの重量比は約40：60であり、エチレンオキシド単位50個当たりグラフト点は1個以下である。

² -NHにつき20個のエトキシル基を有するポリエチレンイミン (MW=600) 。

³ 両親媒性グリース洗浄ポリマーは、-NHにつき24個のエトキシル基、及び-NHにつき16個のプロポキシル基を有するポリエチレンイミン (MW=600) である。

【0290】

(実施例26～30)

以下は、縦型自動洗濯機 (26～28) 及びドラム式洗濯機 (29～30) に好適な粒 10
状洗濯洗剤組成物である。

【0291】

本発明のプロテアーゼをこれらの配合物に別個に添加した。

【表 7】

	26	27	28	29	30
界面活性剤					
C _{16~17} 分枝鎖アルキルサルフェート	3. 55				
C _{12~14} アルキルサルフェート			1. 5		
脂肪鎖長がC ₁₁ ~C ₁₂ の直鎖アルキルベンゼンスルホネート	9. 6	15. 8	10. 6	7. 5	9
ナトリウムC _{14/15} アルコールエトキシー-3-サルフェート	1. 15			2. 88	
ナトリウムC _{14/15} アルキルサルフェート	2. 37				
平均7モルのエトキシル化されたC _{14/15} アルコールエトキシレート				1. 17	1
モノ-C _{8~10} アルキルモノ-ヒドロキシエチルジ-メチル四級アンモニウム塩化物					0. 45
ジメチルヒドロキシエチルラウリルアンモニウムクロリド			0. 18		
ゼオライトA	13. 9	4. 7	0. 01	2. 9	1. 8
ケイ酸ナトリウム(1. 6比)	4	0. 2		4	4
ケイ酸ナトリウム(2. 35比)			8		
クエン酸				2. 5	1. 4
トリポリリン酸ナトリウム			5		
炭酸ナトリウム	24. 1	30	16. 9	24. 4	21
ノナノイルオキシベンゼンスルホネート	5. 78	2. 81	0. 96		
オキサジリジン(Oxaziridinium)系漂白増進剤				0. 03	0. 017
S. S. -エチレンジアミンニコハク酸テトラナトリウム塩				0. 2	
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン酸)ヘプタナトリウム塩	0. 61				0. 33
ヒドロキシエタンジメチレンホスホン酸				0. 29	0. 45
エチレンジアミン四酢酸			0. 27		
MgSO ₄			0. 47	0. 5994	0. 782
過炭酸ナトリウム	7	4. 4		15. 9	19. 1
テトラアセチルエチレンジアミン				3. 3	4. 6
過ホウ酸ナトリウム-水和物			1. 2		
カルボキシメチルセルロース (例えば、CPKelcoからのFinnfix BDA)	0. 1		0. 17	1. 69	0. 23
アクリル酸/マイレン酸コポリマー(70/30)ナトリウム	0. 0236	3. 8		2	2. 5
ポリアクリル酸ナトリウム(Sokalan PA30 CL)	4		0. 84		
テレフタレートポリマー				0. 23	
ポリエチレングリコール/酢酸 ビニルランダムグラフトコポリマー			0. 89	0. 89	0. 91
亜鉛フタロシアニンテトラスルホン酸塩			0. 005	0. 001	0. 002
C. I. 蛍光増白剤260	0. 11	0. 15	0. 04	0. 23	0. 15
C. I. 蛍光増白剤351(Tinopal(登録商標)CBS)			0. 1		
抑泡剤顆粒		0. 25		0. 07	0. 04
疎水変性カルボキシメチルセルロース(Finnifix(登録商標)SH-1)			0. 019	0. 028	
ベントナイト			8. 35		
その他の成分(染料、香料、加工助剤、水分及び硫酸ナトリウム)	残部	残部	残部	残部	残部

【0 2 9 2】

実施例 2 6 ~ 3 0 についての注記

界面活性剤成分は、BASF (Ludwigshafen, Germany) (Lutensol (登録商標))、Shell Chemicals (London, UK)、Stepan (Northfield, Illinois, USA)、Huntsman (Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA)、Clariant (Sulzbach, Germany) (Praepagen (登録商標)) から入手することができる。

【0 2 9 3】

ゼオライトは、Industrial Zeolite (UK) Ltd (Grays, Essex, UK) から入手することができる。

【0 2 9 4】

10

20

30

40

50

クエン酸及びクエン酸ナトリウムは、Jungbunzlauer (Basel, Switzerland) から入手することができる。

【0295】

過炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム及びセスキ炭酸ナトリウムは、Solvay (Brussels, Belgium) から入手することができる。

【0296】

アクリレート／マレエートコポリマーは、BASF (Ludwigshafen, Germany) から入手することができる。

【0297】

カルボキシメチルセルロース及び疎水変性カルボキシメチルセルロースは、CPKelco (Arnhem, The Netherlands) から入手することができる。

【0298】

C. I. 蛍光増白剤260は、3V Sigma (Bergamo, Italy) から Optiblanc (登録商標)、Optiblanc (登録商標) 2M/G、Optiblanc (登録商標) 2MG/LT Extra又はOptiblanc (登録商標) Ecobrightとして入手することができる。

【0299】

テトラナトリウムS, S-エチレンジアミンニコハク酸塩は、Innospec (Ellesmere Port, UK) から入手することができる。

【0300】

テレフタレートコポリマーは、Clariantから商品名Repelotex SF 2として入手することができる。

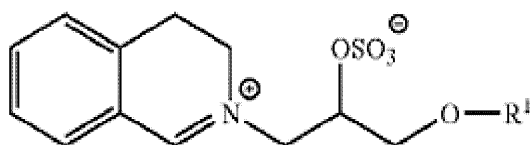
【0301】

1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸は、Thermphos (Vlissingen-Oost, The Netherlands) から入手することができる。

【0302】

オキサジリジン系漂白増進剤は、式中、R1=2-ブチルオクチルである以下の構造を有するものであり、米国特許第2006/0089284A1号に従って製造される。

【化5】



【0303】

酵素Natalase (登録商標)、Termamyl (登録商標)、Stainzyme Plus (登録商標)、Celluclean (登録商標) 及びMannaway (登録商標) は、Novozymes (Bagsvaerd, Denmark) から入手することができる。

【0304】

亜鉛フタロシアニンテトラスルホネートは、Ciba Specialty Chemicals (Basel, Switzerland) からTinolux (登録商標) BMCとして入手することができる。

【0305】

抑泡剤粒剤は、Dow Corning (Barry, UK) から入手することができる。

【0306】

ランダムグラフトコポリマーは、ポリエチレンオキシド主鎖と複数のポリビニルアセテート側鎖とを有する、ポリビニルアセテートグラフト化ポリエチレンオキシドコポリマーである。ポリエチレンオキシド主鎖の分子量は約6000であり、ポリ酢酸ビニルに対するポリエチレンオキシドの重量比は約40:60であり、エチレンオキシド単位50個当

10

20

30

40

50

たりグラフト点は1個以下である。

【0307】

(実施例31)

GG36部位評価ライブラリ(SEL)の作成

本実施例に記載のGG36SELの構築は、その適切な方法、並びに遺伝子最適化、遺伝子合成、ライブラリ作成、及び解析のための技術基盤を用いGENEARTにより実施された(国際公開第2004/059556(A3)号、欧州特許番号第0200362号及び同第0201184号、並びに米国特許第4,683,195号、同第4,683,202号及び同第6,472,184号)。GG36SELは、枯草菌発現プラスミドpHPLT-GG36(図2を参照)を用い、本発明者らにより予め選択された位置で作成した。この枯草菌の発現プラスミドは、以下に示すGG36発現カセットを含有するものである: B. リケニフォルミスのLATプロモーター(Plat)、並びにレプリカーゼ遺伝子(repUB)、ネオマイシン/カナマイシン耐性遺伝子(neo)及びブレオマイシン耐性マーカー(bleo)が挙げられる、pUB110由来の更なる要素(McKenzieら、Plasmid, 15:93~103, 1986)(米国特許第6,566,112号、図4を参照されたい)。

【0308】

GG36のDNA配列(シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及びGG36成熟配列は大文字で示される)

【0309】

[配列表1]

gtgagaagcaaaaaattgtggatcgtcgcgtcgaccgcactactcatttctgttgccttcagttcatcgatcgcatcggtcgtgaagaagcaa
aagaaaaatatttaattggctttaatgagcaggaagctgtcagtgagttgtagaacaagtagaggcaaatgacgaggtcgccattctctga
ggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcatgaatttgaacgattcctgtttatccgttgagtttaagcccagaagatgtggacgcgcttgag
ctcgatccagcgatttcttatattgaagaggatgcagaagtaacgacaatgGCGCAATCAGTGCCATGGGGAATTAG
CCGTGTGCAAGCCCCAGCTGCCCCATAACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAAAAGT
TGCTGTCCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATTCGTGGTGGCGCT
AGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGT
GGCCGGGACGATTGCTGCTTTAAACAATTCGATTGGCGTTCTTGGCGTAGCGCCGAG
CGCGGAACCTATACGCTGTTAAAGTATTAGGGGCGAGCGGTTTCAGGTTTCGGTCAGCTC
GATTGCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCTAATTTGA
GTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGCGACTT
CTAGAGGCGTTCTTGTGTAGCGGCATCTGGAAATTCAGGTGCAGGCTCAATCAGCT
ATCCGGCCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCGGAGCTACTGACCAAAACAACAAC
CGCGCCAGCTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATTGTCGCACCAGGTGTAAAC
GTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGCT
ACTCCTCATGTTGCAGGTGCAGCAGCCCTTGTTAAACAAAAGAACCCATCTTGGTCC
AATGTACAAATCCGCAATCATCTAAAGAATACGGCAACGAGCTTAGGAAGCACGAA
CTTGTATGGAAGCGGACTTGTCAATGCAGAAGCTGCAACTCGTTAA

【0310】

配列番号4は、完全配列であり、プロペプチド及びシグナルペプチドを含む。

【0311】

GG36のタンパク質配列(シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及びGG36成熟プロテアーゼ配列は大文字で示される)

【0312】

〔配列表 2〕

vrskklwivastallisvafssiasaaceakekyligfneqavsefveqveandevailseeeveieillhefetipvlsvlspedvdal
 eldpaisyieedaevttmAQSVPWGISRVQAPAAHNRLTGTSGVKVAVLDTGISTHPDLNIRGGA
 SFVPGEPSTQDGNGHGHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGSGSVSSIAQ
 GLEWAGNNGMHVANLSLGSPPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGAGSISYPARY
 ANAMAVGATDQNNNRASFSQYGAGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVA
 GAAALVKQKNPSWSNVQIRNHLKNTATSLGSTNLYGSLVNAEAAATR

【0313】

10

配列番号1は成熟配列であり、配列番号3もまたシグナル及びプロペプチドを含む。

【0314】

変異導入の方法は、対象とする部位に縮重コドン、NNS（（A、C、T又はG）、（A、C、T又はG）、（C又はG））を含有する順方向及び逆方向変異導入プライマーを用い、対象とする特定のコドンにすべての可能なアミノ酸置換を同時に生成する、コドン特異的な変異法に基づくものであった。各GG36SELを構築するために、3種のPCR反応を実施した：2種の変異導入反応（一次PCR1及びPCR2）では、NNS順方向及び逆方向変異導入プライマー（25～45ヌクレオチド長）を用い、成熟GG36DNA配列中に対象とする成熟コドンを導入し、第3の反応では2種の変異導入PCR産物を一緒に融合させて、成熟GG36配列中に所望の変異コドンを有するpHPLT-GG36発現ベクターを構築する。

20

【0315】

本実施例で使用されるプライマー配列は以下に提供されるものである：

【表8】

CGCGCTTGAGCTCGATCCAGCGATTTC	SacI-Fw
GTCTCCAAGCTTTAACGAGTTGCAG	HindIII-Rv
GCAATTCAGATCTTCCTTCAGGTTATGACC	pHPLT-BglII-Fw
GCATCGAAGATCTGATTGCTTAAGTCTTC	pHPLT-BglII-Rv

30

【0316】

すべてのPCRにPhusion High-Fidelity DNAポリメラーゼ（Finnzymesカタログ番号F-530L）を使用し、ポリメラーゼを供給している製造元のプロトコルに従い実施した。具体的には、一次PCR1では、1μL（10μM）の各pHPLT-BglII-Fwプライマー及びNNS逆方向変異導入プライマーを使用し、一次PCR2では、1μL（10μM）のpHPLT-BglII-Rvプライマー及びNNS順方向変異導入プライマーを使用した。また、各反応には、1μLのpHPLT-GG36プラスミドテンプレートDNA（0.1～1ng/μL）を含んだ。PCRには、MJ Research PTC-200 Peltier thermal cyclerを使用した。この反応は、対象とするGG36コドンを包囲しておよそ30ヌクレオチドが重複している、およそ2～3kbのフラグメントを2種生成した。得られたフラグメントを、1μLの一次PCR1反応混合物、1μLの一次PCR2反応混合物、及び1μL（10μM）の各順方向及び逆方向SacI-Fw及びHindIII-Rvプライマーを用い、前記のものと同様の第三PCRで融合させた。GG36変異体遺伝子をコードしている、増幅させた線状の859bpのフラグメントを精製し（QIAGEN（登録商標）Qiaquick PCR精製キットを用いた）、SacI及びHindIII制限酵素で消化して融合フラグメントの両端に接着端を作製した。SacI及びHindIIIで消化した後に、約50ngのプラスミドpHPLT-GG36も精製し、3.9kbのベクター主鎖フラグメントを得た。接着端をクローニングするための製造元のプロトコルに従い、T4 DNAリガーゼ（Invitrogen）を用い、

40

50

消化したベクターフラグメントを、酵素変異体をコードしている消化した859bpのフラグメント50ngとライゲーションした。続いて、ライゲーション混合物を使用して枯草菌細胞を国際公開第2002/014490号に記載のように形質転換した($\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $oppA$, $\Delta spoII E$, $degUHy32$, $\Delta amyE::[xylR, pxyIA-comK]$)。

【0317】

更なる生化学的解析のために変異体タンパク質を発現させるべく、GG36変異体プラスミドを保持している枯草菌株を、 $10\mu g/mL$ のネオマイシンを添加した $150\mu L$ のルリアブロス培地を含有しているマイクロタイタープレートに接種した。マイクロタイタープレートにEnzyScreen lid (EnzyScreen)を用い、プレートを $37^{\circ}C$ 、80%湿度にて、300rpmで振盪させながら一晩増殖させた。 $10\mu g/mL$ のネオマイシンを添加した $190\mu L$ のMBD培地(MOPS系合成培地)を含有している新しいマイクロタイタープレートに、一晩培養プレートを10マイクロリットル接種した。 NH_4Cl 、 $FeSO_4$ 、及び $CaCl_2$ を基本培地から除外したこと、3mMの K_2HPO_4 を用いたこと、並びに、60mMの尿素、及び、 $210g/L$ のグルコースと $350g/L$ マルトデキストリンとから作製した100mLの溶液を含有させたこと、を除き、MBD培地は本質的に当該技術分野において既知であるように調製した(Neidhardt et al., J. Bacteriol. 119:736~747 [1974]を参照されたい)。微量栄養素は、400mgの $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 、100mgの $MnSO_4 \cdot H_2O$ 、100mgの $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、50mgの $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 、100mgの $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 、100mgの $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 、100mgの $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 、10mLの1Mの $CaCl_2$ 、及び10mLの0.5Mのクエン酸ナトリウムを含有している、1リットルの100X原液からなっていた。タンパク質発現を決定するために、EnzyScreen lids (EnzyScreen)を用いて、MBD培地を含有しているマイクロタイタープレートで、 $37^{\circ}C$ 、80%湿度にて、300rpmで、68時間にわたって増殖させた。翌日、培養物をマイクロフィルタプレート($0.22\mu m$, Millipore)で濾過し、得られた濾液を生化学的解析に使用した。試験方法の項で記載したように、TCA、LAS/EDTA及びBMIマイクロ材料見本アッセイを行った。試験方法の項のBMIアッセイの説明で記載したように性能指数もた計算し、これらを表2-1に示す。

【0318】

【表 9 - 1】

表 2 - 1 : 試験方法 3 を用いる BMI マイクロ材料見本アッセイでの、GG36 と比較した GG36 変異体の性能指数 (PI) 値

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	BMI、実施例26の洗剤、16C、PI
Q2S	1. 1
V4R	1. 1
V4S	1. 1
R10S	1. 1
P14K	1. 1
A16S	1. 1
T22A	1. 1
T22R	1. 1
S24R	1. 2
G25V	1. 1
V26F	1. 1
L42I	1. 2
P52F	1. 2
P52E	1. 1
P52N	1. 1
N62E	1. 1
N62Q	1. 1
V68A	1. 1
V68C	1. 1
T71G	1. 2
I72C	1. 2
A74C	1. 1
L75A	1. 1
L75F	1. 1
S78R	1. 1
E89P	1. 2
E89T	1. 2
E89G	1. 1
E89H	1. 1
E89W	1. 1
Y91N	1. 3
K94N	1. 1
G100S	1. 1

10

20

30

40

【 0 3 1 9】

【表 9 - 2】

(表 2 - 1 の続き)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	BMI、実施例26の洗剤、16C、PI
S101A	1. 2
S101N	1. 1
S101G	1. 1
S101D	1. 1
S103G	1. 3
S103N	1. 2
V104L	1. 1
V104I	1. 1
A108I	1. 1
L111V	1. 5
E112V	1. 2
G115K	1. 1
N117F	1. 1
V121F	1. 1
S128D	1. 2
S128F	1. 1
S128L	1. 1
S128N	1. 1
P129E	1. 1
L148I	1. 1
A158E	1. 1
G159E	1. 1
S160D	1. 2
S166D	1. 2
N185E	1. 1
R186H	1. 1
S188E	1. 2
S188D	1. 1
V203E	1. 2
Y209S	1. 2
Y209N	1. 2
Y209F	1. 1
Y209T	1. 1

【 0 3 2 0 】

10

20

30

40

【表 9 - 3】

(表 2 - 1 の続き)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	BMI、実施例26の洗剤、16C、PI
Y209E	1. 1
Y209H	1. 1
Y209G	1. 1
P210R	1. 1
S212I	1. 2
Y214F	1. 1
A215N	1. 1
A215D	1. 1
A215E	1. 1
L217E	1. 1
L217N	1. 1
T224A	1. 1
A230E	1. 1
A231I	1. 1
Q236F	1. 1
N238R	1. 1
N238K	1. 1
P239K	1. 2
P239G	1. 2
P239R	1. 1
N248V	1. 1
H249R	1. 1
L250I	1. 1
L262D	1. 1
Y263F	1. 1
S265F	1. 1
L267V	1. 2
L267N	1. 1
N269I	1. 1
E271I	1. 1
E271H	1. 1
A272F	1. 2

【0 3 2 1】

表 2 - 2 : 実施例 2 9 の洗剤を用いる BMI マイクロ材料見本アッセイでの、GG 3 6 と比較した GG 3 6 変異体の性能指数 (PI) 値

1 6 C にて試験方法 2 を用いて、以下の変異体の性能指数をアッセイした。

【0 3 2 2】

【表 10 - 1】

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	PI
V4R	1. 1
H17R	1. 1
N18R	1. 1
G20R	1. 1
T22R	1. 1
S24R	1. 1
S24W	1. 1
G25R	1. 1
N43R	1. 1
N43A	1. 1
G46R	1. 1
P52F	1. 1
P52N	1. 1
T57R	1. 1
Q59A	1. 1
N62Q	1. 1
T71G	1. 2
L75R	1. 1
N76D	1. 1
S78R	1. 1
L82R	1. 1
P86W	1. 1
E89P	1. 2
E89W	1. 1
E89T	1. 1
E89I	1. 1
E89H	1. 1
E89V	1. 1
V104L	1. 1

10

20

30

【0323】

【表 10-2】

(上記表の続き)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	PI
S106V	1. 1
S106G	1. 1
G115R	1. 1
G118I	1. 2
V121F	1. 1
S144R	1. 1
N185I	1. 1
D197F	1. 1
Y209N	1. 1
Y209S	1. 1
L217E	1. 1
A231I	1. 1
P239R	1. 1
P239S	1. 1
W241R	1. 1
S242R	1. 1
S242L	1. 1
N243R	1. 2
V244R	1. 1
N248I	1. 1
H249R	1. 1
N252R	1. 1
T253R	1. 1
E271T	1. 2
E271V	1. 1
E271L	1. 1
E271H	1. 1
E271F	1. 1
E271P	1. 1

【0324】

(実施例32)

GG36 変異体のNHJ1 及びWCE1 の組の構築及びクリーニング性能

本明細書に記載のGG36 変異体のNHJ1 及びWCE1 の組は、DNA 2.0, Inc. (Menlo Park, CA) にて、その独自の方法で前記の枯草菌発現プラスミドpHPLT-GG36 (図2) を使用して、構築した。実施例31 に記載のように枯草菌細胞(遺伝子型: ΔaprE、ΔnprE、amyE::xyLRPxyLAcomK-phleo) で変異体を発現させ、試験方法の項に記載のようにTCA 及びBMI マイクロ材料見本アッセイを用いて更に特徴付けした。

【0325】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1】

表 3 - 1 : 試験方法 3 での、GG 3 6 と比較した NH J 1 変異体の性能指数 (P I) 値

配列番号 1 に対する変異 (BPN' 番号)	16C にて実施例 26 の洗剤で判定された PI
N062E-P129E	1. 2
N062E-G159E	1. 2
A016S-L148I	1. 2
A158E-H249R	1. 2
A016S-N062E	1. 2
L111V-S188D	1. 2
T022A-N062E	1. 2
N062E-L148I	1. 2
T022A-P129E	1. 1
N062E-E271F	1. 1
N062E-A158E	1. 1
A016S-G159E	1. 1
N062E-R186H	1. 1
S128N-G159E	1. 1
N062E-S188D	1. 1
N062E-S128N	1. 1
L148I-G159E	1. 1
S103G-A158E	1. 1
L111V-G159E	1. 1
A158E-E271F	1. 1
A016S-S188D	1. 1
T022A-L111V	1. 1
S128N-A158E	1. 1
A016S-A158E	1. 1
V104L-A158E	1. 1
S128N-R186H	1. 1
G159E-Y209E	1. 1
N062E-S101A	1. 1
L111V-Y209E	1. 1

【 0 3 2 6 】

10

20

30

【表 1 1 - 2】

(表 3 - 1 の続き)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	16Cにて実施例26の洗剤で判定されたPI
L148I-S188D	1. 1
S101A-Y209E	1. 1
T022A-S188D	1. 1
A016S-T022A	1. 1
S128N-P129E	1. 1
A016S-Y209E	1. 1
A016S-S128N	1. 1
T022A-E089P	1. 1
S128N-Y209E	1. 1
E089P-A158E	1. 1
N062E-S103G	1. 1
R186H-E271F	1. 1
A016S-P129E	1. 1
E089P-G159E	1. 1
L111V-H249R	1. 1
S101A-P129E	1. 1
L148I-Y209E	1. 1
T022A-G159E	1. 1
P129E-H249R	1. 1
P129E-Y209E	1. 1
V104L-P129E	1. 1
S128N-S188D	1. 1
L111V-A158E	1. 1
T022A-A158E	1. 1
N062E-Y209E	1. 1
N062E-H249R	1. 1
S101A-R186H	1. 1
E089P-P129E	1. 1
P129E-E271F	1. 1

【 0 3 2 7 】

10

20

30

【表 1 2】

表 3-2 : 試験方法 2 を用いる BMI マイクロ材料見本アッセイでの、GG36 と比較した WCE1 変異体の性能指数 (PI) 値

配列番号 1 に対する変異 (BPN' 番号)	実施例 29 からの洗剤を使用する 16C における PI
T022R-S024R	1. 2
S009A-E271L	1. 1
N018R-W241R	1. 1
N018R-G115R	1. 1
N043R-H249R	1. 1
G020R-H249R	1. 1
V004R-H249R	1. 1
G020R-S024R	1. 1
N018R-H249R	1. 1
S009A-G020R	1. 1
G020R-W241R	1. 1
S009A-S078R	1. 1
G020R-G115R	1. 1
N018R-S024R	1. 1
S024R-S242R	1. 1
T022R-G115R	1. 1
N018R-N043R	1. 1
G020R-N043R	1. 1
N018R-S242R	1. 1
S242R-N269R	1. 1
N018R-V244R	1. 1
S024R-N269R	1. 1
G020R-E271L	1. 1
S024R-E271L	1. 1
V004R-S009A	1. 1
G020R-N269R	1. 1
A001R-S024R	1. 1
V244R-E271L	1. 1
S009A-N018R	1. 1
W241R-E271L	1. 1
V004R-S024R	1. 1
S009A-H249R	1. 1
S009A-T022R	1. 1

【0 3 2 8】

(実施例 3 3)

GG36 変異体の NHJ4 の組の構築及びクリーニング性能

下表 4-4 に記載の GG36 変異体の NHJ4 の組を、以下に記載するように、融合 PCR 又は QUICKCHANGE (登録商標) 多部位特異的変異導入キット (「QCMS キット」、Stratagene) を使用し、枯草菌発現プラスミド pHPLT-GG36 (図 2) を用い構築した。

【0 3 2 9】

a) QuickChange (登録商標) 多部位特異的変異導入 (QCMS) による、NHJ4 変異体の構築

QuikChange（登録商標）多部位特異的変異導入により作製した変異体を表4-4に示す。2マイクログラムのDNAとDamメチラーゼ（New England Biolabs）を製造元の取扱説明書に従って使用して、親プラスミドpHPLT-GG36（テンプレートDNA）をメチル化した。製造元のプロトコルに従ってQuikChange（登録商標）多部位特異的変異導入キット（「QCMSキット」；Stratagene）により部位特異的変異を作製した（プライマー配列については表4-1を参照されたい）。枯草菌の効率的な形質転換については、Illustra Templiphiキット（GE Healthcare）を製造元のプロトコルに従って使用してローリング・サークル型増幅（RCA）を行うことにより、QCMS反応からDNAを増幅させた。1マイクロリットルの、10倍希釈した増幅DNAを使用して、コンピテントな枯草菌細胞（遺伝子型：ΔaprE, ΔnprE, amyE::xylRPxylAcomK-phleo）50μLを形質転換させた。形質転換混合物を37℃にて1時間にわたって振盪した。形質転換混合物の10マイクロリットルアリコートをし、10μg/mLのネオマイシンを添加したスキムミルク（1.6%）Luria寒天プレートに蒔いた。続いて、プラスミドDNAを抽出するため（QIAprep Spinミニプレップキット、Qiagen）、ハローを生じたコロニーを10μg/mLのネオマイシンを含有している120μLのLuriaブロス培地に接種した。抽出したプラスミドを、配列決定して、所望の変異が存在しているか確認した。

【0330】

【表13】

表4.1 QCMS法でのNHJ4変異体の構築に用いられたプライマー配列

導入した変異 (BPN'番号)	プライマー名	プライマー配列(5'ーリン酸化)
S101A S103G V104L	P5939	AAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTGGACTTAGCTCGATTGCCCAAGGAT TG(配列番号5)
G159E	P5940	CATCTGGAAATTCAGGTGCAGAATCAATCAGCTATCCGCGCCCGTTA (配列番号6)
T22A	P5941	CTGCCCATAACCGTGGATTGGCAGGTTCTGGTGTAAAAGTTGCTG (配列番号7)
Y209E	P5942	AGGTGTAAACGTGCAGAGCACAGAACCAGGTTCAACGTATGCCAG (配列番号8)
E271F	P5943	GAAGCGGACTTGTCAATGCATTCGCTGCAACTCGTTAAAGCTTG (配列番号9)
S101A	P5944	AAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTTCGGTCAGCTCGATTGCCCAA (配列番号10)
S103G	P5945	TATTAGGGGCGAGCGGTTTCAGGTGGAGTCAGCTCGATTGCCCAAGGA (配列番号11)
L111V	P5946	GTCAGCTCGATTGCCCAAGGAGTAGAATGGGCAGGGAACAATGGCA (配列番号12)
S128N	P5947	CGTTGCTAATTTGAGTTTAGGAAACCTTCGCCAAGTGCCACACTTGA (配列番号13)
N62E	P5948	GAACCATCCACTCAAGATGGGGAAGGGCATGGCACGCATGTG (配列番号14)
S188D	P5949	ACCAAAACAACAACCGCGCCGACTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTT (配列番号15)

【0331】

b) 伸長PCRによるNHJ4変異体の構築

伸張PCRにより、GG36の10のコンビナトリアル変異体を作製した（表4-4）。プラスミドpHPLT-GG36に導入した変異及びこの目的のために使用したプライマーのリストを表4-2に示す。各変異体を作製するために、表4-2に示すプライマー

により、複数のフラグメント（表４－３）を増幅した。各PCR増幅反応物には、30 pmolの各プライマー及び100 ngのDNAテンプレート、pHPLT-GG36プラスミドを含有させた。増幅はVent DNAポリメラーゼ（New England Biolabs）を用いて実施した。PCR反応（20 µL）は、まず始めに95℃で2.5分加熱した後、続いて94℃で15秒の変性、55℃で15秒のアニーリング、及び72℃で1分の伸長を30サイクル行った。増幅させた後、各変異体につき2～4種のPCRフラグメント（表４－３）をQIAGEN（登録商標）ゲルバンド精製用キットを用いゲルから精製し、混合した（各フラグメントにつき50 ng）。これらの混合物は、プライマーP5954及びP5955により伸張PCRのためのDNAテンプレートとして機能して、完全長遺伝子フラグメントを生成した。伸長工程を72℃で2分にわたって実施したことを除き、PCR条件は前記の条件と同じであった。完全長DNAフラグメントをQIAGEN（登録商標）ゲルバンド精製用キットを用いてゲルから精製し、制限酵素BamHI及びHindIIIを用いて消化し、同じ制限酵素で消化したpHPLT-GG36ベクターでライゲーションした。前記QCMS法について記載したように、ローリング・サークル増幅を用いてライゲーション混合物を増幅し、枯草菌細胞で形質転換させた。得られたGG36変異体を配列決定して、所望の変異の存在を確認した。伸張PCRにより生成した変異体は、表４－４に示す。

【0332】

【表14-1】

表4-2:伸張PCRでのNHJ4変異体の構築のために使用されたプライマーのリスト

変異 (BPN' 番号)	プライマー名	順方向又は 逆方向	プライマー配列
	P5950 フランキング	順方向	CATATGAGTTATGCAGTTTGTAG(配列番号16)
	P5951 フランキング	逆方向	TGTTTTCTTGAATTGTGCTGT(配列番号17)
	P5954 フランキング	順方向	CAGTTTGTAGAATGCAAAAAGTG(配列番号18)
	P5955 フランキング	逆方向	GACAAGGTAAAGGATAAAACAGC(配列番号19)
T22A	P5956	順方向	CATAACCGTGGATTGGCAGGTTCT GGTGTAAGTTGCTG(配列番号20)
T22A	P5957	逆方向	ACTTTTACACCAGAACCTGCCAAT CCACGGTTATGGGCAG(配列番号21)
S103G	P5960	順方向	GCGAGCGGTTTCAGGTGGAGTCAG CTCGATTGCCCAAGGA(配列番号24)
S103G	P5961	逆方向	TGGGCAATCGAGCTGACTCCACCT GAACCGCTCGCCCTA(配列番号25)
S103G L111V	P5962	順方向	GTGGAGTCAGCTCGATTGCCCAAG GAGTAGAATGGGCAGGGAACAATGGCAT(配列番号26)
S103G L111V	P5963	逆方向	CATTCTACTCCTTGGGCAATCGAG CTGACTCCACCTGAACCGCTCGCCCTA(配列番号27)
S101G S103A V104I	P5964	順方向	GCGAGCGGTGGAGGTGCGATCAGCTC GATTGCCCAAGGATTG(配列番号28)
S101G S103A V104I	P5965	逆方向	CTTGGGCAATCGAGCTGATCGCACCT CCACCGCTCGCCCTAATACTTTA(配列番号29)
S101A S103G V104L	P5966	順方向	GCGAGCGGTGCAGGTGACTTAGCTC GATTGCCCAAGGATTG(配列番号30)

【0333】

【表 1 4 - 2】

(上記表の続き)

表4-2:伸張PCRでのNHJ4変異体の構築のために使用されたプライマーのリスト			
変異 (BPN' 番号)	プライマー名	順方向又は 逆方向	プライマー配列
S101A S103G V104L	P5967	逆方向	CTTGGGCAATCGAGCTAAGTCCACCT GCACCGCTCGCCCCTAATACTTTA(配列番号31)
S101A	P5968	順方向	TATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTTCCGG TCAGCTCGATTGC(配列番号32)
S101A	P5969	逆方向	ATCGAGCTGACCGAACCTGCACCGCTC GCCCCTAATACTTTA(配列番号33)
S128N	P5970	順方向	CTAATTTGAGTTTAGGAAACCCTTCGC CAAGTGCCACACTT(配列番号34)
S128N	P5971	逆方向	GCACTTGGCGAAGGGTTTCCTAAACTC AAATTAGCAACGTG(配列番号35)
G159D	P5972	順方向	GAAATTCAGGTGCAGACTCAATCAGCT ATCCGGCCCGTT(配列番号36)
G159D	P5973	逆方向	GGATAGCTGATTGAGTCTGCACCTGAA TTCCAGATGC(配列番号37)
G159E	P5974	順方向	GAAATTCAGGTGCAGAATCAATCAGCT ATCCGGCCCGTT(配列番号38)
G159E	P5975	逆方向	GGATAGCTGATTGATTCTGCACCTGAAT TTCCAGATGC(配列番号39)
Y209E	P5976	順方向	AACGTGCAGAGCACAGAACCAGGTTCA ACGTATGCCAGCTT(配列番号40)
Y209E	P5977	逆方向	CATACGTTGAACCTGGTTCTGTGCTCTG CACGTTTACACC(配列番号41)
L111V	P5978	順方向	TCGATTGCCCAAGGAGTAGAATGGGCA GGGAACAATGGCAT(配列番号42)
L111V	P5979	逆方向	CATTGTTCCCTGCCCATCTACTCCTTGG GCAATCGAGCTGAC(配列番号43)

10

20

【0 3 3 4】

30

【表 1 5】

表4-3: 伸張PCRにより作製されたコンビナトリアル変異体			
変異体 #	変異 (BPN' 番号)	フラグメント	PCR1フラグメント
NHJ4-1	S101G S103A V104I	1	P5950+P5965
		2	P5964+P5951
NHJ4-2	S101G S103A V104I G159D	3	P5950+P5965
		4	P5964+P5973
		5	P5972+P5951
NHJ4-3	S101A S103G V104L	6	P5950+P5967
		7	P5966+P5951
NHJ4-4	S101A S103G V104L G159E	8	P5950+P5967
		9	P5966+P5975
		10	P5974+P5951
NHJ4-5	S101A S103G V104L T22A	11	P5950+P5957
		12	P5956+P5967
		13	P5966+P5951
NHJ4-10	T22A S101A Y209E	14	P5950+P5957
		15	P5956+P5969
		16	P5968+P5977
		17	P5976+P5951
NHJ4-12	T22A S103G G159E	21	P5950+P5957
		22	P5956+P5961
		23	P5960+P5975
		24	P5974+P5951
NHJ4-20	S101A S103G V104L S128N	29	P5950+P5967
		30	P5966+P5971
		31	P5970+P5951

【0 3 3 5】

更なる生化学的解析のためにNHJ4の組の変異体タンパク質を発現させるべく、変異体プラスミドを保持している枯草菌株を、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ のネオマイシンを添加した $150\mu\text{L}$ のルリアブロス培地を含有しているマイクロタイタープレートに接種した。実施例31に記載のようにタンパク質を発現させるために培養物を増殖させ、培養物を実施例31に記載のようにマイクロフィルタープレート ($0.22\mu\text{m}$ 、Millipore) で濾過した。得られた濾液を生化学的解析に使用した。様々な洗剤で試験した、タンパク質含量を測定するためのエグリン c 阻害アッセイ及びBMI マイクロ材料見本アッセイを、試験方法の項に記載のように実施した。試験方法の項におけるBMI マイクロ材料見本アッセイの説明に記載したように、性能指数も計算する。

【0 3 3 6】

10

20

30

【表 1 6】

表4-4: NHJ4多変異変異体GG36と比較した性能指数(PI) (試験方法3により測定—実施例26の洗剤、16C)		
配列番号1に対する変異(BPN'番号)	PI	変異体名(構築のための方法)
T22A-L111V-G159E	1. 4	NHJ4-13(QCMS)
S101A-S103G-V104L-Y209E	1. 3	NHJ4-6(QCMS)
S101A-S103G-V104L-G159E	1. 3	NHJ4-4(伸張PCR)
S101A-S103G-V104L-S188D	1. 2	NHJ4-19(QCMS)
S101G-S103A-V104I-G159D	1. 2	NHJ4-2(伸張PCR)
T22A-S103G-G159E	1. 2	NHJ4-12(伸張PCR)
T22A-S128N-E271F-Y209E	1. 2	NHJ4-14(QCMS)
T22A-Y209E-E271F	1. 2	NHJ4-7(QCMS)
T22A-S101A-Y209E	1. 1	NHJ4-10(伸張PCR)
S101A-Y209E-E271F	1. 1	NHJ4-9(QCMS)
T22A-L111V-S128N	1. 1	NHJ4-17(QCMS)
T22A-S101A-G159E	1. 1	NHJ4-24(QCMS)
S101A-S103G-V104L	1. 1	NHJ4-3(伸張PCR)
T22A-S101A-S103G-V104L	1. 1	NHJ4-5(伸張PCR)
S101A-S103G-V104L	1. 1	NHJ4-1(伸張PCR)
S101G-S103A-V104I	1. 1	NHJ4-20(伸張PCR)
S101A-S103G-V104L-S128N	1. 1	NHJ4-13(QCMS)

10

20

【0 3 3 7】

(実施例 3 4)

GG36 変異体の NHJ3 の組の構築及びクリーニング性能

本明細書に記載の変異体の NHJ3 の組は、次の変異: S101G、S103A、V104I、G159D、A232V、Q236H、Q245R、N248D及びN252K (BPN'番号) を含有している GG36 の変異体 (GG36-9 と呼ぶ) に基づく。これらの変異は、DNA テンプレートとして pRA68 プラスミド (図 3 を参照されたい) を使用し、QUICKCHANGE (登録商標) Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit (QCLDS キット、Stratagene) を用いることで作製した。プラスミド pRA68 は、pBN3 ベクター (Bab et al, Biotech. Appl. Biochem. 27: 117~124 [1998] を参照されたい) から誘導した。

30

【0 3 3 8】

GG36-9 変異体の DNA 配列 (シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及び GG36-9 成熟配列は大文字で示される) は以下に提供されるものである:

【0 3 3 9】

[配列表 3]

40

Gtgagaagcaaaaaattgtggatcgtcgcgtcgaccgcactactcatttctgttgccttttagttcatcgatcgcatcggtgctgaagaagcaa
 aagaaaaatatttaattggccttaatgagcaggaagctgtcagtgagttgtagaacaagtagaggcaaatgacgaggtcgccattctctga
 ggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcatgaattgaaacgattcctgtttatccgttgagtttaagcccagaagatgtggacgcgcttgaac
 tcatccagcgatttcttatattgaagaggatgcagaagtaacgacaatgCGCAATCAGTGCCATGGGGAATTAG
 CCGTGTGCAAGCCCCGGCTGCCCATAACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAAAAGT
 TGCTGTCCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATTCGTGGTGGCGCT
 AGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGT
 GGCCGGGACGATTGCTGCTCTAAACAATTCGATTGGCGTACTTGGCGTAGCGCCGAG
 CGCGGAACATACGCTGTTAAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGGGGGCGCCATCAGCT
 CGATTGCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCTAATTTG
 AGTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGCGACT
 TCTAGGGGCGTTCTTGTGTAGCGGCATCTGGAAATTCGGGTGCAGACTCAATCAGC
 TATCCGGCCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCGGAGCTACTGACCAAAACAACAA
 CCGCGCCAGCTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATCGTCGCACCAGGTGTAAA
 CGTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGC
 TACTCCTCATGTTGCAGGTGCAGCAGTCCTTGTTAAACATAAGAACCCATCTTGGTCC
 AATGTACGAATCCGCGATCATCTAAAGAAAACGGCAACGAGCTTAGGAAGCACGAA
 CTTGTATGGAAGCGGACTTGTCAATGCCGAAGCTGCAACTCGTTAA (配列番号44)

10

20

【0340】

GG36-9変異体のタンパク質配列（シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及びGG36-9成熟プロテアーゼ配列は大文字で示される）は以下に提供されるものである：

【0341】

[配列表4]

vrskklwivastallisvafssiasaaeakekyligfneqavsefveqveandevailseeeveie~~ll~~hefetipvlsvelspedvdal
 eldpaisyieedaevttmAQSVPWGISRVQAPAAHNRLTGSGVKVAVLDTGISTHPDLNIRGGA
 SFVPGEPSTQDGNHGHGTHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGGGAISSIAQ
 GLEWAGNNGMHVANLSLGSPSPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGADSIYPARY
 ANAMAVGATDQNNNRASFSQYGAGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVA
 GAAVLVKHKNPWSNVRIRDHLKKTATSLGSTNLYGSLVNAEAATR (配列番号45)

30

【0342】

QCLMSキットを用いてNHJ3変異体を作製するために、各変異体について表5-1に示しているように変異導入プライマーを設計した。各変異体のための変異導入反応物は、0.5LのpRA68プラスミドDNA(168ng/μL)、0.5μLの順方向「f」変異導入プライマー(25μM)、0.5μLの逆方向「r」変異導入プライマー(25μM)、1μLのdNTP(QCLMSキット中に供給されている)、1.5μLのQuick溶液(QCLMSキット中に供給されている)、1μLの酵素ブレンド(QCLMSキット中に供給されている)及び39.5μLの蒸留脱イオン水からなっており、製造元の取扱説明書の通りに50μL反応容量を作製した。サイクルプログラムは次の通りであった：95℃で2分を1サイクル、95℃で20秒、60℃で10秒及び68℃で3分22秒を18サイクル、並びに68℃で5分間の最終サイクルであった。次に、キットに供給されている1μLのDpnI制限酵素を使用して反応物中のプラスミドDNAを切断し、次に2μLの反応物を使用して上位10の大腸菌コンピテント細胞(Invit

40

50

rogen)を形質転換した。37℃で一晩増殖させた後、50μg/mL(ppm)カルベニシリンを含有しているLBプレート上で大腸菌形質転換体を選択した。QIAprep spinミニプレップキット(Qiagen)を用い、50μg/mL(ppm)カルベニシリンを含有しているLA培地で増殖させた4～8個の大腸菌コロニーからプラスミドDNAを抽出した。プラスミドを配列決定して、所望の変異が存在しているか確認した。次いで実施例31に記載のように枯草菌細胞を変異体プラスミドで形質転換した。エグリンC阻害アッセイ(試験方法の項)及びBMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイ(試験方法の項)を用いてタンパク質含量を決定するなどといった、更なる生化学的解析を行うため、実施例31に記載のように枯草菌変異体株を増殖させた。NHJ3変異体のクリーニング性能を表5-2及び5-3に示す。

【0343】

【表17-1】

表5-1: NHJ3の組の変異体を作製するために使用された変異導入プライマーのリスト (*「f」は順方向プライマーを指し、「r」は逆方向プライマーを指す)			
変異体	組み込まれた変異 (BPN' 番号)	変異導入 プライマー名	変異導入プライマー配列5'→3'
NHJ3-1	G101S	p138__G101Sf*	GTATTAGGGGCGAGCGGTGGCGGCCCATCAG CTCGATTGC(配列番号46)
		p139__G101Sr*	GCAATCGAGCTGATGGCGCCGCCACCGCTCGCC CCTAATAC(配列番号47)
NHJ3-2	A103S	p140__A1013 f	GGGGCGAGCGGTGGGGGCGGCATCAGCTCGATT GCCCAAG(配列番号48)
		p141__A1013 r	CTTGGGCAATCGAGCTGATGCCGCCCCACCGCT CGCCCC(配列番号49)
NHJ3-3	I104V	p142__I104V f	GGGCGAGCGGTGGGGGCGCCGTTAGCTCGATTGC CCAAGGATTG(配列番号50)
		p143__I104V r	CAATCCTTGGGCAATCGAGCTAACGGCGCCCCCA CCGCTCGCCC(配列番号51)
NHJ3-4	D159G	p144__D159G f	GCATCTGGAAATTCGGGTGCAGGCTCAATCAGCT ATCCGGCCCCGT(配列番号52)
		p145__D159G r	ACGGGCCGGATAGCTGATTGAGCCTGCACCCGAA TTTCAGATGC(配列番号53)
NHJ3-5	V232A	p146__V232A f	CTCATGTTGCAGGTGCAGCAGCACTTGTTAAACAT AAGAACCC(配列番号54)

【0344】

10

20

30

【表 17-2】

(上記表の続き)

表5-1: NHJ3の組の変異体を作製するために使用された変異導入プライマーのリスト
(*「f」は順方向プライマーを指し、「r」は逆方向プライマーを指す)

変異体	組み込まれた変異 (BPN' 番号)	変異導入 プライマー名	変異導入プライマー配列5' → 3'
		p147__V232A r	GGGTTCTTATGTTTAAACAAGTGCTGCTGCACCTGC AACATGAG(配列番号55)
NHJ3-6	H236Q	p148__H236Q f	GTGCAGCAGTCCTTGTTAAACAAAAGAACCCATC TTGGTCCAAT(配列番号56)
		p149__H236Q r	ATTGGACCAAGATGGGTTCTTTTGTTAACAAGG ACTGCTGCAC(配列番号57)
NHJ3-7	R245Q	p150__R245Q f	CCATCTTGGTCCAATGTACAAATCCGCGATCATC TAAAGAAAAC(配列番号58)
		p151__R245Q r	GTTTTCTTTAGATGATCGCGGATTTGTACATTGG ACCAAGATGG(配列番号59)
NHJ3-8	D248N	P152__D248N f	GGTCCAATGTACGAATCCGCAATCATCTAAAGA AAACGGCAAC(配列番号60)
		P153__D248N r	GTTGCCGTTTTCTTTAGATGATTGCGGATTCGTA CATTGGACC(配列番号61)
NHJ3-9	K252N	P154__K252N f	GAATCCGCGATCATCTAAAGAATACGGCAACGA GCTTAGGAAG(配列番号62)
		P155__K252N r	CTTCCTAAGCTCGTTGCCGTATTCTTTAGATGATC GCGGATTC(配列番号63)

【0345】

【表 18】

表5-2: 試験方法3におけるNHJ3変異体のクリーニング性能。GG36と比較した性能指数(PI)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	PI	変異体名
S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.8	NHJ3-1
S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.9	NHJ3-2
S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	2.0	NHJ3-3
S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.5	NHJ3-4
S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.9	NHJ3-5
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K	2.0	NHJ3-6
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K	1.6	NHJ3-7
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K	1.8	NHJ3-8
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D	1.7	NHJ3-9

【0346】

【表 19】

表5-3: 試験方法2におけるNHJ3変異体のクリーニング性能GG36と比較した性能指数(PI)

変異体	配列GG36と比較した変異(BPN' 番号)	PI
NHJ3-4	S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.1
NHJ3-8	S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K	1.1

【0347】

(実施例35)

GG36変異体のNHJ5の組の構築及びクリーニング性能

10

20

30

40

50

本明細書に記載の変異体のNHJ5の組は、次の変異：S101G、S103A、V104I、G159D、A232V、Q245R、N248D（BPN'番号）を含有しているGG36の変異体（GG36-7と呼ぶ）に基づく。これらの変異体は、実施例34に記載のように、DNAテンプレートとしてpRA96プラスミド（図4；pRA96プラスミドは、pBN3ベクターから誘導したが、これはBabe et al, Biotech. Appl. Biochem. 27:117~124, 1998に記載されている）を使用し、QuikChange（登録商標）Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit（QCLMSキット、Stratagene）を用いて、作製した。組み込まれた変異及びGG36~7に変異を導入するために使用されたプライマーの配列は、表6-1に示す。これらの変異体は、実施例34に記載の方法を用いて、作製した。エグリンC阻害アッセイ（試験方法の項）及びBMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイ（試験方法の項）を用いてタンパク質含量を決定するなどといった、更なる生化学的解析を行うため、実施例31に記載のように枯草菌変異体株を増殖させた。NHJ5の組の変異体のクリーニング性能を表6-2及び6-3に示す。

【0348】

配列番号64 GG36-7変異体のタンパク質配列（シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及びGG36-7成熟配列は大文字で示される）

【0349】

[配列表5]

Gtgagaagcaaaaaattgtggatcgtcgcgtcgaccgcactactcatttctgttgcttttagttcatcgatcgcatcggtgctgaagaagcaa
aagaaaaatatttaattggctttaatgagcaggaagctgtcagtgagttgtagaacaagtagaggcaaatgacgaggtcgccattctctga
ggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcattgaattgaaacgattcctgtttatccgttgagttaagcccagaagatgtggacgcgctgaac
tcgatccagcgatttcttatattgaagaggatgcagaagtaacgacaatgCGGCAATCAGTGCCATGGGGAATTAG
CCGTGTGCAAGCCCCGGCTGCCCATAACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAAGT
TGCTGTCCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATTCGTGGTGGCGCT
AGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGT
GGCCGGGACGATTGCTGCTCTAAACAATTCGATTGGCGTACTTGGCGTAGCGCCGAG
CGCGGAACATACGCTGTTAAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGGGGGCGCCATCAGCT
CGATTGCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCTAATTTG
AGTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGCGACT
TCTAGGGGCGTTCTTGTGTAGCGGCATCTGGAAATTCGGGTGCAGACTCAATCAGC
TATCCGGCCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCGGAGCTACTGACCAAAACAACAA
CCGCGCCAGCTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATCGTCGCACCAGGTGTAAA
CGTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGC
TACTCCTCATGTTGCAGGTGCAGCAGTCCTTGTTAAACAAAAGAACCCATCTTGGTC
CAATGTACGAATCCGCGATCATCTAAAGAATACGGCAACGAGCTTAGGAAGCACGA
ACTTGTATGGAAGCGGACTTGTCAATGCCGAAGCTGCAACTCGT

【0350】

配列番号65 GG36-7変異体のタンパク質配列（シグナル配列は小文字で示され、プロペプチドは下線の引かれている小文字で示され、及びGG36-7成熟配列は大文字で示される）

【0351】

[配列表6]

vrskklwivastallisvafssiasaaceakekyligfneqavsefveqveandevailseeeveieillhefetipvlsvelspedvdal
 eldpaisyieedaevttmAQSVPWGISRVQAPAAHNRGLTGSGVKVAVLDTGISTHPDLNIRGGA
 SFVPGEPSTQDGNHGHGTHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGGGAISSIAQ
 GLEWAGNNGMHVANLSLGSPPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGADSISYPARY
 ANAMAVGATDQNNNRASFQYAGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVA
 GAAVLVKQKNPSWSNVRIRDHLKNTATSLGSTNLYGSGLVNAEAATR

【 0 3 5 2 】

【表 2 0】

10

表6-1: NHJ5の組の変異体を作製するために使用されたプライマーのリスト

プライマー#	GG36番号を使用した変異 (括弧内にBPN' 番号を示す)	プライマー配列
168	H243R(H249R)	GTACGAATCCGCGATAGACTAAAGAATACGGCAACGAG(配列番号66)
170	E265F(E271F)	GCGGACTTGTCAATGCCCTTGTGCAACTCGTTAAAGCTTACAT(配列番号67)
172	D157E(D159E)	GGAAATTCGGGTGCAGAATCAATCAGCTATCCGGCCCGTTA(配列番号68)
174	A156E(A158E)	CTGGAAATTCGGGTGAAGACTCAATCAGCTATCCGGCC(配列番号69)
176	A156E-D157G(A158E-D159E)	CGGCATCTGGAATTCGGGTGAAGGCTCAATCAGCTATCCGGCCCGTTATG(配列番号70)
178	T22A	CATAACCGTGGATTGGCAGGTTCTGGTGTAAAGTTGCTGTC(配列番号71)
180	N60E(N62E)	TCCACTCAAGATGGGGAAGGGCATGGCACGCATGTGGC(配列番号72)
182	N232R(N238R)	CTTGTTAAACAAAAGAGACCATCTTGGTCCAATGTACGAATC(配列番号73)
186	T247R(T253R)	AATGTACGAATCCGCAGACATCTAAAGAATACGGCAACGAGC(配列番号74)
188	S24R	CGATCATCTAAAGAATAGAGCAACGAGCTTAGGAAGCACGAAC(配列番号75)
190	N74D(N76D)	GTGGATTGACAGGTAGAGGTGTAAAGTTGCTGTCTCGATA(配列番号76)

20

【 0 3 5 3 】

表6-2: 試験方法3を用いるNHJ5変異体のクリーニング性能。GG36と比較した性能指数(PI)。

【 0 3 5 4 】

【表 2 1】

表6-2: 試験方法3を用いるNHJ5変異体のクリーニング性能。GG36と比較した性能指数(PI)

配列番号1に対する変異(BPN' 番号)	PI	変異体名
N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 6	NHJ5-14
N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R	1. 3	NHJ5-13
T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R	1. 3	NHJ5-11
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R	1. 3	NHJ5-5
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R	1. 3	NHJ5-4
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1. 3	NHJ5-9
T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 3	NHJ5-12
S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1. 2	NHJ5-7
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R	1. 2	NHJ5-2
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 2	NHJ5-10
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D	1. 2	GG36-7
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 2	NHJ5-1
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D	1. 2	NHJ5-6
S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 1	NHJ5-8

30

40

【 0 3 5 5 】

【表 2 2】

表6-3: 試験方法2におけるNHJ3変異体のクリーニング性能。GG36と比較した性能指数(PI)		
変異体	配列GG36と比較した変異(BPN' 番号)	PI
NHJ5-1	S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 1
NHJ5-5	S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R	1. 1
NHJ5-9	S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1. 2
NHJ5-10	S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1. 1

【0 3 5 6】

(実施例 3 6)

下表(6-4)は使用した洗剤濃度及び緩衝剤を示し、一方、実施例36a~36nは使用された洗剤タイプを示す。 10

【0 3 5 7】

【表 2 3】

表6-4: BMIマイクロ材料見本アッセイに使用した最終的な洗剤、水硬度、及び緩衝液濃度			
洗剤組成物	最終的な洗剤濃度 (g/L)	最終的な水硬度* (mg/L(gpg))	最終的な炭酸ナトリウム 緩衝液濃度(mM)
36a	0. 75	102. 3(6)	2
36b	0. 808	102. 3(6)	2
36c	0. 808	102. 3(6)	2
36d	2. 25	204. 6(12)	2
36e	1	51. 2(3)	2
36f	1. 2	204. 6(12)	2
36g	3. 96	204. 6(12)	2
36h	7. 69	341. 1(20)	2
36i	5	170. 5(10)	2
36j	7. 69	341. 1(20)	2
36k	7. 69	341. 1(20)	2
36l	6. 15	170. 5(10)	2
36m	7. 69	341. 1(20)	2
36n	6. 15	341. 1(20)	2

【0 3 5 8】

以下は、粒状洗濯洗剤組成物である。本発明のプロテアーゼをこれらの配合物に別個に添加した。 30

【0 3 5 9】

【表 2 4】

	36a	36b	36c	36d	36e
界面活性剤					
C ₁₀ 非イオン性				0. 1843	
C _{16~17} 分枝鎖アルキルサルフェート	3. 53	3. 53	3. 53		
C _{12~14} アルキルサルフェート					
脂肪鎖長がC ₁₁ ~C ₁₂ の直鎖 アルキルベンゼンスルホネート	8. 98	8. 98	8. 98	13. 58	14. 75
ナトリウムC _{14/15} アルコールエトキシ-3-サルフェート	1. 28	1. 28	1. 28		
ナトリウムC _{14/15} アルキルサルフェート	2. 36	2. 36	2. 36		
平均7モルのエトキシ化されたC _{14/15} アルコールエトキシレート					
モノ-C _{8~10} アルキルモノ-ヒドロキシエチルジ-メチル四級 アンモニウム塩化物					
ジメチルヒドロキシエチルラウリルアンモニウムクロリド				0. 1803	
ゼオライトA	15. 31	15. 31	15. 31		4. 47
ペントナイト				8. 35	
ケイ酸ナトリウム(1. 6比)					0. 16
ケイ酸ナトリウム(2. 0比)	3. 72	3. 72	3. 72	8. 41	
ケイ酸ナトリウム(2. 35比)					
クエン酸				0. 0066	
トリポリリン酸ナトリウム				5. 06	
炭酸ナトリウム	26. 1	26. 18	26. 1	15. 9	29. 0
ノナノイルオキシベンゼンスルホネート	5. 78	5. 78	5. 78	1. 17	1. 86
オキサジリジジ(Oxaziridinium)系漂白増進剤	0. 037	0. 037	0. 037		
S. S. -エチレンジアミンニコハウ酸テトラナトリウム塩					
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン酸)ヘプタナトリウム塩	0. 62	0. 62	0. 62		
ヒドロキシエタンジメチレンホスホン酸					
エチレンジアミン四酢酸				0. 2701	
MgSO ₄	0. 056	0. 056	0. 056	0. 47	
過炭酸ナトリウム		7. 06	7. 06		3. 64
テトラアセチルエチレンジアミン					
過ホウ酸ナトリウム-水和物				1. 47	
カルボキシメチルセルロース (例えば、CPKelcoからのFinnfix BDA)	0. 38	0. 38	0. 38	0. 173	
アクリル酸/マイレン酸コポリマー(70/30)ナトリウム	3. 79	3. 78	3. 79		3. 64
ポリアクリル酸ナトリウム(Sokalan PA30 CL)	3. 78	3. 78	3. 78	0. 842	
テレフタレートポリマー					
ポリエチレングリコール/酢酸					
ビニルランダムグラフトコポリマー				0. 89	
亜鉛フタロシアニンテトラスルホン酸塩					
C. I. 蛍光増白剤260	0. 1125	0. 1125	0. 1125	0. 043	0. 15
C. I. 蛍光増白剤351(Tinopal(登録商標)CBS)				0. 0952	
抑泡剤顆粒	0. 015	0. 015	0. 015		0. 031
疎水変性カルボキシメチルセルロース(Finnifix(登録商標)SH-1)					
ペントナイト					
その他の成分(染料、香料、加工助剤、水分及び硫酸ナトリウム)	残部	残部	残部	残部	残部

【0 3 6 0】

10

20

30

【表 25】

	36f	36g	36h	36i	36j
界面活性剤					
C ₁₀ 非イオン性	0. 1142	0. 2894	0. 1885	0. 1846	0. 1885
C _{16~17} 分枝鎖アルキルサルフェート					
C _{12~14} アルキルサルフェート					
脂肪鎖長がC ₁₁ ~C ₁₂ の直鎖アルキルベンゼンスルホネート	12. 94	15. 69	9. 01	8. 42	9. 51
ナトリウムC _{14/15} アルコールエトキシ-3-サルフェート					
ナトリウムC _{14/15} アルキルサルフェート					
平均7モルのエトキシル化されたC _{12/14} アルコールエトキシレート	2. 9				
平均3モルのエトキシル化されたC _{12/14} アルコールエトキシレート				2. 44	
平均7モルのエトキシル化されたC _{14/15} アルコールエトキシレート			0. 97	1. 17	0. 97
モノ-C _{8~10} アルキルモノ-ヒドロキシエチルジ-メチル四級アンモニウム塩化物			0. 45		
ジメチルヒドロキシエチルラウリルアンモニウムクロリド		0. 195			0. 45
ゼオライトA	2. 01	0. 39	1. 83	2. 58	0. 59
ケイ酸ナトリウム(1. 6比)			4. 53	5. 62	4. 53
ケイ酸ナトリウム(2. 0比)		10. 1			
ケイ酸ナトリウム(2. 35比)	7. 05				
クエン酸			1. 4	1. 84	1. 0
トリポリリン酸ナトリウム		5. 73			
炭酸ナトリウム	12. 65	15. 93	21. 0	27. 31	20. 2
ノナノイルオキシベンゼンスルホネート		1. 73			
オキサジリジジ(Oxaziridinium)系漂白増進剤			0. 0168	0. 0333	0. 024
S. S. -エチレンジアミンニコハク酸テトラナトリウム塩					
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン酸)ヘプタナトリウム塩			0. 327		0. 3272
ヒドロキシエタンジメチレンホスホン酸			0. 45	0. 2911	0. 45
エチレンジアミン四酢酸		0. 28		0. 1957	
MgSO ₄		0. 54	0. 79	0. 6494	0. 793
過炭酸ナトリウム			19. 1	15. 85	22. 5
テトラアセチルエチレンジアミン			4. 554	3. 71	5. 24
過ホウ酸ナトリウム-水和物		5. 55			
カルボキシメチルセルロース(例えば、CPKelcoからのFinnfix BDA)	0. 62	0. 21	0. 23	1. 07	0. 2622
アクリル酸/マイレン酸コポリマー(70/30)ナトリウム	0. 40	2. 61	2. 5	2. 00	1. 75
ポリアクリル酸ナトリウム(Sokalan PA30 CL)			0. 0055	0. 011	0. 008
テレフタレートポリマー				0. 231	
ポリエチレングリコール/酢酸ビニルランダムグラフトコポリマー	0. 55	1. 40	0. 911	0. 8924	0. 911
亜鉛フタロシアニンテトラスルホン酸塩					
C. I. 蛍光増白剤260	0. 1174	0. 048	0. 1455	0. 2252	0. 1455
C. I. 蛍光増白剤351(Tinopal(登録商標)CBS)		0. 1049			
抑泡剤顆粒			0. 04	0. 0658	0. 04
疎水変性カルボキシメチルセルロース(Finnifix(登録商標)SH-1)					
ベントナイト					
その他の成分(染料、香料、加工助剤、水分及び硫酸ナトリウム)	残部	残部	残部	残部	残部

【0 3 6 1】

10

20

30

【表 26】

	36k	36l	36m	36n	
界面活性剤					
C ₁₀ 非イオン性	0. 1979	0. 1979	0. 1979	0. 1979	
C _{16~17} 分枝鎖アルキルサルフェート					
C _{12~14} アルキルサルフェート					
脂肪酸鎖長がC ₁₁ ~C ₁₂ の直鎖アルキルベンゼンスルホネート	8. 92	8. 92	11. 5	11. 5	
ナトリウムC _{14/15} アルコールエトキシ-3-サルフェート	1. 62	1. 62	1. 125	1. 125	
ナトリウムC _{14/15} アルキルサルフェート					
平均7モルのエトキシ化されたC _{14/15} アルコールエトキシレート	1. 0	1. 0	1. 5	1. 5	
モノ-C _{8~10} アルキルモノヒドロキシエチルジ-メチル四級アンモニウム塩化物					
ジメチルヒドロキシエチルラウリルアンモニウムクロリド					
ゼオライトA	1. 63	1. 63	2. 0	2. 0	
ケイ酸ナトリウム(1. 6比)	4. 75	4. 75	4. 75	4. 75	
ケイ酸ナトリウム(2. 0比)			0. 06	0. 06	
ケイ酸ナトリウム(2. 35比)					
クエン酸	1. 10	1. 10	1. 1	1. 1	
トリポリリン酸ナトリウム					
炭酸ナトリウム	23. 3	23. 3	23. 3	23. 3	
ノナノイルオキシベンゼンスルホネート					
オキサジリジジ(Oxaziridinium)系漂白増進剤	0. 021	0. 021	0. 015	0. 015	
S. S. -エチレンジアミンニコハク酸テトラナトリウム塩	0. 26	0. 26	0. 26	0. 26	
ジエチレントリアミンペンタ(メチレンホスホン酸)ヘプタナトリウム塩					
ヒドロキシエタンジメチレンホスホン酸	0. 47	0. 47	0. 47	0. 47	
エチレンジアミン四酢酸					
MgSO ₄	0. 83	0. 83	0. 82	0. 82	
過炭酸ナトリウム	19. 35	19. 35	19. 35	19. 35	
テトラアセチルエチレンジアミン	4. 51	4. 51	4. 51	4. 51	
過ホウ酸ナトリウム-水和物					
カルボキシメチルセルロース (例えば、CPKelcoからのFinnfix BDA)	1. 01	1. 01	1. 01	1. 01	
アクリル酸/マレイン酸コポリマー(70/30)ナトリウム	1. 84	1. 84	1. 84	1. 84	
ポリアクリル酸ナトリウム(Sokalan PA30 CL)	0. 007	0. 007	0. 005	0. 005	
テレフタレートポリマー	0. 179	0. 179	0. 179	0. 179	
ポリエチレングリコール/酢酸ビニルランダムグラフトコポリマー	0. 96	0. 96	0. 96	0. 96	
亜鉛フタロシアニンテトラスルホン酸塩					
C. I. 蛍光増白剤260	0. 153	0. 153	0. 171	0. 171	
C. I. 蛍光増白剤351(Tinopal(登録商標)CBS)					
抑泡剤顆粒	0. 042	0. 042	0. 042	0. 042	
疎水変性カルボキシメチルセルロース(Finnifix(登録商標)SH-1)					
ベントナイト					
その他の成分(染料、香料、加工助剤、水分及び硫酸ナトリウム)	残部	残部	残部	残部	残部

10

20

【0362】

実施例36a~nについての注記：

30

界面活性剤成分は、BASF(Ludwigshafen, Germany)(Lutensol(登録商標))、Shell Chemicals(London, UK)、Stepan(Northfield, Illinois, USA)、Huntsman(Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA)、Clariant(Sulzbach, Germany)(Praepagen(登録商標))から入手することができる。

【0363】

ゼオライトは、Industrial Zeolite(UK)Ltd(Grays, Essex, UK)から入手することができる。

【0364】

40

クエン酸及びクエン酸ナトリウムは、Jungbunzlauer(Basel, Switzerland)から入手することができる。

【0365】

過炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム及びセスキ炭酸ナトリウムは、Solvay(Brussels, Belgium)から入手することができる。

【0366】

アクリレート/マレエートコポリマーは、BASF(Ludwigshafen, Germany)から入手することができる。

【0367】

カルボキシメチルセルロース及び疎水変性カルボキシメチルセルロースは、CPKel

50

co (Arnhem, The Netherlands) から入手することができる。

【0368】

C. I. 蛍光増白剤 260 は、3V Sigma (Bergamo, Italy) から Optiblanc (登録商標)、Optiblanc (登録商標) 2M/G、Optiblanc (登録商標) 2MG/LT Extra 又は Optiblanc (登録商標) Ecobright として入手することができる。

【0369】

テトラナトリウム S, S-エチレンジアミンニコハク酸塩は、Innospec (Ellesmere Port, UK) から入手することができる。

【0370】

テレフタレートコポリマーは、Clariant から商品名 Repelotex SF 2 として入手することができる。

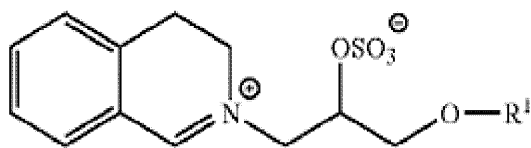
【0371】

1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸は、Thermphos (Vlissingen-Oost, The Netherlands) から入手することができる。

【0372】

オキサジリジン系漂白増進剤は、式中、R1 = 2-ブチルオクチルである以下の構造を有するものであり、米国特許第 2006/0089284 A1 号に従って製造される。

【化6】



【0373】

酵素 Natalase (登録商標)、Termamyl (登録商標)、Stainzyme Plus (登録商標)、Celluclean (登録商標) 及び Mannaway (登録商標) は、Novozymes (Bagsvaerd, Denmark) から入手することができる。

【0374】

亜鉛フタロシアンテトラスルホネートは、Ciba Specialty Chemicals (Basel, Switzerland) から Tinolux (登録商標) BMC として入手することができる。

【0375】

抑泡剤粒剤は、Dow Corning (Barry, UK) から入手することができる。

【0376】

ランダムグラフトコポリマーは、ポリエチレンオキシド主鎖と複数のポリビニルアセテート側鎖とを有する、ポリビニルアセテートグラフト化ポリエチレンオキシドコポリマーである。ポリエチレンオキシド主鎖の分子量は約 6000 であり、ポリ酢酸ビニルに対するポリエチレンオキシドの重量比は約 40:60 であり、エチレンオキシド単位 50 当たりグラフト点は 1 つ以下である。

【0377】

(実施例 37)

NHJ2 コンビナトリアルライブラリの構築

本実施例は、次の変異：A016S、T022A、S101A、S103G、V104L、L111V、S128N 及び L148I (BPN' 番号) の 1 つ以上を包含する GG36 コンビナトリアルライブラリの構築を記載する。NHJ2 コンビナトリアルライブラリの作成のため、枯草菌発現プラスミド pHPLT-GG36 を DNA 2.0 Inc. に提供した。枯草菌株 (遺伝子型：ΔaprE, ΔnprE, amyE::xylRPxy lAcomK-phleo) で形質転換するために、構築済みの NHJ2 ライブラリの

10

20

30

40

50

ライゲーション反応物が、DNA 2.0, Inc. から提供された。本明細書に記載の変異を1つ又は複数含有して生成した変異体を、本明細書に記載の方法及び洗剤組成物を用い、冷水クリーニング用途について試験する。

【0378】

(実施例38)

更なるライブラリ及びGG36変異体の構築

以下の変異の組：A001R、A230E、E271L、G115R、G020R、H249R、K235F、K027V/F/L、L075E、L082R、N018R、N269R、N043D、N043R、N076D、R045T、S212F、S242R、S024R、S078R、S009A、T022R、V121E、V244R、V028E、V030E、V004R、W241R (BPN' 番号) を使用して、追加のライブラリ及び変異体を構築する。これらの変異を1つ以上含有して生成した変異体を、本明細書に記載の方法及び洗剤組成物を使用して、BMI マイクロ材料見本クリーニングアッセイ (実施例1) において冷水クリーニングについて試験した。結果を下表8-1に提供する。以降の表中で、洗剤組成物 (「Det」) は、上記実施例36に示されるものと対応する。同様に、記載のように、アミノ酸位置はBPN' の番号に対応させて列挙される。

10

【0379】

以下に示されるGG36変異体の追加の組を構築し、本明細書に記載の方法及び洗剤組成物を使用して、BMI マイクロ材料見本クリーニングアッセイ (実施例6) において冷水クリーニングについて試験した。結果を下表8-1に提供する。試験したGG36変異体は、G020R-N043R-H249R、G020R-T022R-N043R、G020R-N043R-S242R、G020R-N043R-E271L、G020R-N043R-V244R、G020R-S024R-N043R-S242R、S009A-T022R-S078R-S212F-W241R、S009A-G020R-N043R-S212F、S009A-N043R-S212F、G020R-N043R-S212F、G020R-T022R-N043R-S212F、S024R-S078R-S212F、S009A-N043R-S078R、S009A-N043R-S078R-S242R、S009A-G020R-N043R-S078R、G020R-S024R-N043R-S078R-S242R、T022R-S024R-S078R-S212F、S009A-G020R-N043R-S078R-S242R、G020R-N043R-S078R-H249R、G020R-N043R-S078R、S009A-S078R-S212F、S009A-T022R-N043R-S078R、S009A-G020R-S024R-N043R、S009A-T022R-S078R-S212F、V004R-S009A-T022R-S078R-S212F、G020R-S024R-N043R、A001R-S009A-N043R、G020R-S024R-N043R-G115R、S009A-S024R-N043R、G020R-T022R-S024R-N043R、A001R-S024R-N043R、S009A-G020R-S024R-N043R-S242R、S009A-G020R-T022R-S078R-S212F、S009A-S024R-N043R-V244R、S009A-S024R-N043R-S242R、V004R-S009A-T022R-S024R-S212F及びT022R-S024R-N043R (BPN' 番号) であった。

20

30

40

【0380】

【表 27-1】

表8-1:WCE4変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36k又はIの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;実施例36k又はIの洗剤、BMIアッセイ、16C
V004R-S009A-G020R-S242R	+++
G020R-N043R-W241R	+++
G020R-S242R-N269R	+++
V004R-S009A-G020R-N043R-	+++
V004R-G020R-H249R-	+++
N018R-S024R-V244R	+++
S009A-T022R-S212F-W241R	+++
G020R-N043R-N269R-	+++
N018R-S024R-S242R	+++
V004R-S009A-N043R-W241R-	+++
G020R-N043R-V244R-	+++
G020R-T022R-S242R-	+++
V004R-G020R-N043R-	+++
V004R-S009A-G020R-N043R-S242R-	+++
G020R-N043R-S242R-	+++
G020R-N043R-S242R-H249R-	+++
G020R-S212F-H249R-	+++
V004R-S009A-W241R-	+++
A001R-S009A-N043R-	+++
G020R-N043R-H249R-	+++
S009A-G020R-N043R-W241R	+++
G020R-T022R-N043R-	+++
G020R-H249R-N269R-	+++
G020R-T022R-W241R-	+++
V004R-S009A-S024R-N043R-W241R-	+++
S009A-N043R-S078R	+++
V004R-G020R-S024R-V244R-	+++
G020R-T022R-S078R-S242R-	+++
G020R-S024R-S242R-H249R-	+++
V004R-S009A-S078R-W241R-	+++

【0381】

【表 27-2】

(上記表の続き)

表8-1:WCE4変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36k又はIの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;実施例36k又はIの洗剤、BMIアッセイ、16C
S009A-N043R-S078R-S242R	+++
V004R-G020R-S024R-	+++
S009A-N043R-S212F	+++
G020R-N043R-S212F-	+++
S024R-S078R-S212F-	+++
S009A-G020R-S024R-N043R	+++
S009A-T022R-N043R-S078R	+++
G020R-T022R-S212F-W241R-	+++
G020R-N043R-S212F-W241R-	+++
S009A-N043R-W241R	+++
G020R-N043R-E271L	+++
G020R-T022R-S078R-W241R-	+++
G020R-S024R-N043R-S242R-	+++
G020R-T022R-N043R-W241R-	+++
S009A-G020R-N043R-S212F	+++
V004R-S009A-G020R-S024R-S242R-	+++
G020R-N043R-H249R-E271L	+++
G020R-T022R-S024R-S242R-	+++
S009A-T022R-S078R-S212F	+++
G020R-N043R-S242R-E271L	+++
S009A-T022R-S078R-S212F-W241R	+++
V004R-G020R-S024R-H249R-	+++
G020R-T022R-E271L	+++
G020R-T022R-N043R-S212F-	+++
V004R-G020R-S024R-N043R-S242R-	+++
V004R-G020R-S024R-N043R-	+++
V004R-S009A-T022R-S078R-S212F-	+
G020R-T022R-S078R-S212F-W241R-	+
G020R-T022R-N269R-	+

【0382】

(実施例39)

GG36ライブラリWCE2の構築及びクリーニング性能

枯草菌発現プラスミドpHPLT-GG36を用い、DNA2.0, Inc.によりWCE2コンビナトリアルライブラリを作成した。枯草菌株(遺伝子型: $\Delta aprE$ 、 $\Delta nprE$ 、 $amyE::xyLRPxyLAcomK-phleo$)で形質転換するために、構築済みのWCE2ライブラリのライゲーション反応物が、DNA2.0, Inc.から提供された。WCE2ライブラリの生成に使用される変異の組は、A230E、G020R、H249R、N018R、N043R/D、N076D、R045T、S242R及びS024R(BPN'番号)である。これらの変異を1つ以上含有して生成した変異体を、本明細書に記載の方法及び洗剤組成物を使用して、BMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイ(試験方法6)において冷水クリーニングについて試験した。結果を下表9-1に提供する。以降の表中で、洗剤組成物(「Det」)は、上記実施例36に示されるものと対応する。同様に、記載のように、アミノ酸位置はBPN'の番号付けに

10

20

30

40

50

応させて列挙される。

【 0 3 8 3 】

【表 2 8 - 1 】

表9-1: GG36のWCE2ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36h又は36iの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、洗剤36h又は 36i、16°C
N018R-G020R-N043D-R045T-A230E	+++
N018R-N043R-R045T-S242R-H249R	+++
S024R-N043D-H249R	+++
N018R-G020R-R045T	+++
G020R-S024R-N076D-H249R	+++
S024R-N043R-A230E-S242R	+++
N018R-S024R-N043D-A230E	++
G020R-N076D	++
N018R-S024R-N043D-N076D-H249R	++
S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-R045T-S242R	++
G020R-N043D-N076D-A230E-H249R	++
G020R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-S024R-N076D-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-L233I-S242R	+++
S024R-N043R-A230E	+++
N018R-G020R-N043D	+++
N043R-S242R-H249R	+++
G020R-N043R-R045T-A230E	+++
N043R-N076D-S242R-H249R	+++
G020R-S024R-R045T-A230E-S242R	+++
S024R-R045T-N076D-A230E-S242R-H249R	+++
S024R-R045T	+++
S024R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R	++
N018R-S024R-N043D-R045T-H249R	++
N018R-N043R-R045T-H249R	+++
S024R-N043R-S242R	+++
N018R-G020R-N043R-N076D-H249R	+++
G020R-S024R-N043D-H249R	+++
G020R-N043R-A230E-S242R	+++
G020R-N043R-S242R	+++

【 0 3 8 4 】

【表 28-2】

(上記表の続き)

表9-1:GG36のWCE2ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36h又は36iの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、洗剤36h又は 36i、16°C
N018R-N043R-N076D-A230E	++
G020R-S024R-N043D-S242R	+++
G020R-N043R-A230E	+++
N018R-G020R-N043R-N076D-S242R-H249R	+++
N043D-R045T-N076D-H249R	+
N018R-N043R-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-G020R-N043D-A230E-S242R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-H249R	+++
S024R-N043R-H249R	+++
G020R-S024R-K027E-N043R-N076D-A230E	+++
S024R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-A230E	+++
G020R-N043R-N076D-A230E-H249R	+++
N018R-N043R-R045T-S242R	+++
G020R-S242R-H249R	+++
N018R-N043R-N076D-A230E-S242R-H249R	++
N018R-S024R-N076D	++
G020R-S024R-K27R-N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S242R	++
N018R-N043R-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-A230E-H249R	+++
N018R-G020R-N043D-H249R	++
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S242R	+++
S024R-N043R-N076D-A230E-S242R	+++
G020R-S024R-T38I-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-N043R	+++
N018R-S024R-R045T-A230E-S242R	++
N018R-G020R-H249R	+++
S024R-N043R-N076D	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-H249R	++
N018R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R	+++

【0385】

10

20

30

40

【表 28-3】

(上記表の続き)

表9-1:GG36のWCE2ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36h又は36iの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、洗剤36h又は 36i、16°C
S024R-N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-S242R	++
G020R-S024R-N043R-N076D	++
N018R-G020R-N043D-R045T-A230E-S242R	++
G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S242R	++
N018R-G020R-N043R-N076D-A230E-S242R	++
N018R-S024R-N043D-H249R	++
N018R-S024R-N043R-R045T-A230E-H249R	++
N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-S242R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-A230E-S242R	++
R045T-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-S242R	+++
N018R-G020R-N043D-R045T-S240P	++
S024R-N043R-R045T-S242R-H249R	++
N018R-S024R-V30S-L31S-D32I-T33Q-G34V-I35F	++
N018R-G020R-N043R-N076D	+++
G020R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R	++
N018R-S024R-N043D-A230E-S242R	++
N018R-S024R-N043D-S242R-H249R	+++
S024R-N043D-R045T-S242R-H249R	++
N043R-A230E-H249R	+
N043R-A230E-H249R	+
G020R-S024R-N043D-N076D-H249R	++
S024R-R045T-S242R-A273V	+
G020R-S024R-R045T-N076D-S242R-H249R	+
N018R-S024R-N043D-N076D-S242R	+
N018R-N043R-N076D-A230E-H249R	+
N018R-G020R-N043R-R045T-H249R	+
N018R-N043R-R045T-A230E-S242R	+
G020R-S024R-N043D-R045T-A230E-S242R	+

【0386】

10

20

30

40

【表 28-4】

(上記表の続き)

表9-1:GG36のWCE2ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36h又は36iの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI < 1.5$ は++であり、 $1.1 \leq PI < 1.3$ は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、洗剤36h又は 36i、16°C
N018R-N043D-A230E-H249R	+
N018R-N043R-N076D-S242R	+++
N018R-G020R-N076D	+
N018R-G020R-N043D-N076D-S242R-H249R	+
G020R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	+++
N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-N076D	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-H249R	+
N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R	+
N018R-N076D-S242R	+
G020R-N043R-H249R	+
N018R-N076D-S242R-H249R	+
N018R-S024R-R045T-A230E-H249R	+
A230E-H249R	+++
N018R-R045T-H249R	+
G020R-N043R-N076D	+++
N043R-R045T-H249R	+++
N018R-N043D-N076D-S242R-H249R	+
N043R-N076D-H249R	+++
G020R-S024R-N043D-R045T	+++
S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	+++
N043R-N076D-A230E-H249R	+++

【0387】

(実施例40)

GG36変異体のWCE3の組の構築及びクリーニング性能

本実施例は、GG36変異体、GG36-7(実施例5)及びGG36-9(実施例4)に基づく変異のWCE3の組を記載する。これらの変異は、S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D、S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D、S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R、S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R、S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248R、並びに、S101G、S103A、V104I、A232V、Q236H、Q245R及びN252Kである。実施例34に記載のように、DNAテンプレートとしてpRA96プラスミドを使用し、QuikChange(登録商標)Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit(QCLMSキット;Stratagene)を用いることで、これらの変異体を生成した。これらの変異体を、本出願に記載の方法及び洗剤組成物を使用して、BMIマイクロ材料見本アッセイ(試験方法6)において冷水クリーニングについて試験した。

【0388】

【表 2 9】

表10-1. WCE3変異体のBMIクリーニング性能。 PI=GG36と比較した性能指数 実施例36h又は36iの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。	
GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ、 実施例36h又は36iの洗剤、16C
S101G-S103A-V104I-A232V-Q236H-Q245R-N252K	++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R	++
S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R	+
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D	+

10

【0389】

(実施例41)

GG36の更なるライブラリ及び変異体の構築

本実施例は、以下の変異：A016S、T022A、S024R、N062E、N076D、E089P、S101A/G、S103G/A、V104L/I、L111V、S128N、P129E、A232V、L148I、A158E、G159D/E、S166D、R186H、S188D、Y209E、Q236H、N238R、Q245R、N248D/R、H249R、N252K/R、T253R、E271F (BPN'番号) を1つ以上含有するGG36コンビナトリアル変異体の冷水クリーニングを記載する。これらのコンビナトリアル変異体は、DNA 2.0, Inc. により、枯草菌発現プラスミド (例えば、pHPLT-GG36; 図2) 及び枯草菌株 (遺伝子型: $\Delta aprE$ 、 $\Delta nprE$ 、 $amyE::xyLRPxyLAcomK-phleo$) を用いて、構築した。DNAライブラリの場合、枯草菌発現プラスミド (例えば、pHPLT-GG36; 図2) を用いて構築された各ライブラリのライゲーション反応物は、枯草菌株 (遺伝子型: $\Delta aprE$ 、 $\Delta nprE$ 、 $amyE::xyLRPxyLAcomK-phleo$) での形質転換のためにDNA 2.0, Inc. により供給された。前記に列挙された変異を1つ以上含有して生成した変異体を、本出願に記載の方法及び洗剤組成物を使用して、BMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイ (試験方法6) において冷水クリーニングについて試験した。

20

30

【0390】

【表 30-1】

表11-1. NHJ6ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

洗剤b、d又はeにおいて、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN ⁺ 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ: 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+++

10

20

【0391】

【表 30-2】

(上記表の続き)

表11-1. NHJ6ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 洗剤b、d又はeにおいて、PI≥1.5は+++であり、1.3≤PI≤1.49は++であり、1.1≤PI≤1.29は+である。	
GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ: 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	++

10

20

【0392】

【表 3 0 - 3】

(上記表の続き)

表11-1. NHJ6ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 洗剤b、d又はeにおいて、PI≥1. 5は+++であり、1. 3≤PI≤1. 49は++であり、1. 1≤PI≤1. 29は+である。	
GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ; 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+

10

20

【0 3 9 3】

【表 3 1】

表11-2. NHJ6ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 PI≥1. 5は+++であり、1. 3≤PI≤1. 49は++であり、1. 1≤PI≤1. 29は+である。	
GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ; 実施例36gの洗剤、16C
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+

30

40

【0 3 9 4】

【表 3 2 - 1】

表11-3 NHJ7コンビナトリアル変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36b、36d又は36eの洗剤において、PI $\geq$ 1.5は+++であり、1.3 $\leq$ PI $\leq$ 1.49は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ; 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
V104L-S128N-A158E-R186H-H249R	+++
S128N-A158E-S188D-H249R	+++
N062E-S128N-A158E-G159E-E271F	+++
N062E-A158E-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-A158E-R186H-H249R-E271F	+++
S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F	+++
N062E-G159E-S188D-H249R	+++
A016S-N062E-A158E-R186H-H249R	+++
N062E-A158E-G159E-H249R	+++
S101A-S128N-A158E-Y209E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-A158E-S188D-H249R	+++
N062E-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-A158E-R186H-H249R	+++
N062E-S101A-R186H-H249R	+++
N062E-S101A-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-V104L-A158E-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-G159E-R186H-H249R	+++
N062E-G159E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-H249R	+++
S128N-A158E-S188D-E271F	+++
N062E-A158E-H249R	+++
N062E-R186H-S188D-H249R-E271F	+++
S128N-A158E-Y209E-	+++
N062E-S101A-A158E-H249R	+++
V104L-S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-S101A-A158E-R186H-H249R-E271F	+++
A016S-N062E-A158E-H249R	+++
N062E-S101A-G159E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-S188D-E271F	+++
S101A-S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-S101A-S188D-H249R	+++
S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	+++
N062E-G159E-H249R-E271F	+++

10

20

30

【0 3 9 5】

【表 3 2 - 2】

(上記表の続き)

表11-3 NHJ7コンピナトリアル変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36b、36d又は36eの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ; 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
S128N-A158E-G159E-E271F	+++
A016S-N062E-V104L-A158E-R186H-E271F	+++
T022A-S128N-A158E-H249R	+++
S128N-A158E-H249R	+++
N062E-S101A-V104L-A158E-R186H-E271F	+++
A016S-N062E-A158E-R186H-E271F	+++
V104L-S128N-A158E-H249R	+++
V104L-S128N-A158E-S188D-H249R	+++
T022A-N062E-A158E	+++
N062E-S101A-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-A158E-H249R-E271F	++
V104L-S128N-A158E-R186H-S188D-E271F	++
N062E-S101A-R186H-E271F	++
N062E-V104L-G159E-H249R	++
N062E-R186H-H249R	++
N062E-S101A-R186H-H249R-E271F	++
S101A-A158E-R186H-S188D-H249R	++
N062E-S101A-R186H	++
S101A-S128N-P129E-R186H-H249R	++
S101A-S103G-A158E-R186H-H249R	++
A016S-N062E-V104L-R186H-S188D-E271F	++
V104L-A158E-R186H-H249R	++
S101A-S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F	++
N062E-S101A-R186H-S188D-E271F	++
A016S-N062E-A158E-H249R-E271F	++
N062E-S128N-A158E	++
N062E-S128N-G159E-H249R	++
N062E-S101A-A158E-S188D-H249R	++
S101A-S128N-A158E-H249R	++
N062E-A158E-R186H-S188D-H249R	++
A016S-V104L-A158E-R186H-E271F	++
N062E-L148I-G159E	++
N062E-S101A-A158E-R186H-H249R	++
N062E-S101A-R186H-S188D-H249R	++
V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	++
N062E-S101A-V104L-R186H-S188D-E271F	++

10

20

30

【0 3 9 6】

【表 3 2 - 3】

(上記表の続き)

表11-3 NHJ7コンビナトリアル変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36b、36d又は36eの洗剤において、PI $\geq$ 1.5は+++であり、1.3 $\leq$ PI $\leq$ 1.49は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ; 実施例36b、36d又は36eの洗剤、16C
T022A-S101A-A158E-R186H-H249R	++
S101A-S128N-A158E-Y209E	++
A158E-R186H-S188D-H249R-E271F	++
V104L-A158E-R186H-S188D-H249R-E271F	++
S101A-V104L-A158E-R186H-H249R	++
V104L-A158E-H249R	++
S101A-V104L-S128N-A158E-R186H-E271F	++
A016S-V104L-S188D-H249R	++
S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-E271F	++
V104L-S128N-G159E-E271F	++
V104L-A158E-R186H-H249R-E271F	++
A158E-R186H-H249R	++
S101A-A158E-R186H-H249R	++
V104L-A158E-S188D-H249R-E271F	++
A016S-S128N-A158E-R186H	++
V104L-S128N-R186H-S188D-H249R	++
A016S-S101A-S128N-R186H	++
A016S-N062E-S128N-R186H-E271F	++
A016S-S128N-R186H-E271F	+
S128N-P129E-R186H	+
A158E-R186H-H249R-E271F	+
A016S-A158E-H249R	+
A016S-A158E-R186H-H249R	+
A016S-T022A-A158E-R186H-E271F	+
E089P-S101A-P129E-R186H	+
T022A-S128N-A158E-R186H	+
S101A-V104L-S128N-A158E-R186H	+
T022A-S128N-R186H-S188D-	+
N062E-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	+
T022A-A158E-R186H-H249R-E271F	+
T022A-V104L-A158E-H249R	+
S101A-L111V-P129E	+
A016S-A158E-H249R-E271F	+
A016S-L111V-S188D-	+
T022A-V104L-R186H-S188D-H249R	+

10

20

30

【0 3 9 7】

(実施例42)

GG36の更なるライブラリ及び変異体の構築

本実施例は、GG36変異体及び次の変異(BPN'番号)の1つ以上用いる枯草菌ライブラリの構築について記載する：A001R、Q002S、Q002M、Q002A、Q002R、Q002W、S003R、V004R、V004S、V004C、I008A、S009A、S009F、S009W、R010S、R010A、R010H、R010M、Q012F、Q012R、P014K、P014F、P014Q、A015R、A015F、A016S、H017R、H017M、H017F、N018R、N018K、G020F、G020K、G020R、T022A、T022R、T022Y、T022V、T022Q、T022L、T022W、G023A、G023S、G023F、S024R、S024F、S024W、S024Q、S024H、S024L、G025V、G025F、G025R、V026F、K027L、K027F、K027R、K027V、V028A、V028N、V028E、A029T、V030E、L031F、T033S、T033G、T033D、G034P、I035M、S036T、S036F、S036R、T038L、T038F、T038R、P040N、P040L、P0

40

50

40T、P040W、P040H、P040R、L042I、N043A、N043F、
N043I、N043S、N043R、N043M、N043W、N043D、R045
T、G046R、A048R、F050C、V051W、V051F、V051H、P0
52F、P052E、P052N、P055Y、T057R、Q059A、Q059F、
Q059R、D060P、D060Q、D060A、N062E、N062Q、G063
V、G063M、G063T、G063I、G063A、G063S、G063H、G0
63Q、G063D、G063E、G063P、H064F、H064T、V068A、
V068C、A069N、A069T、A069P、A069W、T071G、I072
C、A074C、L075A、L075F、L075E、L075R、N076D、S0
78R、S078N、S078I、I079W、I079Q、V081R、L082F、
L082T、L082V、L082R、L082M、A085M、P086W、P086
L、P086I、E089P、E089T、E089G、E089H、E089L、E0
89V、E089W、E089F、E089I、Y091N、Y091F、A092F、
K094N、S099F、S099T、S099P、S099G、S099M、G100
S、G100N、G100Q、G100I、S101A、S101N、S101G、S1
01T、S101D、S101E、S101P、S101F、G102A、G102T、
G102N、G102H、G102E、S103G、S103N、S103D、S103
A、V104L、V104I、V104E、V104D、S105T、S105E、S1
05Q、S106G、S106T、S106E、S106D、S106A、S106V、
S106F、I107M、I107F、A108I、A108G、Q109M、L111
V、L111I、E112V、E112L、E112Q、A114G、G115K、G1
15R、N116K、N116A、N116L、N117F、G118R、G118I、
M119C、H120A、H120F、H120R、V121F、V121E、N123
G、N123E、L124S、S128D、S128F、S128L、S128N、S1
28H、S128M、S128I、S128Q、P129E、S132A、S132E、
A138G、S144R、V147L、L148I、A158E、G159D、G159
E、G159C、S160D、S166D、S166E、Y167W、M175V、V1
77C、D181A、Q182R、N183I、N183D、N183M、N183F、
N183R、N185E、N185V、N185I、R186H、R186K、S188
E、S188D、S188R、Y192H、Y192W、A194E、A194V、A1
94F、D197F、I198L、I198F、V203E、V203C、T208S、
Y209S、Y209N、Y209F、Y209T、Y209E、Y209H、Y209
G、Y209L、P210R、P210V、P210L、G211Q、G211R、S2
12I、S212M、S212F、T213A、Y214F、A215N、A215D、
A215E、A215H、A215F、S216F、S216A、L217E、L217
N、L217D、N218D、N218P、N218E、T224A、T224G、V2
27I、A230E、A231I、A231C、A232V、L233C、V234F、
K235F、Q236F、Q236N、Q236H、N238R、N238K、N238
L、P239K、P239G、P239R、P239H、P239T、P239N、P2
39S、P239F、S240R、W241R、S242L、S242R、N243F、
N243R、V244R、Q245R、I246S、N248D、N248V、N248
I、N248R、H249R、H249T、L250I、K251R、K251S、N2
52I、N252F、N252R、N252K、N252H、T253I、T253R、
T253F、A254C、S256N、G258R、T260V、T260I、L262
D、L262H、Y263F、S265F、L267V、L267N、L267M、N2
69I、N269R、A270C、E271I、E271V、E271H、E271M、
E271L、E271P、E271A、E271F、E271T、A272F、A272
F、A272R、A273F、A273I、及びT274G。これらの変異体及びライブ
ラリは、DNA2.0, Inc. により、実施例41に記載のように構築した。これらの
変異を1つ以上含有して生成した変異体を、本出願において試験方法6に記載の方法及び

10

20

30

40

50

洗剤組成物を使用して、BMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイにおいて冷水クリーニングについて試験した。

【0398】

【表33-1】

表12-1: WCE6及びWCE8変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1.5は+++であり、1.3 $\leq$ PI $\leq$ 1.49は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
A001R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
V004R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L	+++
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
V004R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L	+++
G020R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-G025R-N116A-Y167W	+++
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S078R-S103N-S106G-Y167W-Q236N	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-S101A-H120F-A194F-H249R	+++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-S212F-A232V-Q245R	+++
G020R-S144R-N185I-L233C-Q236N	+++
G023A-S078R-S216F-Q236N-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-G115R-A232V-Q245R	+++
P052N-S078R-S103N-L148I-T213A	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G025R-E089I-N116A-P239S-A270C	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
L148I-T213A-N252R	+++
S024R-G025R-N183D-Y192W-P239S	+++
G046R-A194F-S212M	+++
V104L-L217E-T224A-H249R-N252R	+++
G023A-Y091F-V121F-Y192W-Q236N	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-V244R-Q245R	+++
S099F-S144R-Y167W-N252R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++

【0399】

10

20

30

【表 3 3 - 2】

(上記表の続き)

表12-1: WCE6及びWCE8変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1.5は+++であり、1.3 $\leq$ PI $\leq$ 1.49は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は+である。

GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
T022W-S078R-Y167W-S212M-A270C	+++
V121F-N252R-A270C	+++
G020R-S103N-S216F-Q236N-N252R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
G023A-P052N-Y192W-I198L-N252R	+++
G025R-G046R-V121F	+++
S024R-S078R-V104L-N116A-N183D	+++
G046R-Q059A-S103N-G211Q-S212M	+++
G020R-P052N-N062Q-Y091F-Y192W	+++
G023A-P052N-S144R-Y192W-S216F	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+++
P052N-S103N-N116A-L148I-Y192W	+++
E089I-N116A-N117F-T224A-H249R	+++
S144R-G211Q-N238L-P239S-H249R	+++
N043A-N062Q-A194F-G211Q	+++
G020R-S024R-P052N-Q059A-S216F	+++
S024R-Y167W-T224A-H249R	+++
T057R-Y167W-H249R	+++
G025R-S103N-R186K-A194F-T224A	+++
S105T-S128N-S144R-L148I-S212M	+++
G020R-Q059A-S144R-Y192W-T224A	+++
S024R-N043A-N117F-A194F-G211Q	+++
N117F-A194F-T213A-A270C	+++
S078R-Y091F-V121F-L233C-N252R	+++
T057R-S099F-S105T-I198L-T213A	+++
G023A-Y091F-S101A-I198L-N252R	+++
N062Q-S103N-V121F-S144R-H249R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+++
G023A-S024R-N117F-S212M-S216F	+++
V104L-T213A-S216F	+++
A194F-G211Q-Q236N	+++
N062Q-S103N-N117F-A194F	+++
S024R-N062Q-V104L-S106G-H249R	+++
T057R-E089I-I198L	+++
G046R-Q059A-S106G-L217E-H249R	+++
N117F-T213A-A215F	+++
S101A-H120F-Y192W-A215F-T224A	+++

【0 4 0 0】

【表 3 3 - 3】

(上記表の続き)

表 12-1: WCE6 及び WCE8 変異体の BMI クリーニング性能。

PI = 性能指数

実施例 36k 又は 36l の洗剤において、PI ≥ 1.5 は +++ であり、1.3 ≤ PI ≤ 1.49 は ++ であり、1.1 ≤ PI ≤ 1.29 は + である。

GG36 変異体の配列 (BPN 番号)	GG36 と比較した PI: BMI アッセイ、 実施例 36k 又は 36l の洗剤、16C
N043A-T057R-N117F-S144R-N183D	+++
G046R-N183D-N238L	+++
G025R-N043A-E089I-N117F	+++
S078R-V104L-T213A-A215F-T224A	+++
Y091F-S099F-S101A-S105T-Y167W	+++
S106G-N117F-N238L	+++
G046R-E089I-Y091F-S101A-N116A	+++
G020R-N062Q-E089I-R186K-S212M	+++
T057R-S099F-V121F-N185I-Y192W	+++
G046R-E089I-Y192W-L233C-A270C	+++
E089I-N117F-N185I-A215F-L233C	++
P052N-V104L-N183D-S216F-H249R	++
S078R-S099F-N116A-R186K-T224A	++
G025R-S105T-S128N-S144R-A270C	++
S105T-G211Q-S216F	++
S024R-G046R-Y091F-V121F	++
S106G-N185I-S216F-Q236N	++
N062Q-S101A-Q236N-N252R-A270C	++
G025R-N043A-Y091F-I198L-A270C	++
G020R-G023A-V104L-Y192W-L233C	++
S024R-N043A-S105T-S106G-I198L	++
G020R-E089I-L217E	++
S024R-Y091F-I198L-A215F-P239S	++
G046R-E089I-S099F-R186K-S212M	++
V104L-H120F-R186K-S216F-N252R	++
T022W-A194F-T213A-L233C-N238L	+
S099F-S105T-S106G-A194F-S212M	+
E089I-S105T-N116A-A215F-S216F	+
G025R-N116A-H120F-T224A-A270C	+
N043A-Q059A-S101A-S216F-T224A	+
T057R-N183D-Q236N	+
G025R-N062Q-S128N-S144R-N185I	+
S103N-H120F-Y167W-I198L-L233C	+
T022W-E089I-S216F	+
S024R-S106G-N116A-S212M-T224A	+
G020R-P052N-S101A-I198L-L233C	+
E089I-Y091F-N185I-G211Q-A270C	+

【0 4 0 1】

【表 3 4 - 1】

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は++++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は+++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++である。

GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116S-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R	+++
N018R-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	+++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S103A-A232V-H249R	+++
N018R-S101G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-H249R	+++
N018R-T22K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	+++
N018R-N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	+++
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-Q245R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++

10

20

【0 4 0 2】

30

【表 3 4 - 2】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S101G-S103A-H249R	+++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-V104I-A232V-H249R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A215F-A232V-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-H249R	+++
N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-S101G-V104I-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R	+++
N018R-Q245R	+++
S024R-S103A-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-V104I-H249R	+++
N018R-S024R-V104I-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	+++
R019H-G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S103A-V104I-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	+++
N018R-S024R-S101G-V104I-A232V	+++

【0 4 0 3】

10

20

30

【表 3 4 - 3】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-S101G-V104I	+++
G020R-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-S103A-Q245R	+++
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-V104I-H249R	+++
G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
S024R-N076D-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
A001T-N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N076D-S101G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++

【0 4 0 4】

10

20

30

【表 3 4 - 4】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能)。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-I198L-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
S024R-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	+++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215V-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	+++
G020R-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	++
G020R-T022W-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	++
G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-T180A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-S103A-V104I	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S103A-A232V-Q245R	++

10

20

【0 4 0 5】

30

【表 3 4 - 5】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-G211Q-H249R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-A232V-H249R	++
N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N076D-Q245R	++
S024R-V104I-Q245R	++
S101G-A232V	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-I198L-A232V-Q245R	++
S024R-Q245R-H249R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	++
S024R-S101G-V104I-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-V104I	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-T22W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
Q012H-G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-T213A-H249R	++
S024R-V104I-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-H249R	++
N018R-N076D-S103A-V104I-H249R	++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R-E271G	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++

10

20

【0 4 0 6】

30

【表 3 4 - 6】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	++
G020R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A215F-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
S024R-S103A-M175L-A232V-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	++
G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-Q245R	++
G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
S024R-A232V	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-A232V-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198M-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S103A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R-V268G	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R	++
S101G-S103A-V104I-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	++
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	++

10

20

【0 4 0 7】

30

【表 3 4 - 7】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI≥1. 5は+++であり、1. 3≤PI≤1. 49は++であり、1. 1≤PI≤1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI:BMアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
G020R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
S024R-S103A-A232V	++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S076T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A273T	++
N018R-G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101G-A232V	++
A232V-Q245R	++
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-V234I-Q245R	++
S024R-N076D-S103A-V104I-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-A272V	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-S103A-V104I-A232V	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-M117I-N183D-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A232V-Q245R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-Y209H-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-M175L-A232V-Q245R	++

【0 4 0 8】

10

20

【表 3 4 - 8】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R	++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-A215F-H249R	++
S024R-N076D-V104I-Q245R	++
K027R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-V104I	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-N076D-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A114T-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++

10

20

【0 4 0 9】

30

【表 3 4 - 9】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能)。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-T022K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V	++
N018R-S024R-N076D-N116A-H249R	++
G020R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-A232V-Q245R-	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	++
N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-H249R	++
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A131V-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S024R-S101G-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-Q245R	++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	++
S024R-S101G	++
N018R-T22W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-I198L-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	++
N018R-V104I	++

10

20

【0 4 1 0】

30

【表 3 4 - 1 0】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-L088I-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N076D-S101G-V104I-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R	++
S024R-N076D-Q245R	++
N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R	++
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-N218S-A232V-Q245R	++
N018R-S103A	++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	++
S024R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
K027R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-V104I	++
S101G-S103A-V104I-A232V-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	++

【0 4 1 1】

10

20

30

【表 3 4 - 1 1】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R	++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-R275S	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	++
V004M-N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
V104I-A232V-H249R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-T274I	+
G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+
G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S103A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R-A270V	+
N018R-N043D-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	+
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V	+
S101G-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-M175L-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-N269S	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R-T260K	+

10

20

【0 4 1 2】

30

【表 3 4 - 1 2】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能)。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1.5は+++であり、1.3 $\leq$ PI $\leq$ 1.49は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R	+
S024R-N076D-S103A-H249R	+
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
G020R-S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A272D	+
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-A232V	+
S024R-S103A-V104I	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
S024R-N076D-S103A-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
S103A-V104I-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
A016T-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+

10

20

【0 4 1 3】

30

【表 3 4 - 1 3】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI≥1. 5は+++であり、1. 3≤PI≤1. 49は++であり、1. 1≤PI≤1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	+
N043R-N076D-S101G-S103T-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R	+
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G115E-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101G	+
N076D-S101G-A232V-Q245R	+
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R	+
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-A215F-H249R	+
N018R-V104I-A232V	+
N043D-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S024R-N076D-S101G-A232V-H249R	+
S103A-A232V-Q245R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
S024R-N076D-S103A-V104I-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-A131T-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N043R-S101G-S103A-V104I-Q245R-H249R	+
N018R-N076D-A232V-H249R	+
N018K-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R-L267I	+

【0 4 1 4】

10

20

30

【表 3 4 - 1 4】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
A232V-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-V104I-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	+
S024R-S101G-S103A-A232V	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-H249R	+
S103A-A232V-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-T274I	+
S024R-S103A-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
S103A-A232V	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	+

【0 4 1 5】

10

20

30

【表 3 4 - 1 5】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能)。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+
N018R-N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-A232V	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-N263S	+
S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R	+
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-V197A-T213A-A215F-H249R	+
S024R-S101G-S103A	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-A215F-H249R	+
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
S024R-V104I-A232V	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
G020R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-A150T-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+

10

20

【0 4 1 6】

30

【表 3 4 - 1 6】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	+
S024R-N076D-A232V-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116T-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+
N076D-S101G-S103A-Q245R	+
G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N076D-S101G-V104I-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-Y209H-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R	+

10

20

【0 4 1 7】

30

【表 3 4 - 1 7】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMI(クリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-Q245R	+
N076D-S101G-V104I-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	+
G020R-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N204D-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A209V-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R-N269D	+
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-Y209H-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N076D-A232V-Q245R	+

【0 4 1 8】

10

20

30

【表 3 4 - 1 8】

(上記表の続き)

表12-2:WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBM(クリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI・BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-T213A-H249R	+
G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	+
G020R-A090S-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N076D-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N076D-S103A-V104I-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101G-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N076D-V104I-A232V-Q245R	+
K027R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S103A-V104I-L135I-A232V	+

10

20

【0 4 1 9】

30

【表 3 4 - 1 9】

(上記表の続き)

表12-2: WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-H249R	+
P005S-N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-N243D-H249R	+
N018R-G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
S024R-N076D-S101G	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R	+

10

20

【0 4 2 0】

【表 3 4 - 2 0】

(上記表の続き)

表12-2: WCE10~WCE14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-Q245R	+
G020R-S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R-N269S	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-A086V-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-N076D-S101G-I198T-A232V	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-H249R-A248T	+
N018R-N076D-V104I-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-N076D-S101G-V104I	+

40

50

【 0 4 2 1 】

【表 3 5 - 1】

表12-3:WCE15及びWCR16変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36mの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36mの洗剤、16C
N018R-S024R-N043R-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N043D-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-S078R-H249R	+++
G020R-S101G-S103G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++

10

20

【 0 4 2 2 】

【表 3 5 - 2】

(上記表の続き)

表12-3:WCE15及びWCR16変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36mの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36mの洗剤、16C
G020R-S101G-S103S-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103G-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103S-V104V-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-S078R-H249R	++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-L217E-H249R	++
N018R-S024R-N043R-N076D-L217E-H249R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N043R-N076D-H249R	++
G020R-S101A-S103G-V104V-A232V-Q245R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-L217E-H249R-N269R	+

30

40

【 0 4 2 3 】

【表 3 6 - 1】

表 12-4: WCE20 及び WCE21 ライブラリ変異体の BMI クリーニング性能。 PI = 性能指数 実施例 36m 又は 36n の洗剤において、PI ≥ 1.5 は +++ であり、1.3 ≤ PI ≤ 1.49 は ++ であり、1.1 ≤ PI ≤ 1.29 は + である。	
GG36 変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36 と比較した PI: BMI アッセイ、 実施例 36m 又は 36n の洗剤、16C
G020R-S101A-S103A-V104I-G118R-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-N116A-T213A	+++
N043R-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
S024R-N043R-S101A-N116A	+++
S024R-N043R-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N043R-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-T213A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-T213A	+++
S024R-N043R-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-S024R-T213A-A215F	+++
G020R-N116A-N269R	+++
S024R-N116A-T213A-N269R	+++
N043R-S101A-N116A-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-N043R-S101A-N269R	+++
S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-A215F-N269R	+++
N043R-S101A-N116A-T213A-A215F-N269R	+++
N043R-S101A-T213A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-T213A-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-N269R	+++
G020R-N043R-R045T-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T	+++
N043R-N116A-N269R	+++

【0 4 2 4】

【表 3 6 - 2】

(上記表の続き)

表12-4: WCE20及びWCE21ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36m又は36nの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36m又は36nの洗剤、16C
S024R-N043R-S101A-A215F-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-T213A-A215F-N269R	+++
G020R-S024R-R045T-N269R	+++
G020R-N043R-S101A-N116A-T213A-A215F	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-R045T-N116A-N269R	+++
G020R-S101A-N116A-N269R	+++
S024R-N043R-A215F	+++
G020R-S024R-T213A	+++
S024R-N043R-S101A-A215F	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-N269R	+++
G020R-S024R-S101A-A215F	+++
G020R-S024R-N116A-T213A-A215F	+++
G020R-S024R-N116A	+++
G020R-S024R-S101A-N116A	+++
N043R-T213A-A215F-N269R	+++
S024R-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-A215F	+++
G020R-T038A-N043R-S101A	+++
G020R-S024R-N116A-A215F	+++
S024R-N043R-S101A-T213A	++
P014L-G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-A215F	++
G020R-S024R-A215F	++
G020R-N116A-A215F-N269R	++
G020R-R045T-N116A-N269R	++
G020R-S024R-N043R-R045T-A215F	++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A-A215F	++

【0 4 2 5】

【表 3 7】

表12-5 NHJ8ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36fの洗剤において、PI $\geq$ 1. 3は+++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36fの洗剤、16C
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+++
S024R-N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F-E271F	+++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A114V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

【0 4 2 6】

10

20

30

【表 3 8】

表12-6. NHJ8、NHJ9、NHJ14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36cの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI:BMIアッセイ、 実施例36cの洗剤、16C
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+

【0 4 2 7】

【表 3 9】

表12-7 NHJ9ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36fの洗剤については、PI $\geq$ 1. 3は+++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。

GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI:BMIアッセイ、 実施例36fの洗剤、16C
H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
T022A-S101G-G102A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+

【0 4 2 8】

【表 4 0】

表12-8 NHJ11変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36a又は36cの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI:BMIアッセイ、 実施例36a又は36c1、漂白剤不含、16C
S101S-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103G-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101S-S103S-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103S-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101S-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101A-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101G-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101S-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

10

20

30

40

50

【 0 4 2 9 】

【表 4 1】

表12-9 NHJ12変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36a洗剤において、PI $\geq$ 1. 3は++++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36aの洗剤、16C
V026F-V051W-V104L-S106E	+++
V026F-L031F-S078N-G102A-S160D	+++
G020K-G100S-N116L-A158E-S166D-N243F	+++
T033S-N043W-N218D-P239G-N243F	+++
T022L-T038F-A048R-N062E-G100S-R186K	+++
S101D-S103N-N116L-S144R-A215D	+++
V104L-S105T-T213A-L217E-S256N	+++
N043W-S101D-S212M-N243F	+++
V026F-A048R-S105T-T213A-N218D-T224A	+++
S024F-S101D-G118R-A215D-L250I-A272F	++
V121F-N185E-T224A-P239G	++
T022L-L031F-G102A-S128D-T224A-N243F	++
N062E-S078N-G102A-N116L-S144R-L250I	++
T022L-T038F-V121F-S160D-A272F	++
V026F-S078N-G159C-R186K-N243F	++
S024F-A048R-G118R-S166D-L217E	++
G023A-T038F-S078N-G100S-S212M-A215D	++
G100S-N116L-A158E-T213A	++
S078N-V104L-G118R-S128D	++
G102A-S103N-S105T-A194E	++
T022L-S078N-S128D-T213A	+
K027R-G100S-G118R-S160D-S188D-N243F	+
S024F-G102A-R186K-T213A-L217E-N243F	+
T033S-S105T-S188D-S216F	+
G023A-G100S-A194E-S212M	+
A048R-S128D-N185E-P239G	+
G020K-S024F-T033S-P129E-A194E	+
G020K-K027R-P129E-S166D-P239G	+
T022L-G023A-K027R-S101D-V104L-S216F	+
T033S-G118R-P129E-A194E-P239G	+
T022L-S078N-N116L-P129E-S256N	+
K027R-S101D-S103N-S105T-A272F	+
A048R-S078N-N116L-N185E-L217E-P239G	+
G023A-S024F-K027R-N062E	+
S024F-S103N-V104L-G118R-S188D	+
V026F-V104L-S256N-A272F	+
S024F-N043W-V104L-V121F-P129E	+
N062E-S078N-N116L-T224A	+

10

20

30

【 0 4 3 0 】

【表 4 2】

表12-10 NHJ15ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36aの洗剤において、PI $\geq$ 1.3は+++であり、1.2 $\leq$ PI $\leq$ 1.29は++であり、1.1 $\leq$ PI $\leq$ 1.19は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36aの洗剤、16C
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D	+++
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D	++
T022A-N043R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S024R-N043R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N248D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N043R-N062E-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-S128I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+
T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D	+

10

20

【0 4 3 1】

【表 4 3】

表12-11 NHJ16ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36aの洗剤において、 $PI \geq 1.3$ は+++であり、 $1.2 \leq PI \leq 1.29$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.19$ は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ、 実施例36aの洗剤、16C
G020K-S024F-N062E-S188D-P239G	+++
S024F-N062E-N116L-P239G	+++
G020K-G023A-N062E-S188D	+++
G020K-G023A-S024F-N062E-G118R-S188D-T213A	+++
G020K-N043W-N062E-N116L-S188D-T213A-P239G	+++
G023A-N062E-N116L-G118R	+++
G023A-S024F-N062E-N116L-G118R	+++
S024F-N116L	+++
S024F-N062E-S188D-T213A	+++
G023A-N062E-N116L-G118R-S188D-P239G	+++
G020K-S024F-N062E	++
G020K-N043W-N062E-N116L-P239G	++
S024F-N062E-N116L-T213A-P239G	++
G020K-S024F-N043W-N062E-N116L-T213A	++
G020K-G023A-S024F-N062E-N116L-S188D-T213A	++
S024F-N062E-S188D-P239G	++
G023A-N043W-N062E-N116L-G118R-T213A	++
N062E-S188D-P239G	++
G020K-S024F-N062E-P239G	+
S024F-N116L-G118R-S188D-P239G	+
G020K-G023A-N062E-N116L-G118R-T213A	+
G020K-G023A-S024F-N062E-S188D-T213A-P239G	+
S024F-N043W-G118R-S188D	+
G023A-S024F-N116L-G118R-S188D-T213A	+
G020K-G023A-N043W-N116L-S188D-T213A-P239G	+
G023A-S024F-N116L-S188D-P239G	+
G023A-N043W-N116L-G118R-S188D	+
G023A-S024F-G118R-S188D-P239G	+
G023A-S024F-N043W-N062E-N116L-G118R	+

10

20

30

【0 4 3 2】

【表 4 4】

表12-12 NHJ15及びNHJ16ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36a、36d又は36fの洗剤において、PI $\geq$ 1. 3は+++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。	
GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI: BMI、実施例36a、36d又は36fの洗剤、16C
G020K-G023A-N043W-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D	+++
S024F-G118R-S128I-P129E-G159D	+++
G020K-S024F-N062E-N116L-G118R-S188D	+++
G020K-N062E-N116L-S188D	+++
N062E-N116L-G118R-T213A	+++
G020K-G023A-N062E-N116L-S188D	+++
N062E-N116L-G118R-S188D	+++
G020K-N062E-N116L-T213A	+++
G020K-G023A-N062E-N116L	+++
G020K-N062E-S188D-T213A	+++
G020K-N062E	+++
G020K-S024F-N062E-N116L-S188D	+++
G020K-N043W-N062E-N116L-S188D	+++
G020K-S024F-N062E-S188D-T213A	+++
N062E-N116L-S188D-T213A	+++
G020K-N062E-N116L	+++
G020K-G023A-N062E-N116L-S188D-T213A	+++
G023A-S024F-N062E-N116L-T213A	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
S024F-N062E-N116L-S188D	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D	+++
G023A-N062E-N116L-S188D	+++
N043W-N062E-N116L	+++
G020K-G023A-N116L-S188D	++
N043W-N062E-N116L-S188D	++
S024F-N062E-N116L	++
N062E-N116L-S188D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-A232V-N248D	+

10

20

【0 4 3 3】

(実施例 1 3)

GG36の追加のライブラリ及び変異体の構築

本実施例は、枯草菌において構築された追加のGG36変異体及びライブラリの冷水クリーニングを記載する。ほとんどのDNAライブラリは、DNA2.0, Inc.により、枯草菌発現プラスミドpHPLT-GG36を用いて、合成された。構築されたライブラリのライゲーション反応物は、実施例33に記載のようにローリング・サークル増幅を用いてDNAを増幅した後、枯草菌株（遺伝子型： $\Delta aprE$ 、 $\Delta nprE$ 、 $\Delta amyE$ ： $xylRPxylAcomK-phleo$ ）において形質転換した。WCE9及びNHJ10ライブラリ並びに変異体は、伸張PCR又はQuickChange変異導入により作製した（方法の説明については実施例33を参照されたい）。WCE9及びNHJ10ライブラリ並びに変異体は、枯草菌発現プラスミドpHPLT-GG36を用いても作製した。実施例31に記載のように枯草菌細胞（遺伝子型： $\Delta aprE$ 、 $\Delta nprE$ 、 $\Delta amyE$ ： $xylRPxylAcomK-phleo$ ）で変異体を発現させ、試験方法6に記載のようにBMIマイクロ材料見本クリーニングアッセイを用いて更に特徴付けした。結果を表13-1～13-6に示す。以降の表中で、洗剤組成物（「Det」）は、上記実施例36に示されるものと対応する。同様に、記載のように、アミノ酸位置はBPN'の番号付けに対応させて列挙される。

30

40

【0 4 3 4】

【表 4 5】

表13-1:WCE5変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36k又は36lの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36変異体の配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ、 実施例36k又は36lの洗剤、16C
S087R-S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-A232V-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R	+++
N076D-S87R-S103A-V104I-S212P-E271V	+++
N076D-S103A-V104I-Q109R	+++
N076D-S103A-V104I-S212P-E271V	+++
N076D-S103A-V104I-Q109R-Q245R	+++
N076D-S103A-V104I-S212P-Q245L-E271V	+++

10

【 0 4 3 5】

【表 4 6 - 1】

表13-2:WCE9変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36j、36d又は36eの洗剤において、PI $\geq$ 1. 5は+++であり、1. 3 $\leq$ PI $\leq$ 1. 49は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は+である。

GG36と比較した配列 (BPN' 番号)	GG36と比較したPI: BMIアッセイ; 実施例36j、 36d又は36eの洗剤、16C
S024R-P086W-G118R	+++
S024R-S078R-P086W-N243F	+++
S024R-T033S-P086S-S087N-Y209A	+++
T033S-G118R	+++
S024R-S078R-P086W-G118R-A270T	+++
S024R-T033S-P086W-G118R	+++
S078R-P086W-N243F	+++
T033S-S078R-P086W-G118R-Y209A	+++
T033S-S078R-Y209A	+++
P086W-G118R-N243F	+++
S024R-P086W	+++
S078R-P086W-K235F	+++
S024R-G118R	+++
S024R-P086R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V	+++
S024R-T033S-S078R-P086W-G118R	+++
S024R-G118R-Y209A	+++
Y209A-W241R	+++
T033S-P086W-N243F	+++
T033S-A172V-Y209A	+++
G118R-Y209A-N243F	+++
S024R-P086S-S141G	+++
S024R-G118R-Y209A-N243F	+++
S024R-T033S-P086S-S085N-K235F	+++
S024R-T033S-A133V	+++
S024R-T033S-S078R-P086W	+++
S024R-P086W-Y209A	+++
S024R-W241R	+++
T033S-G118R-N243F	+++
S024R-K235F	+++

20

30

40

【 0 4 3 6】

【表 4 6 - 2】

(上記表の続き)

表13-2:WCE9変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36j、36d又は36eの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。

GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ;実施例36j、36d又は36eの洗剤、16C
S024R-S078R-P086W	+++
S024R-G118R-Y209A-K235F	+++
S024R-Y209A-W241R	+++
T033S-G118R-W241R	+++
P086W-G118R-Y209A	+++
T033S-G118R-G159D-Y209A	+++
T033S-S078R-P086W	+++
S024R-P086W-N243F	+++
G118R-Y209A	+++
S024R-P086W-G118R-V203I	+++
S078R-Y209A-K235F	+++
S024R-T033S-W241R	+++
S078R-G118R	+++
T033S-G118R-Y209A-N243F	+++
L021M-S024R-T033S	+++
S024R-T033S-P086W	+++
T033S-K235F	+++
S078R-P086W-Y209A	+++
S024R-T033S-Y209A-K235F	+++
T033S-P086W-G118R	+++
S024R-T033S-S078R-Y209A	+++
T033S-P086W-G118R-Y209A-N243F	+++
P086W-Y209A-N243F	+++
P005S-S078R-G118R-W241R	+++
S024R-A174T	+++
T033S-Y209A-N243F	+++
P086W-G118R-A133V	+++
S024R-T033S-G118R	+++
S024R-P086W-Y209A-K235F	++
P086W-Y209A	++
I008T-S024R	++

【0 4 3 7】

【表 4 6 - 3】

(上記表の続き)

表13-2:WCE9変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36j、36d又は36eの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。

GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ;実施例36j、36d又は36eの洗剤、16C
P086W-G118R	++
T033S-W241R	++
P005S-S024R-T033S-N243F	++
S024R-Y209A-S242P	++
S024R-T033S-S078R-G118R	++
S024R-T033S-A194T	++
S024R-N243F	++
S024R-Y209A	++
S024R-T033S-G118R-Y209A	++
T033S-P086W	++
S024R-T033S	++
S024R-T033S-S078R-N243F	++
P086W-N243F	++
T033S-G118D-A138V-Y209A	++
T033S-Y209A-K235F	++
S024R-P086R-G118R	++
T033S-P201S	++
S024R-P239Q	++
T033S-G118R-Y209A-	++
S078R-P086W	++
K235F-N243F	++
S024R-Y209A-K235F	++
G118R-A172V	++
H017Y-S024R-T033S-P086W	++
T033S-L148F	++
S024R-G118R-K235F	++
T033S-S078R	++
T033S-N243F	++
S024C-T033S	++
G118R-A194T	++
T033S-Y209A	++

【0 4 3 8】

10

20

30

【表 4 6 - 4】

(上記表の続き)

表13-2:WCE9変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36j、36d又は36eの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。

GG36と比較した配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI;BMIアッセイ;実施例36j、36d又は36eの洗剤、16C
G118R-Y209A-K235F	++
S024R-T033S-Y209A-N243F	++
S024R-T033S-K235F	++
S024R-T033S-G118R-K235F	++
S024R-S141G	++
S024R-T274I	++
S024R-T033S-Y209A	++
P086W-K235F	+
S024R-Y209A-N243F	+
V004E-T033S-S078R	+
P086W-Y209A-K235F	+
A015T-T033S	+
T033S-P086W-S156L-Y209A	+
S024R-G118R-N243F-R269H	+
Y209A-K235F	+
S024R-R247H	+
S024R-T033S-A228T	+
S078R-K235F	+
S024R-T033S-A174V-K235F	+
S024R-K235F-N243F	+
S024R-T033S-K235F-W241R	+
S024R-T033S-A151V	+
S024R-V104A	+
T033S-A048T	+
Q012H-V104A-G118R	+
G118R-K235F	+
T033S-T253A	+
T143A-Y209A	+
S024R-T033S-N243F	+
T033S-P239T	+

【0 4 3 9】

10

20

30

【表 4 7】

表13-3: WCE15変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36mの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、 実施例36mの洗剤、16C
G020R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-S024R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-S087D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-H249R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S024R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S078R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S078R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R	+++
T022R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-V150L-H249R	++
N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S087D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S087D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-V150L-S242R-H249R	+
N043R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+
S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+

【0 4 4 0】

【表 4 8】

表13-4: NHJ14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。

PI=性能指数

実施例36cの洗剤において、 $PI \geq 1.5$ は+++であり、 $1.3 \leq PI \leq 1.49$ は++であり、 $1.1 \leq PI \leq 1.29$ は+である。

GG36変異体の配列(BPN'番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、 実施例36cの洗剤、16C
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-K027R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++

【0 4 4 1】

【表 4 9】

表13-5: NHJ10変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36aの洗剤において、PI $\geq$ 1. 3は+++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。	
GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、 実施例36aの洗剤、16C
S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222Q-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

【0 4 4 2】

10

【表 5 0】

表13-6: NHJ14ライブラリ変異体のBMIクリーニング性能。 PI=性能指数 実施例36fの洗剤において、PI $\geq$ 1. 3は+++であり、1. 2 $\leq$ PI $\leq$ 1. 29は++であり、1. 1 $\leq$ PI $\leq$ 1. 19は+である。	
GG36変異体の配列(BPN' 番号)	GG36と比較したPI; BMIアッセイ、 実施例36fの洗剤、16C
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-S130A-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271G	+
S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

20

【0 4 4 3】

本明細書に開示した寸法及び値は、記述された正確な数値に厳しく限定されるものと理解すべきでない。むしろ、特に言及しない限り、そのようなそれぞれの寸法は、記述された値と、その値の周辺の機能的に同等の範囲との両方を意味することを意図する。例えば、「40 mm」として開示された寸法は、「約40 mm」を意味することを意図する。

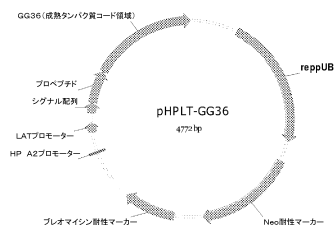
【図 1】

成熟型参照プロテアーゼ、バチルス・アミロリケファシエンス (*Bacillus amyloliquefaciens*) のサブチリシンBPN' (配列番号2) 及びバチルス・レンタスのサブチリシンGG36プロテアーゼ (配列番号1) のアラインメント。

BFN	1	ACQVPGVGVQZ	IKAPALHQQZ	LYTGVGVKVA	LDGSDGSHF	DLKAVGAGM	VPESTFQDQ
GG36	1	ACQVPGVGRVH	VQAPAAHNG	LYTGVGVKVA	LDGTGTS	DLNIRGGASF	VGPESTFQD
BFN	61	NNSHGTHVAG	TVAALNNSG	VHVGAPASAI	YAVKVLGADG	SGQYSWING	IFENAINNMG
GG36	59	GNHGTHVAG	TIAALNNSG	VHVGAPASAI	YAVKVLGASG	SGGVSSGAG	LEWAGNMGH
BFN	121	VINMELGSGS	GSAAALKAVD	KVAPASGVVAV	AAGNNGSGS	SGGVYGPFK	YFSAIVAGAV
GG36	119	VANILGSGES	PGSLAQVAN	SATSGVVLVV	AAGNMGSGZ	-----IYEPV	YNVAIVAGV
BFN	181	DGNNORASFS	QGYFDELIVA	PGVSGIQSLP	GNKYGAVNGI	GMASFHVAGA	AALILEKHEN
GG36	175	DQNNRRASFS	QGYAGLIDVA	PGNVGQITVP	GCTYASLNGT	GMATPHVAGA	AALVQKRNFS
BFN	241	WNTGVQASGI	ENETIKLSDG	FYVGLGLVNA	CAAAQ		
GG36	235	WNVGVQRNH	KNIAATLSDG	FLYGLGLVNA	EAAE		

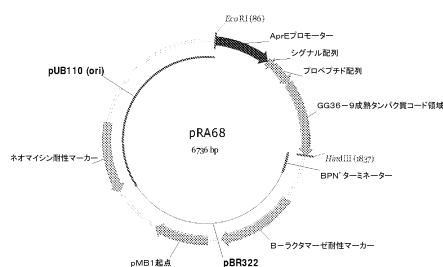
【图 2】

発現プラスミドpHPLT-GG36



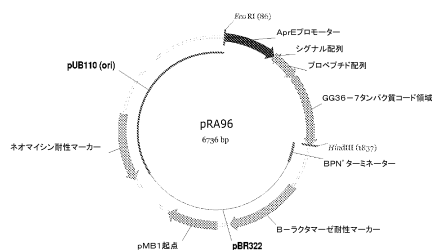
【图 3】

発現プラスミドpRA68



【图 4】

発現プラスミド pRA96



【配列表】

0005813753000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
C 1 1 D	3/06	(2006.01)	C 1 1 D	3/06	
C 1 1 D	3/08	(2006.01)	C 1 1 D	3/08	
C 1 1 D	3/42	(2006.01)	C 1 1 D	3/42	
C 1 1 D	3/22	(2006.01)	C 1 1 D	3/22	
C 1 1 D	3/395	(2006.01)	C 1 1 D	3/395	
C 1 1 D	3/39	(2006.01)	C 1 1 D	3/39	
C 1 1 D	3/33	(2006.01)	C 1 1 D	3/33	
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	Z N A A

- (31)優先権主張番号 61/332,151
 (32)優先日 平成22年5月6日(2010.5.6)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 61/332,006
 (32)優先日 平成22年5月6日(2010.5.6)
 (33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

- (74)代理人 100091982
 弁理士 永井 浩之
 (74)代理人 100091487
 弁理士 中村 行孝
 (74)代理人 100107537
 弁理士 磯貝 克臣
 (74)代理人 100137523
 弁理士 出口 智也
 (74)代理人 100152423
 弁理士 小島 一真
 (72)発明者 フィリップ、フランク、スーター
 イギリス国ノーサンバーランド、モーベス、ロンゴースリー、ザ、グリーン、ザ、ヌク
 (72)発明者 グレン、スティーブン、ワード
 イギリス国ニューキャッスル、アポン、タイン、ゴスフォース、ホワイトブリッジ、パーク、ウィ
 ラービー、ドライブ、3
 (72)発明者 アイローカラン、ジョセフ、ポールーズ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、ベルモント、ウェイクフィールド、ドライブ、2 8 4 8
 (72)発明者 デイビッド、エイ、エステル
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、サンフランシスコ、セカンド、ストリート、4 2 7 6
 (72)発明者 ジェームズ、ティーン、ケリス、ジュニア
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、ウッドサイド、フォックス、ホロー、ロード、1 3 0
 (72)発明者 キャサリン、ディー、コリア
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、ロス、アルトス、カメラリア、ウェイ、5 9 5
 (72)発明者 ルイス、グスタボ、カスカオ - ペレイラ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、レッドウッド、シティー、ショアバード、サークル、5 2 6、
 ユニット、1 6 2 0 2
 (72)発明者 ビクトル、ユリエビッチ、アレクセイェフ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州、パロ、アルト、グリア、ロード、2 7 7 9
 (72)発明者 ニーラム、エス、アミン

- アメリカ合衆国カリフォルニア州、パロ、アルト、ラモナ、ストリート、3372
- (72)発明者 ジアン、ヤオ
アメリカ合衆国カリフォルニア州、サニーベール、ライト、アベニュー、1761
- (72)発明者 キャサリン、オーガスティン
アメリカ合衆国カリフォルニア州、メンロ、パーク、スプリース、アベニュー、63

審査官 坂崎 恵美子

- (56)参考文献 特表2013-513386 (JP, A)
国際公開第2007/006305 (WO, A1)
国際公開第2010/056634 (WO, A1)
国際公開第1999/020771 (WO, A1)
国際公開第2009/149200 (WO, A1)
国際公開第1999/020727 (WO, A1)
米国特許第06632646 (US, B1)
特表平09-511652 (JP, A)
特表2010-528657 (JP, A)
国際公開第2002/077187 (WO, A1)
Protein Engineering, Design & Selection, 2004年, Vol.17 No.2, p.149-156

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 9/54
C11D 3/386
C12N 15/09
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
UniProt/PDB/GeneSeq