(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108350441 B
(45)授权公告日 2022.09.27

(21)申请号 201680055145.9
(22)申请日 2016.10.07
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108350441 A
(43)申请公布日 2018.07.31
(30)优先权数据
PA201500618 2015.10.07 DK
PA201500615 2015.10.07 DK
PA201500617 2015.10.07 DK
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.03.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/074115 2016.10.07
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/060505 EN 2017.04.13
(73)专利权人 诺维信公司
地址 丹麦鲍斯韦
(72)发明人 M.杰尔曼森 K.戈里
H.M.格尔茨-汉森 J.萨洛蒙
M.A.斯特林格 T.H.布利克
N.斯波德斯伯格
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 涂滔
(51)Int.Cl.
C12N 9/22(2006.01)
C11D 3/386(2006.01)
C11D 3/48(2006.01)
(56)对比文件
WO 2011098579 A1,2011.08.18
CN 104837979 A,2015.08.12
佚名.WP_025722554.1.《GENBANK》.2014,1..141.
佚名.WP_028551502.1.《GENBANK》.2014,1..142.
审查员 胡百灵
权利要求书2页 说明书77页
序列表16页

(54)发明名称

多肽

(57)摘要

本发明涉及多肽、编码该多肽的核苷酸、连同生产这些多肽的方法。本发明还涉及包含多肽的洗涤剂组合物、洗涤方法以及多肽的用途。

CN 108350441 B

1.一种具有DNA酶活性的多肽,其中该多肽与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有至少98%序列一致性。

2.如权利要求1所述的多肽,其中该多肽与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有至少99%序列一致性。

3.如权利要求1所述的多肽,其中该多肽与SEQ ID NO:8的成熟多肽具有100%序列一致性。

4.如权利要求1-3中任一项所述的多肽,该多肽由SEQ ID NO:8的成熟多肽组成。

5.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除来自物品的生物膜的用途,其中该物品是纺织品。

6.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除物品的粘性的用途,其中该物品是纺织品。

7.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于预处理物品上的污渍的用途,其中该物品是纺织品。

8.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除洗涤循环过程中污垢的再沉积的用途。

9.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除污垢在物品上的附着的用途,其中该物品是纺织品。

10.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于维持或改进物品的白度的用途,其中该物品是纺织品。

11.权利要求1-4中任一项所述的具有DNA酶活性的多肽用于从物品上减少或去除恶臭的用途,其中该物品是纺织品。

12.包含具有DNA酶活性的多肽和洗涤剂佐剂成分的洗涤剂组合物,其中该具有DNA酶活性的多肽是与SEQ ID NO:8所示的成熟多肽具有至少98%序列一致性的DNA酶。

13.根据权利要求12所述的洗涤剂组合物,其中该具有DNA酶活性的多肽是与SEQ ID NO:8所示的成熟多肽具有至少99%序列一致性的DNA酶。

14.根据权利要求12所述的洗涤剂组合物,其中该具有DNA酶活性的多肽是与SEQ ID NO:8所示的成熟多肽具有100%序列一致性的DNA酶。

15.一种用于洗涤物品的洗涤方法,该方法包括以下步骤:

a)将物品暴露于洗液,该洗液包含如权利要求1-4中任一项所述的多肽或根据权利要求12-14中任一项所述的洗涤剂组合物;

b)完成至少一个洗涤循环;以及

c)任选地冲洗该物品,

其中该物品是纺织品。

16.根据权利要求15所述的方法,其中该洗液的pH是在5.5至11的范围内。

17.根据权利要求15所述的方法,其中该洗液的pH是在7至9的范围内。

18.根据权利要求15所述的方法,其中该洗液的pH是在7至8的范围内。

19.根据权利要求15所述的方法,其中该洗液的pH是在7至8.5的范围内。

20.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中该洗液的温度是在10℃至70℃的范围内。

21.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中该洗液的温度是在10℃至60℃的范围内。

22.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中该洗液的温度是在10℃至50℃的范围内。

23.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中该洗液的温度是在15℃至40℃的范围内。

24.根据权利要求15-19中任一项所述的方法,其中该洗液的温度是在20℃至30℃的范围内。

多肽

[0001] 对序列表的引用

[0002] 本申请含有一个处于计算机可读形式的序列表,将其通过引用结合在此。

技术领域

[0003] 本发明涉及具有脱氧核糖核酸(DNA酶)活性的新的多肽、编码该多肽的核苷酸、连同生产这些多肽的方法。本发明还涉及包含DNA酶的洗涤剂组合物、洗涤方法和DNA酶的用途。

背景技术

[0004] 在许多自然、工业和医疗环境中,微生物一般附着于表面而生存,由包括生物聚合物和高分子的细胞外物质进行囊化。经粘液囊化的微生物所产生的层被称为生物膜。生物膜是细菌在自然环境中生长的主要模式,并且在生物膜中生长的细菌表现出独特的生理特性。与其浮游生长的对应物相比,生物膜中的细菌更耐受抗生素、UV照射、洗涤剂和宿主免疫应答。

[0005] 生物膜可以包括一种或多种微生物,包括革兰氏阳性和革兰氏阴性菌、藻类、原生动物、和/或酵母或丝状真菌和病毒和/或噬菌体。有问题的生物膜的实例是牙菌斑,医学植入物的上的感染,还有船体上的初始污染。生物膜归因于人类许多感染的发病机理,并且就暴露面的生物污着而论在工业中是一个显著问题,其中生物膜定植可以形成能够破坏并且干扰工业方法和组分的局部生态系统的基础组分。

[0006] 当使用衣物(像T恤或运动衣)时,它们暴露于来自使用者的身体和来自它们使用的环境的其余部分的细菌。这些细菌中的一些能够粘附于衣物物品并且在该物品上形成生物膜。细菌的存在意味着,衣物物品变得粘稠,并且因此污垢粘附在粘稠区域上。这种污垢已经显示出难以通过可商购的洗涤剂组合物来去除。此外,当非常脏的衣物物品与不太脏的衣物物品一起洗涤时,洗液中存在的污物倾向于附着于生物膜上。其结果是,该衣物物品在洗涤后比洗涤前更“脏”。此外,这些细菌是难闻的气味的来源,在对衣物物品使用后产生难闻的气味。难闻的气味(恶臭)难以去除,并且即使在洗涤后仍可存在。这种难闻的气味的原因是细菌粘附到纺织品表面。由于粘附到纺织品上,即使洗涤后细菌仍可存在,并且继续成为难闻的气味的来源。

[0007] 国际专利申请WO 2011/098579(纽卡斯尔大学)和WO 2014/087011(诺维信公司(Novozymes A/S))涉及脱氧核糖核酸酶化合物以及用于破坏和预防生物膜的方法。

发明内容

[0008] 本发明涉及具有DNA酶(脱氧核糖核酸酶)活性的多肽。本发明的一方面涉及具有DNA酶活性的一种多肽,该多肽选自下组,该组由以下组成:

[0009] (a)与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20具有至少60%序列一致性的多肽,

[0010] (b)SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的成熟多肽的变体，该变体在一个或多个位置处包含取代、缺失和/或插入；以及

[0011] (c)具有DNA酶活性的(a)或(b)的多肽的片段。

[0012] 在另一方面，本发明涉及包含具有DNA酶活性的多肽和优选地洗涤剂佐剂成分的洗涤剂组合物。本发明的一方面涉及包含具有与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽至少60％序列一致性的多肽和洗涤剂佐剂的洗涤剂组合物。

[0013] 本发明进一步涉及用于清洁或洗涤物品的清洁或洗涤方法，该方法包括以下步骤：

[0014] a.将物品暴露于包含具有DNA酶活性的多肽或包含这些多肽的洗涤剂组合物的洗液，该多肽选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽或与其具有至少60％序列一致性的多肽。

[0015] b.完成至少一个洗涤循环；以及

[0016] c.任选地冲洗该物品，

[0017] 其中该物品是纺织品。

[0018] 此外，要求保护的是DNA酶用于防止、减少或去除物品的生物膜的用途。

[0019] 本发明进一步涉及产生该多肽的方法。

[0020] 序列

[0021] SEQ ID NO 1获得自类芽孢杆菌属物种-62212的成熟多肽

[0022] SEQ ID NO 2获得自类芽孢杆菌属物种-62605的成熟多肽

[0023] SEQ ID NO 3获得自芽孢杆菌属物种-62738的成熟多肽

[0024] SEQ ID NO 4获得自短小芽孢杆菌的成熟多肽

[0025] SEQ ID NO 5获得自堀越氏芽孢杆菌的成熟多肽

[0026] SEQ ID NO 6获得自芽孢杆菌属物种-62490的成熟多肽

[0027] SEQ ID NO 7获得自芽孢杆菌属物种-13390的成熟多肽

[0028] SEQ ID NO 8获得自腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376的成熟多肽

[0029] SEQ ID NO 9获得自芽孢杆菌属物种-62738的成熟多肽

[0030] SEQ ID NO 10获得自绿青链霉菌的成熟多肽

[0031] SEQ ID NO 11获得自婴儿链球菌的成熟多肽

[0032] SEQ ID NO 12获得自芽孢杆菌属物种-62599的成熟多肽

[0033] SEQ ID NO 13获得自秋叶氏芽孢杆菌的成熟多肽

[0034] SEQ ID NO 14获得自Paenibacillus xylanexedens的成熟多肽

[0035] SEQ ID NO 15获得自虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719的成熟多肽

[0036] SEQ ID NO 16获得自藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)的成熟多肽

[0037] SEQ ID NO 17获得自微小杆菌属物种NG55的成熟多肽

[0038] SEQ ID NO 18获得自来自环境样品J的宏基因组的成熟多肽

[0039] SEQ ID NO 19获得自Streptomyces thermoalcalitolerans的成熟多肽

[0040] SEQ ID NO 20获得自来自环境样品C的宏基因组的成熟多肽

[0041] SEQ ID NO 21是克劳氏芽孢杆菌分泌信号

[0042] 定义

[0043] 等位基因变体:术语“等位基因变体”意指占据同一染色体基因座的基因的两种或更多种可替代形式中的任一种。等位基因变异通过突变天然地产生,并且可能导致群体内的多态性。基因突变可能是沉默的(所编码的多肽没有改变)或可能编码具有改变的氨基酸序列的多肽。多肽的等位基因变体是由基因的等位基因变体编码的多肽。

[0044] 生物膜:生物膜是在表面上,例如纺织品、餐具或硬表面上,细胞彼此粘附在一起的任何群组的微生物。这些粘附细胞经常包埋在胞外高聚物(EPS)的自身产生的基质内。生物膜EPS是一般由细胞外的DNA、蛋白质、和多糖组成的聚合物团块。

[0045] 生物膜可以形成在活的或非活的表面上。在生物膜中生长的微生物细胞与同一生物体的浮游细胞(相比之下,浮游细胞是可以在液体介质中漂浮或浮游的单个细胞)在生理上是不同的。生活在生物膜中的细菌通常具有与同一物种的自由漂浮细菌显著不同的特性,因为膜的密集并且受保护的环境允许它们以不同方式协作和相互作用。这一环境的一个益处是增加对洗涤剂和抗生素的抗性,因为,密集的细胞外基质和细胞的外层保护群落的内部。在衣物上,会发现产生生物膜的细菌是在以下物种中:不动杆菌属物种、气微菌属物种、短波单胞菌属物种、微杆菌属物种、滕黄微球菌、假单胞菌属物种、表皮葡萄球菌、和寡养单胞菌属物种。

[0046] 编码序列:术语“编码序列”意指直接指定多肽的氨基酸序列的多核苷酸。编码序列的边界一般由开放阅读框决定,该开放阅读框架从起始密码子(如ATG、GTG或TTG)开始并且以终止密码子(如TAA、TAG或TGA)结束。编码序列可为基因组DNA、合成DNA或其组合。

[0047] 色差(L值):Lab色彩空间是针对明度具有尺寸L的色彩对立空间。L值,L*代表在L*=0下的最暗的黑色,并且为在L*=100下的最亮的白色。在本发明的上下文中,L值还称为色差。

[0048] 控制序列:术语“控制序列”意指对于表达编码本发明的成熟多肽的多核苷酸所必需的核酸序列。每个控制序列对于编码该多肽的多核苷酸来说可以是天然的(即来自相同基因)或外源的(即来自不同基因),或相对于彼此是天然的或外源的。这些控制序列包括但不限于前导子、聚腺苷酸化序列、前肽序列、启动子、信号肽序列、和转录终止子。至少,控制序列包括启动子、以及转录和翻译终止信号。出于引入有利于将这些控制序列与编码多肽的多核苷酸的编码区连接的特异性限制性酶切位点的目的,这些控制序列可以提供有多个接头。

[0049] 深度清洁:关于术语“深度清洁”意指生物膜或生物膜的组分,例如多糖、蛋白质、DNA、污垢或生物膜中存在的其他组分的破坏或去除。

[0050] 洗涤剂佐剂成分:洗涤剂佐剂成分不同于本发明的DNA酶。这些额外佐剂组分的精确性质、其掺入水平将取决于组合物的物理形式和将在其中使用组合物的操作的性质。适合的佐剂材料包括,但不限于:以下描述的组分,如表面活性剂、助洗剂、絮凝助剂、螯合剂、染料转移抑制剂、酶、酶稳定剂、酶抑制剂、催化材料、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预形成的过酸、聚合的分散剂、粘土去污剂/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构弹力剂、织物柔软剂、载体、助水溶物、助洗剂和共助洗剂、织物调色剂、防沫剂、分散剂、加工助剂、和/或颜料。

[0051] 洗涤剂组合物:术语“洗涤剂组合物”是指用于从有待清洁的物品(如纺织品)去除不希望的化合物的组合物。该洗涤剂组合物可以用于例如清洁纺织品,用于家用清洁和工业清洁二者。这些术语涵盖选择用于希望的具体类型的洗涤组合物和产品的形式(例如、液体、凝胶、粉末、颗粒、糊状、或喷雾组合物)的任何材料/化合物,并且包括但不限于洗涤剂组合物(例如,液体和/或固体衣物洗涤剂和精细织物洗涤剂;织物清新剂;织物柔软剂;以及纺织品和衣物预去污剂/预处理)。除了含有本发明的DNA酶之外,该洗涤剂配制品还可以含有一种或多种另外的酶(如蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、角质酶、纤维素酶、内切葡聚糖酶、木葡聚糖酶、果胶酶、果胶裂解酶、黄原胶酶、过氧化物酶、卤代过氧合酶、过氧化氢酶以及甘露聚糖酶、或其任何混合物),和/或洗涤剂佐剂成分,如表面活性剂、助洗剂、螯合剂(chelator)或螯合试剂(chelating agent)、漂白系统或漂白组分、聚合物、织物调理剂、增泡剂、抑泡剂、染料、香料、晦暗抑制剂、光学增亮剂、杀细菌剂、杀真菌剂、污垢悬浮剂、防蚀剂、酶抑制剂或稳定剂、酶活化剂、一种或多种转移酶、水解酶、氧化还原酶、上蓝剂和荧光染料、抗氧化剂以及增溶剂。

[0052] DNA酶(脱氧核糖核酸酶):术语“DNA酶”意指具有DNA酶活性的多肽,该多肽催化DNA主链中的磷酸二酯键的水解断裂,从而降解DNA。术语“DNA酶”和表达“具有DNA酶活性的多肽”在本申请中是可互换使用。出于本发明的目的,根据测定I中所述的程序确定DNA酶活性。在一方面,本发明的多肽具有具有SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽的至少20%,例如,至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、或至少100%的DNA酶活性。

[0053] 酶洗涤益处:在此将术语“酶洗涤益处”定义为将一种酶添加至洗涤剂中与不具有该酶的同一洗涤剂相比的有利效果。可能由酶提供的重要洗涤益处是去污伴随在洗涤和/或清洁之后无可见污垢或污垢非常少、阻止或减少在洗涤过程中释放的污垢再沉积(又称作抗再沉积的作用)、完全或部分地恢复纺织品的白度(又称作增白的作用),其中所述纺织品最初是白色的,但是在反复使用和洗涤后获得淡灰或淡黄色外观。不直接与污垢的催化去污或其再沉积的阻止相关的纺织品护理益处对于酶洗涤益处而言也是重要的。此类纺织品护理益处的实例是预防或减少染料从一织物转移至另一织物或同一织物的另一部分(一种也被称作染料转移抑制或抗返染的作用),从织物表面去除突出或断裂的纤维以减少起球倾向或去除已经存在的绒球或绒毛(一种也被称作抗起球的作用),改进织物柔软性,织物的颜色澄清以及去除陷在织物或服装的纤维中的微粒状污垢。酶漂白是一种另外的酶洗涤益处,其中通常将催化活性用于催化漂白组分(如过氧化氢或其他过氧化物)的形成。

[0054] 表达:术语“表达”包括涉及多肽产生的任何步骤,包括但不限于,转录、转录后修饰、翻译、翻译后修饰、以及分泌。

[0055] 表达载体:术语“表达载体”意指线状或环状DNA分子,该分子包含编码多肽的多核苷酸并且该多核苷酸有效地连接于供用于其表达的控制序列。

[0056] 片段:术语“片段”意指从成熟多肽或结构域的氨基和/或羧基末端缺失一个或多个(例如,若干个)氨基酸的多肽;其中片段具有DNA酶活性。

[0057] 宿主细胞:术语“宿主细胞”意指易于用包含本发明的多核苷酸的核酸构建体或表达载体转化、转染、转导等的任何细胞类型。术语“宿主细胞”涵盖亲本细胞的任何后代,其由于复制期间发生的突变而与亲本细胞不同。

[0058] 改进的洗涤性能:术语“改进的洗涤性能”在此定义为相对于没有酶的相同洗涤剂组合物的洗涤性能,展示出洗涤剂组合物中增加的洗涤性能的酶,例如,通过增加去污或较少的再沉积。术语“改进的洗涤性能”包括在衣物中的洗涤性能。

[0059] 分离的:术语“分离的”意指处于自然界中不存在的形式或环境中的物质。分离的物质的非限制性实例包括(1)任何非天然存在的物质,(2)包括但不限于任何酶、变体、核酸、蛋白质、肽或辅因子的任何物质,该物质至少部分地从与其本质相关的一种或多种或所有天然存在的成分中去除;(3)相对于天然发现的物质通过人工修饰的任何物质;或(4)通过相对于与其天然相关的其他组分增加物质的量而修饰的任何物质(例如宿主细胞中的重组产生;编码该物质的基因的多个拷贝;以及使用比与编码该物质的基因天然相关的启动子更强的启动子)。分离的物质可以存在于发酵液样品中。例如宿主细胞可以被遗传修饰以表达本发明的多肽。来自宿主细胞的发酵液将包含分离的多肽。

[0060] 洗涤:术语“洗涤”涉及家用洗涤和工业洗涤两者并且意指用含有本发明的清洁或洗涤剂组合物的溶液处理纺织品的过程。洗涤过程可以例如使用例如家用或工业洗衣机进行或可以手动进行。

[0061] 恶臭:关于术语“恶臭”意指在清洁物品上不希望的气味。清洁的物品应气味清新并且干净,而没有附着在该物品上的恶臭。恶臭的一个实例是具有使人不愉快的气味的化合物,这些化合物可以是微生物产生的。另一实例是令人不愉悦的气味可以是附着至已经与人类或动物接触的物品的汗味或体味。恶臭的另一实例可以是来自香料的气味,其粘附于物品,例如气味强烈的咖喱或其他异国香料。测量物品附着恶臭的能力的一个方式是通过使用在此披露的测定II。

[0062] 成熟多肽:术语“成熟多肽”意指在翻译和任何翻译后修饰如N-末端加工、C-末端截短、糖基化作用、磷酸化作用等之后处于其最终形式的多肽。本领域内公知,宿主细胞可以产生由相同多核苷酸表达的两种或更多种不同的成熟多肽(即,具有不同的C-末端和/或N-末端氨基酸)的混合物。本领域还已知,不同的宿主细胞不同地加工多肽,且因此一个表达多核苷酸的宿主细胞当与另一个表达相同多核苷酸的宿主细胞相比时可产生不同的成熟多肽(例如,具有不同的C-末端和/或N-末端氨基酸)。本发明的DNA酶的成熟多肽示于SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20中。

[0063] 成熟多肽编码序列:术语“成熟多肽编码序列”意指编码具有DNA酶活性的成熟多肽的多核苷酸。

[0064] 核酸构建体:术语“核酸构建体”意指单-链或双链的核酸分子,该核酸分子是从天然存在的基因中分离的,或以本来不存在于自然界中的方式被修饰成含有核酸的区段,或是合成的,该核酸分子包含一个或多个控制序列。

[0065] 有效地连接:术语“有效地连接”意指将控制序列相对于多核苷酸的编码序列安置在适当位置这样使得该控制序列指导该编码序列的表达的构型。

[0066] 药物佐剂成分意指适用于配制药物化合物的任何药物赋形剂。此类赋形剂、载体、运载体等对本领域中技术人员是熟知的,并且描述于如Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药学大全],Mack出版公司,伊斯顿,宾夕法尼亚州,1985的教科书中。适用于片剂配制品中的药学上可接受的赋形剂包括例如惰性稀释剂如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;制粒剂或崩解剂,例如玉米淀粉或海藻酸;粘合剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯

胶;以及润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。片剂可以是未包衣的,或者它们可以通过已知的技术来包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,并且由此在一个更长时期提供持久的作用。

[0067] 例如,可以采用延时材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。针对硬胶囊配制品,可以将活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合。针对软胶囊剂配制品,可以将活性成分与水或油介质,例如,花生油、液体石蜡或橄榄油混合。适用于制造水性悬浮液的赋形剂包括助悬剂,例如,羧甲纤维素钠,甲基纤维素,羟丙基甲基纤维素,藻酸钠,聚乙烯基吡咯烷酮,黄蓍胶和阿拉伯胶;分散或润湿剂可以是天然磷脂,例如卵磷脂,或烯烃氧化物与脂肪酸的缩合产物,例如聚氧乙烯硬脂酸酯,或环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物,例如,十七亚乙基氧基鲸蜡醇,或环氧乙烷与获得自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物,比如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯,或环氧乙烷与获得自脂肪酸和己糖醇脱水物的偏酯的缩合产物,例如聚乙烯脱水山梨醇单油酸酯。水性混悬剂还可包含一种或多种防腐剂,例如苯甲酸盐,如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯;一种或多种着色剂;一种或多种调味剂;以及一种或多种甜味剂,例如蔗糖或糖精。含油悬浮液可以这样配制:将活性成分悬浮于植物油,例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油中,或于矿物质油比如液状石蜡中。所述油悬浮液可以含有增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或十六烷醇。可以添加甜味剂和调味剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂,如抗坏血酸维生素C来保存。

[0068] 反射值:洗涤性可以被表达为染污的小块布样的反射值。洗涤并冲洗之后,将小块布样摊开铺平并且允许在室温下风干过夜。在洗涤的次日评估所有洗涤小块布样。使用具有非常小孔径的Macbeth Color Eye 7000反射分光光度计可以进行小块布样的光反射评估。在入射光中没有UV的条件下进行测量,并提取460nm下的反射率。

[0069] 序列一致性:用参数“序列一致性”来描述两个氨基酸序列之间或两个核苷酸序列之间的相关性。出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(The European Molecular Biology Open Software Suite[EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件],Rice等人,2000,Trends Genet.[遗传学趋势]16:276-277)(优选5.0.0版本或更新版本)的Needle程序中所实施的Needleman-Wunsch算法(Needleman和Wunsch,1970,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:443-453)来确定两个氨基酸序列之间的序列一致性。使用的参数是缺口开放罚分10、缺口扩展罚分0.5以及EBLOSUM62(BLOSUM62的EMBOSS版本)取代矩阵。将标记为“最长相同性”的Needle输出(使用-非简化(-nobrief)选项获得)用作百分比一致性并且是如下计算的:(一致的残基×100)/(比对长度-比对中的空位总数)。为了本发明的目标,使用Needleman-Wunsch法(Needleman和Wunsch,1970,见上文)确定两个脱氧核糖核苷酸序列之间的序列一致性,如在EMBOSS包中的Needle程序中实施(EMBOSS:The European Molecular Biology Open Software Suite[EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套装],Rice等人,2000,见上文),优选是版本5.0.0或更新版本。所使用的参数是空位开放罚分10、空位延伸罚分0.5、和EDNAFULL(NCBI NUC4.4的EMBOSS版)取代矩阵。将标记为“最长一致性”的Needle输出(使用-非简化(-nobrief)选项获得)用作百分比一致性并且是如下计算的:

[0070] (一致脱氧核糖核苷酸x 100)/(比对的长度-在比对中的空位总数)。

[0071] 严格条件:术语“非常低严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言,遵循标准DNA印迹程序,在42℃处在5X SSPE、0.3%SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子

DNA和25％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在45℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0072] 术语“低严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言，遵循标准DNA印迹程序，在42℃处在5X SSPE、0.3％SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子DNA和25％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在50℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0073] 术语“中严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言，遵循标准DNA印迹程序，在42℃处在5X SSPE、0.3％SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子DNA和35％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在55℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0074] 术语“中-高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言，遵循标准DNA印迹程序，在42℃处在5X SSPE、0.3％SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子DNA以及35％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在60℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0075] 术语“高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言，遵循标准DNA印迹程序，在42℃处在5X SSPE、0.3％SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子DNA和50％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在65℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0076] 术语“非常高严格条件”意指对于长度为至少100个核苷酸的探针而言，遵循标准DNA印迹程序，在42℃处在5X SSPE、0.3％SDS、200微克/ml剪切并变性的鲑精子DNA和50％甲酰胺中预杂交和杂交12至24小时。最后在70℃处使用2X SSC、0.2％SDS将载体材料洗涤三次，每次15分钟。

[0077] 子序列：术语“子序列”意指从成熟多肽编码序列的5’端和/或3’端缺失一个或多个(例如，几个)核苷酸的多核苷酸；其中该子序列编码具有DNA酶活性的片段。

[0078] 纺织品：术语“纺织品”意指包括纱线、纱线中间体、纤维、非机织材料、天然材料、合成材料、以及任何其他纺织品材料的任何纺织品材料，这些材料制造的织物和由这些织物制成的产品(例如服装和其他物品)。该纺织品或织物可以处于针织品、机织物、牛仔布、非机织物、毡、纱线、以及毛巾布的形式。这些纺织品可以是基于纤维素的，如天然纤维素，包括棉、亚麻/亚麻布、黄麻、苎麻、剑麻或椰壳纤维或者人造纤维素(例如，来源于木浆)，包括粘胶纤维/人造丝、乙酸纤维素纤维(三胞)、莱赛尔纤维(lyocell)或其共混物。纺织品或织物也可以不基于纤维素，如天然聚酰胺，包括羊毛、驼毛、羊绒、马海毛、兔毛和蚕丝或合成聚合物如尼龙、芳族聚酰胺、聚酯、丙烯酸、聚丙烯和氨纶/弹性纤维(spandex/elastane)、或其共混物其以及基于纤维素和不基于纤维素的纤维的共混物。共混物的实例是棉和/或人造丝/纤维胶与一种或多种伴随材料的共混物，该伴随材料如羊毛、合成纤维(例如聚酰胺纤维、丙烯酸纤维、聚酯纤维、聚氯乙烯纤维、聚氨酯纤维、聚脲纤维、芳族聚酰胺纤维)和/或含纤维素的纤维(例如人造丝/粘胶纤维、苎麻、亚麻/亚麻布、黄麻、乙酸纤维素纤维、莱赛尔纤维)。织物可以是常规的可洗涤衣物，例如染污的家居衣物。当使用术语织物或衣服时，旨在也包括广义术语纺织品。在本发明的上下文中，术语“纺织品”还包括织物。

[0079] 变体:术语“变体”意指在一个或多个(例如,若干个)位置包含改变(即,取代、插入和/或缺失)的与亲本酶具有相同活性的多肽。取代意指占据位置的氨基酸替换不同的氨基酸;缺失意指去除占据某一位置的氨基酸;并且插入意指在邻接并且紧随占据位置的氨基酸之后添加氨基酸。在本发明的上下文中,所鉴别的DNA酶的变体具有亲本的酶活性,即,催化DNA主链中的磷酸二酯键水解断裂的能力(脱氧核糖核酸酶活性)。在一个实施例中,变体的脱氧核糖核酸酶活性关于亲本DNA酶是增加的,例如,SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽。

[0080] 洗涤周期:在此将术语“洗涤周期”定义为一个洗涤操作,其中将纺织品浸泡在洗液中,将某种机械作用施加至该纺织品,以释放污渍,并且协助洗液流进和流出该纺织品,并且最终去除多余的洗液。在一个或多个洗涤周期后,总体上对该纺织品进行冲洗和干燥。

[0081] 洗液:在此将术语“洗液”定义为任选地包括本发明的酶的水和洗涤剂组合物的溶液或混合物。

[0082] 洗涤时间:在此将术语“洗涤时间”定义为完整洗涤过程所花费的时间;即一个或多个洗涤周期和一个或多个冲洗循环在一起的时间。

[0083] 白度:在此将术语“白度”定义为在不同领域并且针对不同顾客具有不同含义的广义术语。白度的损失可以例如归因于灰化、黄化、或光学增亮剂/调色剂的去除。灰化和黄化可归因于污垢再沉积、身体污垢、来自例如铁和铜离子或染料转移的着色。白度可包括来自以下列表的一个或若干个问题:着色剂或染料作用;不完全去污(例如身体污垢、皮脂等);再沉积(物体的灰化、黄化或其他变色)(去除的污垢与纺织品的其他部分(弄脏的或未弄脏的)再关联);在应用过程中纺织品的化学变化;以及颜色的澄清或淡色化。

具体实施方式

[0084] 具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的本发明的多肽可以用于防止或去除物品(例如纺织品和/或织物)上的生物膜。具有DNA酶活性的多肽或脱氧核糖核酸酶(DNA酶)是催化DNA骨架中的磷酸二酯键的水解切割从而降解DNA的任何酶。可互换地使用两个术语,具有DNA酶活性的多肽和DNA酶。本发明涉及可从类芽孢杆菌属物种-62212、类芽孢杆菌属物种-62605、芽孢杆菌属物种-62738、短小芽孢杆菌、堀越氏芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62490、芽孢杆菌属物种-13390、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376、芽孢杆菌属物种-62738、绿青链霉菌、婴儿链球菌、芽孢杆菌属物种-62599、秋叶氏芽孢杆菌、Paenibacillus xylanexedens、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719、藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)、微小杆菌属物种NG55、来自环境样品J的宏基因组、Streptomyces thermoalcalitolerans、来自环境样品C的宏基因组获得的DNA酶。本发明的DNA酶包括SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽和与选自下组的多肽中任一项的多肽具有至少60%、例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的多肽,该组由以下组成:SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20,并且其中该多肽具有DNA酶活性。

[0085] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽,其中该多肽与SEQ ID NO 1具有至少至少60%、例如至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少

92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0086] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 2具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0087] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 3具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0088] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 4具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0089] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 5具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0090] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 6具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0091] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 7具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0092] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 8具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0093] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 9具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0094] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 10具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0095] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 11具有至少至

少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0096] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 12具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0097] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 13具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0098] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 14具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0099] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 15具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0100] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 16具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0101] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 17具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0102] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 18具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0103] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 19具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0104] 一个实施例涉及具有DNA酶活性的多肽，其中该多肽与SEQ ID NO 20具有至少至少60％、例如至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％、或100％序列一致性。

[0105] 在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自类芽孢杆菌属物种-62212并且包含具有SEQ ID NO 1的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自类芽孢杆菌属物种-62605并且包含具有SEQ ID NO 2的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自芽孢杆菌属物种-62738并且包含具有SEQ ID NO 3的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自短小芽孢杆菌并且包含具有SEQ ID NO 4的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自堀越氏芽孢杆菌并且包含具有SEQ ID NO 5的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自芽孢杆菌属物种-62490并且包含具有SEQ ID NO 6的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自芽孢杆菌属物种-13390并且包含具有SEQ ID NO 7的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376并且包含具有SEQ ID NO 8的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自芽孢杆菌属物种-62738并且包含具有SEQ ID NO 9的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自绿青链霉菌并且包含具有SEQ ID NO 10的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自婴儿链球菌并且包含具有SEQ ID NO 11的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自芽孢杆菌属物种-62599并且包含具有SEQ ID NO 12的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自秋叶氏芽孢杆菌并且包含具有SEQ ID NO 13的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自Paenibacillus xylanexedens并且包含具有SEQ ID NO 14的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719并且包含具有SEQ ID NO 15的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)并且包含具有SEQ ID NO 16的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自微小杆菌属物种NG55并且包含具有SEQ ID NO 17的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自来自环境样品J的宏基因组并且包含具有SEQ ID NO 18的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自Streptomyces thermoalcalitolerans并且包含具有SEQ ID NO 19的多肽序列。在本发明的一个优选地方面，该DNA酶是获得自来自环境样品C的宏基因组并且包含具有SEQ ID NO 20的多肽序列。

[0106] 当物品上存在微生物并且在物品上粘在一起时，在纺织品上会形成生物膜。一些微生物倾向于粘附至物品(如纺织品)的表面上。一些微生物粘附在此类表面上并且在表面上形成生物膜。生物膜可以是粘性的并且粘附的微生物和/或生物膜会是难以去除的。此外，由于生物膜的粘性性质，生物膜粘附污垢。市场上可获得的商业衣物洗涤剂组合物并不去除此类粘附的微生物或生物膜。

[0107] 本发明涉及具有DNA酶活性的多肽以及这种多肽用于防止、减少或去除来自物品如纺织品的生物膜的用途。在本发明的一个实施例中，具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除物品的粘性。在本发明的一个实施例中，具有DNA酶活性的多肽改进物品如纺织品的白度。在一个实施例中，具有DNA酶活性的本发明的多肽帮助维持纺织品上的颜色。当反复洗涤纺织品时，颜色倾向于变得不太亮。在一个实施例中，具有DNA酶的本发明的多肽在维持有色纺织品的颜色上，即使在反复洗涤后，也具有改进的作用。在一个实施例中，本发明的多肽能降低在洗涤中存在的相同的或另外的纺织品的非有色部分的着色。

[0108] 可以将具有DNA酶活性的多肽进一步用于预处理纺织品上的污渍，如具有附着于

纺织品的明显量的生物膜的纺织品。

[0109] 本发明还涉及具有DNA酶活性的多肽在洗涤循环过程中用于防止、减少或去除污垢再沉积的用途。当将该多肽用于例如纺织品的洗涤中时，该多肽可以阻止洗液中存在的污垢沉积在纺织品上。

[0110] 此外，本发明涉及具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除污垢在物品上的附着。在一个实施例中，该物品是纺织品。当该污垢没有附着于该物品时，该物品显得更干净。因此，本发明进一步涉及具有DNA酶活性的多肽用于维持或改进该物品白度的用途。

[0111] 当使用物品(像T恤或运动衣)时，它们暴露于来自使用者的身体和来自它们使用的环境的其余部分的细菌。这能够引起物品上的恶臭，即使在洗涤该物品后。因此，本发明还涉及纺织品上的恶臭的去除或减少。该恶臭可能由产生具有令人不愉快气味的化合物的细菌引起。此类具有令人不愉快气味的化合物的一个实例是E-2-壬烯醛。该恶臭可以存在于新洗的仍是湿的纺织品上。或者该恶臭可以存在于新洗的基本上已经干了的纺织品上。该恶臭还可以存在于纺织品上，该纺织品在洗涤后储存了一段时间。本发明涉及减少或去除湿的或干的纺织品的恶臭如E-2-壬烯醛。

[0112] 具有DNA酶活性的本发明的多肽，即本发明的DNA酶在洗涤剂中具有良好的性能。具有SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的DNA酶的有益效果的实例是如在实例2中所示的深度清洁效果，防止衣物变灰和/或去除恶臭。包含SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽具有DNA酶活性并且在洗涤剂中具有深度清洁效果。

[0113] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20，或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0114] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 1、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0115] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 2、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0116] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 3、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0117] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 4、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0118] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成:SEQ ID NO 5、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0119] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀

并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 6、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0120] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 7、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0121] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 8、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0122] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 9、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0123] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 10、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0124] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 11、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0125] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 12、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0126] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 13、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0127] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 14、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0128] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 15、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0129] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 16、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0130] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 17、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0131] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 18、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0132] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀

并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 19、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0133] 又另一个实施例涉及DNA酶用于去除来自衣物和/或纺织品的恶臭、用于抗再沉淀并且用于维持或改进纺织品的白度的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 20、或与其具有至少80％序列一致性的多肽。

[0134] 本发明涉及与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽中任一项具有至少60％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性并且其中该多肽用于防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0135] 本发明涉及与在SEQ ID NO:1中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0136] 本发明涉及与在SEQ ID NO:2中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0137] 本发明涉及与在SEQ ID NO:3中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0138] 本发明涉及与在SEQ ID NO:4中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0139] 本发明涉及与在SEQ ID NO:5中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0140] 本发明涉及与在SEQ ID NO:6中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0141] 本发明涉及与在SEQ ID NO:7中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0142] 本发明涉及与在SEQ ID NO:8中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0143] 本发明涉及与在SEQ ID NO:9中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0144] 本发明涉及与在SEQ ID NO:10中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0145] 本发明涉及与在SEQ ID NO:11中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如

至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0146] 本发明涉及与在SEQ ID NO:12中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0147] 本发明涉及与在SEQ ID NO:13中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0148] 本发明涉及与在SEQ ID NO:14中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0149] 本发明涉及与在SEQ ID NO:15中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0150] 本发明涉及与在SEQ ID NO:16中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0151] 本发明涉及与在SEQ ID NO:17中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0152] 本发明涉及与在SEQ ID NO:18中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0153] 本发明涉及与在SEQ ID NO:19中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0154] 本发明涉及与在SEQ ID NO:20中所示的多肽具有至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽，该多肽具有DNA酶活性，并且其中该多肽能防止、减少或去除来自物品的生物膜。

[0155] 具有SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的具有DNA酶活性的多肽的深度清洁效果示于实例2中。

[0156] 如所描述，关于术语“深度清洁”意指生物膜或生物膜的组分，例如多糖、蛋白质、DNA、污垢或生物膜中存在的其他组分的破坏或去除。

[0157] 本发明的多肽优选地包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20中的任一项的氨基酸序列或其等位基因变体或由其组成；或为具有DNA酶活性的其片段。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽或由其组成。

[0158] 在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:1的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:2的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:3的

多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:4的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:5的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:6的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:7的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:8的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:9的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:10的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:11的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:12的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:13的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:14的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:15的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:16的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:17的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:18的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:19的多肽或由其组成。在另一方面，该多肽包含具有SEQ ID NO:20的多肽或由其组成。

[0159] 在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0160] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在低严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码(Sambrook等人，1989，Molecular Cloning，A Laboratory Manual[分子克隆实验指南]，第2版，冷泉港，纽约)。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0161] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在低-中严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0162] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在中严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0163] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在中-高严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0164] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在高严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0165] 在另一个实施例中，本发明涉及一种具有DNA酶活性的分离的多肽，该分离的多肽是由在非常高严格条件下与(i)成熟多肽编码序列或(ii)(i)的全长补体杂交的一种多核苷酸所编码。在一个实施例中，该多肽已经被分离。

[0166] 多核苷酸或其子序列，连同SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽或其片段可根据本领域熟知的方法用于设计核酸探针以鉴定和克隆来自不同属或种的菌株的、编码具有DNA酶活性的多肽的DNA。具体而言，此类探针可以遵循标准DNA印迹程序用于与感兴趣的细胞的基因组DNA杂交，以便鉴定和分离其中相应的基因。此类探针可明显短于完整序列，但是长度应为至少15，例如至少25、至少35、或至少70个核苷酸。优选地，该核酸探针的长度为至少100个核苷酸，例如至少200个核苷酸、至少300个

核苷酸、至少400个核苷酸、至少500个核苷酸或至少600个核苷酸。可以使用DNA和RNA探针两者。典型地将探针进行标记(例如,用^{32}P、^{3}H、^{35}S、生物素、或抗生物素蛋白),以检测相应的基因。本发明涵盖此类探针。

[0167] 可以筛选从此类其他菌株制备的基因组DNA文库的与上述探针杂交并编码具有DNA酶活性的多肽的DNA。来自此类其他菌株的基因组DNA或其他DNA可通过琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他分离技术来分离。可将来自文库的DNA或分离的DNA转移到并固定在硝化纤维素或其他适合的载体材料上。为了鉴定与编码本发明的多肽的多核苷酸或其子序列杂交的克隆或DNA,在DNA印迹中使用载体材料。

[0168] 出于本发明的目的,杂交表明多核苷酸在非常低、低严格条件、低-中严格条件、中严格条件、中-高严格条件、高严格条件至非常高严格条件下与一种被标记的核酸探针杂交,该探针对应于(i)成熟多肽编码序列;(ii)其全长补体;或(iii)其子序列。可使用例如X-射线胶片或本领域已知的任何其他检测手段来检测在这些条件下与核酸探针杂交的分子。

[0169] 在另一个实施例中,本发明涉及SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽的变体,该变体在一个或多个(例如,若干个)位置处包含取代、缺失和/或插入。在一个实施例中,引入SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0170] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:1的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0171] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:2的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0172] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:3的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0173] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:4的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0174] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:5的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0175] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:6的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0176] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:7的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0177] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:8的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0178] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:9的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0179] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:10的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0180] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:11的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数

目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0181] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:12的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0182] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:13的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0183] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:14的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0184] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:15的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0185] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:16的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0186] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:17的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0187] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:18的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0188] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:19的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0189] 在一个实施例中,引入SEQ ID NO:20的多肽中的氨基酸取代、缺失和/或插入的数目多达10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个。

[0190] 这些氨基酸改变可以具有微小性质,即,不会显著地影响蛋白质的折叠和/或活性的保守氨基酸取代或插入;小缺失,典型地为1-30个氨基酸;小的氨基-末端的或羧基末端的延伸,例如氨基末端甲硫氨酸残基;多至20-25个残基的小接头肽;或通过改变净电荷或另一功能(如聚组氨酸段、抗原表位或结合结构域)而有利于纯化的小的延伸。

[0191] 这些氨基酸改变可以具有微小性质,即,不会显著地影响蛋白质的折叠和/或活性的保守氨基酸取代或插入;小缺失,典型地为1-30个氨基酸;小的氨基-末端的或羧基末端的延伸,例如氨基末端甲硫氨酸残基;多至20-25个残基的小接头肽;或通过改变净电荷或另一功能(如聚组氨酸段、抗原表位或结合结构域)而有利于纯化的小的延伸。

[0192] 保守取代的实例是在下组的范围内:碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸和组氨酸)、酸性氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸)、极性氨基酸(谷氨酰胺和天冬酰胺)、疏水性氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸)、芳香族氨基酸(苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸)及小氨基酸(甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸和甲硫氨酸)。一般不会改变比活性的氨基酸取代是本领域已知的并且例如由H.Neurath和R.L.Hill,1979,于The Proteins[蛋白质],学术出版社(Academic Press),纽约中描述。常见取代为Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Tyr/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu和Asp/Gly。

[0193] 可替代地,这些氨基酸变化具有这样的性质:改变多肽的物理化学特性。例如,氨基酸变化可改进多肽的热稳定性、改变底物特异性、改变最适pH等。

[0194] 可根据本领域中已知的方法,如定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham和Wells,1989,Science[科学]244:1081-1085)来鉴定多肽中的必需氨基酸。在后一项技术

中,在该分子中的每个残基处引入单个丙氨酸突变,并且对所得突变体分子的DNA酶活性进行测试以鉴定对于该分子的活性至关重要的氨基酸残基。还参见,Hilton等人,1996,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]271:4699-4708描述。也可结合假定接触位点氨基酸的突变,如通过以下技术例如核磁共振、结晶学、电子衍射、或光亲和标记进行确定的对结构进行物理学分析,从而确定酶的活性位点或其他生物学相互作用。参见,例如,de Vos等人,1992,Science[科学]255:306-312;Smith等人,1992,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]224:899-904;Wlodaver等人,1992,FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]309:59-64描述。还可以从与相关多肽的比对来推断必需氨基酸的身份。

[0195] 使用已知的诱变、重组和/或改组方法,随后进行一个相关的筛选程序可以做出单一或多种氨基酸取代、缺失和/或插入并对其进行测试,这些相关的筛选程序例如由Reidhaar-Olson和Sauer,1988,Science[科学]241:53-57;Bowie和Sauer,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]86:2152-2156;WO 95/17413;或者WO 95/22625所披露的那些。其他可以使用的方法包括易错PCR、噬菌体展示(例如Lowman等人,1991,Biochemistry[生物化学]30:10832-10837;美国专利号5,223,409;WO 92/06204)以及区域定向诱变(Derbyshire等人,1986,Gene[基因]46:145;Ner等人,1988,DNA 7:127)。

[0196] 诱变/改组方法可以与高通量自动化筛选方法组合以检测由宿主细胞表达的克隆的诱变多肽的活性(Ness等人,1999,Nature Biotechnology[自然生物技术]17:893-896)。可从宿主细胞回收编码活性多肽的诱变的DNA分子,并使用本领域的标准方法快速测序。这些方法允许迅速确定多肽中单个氨基酸残基的重要性。

[0197] 该多肽可以是杂合多肽,其中一种多肽的区域在另一种多肽的区域的N-末端或C-末端处融合。

[0198] 该多肽可以是融合多肽或可裂解的融合多肽,其中另一种多肽在本发明多肽的N-末端或C-末端处融合。通过将编码另一种多肽的多核苷酸与本发明多核苷酸融合而产生融合多肽。用于产生融合多肽的技术在本领域是已知的,并且包括连接编码多肽的编码序列,这样使得它们在框内并且使得融合多肽的表达处于一个或多个相同启动子和终止子的控制下。还可以使用内含肽技术构建融合多肽,在该内含肽技术中在翻译后产生融合多肽(Cooper等人,1993,EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]12:2575-2583;Dawson等人,1994,Science[科学]266:776-779)。

[0199] 融合多肽可以进一步包含两种多肽之间的切割位点。在融合蛋白分泌之时,该位点被切割,从而释放出这两种多肽。切割位点的实例包括但不限于在以下文献中公开的位点:Martin等人,2003,J.Ind.Microbiol.Biotechnol.[工业微生物与生物技术杂志]3:568-576;Svetina等人,2000,J.Biotechnol.[生物技术杂志]76:245-251;Rasmussen-Wilson等人,1997,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]63:3488-3493;Ward等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:498-503;以及Contreras等人,1991,Biotechnology[生物技术]9:378-381;Eaton等人,1986,Biochemistry[生物化学]25:505-512;Collins-Racie等人,1995,Biotechnology[生物技术]13:982-987;Carter等人,1989,Proteins:Structure、Function、and Genetics[蛋白质:结构、功能与遗传学]6:240-248;以及Stevens,2003,Drug Discovery World[药物发现世界]4:35-48。

[0200] 多核苷酸

[0201] 本发明还涉及编码如在此描述的多肽的多核苷酸。在一个实施例中，编码本发明的多肽的多核苷酸已经被分离。用于分离或克隆多核苷酸的技术是本领域中已知的且包括从基因组DNA或cDNA或其组合进行分离。可例如通过使用熟知的聚合酶链反应(PCR)或表达文库的抗体筛选以检测具有共有结构特征的克隆的DNA片段，来实现从基因组DNA克隆多核苷酸。参见例如，Innis等人，1990，PCR:A Guide to Methods and Application[PCR:方法和应用指南]，学术出版社(Academic Press)，纽约。可使用其他核酸扩增程序如连接酶链式反应(LCR)、连接活化的转录(LAT)和基于多核苷酸的扩增(NASBA)。

[0202] 编码本发明多肽的多核苷酸的修饰对于合成实质上类似于该多肽的多肽可以是必需的。术语“实质上类似”于该多肽是指多肽的非天然存在的形式。这些多肽可以因某种工程化方式而与从其天然来源分离的多肽不同，例如在比活性、热稳定性、最适pH等方面不同的变体。可以如下构建变体：基于作为成熟多肽编码序列(例如，其子序列)所提出的多核苷酸，和/或通过引入核苷酸置换，所述核苷酸置换不导致多肽的氨基酸序列变化，但是对应于旨在用于产生酶的宿主生物体的密码子使用，或通过引入可以产生不同氨基酸序列的核苷酸置换。对于核苷酸置换的一般描述，参见，例如Ford等人，1991，Protein Expression and Purification[蛋白质表达与纯化]2:95-107。

[0203] 核酸构建体

[0204] 本发明还涉及核酸构建体，这些核酸构建体包含有效地连接至一个或多个控制序列的本发明的多核苷酸，在与控制序列相容的条件下，这个或这些控制序列指导编码序列在适合的宿主细胞中的表达。

[0205] 可用许多方式操作所述多核苷酸以提供多肽的表达。取决于表达载体，在多核苷酸插入载体之前对其进行操作可为合意的或必需的。用于利用重组DNA方法修饰多核苷酸的技术是本领域已知的。

[0206] 该控制序列可为启动子，即，被宿主细胞识别用于表达编码本发明多肽的多核苷酸的多核苷酸。该启动子含有转录控制序列，其介导该多肽的表达。该启动子可以是在宿主细胞中显示出转录活性的任何多核苷酸，包括突变型、截短型及杂合型启动子，并且可以是由编码与该宿主细胞同源或异源的细胞外或细胞内多肽的基因获得。

[0207] 用于在细菌宿主细胞中指导本发明的核酸构建体的转录的合适启动子的实例为从以下基因中获得的启动子：解淀粉芽孢杆菌(Bacillus amyloliquefaciens)α-淀粉酶基因(amyQ)、地衣芽孢杆菌(Bacillus licheniformis)α-淀粉酶基因(amyL)、地衣芽孢杆菌青霉素酶基因(penP)、嗜热脂肪芽孢杆菌(Bacillus stearothermophilus)产麦芽糖淀粉酶基因(amyM)、枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)果聚糖蔗糖酶基因(sacB)、枯草芽孢杆菌xylA和xylB基因、苏云金芽孢杆菌(Bacillus thuringiensis)cryIIIA基因(Agaisse和Lereclus，1994，Molecular Microbiology[分子微生物学]13:97-107)、大肠杆菌(E.coli)lac操纵子、大肠杆菌trc启动子(Egon等人，1988，Gene[基因]69:301-315)、天蓝色链霉菌(Streptomyces coelicolor)琼脂糖酶基因(dagA)、以及原核β-内酰胺酶基因(Villa-Kamaroff等人，1978，Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]75:3727-3731)以及tac启动子(DeBoer等人，1983，Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]80:21-25)。其他启动子描述于Gilbert等人，1980，Scientific American[科学美国人]242:74-94的“Useful proteins from recombinant bacteria[来自重组细菌的有用蛋白质]”中；和在Sambrook

等人,1989,见上文。串联启动子的实例披露于WO 99/43835中。

[0208] 在丝状真菌宿主细胞中,用于指导本发明的核酸构建体的转录的合适启动子的实例是获得自以下酶的基因的启动子:构巢曲霉(Aspergillus nidulans)乙酰胺酶、黑曲霉(Aspergillus niger)中性α-淀粉酶、黑曲霉酸稳定性α-淀粉酶、黑曲霉或泡盛曲霉(Aspergillus awamori)葡萄糖淀粉酶(glaA)、米曲霉(Aspergillus oryzae)TAKA淀粉酶、米曲霉碱性蛋白酶、米曲霉丙糖磷酸异构酶、尖镰孢(Fusarium oxysporum)胰蛋白酶-样蛋白酶(WO 96/00787)、镶片镰孢(Fusarium venenatum)淀粉葡糖苷酶(WO 00/56900)、镶片镰孢Daria(WO 00/56900)、镶片镰孢菌Quinn(WO 00/56900)、米黑)(Rhizomucor miehei)脂肪酶、米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶、里氏木霉(Trichoderma reesei)β-葡糖苷酶、里氏木霉纤维二糖水解酶I、里氏木霉纤维二糖水解酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶I、里氏木霉内切葡聚糖酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶III、里氏木霉内切葡聚糖酶V、里氏木霉木聚糖酶I、里氏木霉木聚糖酶II、里氏木霉木聚糖酶III、里氏木霉β-木糖苷酶,以及里氏木霉翻译延长因子,以及NA2-tpi启动子(来自曲霉属中性α-淀粉酶基因的经修饰的启动子,其中未翻译的前导序列已经用来自曲霉属丙糖磷酸异构酶基因的未翻译的前导序列替换;非限制性实例包括来自编码中性α-淀粉酶的黑曲霉基因的修饰的启动子,其中已经用来自编码丙糖磷酸异构酶的构巢曲霉或米曲霉基因的未翻译的前导子替换未翻译的前导子);及其突变型、截短型及杂合型启动子。其他启动子在美国专利号6,011,147中描述。

[0209] 在酵母宿主中,从以下酶的基因获得有用的启动子:酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)烯醇化酶(ENO-1)、酿酒酵母半乳糖激酶(GAL1)、酿酒酵母乙醇脱氢酶/甘油醛-3-磷酸脱氢酶(ADH1,ADH2/GAP)、酿酒酵母磷酸丙糖异构酶(TPI)、酿酒酵母金属硫蛋白(CUP1)、和酿酒酵母3-磷酸甘油酸激酶。Romanos等人,1992,Yeast[酵母]8:423-488描述了酵母宿主细胞的其他有用的启动子。

[0210] 控制序列也可为由宿主细胞识别以终止转录的转录终止子。终止子与编码该多肽的多核苷酸的3'-末端有效地连接。在宿主细胞中有功能的任何终止子可用于本发明中。

[0211] 细菌宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得:克劳氏芽孢杆菌(Bacillus clausii)碱性蛋白酶(aprH)、地衣芽孢杆菌α-淀粉酶(amyL)、和大肠杆菌核糖体RNA(rrnB)。

[0212] 用于丝状真菌宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得:构巢曲霉乙酰胺酶、构巢曲霉邻氨基苯甲酸合酶、黑曲霉葡糖淀粉酶、黑曲霉α-葡糖苷酶、米曲霉TAKA淀粉酶、尖镰孢胰蛋白酶-样蛋白酶、里氏木霉β-葡糖苷酶、里氏木霉纤维二糖水解酶I、里氏木霉纤维二糖水解酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶I、里氏木霉内切葡聚糖酶II、里氏木霉内切葡聚糖酶III、里氏木霉内切葡聚糖酶V、里氏木霉木聚糖酶I、里氏木霉木聚糖酶II、里氏木霉木聚糖酶III、里氏木霉β-木糖苷酶以及里氏木霉翻译延长因子。

[0213] 用于酵母宿主细胞的优选终止子从以下酶的基因获得:酿酒酵母烯醇化酶、酿酒酵母细胞色素C(CYC1)、以及酿酒酵母甘油醛-3-磷酸脱氢酶。酵母宿主细胞的其他有用终止子在Romanos等人,1992,见上文描述。

[0214] 控制序列还可为启动子下游和基因的编码序列上游的mRNA稳定子区,其增加该基因的表达。

[0215] 合适的mRNA稳定子区的实例是从以下获得的:苏云金芽孢杆菌cryIIIA基因(WO

94/25612)和枯草芽孢杆菌SP82基因(Hue等人,1995,Journal of Bacteriology[细菌学杂志]177:3465-3471)。

[0216] 该控制序列还可为前导序列,对宿主细胞翻译重要的mRNA的非翻译区。该前导序列有效地连接到编码该多肽的多核苷酸的5'-末端。可使用在宿主细胞中有功能的任何前导序列。

[0217] 用于丝状真菌宿主细胞的优选前导序列是从米曲霉TAKA淀粉酶和构巢曲霉丙糖磷酸异构酶的基因获得的。

[0218] 对于酵母宿主细胞合适的前导序列从以下酶的基因获得:酿酒酵母烯醇化酶(ENO-1)、酿酒酵母3-磷酸甘油酸激酶、酿酒酵母α因子、和酿酒酵母醇脱氢酶/甘油醛-3-磷酸脱氢酶(ADH2/GAP)。

[0219] 该控制序列还可以是多腺苷酸化序列;与多核苷酸3'-末端有效地连接并在转录时由宿主细胞识别为向转录的mRNA添加聚腺苷酸残基的信号的序列。可使用在宿主细胞中有功能的任何聚腺苷酸化序列。

[0220] 用于丝状真菌宿主细胞的优选聚腺苷酸化序列是从以下酶的基因获得的:构巢曲霉邻氨基苯甲酸合酶、黑曲霉葡糖淀粉酶、黑曲霉α-葡糖苷酶、米曲霉TAKA淀粉酶和尖镰孢胰蛋白酶-样蛋白酶。

[0221] 对于酵母宿主细胞有用的多聚腺苷酸化序列由Guo和Sherman,1995,Mol.Cellular Biol.[分子细胞生物学]15:5983-5990描述。

[0222] 控制序列也可为编码与多肽的N-末端连接的信号肽并指导多肽进入细胞的分泌途径的信号肽编码区。多核苷酸的编码序列的5'-端可固有地包含在翻译阅读框中与编码多肽的编码序列的区段天然地连接的信号肽编码序列。可替代地,编码序列的5'-端可包含对于编码序列为外来的信号肽编码序列。在编码序列不天然地包含信号肽编码序列的情况下,可需要外来的信号肽编码序列。可替代地,外源信号肽编码序列可以单纯地替代天然信号肽编码序列以便增强多肽的分泌。然而,可以使用指导已表达多肽进入宿主细胞的分泌途径的任何信号肽编码序列。

[0223] 用于细菌宿主细胞的有效信号肽编码序列是从芽孢杆菌NCIB 11837生麦芽糖淀粉酶、地衣芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶、地衣芽孢杆菌钙-内酰胺酶、嗜热脂肪芽孢杆菌醣-淀粉酶、嗜热脂肪芽孢杆菌中性蛋白酶(nprT、nprS、nprM)和枯草芽孢杆菌prsA的基因获得的信号肽编码序列。另外的信号肽由Simonen和Palva,1993,Microbiological Reviews[微生物评论]57:109-137描述。

[0224] 用于丝状真菌宿主细胞的有效信号肽编码序列是从黑曲霉中性淀粉酶、黑曲霉葡糖淀粉酶、米曲霉TAKA淀粉酶、特异腐质霉纤维素酶、特异腐质霉内切葡聚糖酶V、柔毛腐质霉脂肪酶和米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶的基因获得的信号肽编码序列。

[0225] 从酿酒酵母α-因子和酿酒酵母转化酶的基因获得用于酵母宿主细胞的有用信号肽。其他有用的信号肽编码序列由Romanos等人,1992(见上文)描述。

[0226] 控制序列也可为编码处于多肽的N-末端的前肽的前肽编码序列。所得的多肽被称为前体酶(proenzyme)或多肽原(或在一些情况下被称为酶原(zymogen))。多肽原通常是无活性的并可通过催化切割或自身催化切割来自多肽原的前肽而转化为活性多肽。前肽编码序列可从以下酶的基因获得:枯草芽孢杆菌碱性蛋白酶(aprE)、枯草芽孢杆菌中性蛋白酶

(nprT)、嗜热毁丝霉漆酶(WO 95/33836)、米黑根毛霉天冬氨酸蛋白酶和酿酒酵母α-因子。

[0227] 在信号肽序列和前肽序列二者都存在的情况下,该前肽序列位于紧邻多肽的N-末端且该信号肽序列位于紧邻该前肽序列的N-末端。

[0228] 也可为合意的是添加调节序列,所述调节序列调节相对于宿主细胞的生长的多肽的表达。调节序列的实例是引起基因的表达响应于化学或物理刺激(包括调节化合物的存在)而开启或关闭的那些。原核系统中的调节序列包括lac、tac以及trp操纵基因系统。在酵母中,可使用ADH2系统或GAL1系统。在丝状真菌中,可使用黑曲霉葡糖淀粉酶启动子、米曲霉TAKA α-淀粉酶启动子和米曲霉葡糖淀粉酶启动子、里氏木霉纤维二糖水解酶I启动子以及里氏木霉纤维二糖水解酶II启动子。调节序列的其他实例是允许基因扩增的那些。在真核系统中,这些调节序列包括在甲氨蝶呤存在下扩增的二氢叶酸还原酶基因以及用重金属扩增的金属硫蛋白基因。在这些情况中,编码多肽的多核苷酸会与调控序列有效地连接。

[0229] 表达载体

[0230] 本发明还涉及包含本发明的多核苷酸、启动子、以及转录和翻译终止信号的重组表达载体。多个核苷酸和控制序列可连接在一起以产生重组表达载体,其可包括一个或多个便利的限制位点以允许编码该多肽的多核苷酸在这些位点处的插入或取代。可替代地,多核苷酸可通过将该多核苷酸或包含该多核苷酸的核酸构建体插入用于表达的适当载体中来表达。在产生该表达载体时,该编码序列位于该载体中使得该编码序列与该用于表达的适当控制序列有效地连接。重组表达载体可以是可方便地经受重组DNA程序并且可引起多核苷酸表达的任何载体(例如,质粒或病毒)。载体的选择将典型地取决于该载体与有待引入该载体的宿主细胞的相容性。该载体可以是线状或闭合的环状质粒。

[0231] 载体可为自主复制载体,即,作为染色体外实体存在的载体,其复制独立于染色体复制,例如,质粒、染色体外元件、微型染色体或人工染色体。该载体可包含用于确保自我复制的任何装置。可替代地,该载体可以是这样一种载体,当它被引入该宿主细胞中时,被整合到基因组中并且与其中已整合了它的一个或多个染色体一起复制。此外,可以使用单独的载体或质粒或两个或更多个载体或质粒,其共同含有待引入宿主细胞基因组的总DNA,或可以使用转座子。

[0232] 载体优选地含有一个或多个可选择的标记,这些标记容许容易地选择转化细胞、转染细胞、转导细胞等。选择性标志物是这样一种基因,该基因的产物提供了杀生物剂抗性或病毒抗性、重金属抗性、营养缺陷型的原养型等。

[0233] 细菌性选择性标记的实例是地衣芽孢杆菌或枯草芽孢杆菌dal基因,或赋予抗生素抗性(例如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素、新霉素、大观霉素或四环素抗性)的标记。用于酵母宿主细胞的适合的标记包括但不于ADE2、HIS3、LEU2、LYS2、MET3、TRP1、以及URA3。用于在丝状真菌宿主细胞中使用的选择性标记包括但不限于,adeA(磷酸核糖酰氨基咪唑-琥珀羧胺合酶)、adeB(磷酸核糖酰-氨基咪唑合酶)、amdS(乙酰胺酶)、argB(鸟氨酸氨甲酰基转移酶)、bar(草丁膦乙酰转移酶)、hph(潮霉素磷酸转移酶)、niaD(硝酸还原酶)、pyrG(乳清酸核苷-5'-磷酸脱羧酶)、sC(硫酸腺苷基转移酶)、以及trpC(邻氨基苯甲酸合酶)、连同其等效物。优选地用于曲霉细胞中的是构巢曲霉或米曲霉amdS和pyrG基因以及吸水链霉菌bar基因。在木霉属细胞中优选使用的是adeA、adeB、amdS、hph以及pyrG基因。

[0234] 选择性标志物可以是如在WO 2010/039889中描述的双选择性标志物系统。在一方

面，双选择性标志物是hph-tk双选择性标志物系统。

[0235] 载体优选含有允许载体整合到宿主细胞的基因组中或载体在细胞中独立于基因组自主复制的一个或多个元件。

[0236] 对于整合到该宿主细胞基因组中，该载体可以依靠编码该多肽的多核苷酸序列或者用于通过同源或非同源重组整合到该基因组中的该载体的任何其他元件。可替代地，该载体可以含有用于指导通过同源重组而整合到宿主细胞基因组中的一个或多个染色体中的一个或多个精确位置的另外的多核苷酸。为了增加在精确位置整合的可能性，这些整合元件应含有足够数量的核酸，如100至10,000个碱基对、400至10,000个碱基对、以及800至10,000个碱基对，这些碱基对与对应的靶序列具有高度的序列同一性以提高同源重组的可能性。这些整合元件可为与宿主细胞基因组中的靶序列同源的任何序列。此外，这些整合元件可为非编码多核苷酸或编码多核苷酸。另一方面，载体可通过非同源重组整合入宿主细胞的基因组中。

[0237] 对于自主复制，载体可进一步包含使该载体能够在所述的宿主细胞中自主复制的复制起点。复制起点可为在细胞中有功能的介导自主复制的任何质粒复制子。术语“复制起点”或“质粒复制子”意指使质粒或载体能够在体内复制的多核苷酸。

[0238] 细菌复制起点的实例是允许在大肠杆菌中复制的质粒pBR322、pUC19、pACYC177、以及pACYC184的复制起点，以及允许在芽孢杆菌属中复制的质粒pUB110、pE194、pTA1060、以及pAMβ1的复制起点。

[0239] 用于酵母宿主细胞中的复制起点的实例是2微米复制起点、ARS1、ARS4、ARS1和CEN3的组合以及ARS4和CEN6的组合。

[0240] 用于丝状真菌细胞中的复制起点的实例是AMA1和ANS1(Gems等人，1991，Gene[基因]98:61-67；Cullen等人，1987，Nucleic Acids Res.[核酸研究]15:9163-9175；WO 00/24883)。可根据WO 00/24883中公开的方法完成AMA1基因的分离和包含该基因的质粒或载体的构建。

[0241] 可将本发明多核苷酸的多于一个拷贝插入宿主细胞以增加多肽的产生。多核苷酸拷贝数的增加可通过如下获得：将序列的至少一个额外拷贝整合入宿主细胞基因组，或包括与多核苷酸一起的可扩增的选择性标记基因，其中可通过在合适的选择剂(selectable agent)存在下培养细胞来选择含有选择性标记基因的扩增拷贝，且由此含有多核苷酸的额外拷贝的细胞。

[0242] 用于连接以上所描述的元件以构建本发明的重组表达载体的方法是本领域的技术人员熟知的(参见，例如，Sambrook等人，1989，见上文)。

[0243] 宿主细胞

[0244] 本发明还涉及重组宿主细胞，其包含本发明的多核苷酸，该多核苷酸有效地连接于一个或多个控制序列，该一个或多个控制序列指导本发明的多肽的产生。将包含多核苷酸的构建体或载体引入宿主细胞中，使得该构建体或载体作为染色体整合体或作为自主复制的染色体外载体维持，如较早前所述。术语“宿主细胞”涵盖由于复制过程中发生的突变而与亲本细胞不同的亲本细胞的任何后代。宿主细胞的选择会在很大程度上取决于编码该多肽的基因及其来源。

[0245] 宿主细胞可为在本发明的多肽的重组产生中有用的任何细胞，例如原核细胞或真

核细胞。

[0246] 原核宿主细胞可为任何革兰氏阳性或革兰氏阴性细菌。革兰氏阳性细菌包括但不限于:芽孢杆菌属、梭菌属、肠球菌属、土芽孢杆菌属、乳杆菌属、乳球菌属、海洋芽孢杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、和链霉菌属。革兰氏阴性细菌包括但不限于:弯曲杆菌属、大肠杆菌、黄杆菌属、梭杆菌属、螺杆菌属、泥杆菌属、奈瑟氏菌属、假单胞菌属、沙门氏菌属、以及脲原体属。

[0247] 细菌宿主细胞可以是任何芽孢杆菌属细胞,包括但不限于:嗜碱芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、克劳氏芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、坚硬芽孢杆菌、灿烂芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌以及苏云金芽孢杆菌细胞。

[0248] 细菌宿主细胞还可以是任何链球菌属细胞,包括但不限于:类马链球菌、酿脓链球菌、乳房链球菌以及马链球菌兽瘟亚种细胞。

[0249] 细菌宿主细胞还可以是任何链霉菌属细胞,包括但不限于:不产色链霉菌、阿维链霉菌、天蓝色链霉菌、灰色链霉菌以及变铅青链霉菌细胞。

[0250] 可通过如下方法实现将DNA引入到芽孢杆菌属细胞:原生质体转化(参见,例如,Chang和Cohen,1979,Mol.Gen.Genet.[分子遗传学与基因组学]168:111-115)、感受态细胞转化(参见,例如,Young和Spizizen,1961,J.Bacteriol.[细菌学杂志]81:823-829或Dubnau和Davidoff-Abelson,1971,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]56:209-221),电穿孔(参见,例如,Shigekawa和Dower,1988,Biotechniques[生物技术]6:742-751)或接合(参见,例如,Koehler和Thorne,1987,J.Bacteriol.[细菌学杂志]169:5271-5278)。可通过如下方法实现将DNA引入到大肠杆菌细胞:原生质体转化(参见,例如,Hanahan,1983,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]166:557-580)或电穿孔(参见例如,Dower等人,1988,Nucleic Acids Res.[核酸研究]16:6127-6145)。可通过如下方法实现将DNA引入到链霉菌属细胞:原生质体转化,电穿孔(参见,例如,Gong等人,2004,Folia Microbiol.[叶线形微生物学](布拉格)49:399-405)、接合(参见例如,Mazodier等人,1989,J.Bacteriol.[细菌学杂志]171:3583-3585)、或转导(参见,例如,Burke等人,2001,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]98:6289-6294)。可通过如下方法实现将DNA引入到假单胞菌属细胞:电穿孔(参见,例如,Choi等人,2006,J.Microbiol.Methods[微生物学方法杂志]64:391-397)或接合(参见例如,Pinedo和Smets,2005,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]71:51-57)。可通过如下方法实现将DNA引入到链球菌属细胞:例如天然感受态(natural competence)(参见,例如,Perry和Kuramitsu,1981,Infect.Immun.[感染与免疫]32:1295-1297),原生质体转化(参见,Catt和Jollick,1991,Microbios[微生物学]68:189-207),电穿孔(参见,例如,Buckley等人,1999,Appl.Environ.Microbiol.[应用与环境微生物学]65:3800-3804)、或者接合(参见,例如,Clewell,1981,Microbiol.Rev.[微生物学评论]45:409-436)。然而,可使用本领域已知的将DNA引入宿主细胞的任何方法。

[0251] 宿主细胞还可为真核生物,如哺乳动物、昆虫、植物或真菌细胞。

[0252] 宿主细胞可为真菌细胞。如在此使用的“真菌”包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)和接合菌门(Zygomycota)以及卵菌门(Oomycota)和所有有丝分裂孢子真菌(如由Hawksworth等人所定义的,在:Ainsworth and

Bisby's Dictionary of The Fungi[Ainsworth和Bisby的真菌大词典],第8版,1995,国际CAB,大学出版社,剑桥,英国)。

[0253] 真菌宿主细胞可以是酵母细胞。如在此所用的"酵母"包括产子囊酵母(ascosporogenous yeast)(内孢霉目(Endomycetales))、产担子酵母(basidiosporogenous yeast)和属于半知菌类(Fungi Imperfecti)(芽孢纲(Blastomycetes))的酵母。由于酵母的分类可在将来变化,出于本发明的目的,酵母应当如Biology and Activities of Yeast[酵母的生物学与活性](Skinner,Passmore和Davenport编,Soc.App.Bacteriol.Symposium Series No.9[应用细菌学学会专题论文集系列9],1980)中所描述的那样定义。

[0254] 酵母宿主细胞可以是假丝酵母属、汉逊酵母属、克鲁弗酵母属、毕赤酵母属、酵母属、裂殖酵母属、或耶氏酵母属细胞,如乳酸克鲁维酵母(Kluyveromyces lactis)、卡尔酵母、酿酒酵母、糖化酵母、道格拉氏酵母、克鲁弗酵母、诺地酵母、卵形酵母或解脂耶氏酵母(Yarrowia lipolytica)细胞。

[0255] 真菌宿主细胞可为丝状真菌细胞。"丝状真菌"包括真菌门(Eumycota)和卵菌门(Oomycota)的亚门的所有丝状形式(如由Hawksworth等人,1995,见上文)。丝状真菌通常的特征在于由几丁质、纤维素、葡聚糖、壳多糖、甘露聚糖、以及其他复杂多糖构成的菌丝体壁。营养生长是通过菌丝延长,而碳分解代谢是专性需氧的。相反,酵母(如酿酒酵母)的营养生长是通过单细胞菌体的出芽(budding),且碳分解代谢可以是发酵性的。

[0256] 丝状真菌宿主细胞可以是枝顶孢霉属、曲霉属、短梗霉属、烟管霉属(Bjerkandera)、拟腊菌属、金孢子菌属、鬼伞属、革盖菌属(Coriolus)、隐球菌属、线黑粉菌科(Filibasidium)、镰孢属、腐质霉属、梨孢菌属、毛霉属、毁丝霉属、新美鞭菌属、链孢菌属、拟青霉属、青霉属、平革菌属、射脉菌属(Phlebia)、瘤胃壶菌属、侧耳属(Pleurotus)、裂褶菌属、篮状菌属、嗜热子囊菌属、梭孢壳属、弯颈霉属、栓菌属(Trametes)、或木霉属细胞。

[0257] 例如,丝状真菌宿主细胞可以是泡盛曲霉、臭曲霉、烟曲霉、日本曲霉、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、黑刺烟管菌(Bjerkandera adusta)、干拟蜡菌(Ceriporiopsis aneirina)、卡内基拟蜡菌(Ceriporiopsis caregiea)、浅黄拟蜡孔菌(Ceriporiopsis gilvescens)、潘诺希塔拟蜡菌(Ceriporiopsis pannocinta)、环带拟蜡菌(Ceriporiopsis rivulosa)、微红拟蜡菌(Ceriporiopsis subrufa)、虫拟蜡菌(Ceriporiopsis subvermispora)、狭边金孢子菌(Chrysosporium inops)、嗜角质金孢子菌、卢克诺文思金孢子菌(Chrysosporium lucknowense)、粪状金孢子菌(Chrysosporium merdarium)、租金孢子菌、昆士兰金孢子菌(Chrysosporium queenslandicum)、热带金孢子菌、褐薄金孢子菌(Chrysosporium zonatum)、灰盖鬼伞(Coprinus cinereus)、毛革盖菌(Coriolus hirsutus)、杆孢状镰孢、谷类镰孢、库威镰孢、大刀镰孢、禾谷镰孢、禾赤镰孢、异孢镰孢、合欢木镰孢、尖镰孢、多枝镰孢、粉红镰孢、接骨木镰孢、肤色镰孢、拟分枝孢镰孢、硫色镰孢、圆镰孢、拟丝孢镰孢、镶片镰孢、特异腐质霉、柔毛腐质霉、米黑毛霉、嗜热毁丝霉、粗糙链孢菌、产紫青霉、黄孢平革菌(Phanerochaete chrysosporium)、射脉菌(Phlebia radiata)、刺芹侧耳(Pleurotus eryngii)、土生梭孢壳霉、长域毛栓菌(Trametes villosa)、变色栓菌(Trametes versicolor)、哈茨木霉、康宁木霉、长枝木霉、里氏木霉、或绿色木霉细胞。

[0258] 真菌细胞可以通过下述过程转化,所述过程涉及原生质体形成、原生质体的转化、

以及以本身已知的方式的细胞壁的再生。用于转化曲霉属和木霉属宿主细胞的合适方法描述于EP 238023、Yelton等人,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院报]81:1470-1474以及Christensen等人,1988,Bio/Technology[生物/技术]6:1419-1422中。用于转化镰孢属菌种的合适方法在Malardier等人,1989,Gene[基因]78:147-156和WO 96/00787中描述。可使用由如以下文献描述的方法转化酵母:Becker和Guarente,于Abelson,J.N.和Simon,M.I.编,Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology[酵母遗传学与分子生物学指南],Methods in Enzymology[酶学方法],第194卷,第182-187页,学术出版社有限公司(Academic Press,Inc.),纽约;Ito等人,1983,J.Bacteriol.[生物技术杂志]153:163;和Hinnen等人,1978,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院报]75:1920。

[0259] 产生方法

[0260] 本发明还涉及产生本发明的多肽的方法,包括(a)在有益于产生该多肽的条件下培养细胞,该细胞以其野生型形式产生该多肽;和任选地(b)回收该多肽。在一方面,该细胞是类芽孢杆菌属物种-62212、类芽孢杆菌属物种-62605、芽孢杆菌属物种-62738、短小芽孢杆菌、堀越氏芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62490、芽孢杆菌属物种-13390、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376、芽孢杆菌属物种-62738、绿青链霉菌、婴儿链球菌、芽孢杆菌属物种-62599、秋叶氏芽孢杆菌、Paenibacillus xylanexedens、网孢正青霉菌(Penicillium reticulisporum)、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719、藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)、微小杆菌属物种NG55、来自环境样品J的宏基因组、Streptomyces thermoalcalitolerans或来自环境样品C细胞的宏基因组。

[0261] 本发明还涉及产生本发明的多肽的方法,包括(a)在有益于产生该多肽的条件下培养本发明的重组宿主细胞;和任选地(b)回收该多肽。

[0262] 这些宿主细胞是在适合于使用本领域中已知的方法产生该多肽的营养介质中培养的。例如,可通过摇瓶培养、或在实验室或工业发酵器中小规模或大规模发酵(包括连续、分批、补料分批或固态发酵)培养细胞,所述培养在适合的介质中并且在允许表达和/或分离多肽的条件下进行。使用本领域中已知的程序,培养发生在包含碳和氮来源及无机盐的适合的营养介质中。适合的培养基可从商业供应商获得或可以根据公开的组成(例如,在美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)的目录中)制备。如果多肽被分泌到营养介质中,那么可直接从介质中回收多肽。如果多肽不分泌,那么其可从细胞裂解液中进行回收。

[0263] 可以使用特异性针对该多肽的本领域已知的方法来检测多肽。这些检测方法包括但不限于特异性抗体的使用、酶产物的形成或酶底物的消失。例如,可使用酶测定法来确定多肽的活性。

[0264] 可使用本领域已知的方法来回收多肽。例如,可通过常规方法,包括但不限于,收集、离心、过滤、提取、喷雾干燥、蒸发或沉淀,从营养介质回收多肽。在一方面,回收包含多肽的发酵液。

[0265] 可通过本领域已知的多种方法纯化多肽以获得基本上纯的多肽,所述方法包括但不限于层析(例如,离子交换、亲和、疏水、层析聚焦和大小排阻)、电泳方法(例如,制备型等电聚焦)、差示溶解度(例如,硫酸铵沉淀)、SDS-PAGE或提取(参见,例如,Protein Purification[蛋白质纯化],Janson和Ryden编,VCH出版公司(VCH Publishers),纽约,

1989)。

[0266] 在一个替代的方面,不回收多肽,而是将表达该多肽的本发明的宿主细胞用作多肽的来源。

[0267] 在一个实施例中,本发明进一步包括通过培养重组宿主细胞生产该多肽,进一步包括编码感兴趣的第二多肽的多核苷酸;优选地感兴趣的酶;更优选地感兴趣的分泌的酶,甚至更优选地水解酶、异构酶、连接酶、裂解酶、氧化还原酶、或转移酶;并且最优选地该分泌的酶是α-半乳糖苷酶、α-葡糖苷酶、氨肽酶、淀粉酶、天冬酰胺酶、β-半乳糖苷酶、β-葡糖苷酶、β-木糖苷酶、糖酶、羧肽酶、过氧化氢酶、纤维二糖水解酶、纤维素酶、壳多糖酶、角质酶、环糊精糖基转移酶、脱氧核糖核酸酶、内切葡聚糖酶、酯酶、绿色荧光蛋白、葡聚糖转移酶、葡糖淀粉酶、转化酶、漆酶、脂肪酶、甘露糖苷酶、变聚糖酶、氧化酶、果胶分解酶、过氧化物酶、植酸酶、多酚氧化酶、蛋白水解酶、核糖核酸酶、转谷氨酰胺酶、或木聚糖酶。

[0268] 在一个实施例中,该感兴趣的第二多肽是与宿主细胞异源的或同源的。

[0269] 在一个实施例中,重组宿主细胞是真菌宿主细胞;优选地丝状真菌宿主细胞;更优选地枝顶孢霉属、曲霉属、短梗霉属、烟管霉属(Bjerkandera)、拟腊菌属、金孢子菌属、鬼伞属、革盖菌属(Coriolus)、隐球菌属、线黑粉菌科(Filibasidium)、镰孢属、腐质霉属、梨孢菌属、毛霉属、毁丝霉属、新美鞭菌属、链孢菌属、拟青霉属、青霉属、平革菌属、射脉菌属(Phlebia)、瘤胃壶菌属、侧耳属(Pleurotus)、裂褶菌属、篮状菌属、嗜热子囊菌属、梭孢壳属、弯颈霉属、栓菌属(Trametes)或木霉属细胞;最优选地泊盛曲霉、臭曲霉、烟曲霉、日本曲霉、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、黑刺烟管菌(Bjerkandera adusta)、干拟蜡菌(Ceriporiopsis aneirina)、卡内基拟蜡菌(Ceriporiopsis caregiea)、浅黄拟蜡孔菌(Ceriporiopsis gilvescens)、潘诺希塔拟蜡菌(Ceriporiopsis pannocinta)、环带拟蜡菌(Ceriporiopsis rivulosa)、微红拟蜡菌(Ceriporiopsis subrufa)、虫拟蜡菌(Ceriporiopsis subvermispora)、狭边金孢子菌(Chrysosporium inops)、嗜角质金孢子菌、卢克诺文思金孢子菌(Chrysosporium lucknowense)、粪状金孢子菌(Chrysosporium merdarium)、租金孢子菌、昆士兰金孢子菌(Chrysosporium queenslandicum)、热带金孢子菌、褐薄金孢子菌(Chrysosporium zonatum)、灰盖鬼伞(Coprinus cinereus)、毛革盖菌(Coriolus hirsutus)、杆孢状镰孢、谷类镰孢、库威镰孢、大刀镰孢、禾谷镰孢、禾赤镰孢、异孢镰孢、合欢木镰孢、尖镰孢、多枝镰孢、粉红镰孢、接骨木镰孢、肤色镰孢、拟分枝孢镰孢、硫色镰孢、圆镰孢、拟丝孢镰孢、镶片镰孢、特异腐质霉、柔毛腐质霉、米黑毛霉、嗜热毁丝霉、粗糙链孢菌、产紫青霉、黄孢平革菌(Phanerochaete chrysosporium)、射脉菌(Phlebia radiata)、刺芹侧耳(Pleurotus eryngii)、土生梭孢壳霉、长域毛栓菌(Trametes villosa)、变色栓菌(Trametes versicolor)、哈茨木霉、康宁木霉、长枝木霉、里氏木霉、或绿色木霉细胞。

[0270] 在一个实施例中,重组宿主细胞是细菌宿主细胞;优选地原核生物宿主细胞;更优选地革兰氏阳性宿主细胞;甚至更优选地芽胞杆菌属、梭状芽孢杆菌、肠球菌属、土芽孢杆菌属、乳杆菌属、乳球菌属、海洋芽孢杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、或链霉菌属宿主细胞;和最优选地嗜碱芽孢杆菌(Bacillus alkalophilus)、解淀粉芽孢杆菌(Bacillus amyloliquefaciens)、短芽孢杆菌(Bacillus brevis)、环状芽孢杆菌(Bacillus circulans)、克劳氏芽孢杆菌(Bacillus clausii)、凝结芽孢杆菌(Bacillus coagulans)、

坚强芽孢杆菌(Bacillus firmus)、灿烂芽孢杆菌(Bacillus lautus)、迟缓芽孢杆菌(Bacillus lentus)、地衣芽孢杆菌(Bacillus licheniformis)、巨大芽孢杆菌(Bacillusmegaterium)、短小芽孢杆菌(Bacillus pumilus)、嗜热脂肪芽孢杆菌(Bacillus stearothermophilus)、枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)、和苏云金芽孢杆菌(Bacillus thuringiensis)宿主细胞。

[0271] 在一个实施例中,用于产生感兴趣的第二多肽的方法包括在有益于产生该感兴趣的第二多肽的条件下培养该宿主细胞。

[0272] 在一个实施例中,该方法进一步包括回收该感兴趣的第二多肽。

[0273] 发酵液配制品或细胞组合物

[0274] 本发明还涉及包括本发明的多肽的发酵液配制品或细胞组合物。发酵液产物进一步包含在发酵过程中使用的另外的成分,例如像,细胞(包括含有编码本发明的多肽的基因的宿主细胞,这些宿主细胞被用于产生感兴趣的多肽)、细胞碎片、生物质、发酵介质和/或发酵产物。在一些实施例中,该组合物是含有一种或多种有机酸、杀灭的细胞和/或细胞碎片以及培养基的细胞杀灭的全培养液。

[0275] 如在此使用的术语“发酵液”是指由细胞发酵产生、不经历或经历最低限的回收和/或纯化的制剂。例如,当微生物培养株在允许蛋白质合成(例如,由宿主细胞的酶表达)并且将蛋白质分泌到细胞培养基中的碳受限的条件下孵育生长到饱和时,产生发酵液。发酵液可以含有在发酵结束时得到的发酵材料的未分级的或分级的内容物。典型地,发酵液是未分级的并且包括用过的培养基以及例如通过离心去除微生物细胞之后存在的细胞碎片。在一些实施例中,发酵液含有用过的细胞培养基、胞外酶以及有活力的和/或无活力的微生物细胞。

[0276] 在实施例中,该发酵液配制品和细胞组合物包含第一有机酸组分(包含至少一种1-5碳的有机酸和/或其盐)以及第二有机酸组分(包含至少一种6碳或更多碳的有机酸和/或其盐)。在一个具体实施例中,该第一有机酸组分是乙酸、甲酸、丙酸、其盐,或前述中的两种或更多种的混合物;且该第二有机酸组分是苯甲酸、环己烷羧酸、4-甲基戊酸、苯乙酸、其盐,或前述中的两种或更多种的混合物。

[0277] 在一方面,该组合物含有一种或多种有机酸,并且任选地进一步含有杀灭的细胞和/或细胞碎片。在一个实施例中,从细胞杀灭的全培养液中去除这些杀灭的细胞和/或细胞碎片,以提供不含这些组分的组合物。

[0278] 这些发酵液配制品或细胞组合物可以进一步包括防腐剂和/或抗微生物(例如,抑菌)剂,包括但不限于山梨醇、氯化钠、山梨酸钾、以及本领域已知的其他试剂。

[0279] 该细胞杀灭的全培养液或组合物可以含有在发酵结束时得到的发酵材料的未分级的内容物。典型地,该细胞杀灭的全培养液或组合物含有用过的培养基以及在微生物细胞生长至饱和、在碳限制条件下孵育以允许蛋白质合成之后存在的细胞碎片。在一些实施例中,该细胞杀灭的全培养液或组合物含有用过的细胞培养基、胞外酶和杀灭的微生物细胞。在一些实施例中,可使用本领域已知的方法来使细胞杀灭的全培养液或组合物中存在的微生物细胞透性化和/或裂解。

[0280] 如本申请中描述的,全培养液或细胞组合物典型地是液体,但是可以含有不溶性组分,例如杀灭的细胞、细胞碎片、培养基组分和/或一种或多种不溶性酶。在一些实施例

中,可去除不溶性组分以提供澄清的液体组合物。

[0281] 本发明的全培养液配制物和细胞组合物可通过WO 90/15861或WO 2010/096673中所描述的方法来产生。

[0282] 组合物

[0283] 本发明进一步涉及包含具有本发明的DNA酶活性的多肽和优选地洗涤剂佐剂成分的洗涤剂组合物。该洗涤剂组合物可以用于从物品上防止、减少或去除生物膜,用于防止、减少或去除物品的粘性,用于预处理物品上的污渍,用于在洗涤循环过程中防止、用于减少或去除污垢在物品上的附着,用于维持或改进物品的白度并且用于防止、减少或去除物品的恶臭,如E-2-壬烯醛(如在测定II中所述)。包含本发明的多肽的洗涤剂组合物克服了如以上所述的现有技术的问题。

[0284] 具有DNA酶活性的本发明的多肽在粉末或液体洗涤剂中是有用的。在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含选自下组的DNA酶和洗涤剂佐剂,该组由以下组成:SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20。

[0285] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 1中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0286] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 2中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0287] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 3中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0288] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 4中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0289] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 5中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0290] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 6中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0291] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 7中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0292] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 8中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例如至少95%或100%序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0293] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 9中所示的多肽或与其具有至少70%,例如至少80%、例如至少90%、例

如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0294] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 10中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0295] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 11中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0296] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 12中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0297] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 13中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0298] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 14中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0299] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 15中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0300] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 16中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0301] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 17中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0302] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 18中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0303] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 19中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0304] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂组合物包含具有DNA酶活性的多肽(其中该多肽包含SEQ ID NO 20中所示的多肽或与其具有至少70％,例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％或100％序列一致性的多肽)和洗涤剂佐剂。

[0305] 在本发明的一个实施例中,该洗涤剂佐剂成分选自下组,该组由以下组成:表面活性剂、助洗剂、絮凝助剂、螯合剂、染料转移抑制剂、酶、酶稳定剂、酶抑制剂、催化材料、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预形成的过酸、聚合的分散剂、粘土去污剂/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构弹力剂、织物柔软剂、载体、助水溶物、助洗剂和共助洗剂、织物调色剂、防沫剂、分散剂、加工助剂、和/或颜料。

[0306] 该洗涤剂佐剂成分可以是表面活性剂。在包含具有DNA酶活性的多肽的洗涤剂组合物中包括表面活性剂的一个优势是洗涤性能得以改进。在一个实施例中，该洗涤剂佐剂成分是助洗剂或粘土去污剂/抗再沉淀剂。

[0307] 在一个实施例中，洗涤剂佐剂成分是酶。该洗涤剂组合物可以包括一种或多种酶，如以下指定的。该一种或多种酶可以选自下组，该组由以下组成：蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、糖酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木聚糖酶和氧化酶。以下描述了适合用于本发明的洗涤剂组合物的具体的酶。

[0308] 在一个实施例中，该洗涤剂组合物能够减少选自下组的细菌的附着至表面，该组由以下组成：不动杆菌属、气微菌属、短波单胞菌属、微杆菌属、滕黄微球菌、假单胞菌属、表皮葡萄球菌以及寡养单胞菌属，或能够使细菌从它们粘附至其上的表面释放。

[0309] 如前所述，衣物物品中生物膜的生长可能来源于许多生物体。生物膜中的一种特别丰富的细菌来自短波单胞菌属。如实例中所示，本发明的DNA酶在减少细菌生长和减少由这些细菌引起的恶臭，粘性和再沉积方面特别有效。本发明的一个实施例涉及DNA酶在减少恶臭以及减少粘性和再沉淀中的用途，该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20。一个实施例涉及DNA酶(该DNA酶选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20)的洗涤中的用途，其中该DNA酶减少来短波单胞菌属细菌的粘附。

[0310] 在本发明的一个实施例中，该表面是纺织品表面。该纺织品可以由棉、棉/聚酯、聚酯、聚酰胺、聚丙烯和/或丝绸制成。

[0311] 该洗涤剂组合物可以被配制为条，均匀的片剂，以及具有两个或更多个层的片剂，具有一个或多个室的袋，规则的或压缩的粉末，颗粒，膏，凝胶，或规则的、压缩的或浓缩的液体。该洗涤剂组合物可以是液体洗涤剂、粉状洗涤剂或颗粒洗涤剂。

[0312] 本发明的DNA酶适合用于清洁，例如衣物洗涤。本发明进一步涉及用于洗涤物品的方法，该方法包括以下步骤：

[0313] a.将物品暴露于包含具有DNA酶活性的多肽(该多肽选自下组，该组由以下组成：包含SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽)或包括该多肽的洗涤剂组合物的洗液。

[0314] b.完成至少一个洗涤循环；以及

[0315] c.任选地冲洗该物品，

[0316] 其中该物品是纺织品。

[0317] 该液体溶液的pH在1至11的范围内，如在5.5至11的范围内，如在7至9的范围内，在7至8的范围内或在7至8.5的范围内。

[0318] 该洗液可以具有在5℃到95℃范围内，或在10℃到80℃范围内，在10℃到70℃范围内，在10℃到60℃范围内，在10℃到50℃范围内，在15℃到40℃范围内或在20℃到30℃范围内的温度。在一个实施例中，该洗液的温度是30℃。

[0319] 在本发明的一个实施例中，用于洗涤物品的方法进一步包括在完成洗涤周期后排掉洗液或部分洗液。然后可以将洗液在后续洗涤循环中或在后续漂洗循环中重复使用。在第一个和任选地第二个或第三个洗涤循环过程中，可以将该物品暴露于洗液。在一个实施例中，在暴露于洗液后，冲洗该物品。可以将该物品用水或用包括调节剂的水进行冲洗。本

发明进一步涉及根据本发明方法洗涤的物品。包含具有DNA酶活性的多肽(该多肽选自下组,该组由以下组成:包括含SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽)的洗涤剂组合物可以用于释放或去除生物膜或防止生物形成。

[0320] 可将本发明的DNA酶添加至洗液。

[0321] 因此,本发明的一个实施例涉及包含一种或多种阴离子表面活性剂的洗涤剂组合物;一种选自下组的酶,该组由以下组成:蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、碳水化物酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木聚糖酶以及氧化酶;以及DNA酶,该DNA酶选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20。

[0322] 一个实施例进一步涉及一种纺织品洗涤方法,该方法包括:

[0323] a.将一种纺织品暴露于一种洗液,该洗液包含DNA酶或包含至少一种DNA酶的洗涤剂组合物,

[0324] b.完成至少一个洗涤循环;以及

[0325] c.任选地冲洗该纺织品,

[0326] 其中该DNA酶选自下组,该组由以下组成:SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20。

[0327] 另一个实施例涉及根据本发明的方法洗涤的纺织品。

[0328] 洗液中DNA酶的浓度典型地在以下范围内:0.00004-100ppm酶蛋白,如在0.00008-100范围内、在0.0001-100范围内、在0.0002-100范围内、在0.0004-100范围内、在0.0008-100范围内、在0.001-100ppm酶蛋白的范围内、0.01-100ppm酶蛋白,优选地0.05-50ppm酶蛋白,更优选地0.1-50ppm酶蛋白,更优选地0.1-30ppm酶蛋白,更优选地0.5-20ppm酶蛋白,并且最优选地0.5-10ppm酶蛋白。

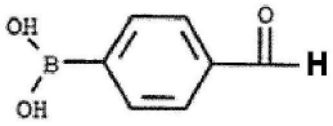
[0329] 可以将本发明的DNA酶以一定量添加到洗涤剂组合物中,该量对应于至少0.002mg的DNA酶蛋白,如至少0.004mg的DNA酶蛋白、至少0.006mg的DNA酶蛋白、至少0.008mg的DNA酶蛋白、至少0.01mg的DNA酶蛋白、至少0.1mg的蛋白,优选地1mg的蛋白,更优选地至少10mg的蛋白,甚至更优选地至少15mg的蛋白,最优选地至少20mg的蛋白,并且甚至最优选地至少25mg的蛋白。因此,该洗涤剂组合物可以包含至少0.00008%DNA酶蛋白,优选地至少0.002%、0.003%、0.004%、0.005%、0.006%、0.008%、0.01%、0.02%、0.03%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%或1.0%的DNA酶蛋白。

[0330] 包括存在于本发明的洗涤剂中的酶可以使用常规的稳定剂,例如多元醇如丙二醇或甘油、糖或糖醇以及不同的盐如NaCl和KCl进行稳定化。存在于本发明的洗涤剂中的蛋白酶可以使用乳酸、甲酸、硼酸、或者硼酸衍生物(例如芳香族硼酸酯)、或者苯基硼酸衍生物(例如4-甲酰基苯基硼酸)、或者肽醛(例如二肽醛、三肽醛或四肽醛或醛类似物)(或者具有形式B1-B0-R,其中R是H、CH3、CX3、CHX2、或CH2X(X=卤素),B0是单个氨基酸残基(优选地具有任选地经取代的脂肪族或芳香族侧链);并且B1由一个或多个氨基酸残基(优选一个、两个或三个)组成,任选地包含N-末端保护基团,或者如在WO 09118375、WO 98/13459中描述的)或者蛋白质类型的蛋白酶抑制剂,例如RASI、BASI、WASI(水稻、大麦和小麦的双功能α-淀粉酶/枯草杆菌蛋白酶抑制剂)或CI2或SSI来稳定。可以如在例如WO 92/19709、WO 92/19708和US 6,472,364中描述的配制该组合物。在一些实施例中,在此利用的这些酶由存在

于为这些酶提供此类离子的成品组合物中的锌(II)、钙(II)和/或镁(II)离子的水溶性来源,连同其他金属离子(例如,钡(II)、钪(II)、铁(II)、锰(II)、铝(III)、锡(II)、钴(II)、铜(II)、镍(II)以及氧钒(IV))稳定化。

[0331] 在一个实施例中,使用肽醛或肽酮来稳定该多肽。适合的肽醛描述在WO 94/04651、WO 95/25791、WO 98/13458、WO 98/13459、WO 98/13460、WO 98/13461、WO 98/13462、WO 07/141736、WO 07/145963、WO 09/118375、WO 10/055052以及WO 11/036153中。本发明的多肽还可以掺入进WO 97/07202中所披露的洗涤剂配制品中,通过引用将其结合在此。

[0332] 在另一个实施例中,使用苯基硼酸衍生物来稳定该多肽,该苯基硼酸衍生物是具有以下式的4-甲酰苯基硼酸(4-FPBA):

[0333] 

[0334] 该洗涤剂组合物可以包含两种或更多种稳定剂,例如像选自下组的那些,该组由以下组成:丙二醇、甘油、4-甲酰苯基硼酸和硼酸盐。

[0335] 该洗涤剂组合物可以包含两种或更多种稳定剂,例如像选自下组的那些,该组由以下组成:丙二醇、甘油、4-甲酰苯基硼酸和硼酸盐。

[0336] 优选存在于洗涤剂组合物中的一种或多种稳定剂的量为从0.001至约5.0wt%、从0.01至约2.0wt%、从0.1至约3wt%或从0.5至约1.5wt%。

[0337] 液体洗涤剂组合物

[0338] 本发明的DNA酶也可以配制在液体衣物洗涤组合物(例如液体衣物洗涤组合物)中,该衣物洗涤组合物包含:

[0339] a)每升洗涤剂至少0.005mg活性DNA酶蛋白,其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42中任一项的多肽或与其具有至少80%序列一致性的DNA酶,

[0340] b)2wt%至60wt%的至少一种表面活性剂,以及

[0341] c)5wt%至50wt%的至少一种助洗剂

[0342] 该表面活性剂可以是在如上描述的非离子、阴离子和/或两性离子表面活性剂中选择的,优选地阴离子或非离子表面活性剂也可以使用两性离子表面活性剂。通常,优选是漂白剂稳定的表面活性剂。优选的阴离子表面活性剂是硫酸盐表面活性剂并且具体地烷基醚硫酸盐,特别是C-9-15醇醚硫酸盐、C12-15伯醇乙氧基化物、C8-C16酯硫酸盐和C10-C14酯硫酸盐,例如单十二烷基酯硫酸盐。阴离子表面活性剂的非限制性实例包括硫酸盐和磺酸盐,具体地是直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐(BABS)、苯基链烷磺酸盐、α-烯烃磺酸盐(AOS)、烯烃磺酸盐、链烯烃磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐(AS)(如十二烷基硫酸钠(SDS))、脂肪醇硫酸盐(FAS)、伯醇硫酸盐(PAS)、醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也被称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐)、仲链烷磺酸盐(SAS)、石蜡烃磺酸盐(PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、α-磺酸基脂肪酸甲酯(α-SFMe或SES)(包括甲酯磺酸盐(MES))、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸(DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸基琥珀酸的二酯和单酯或脂

肪酸的盐(皂)、及其组合。

[0343] 阴离子表面活性剂优选地以盐的形式添加至洗涤剂中。在这些盐中的适合的阳离子为碱金属离子，例如钠、钾和锂以及铵盐，例如(2-羟基乙基)铵、二(2-羟基乙基)铵和三(2-羟基乙基)铵盐。非离子型表面活性剂的非限制性实例包括醇乙氧基化物(AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇(PFA)、烷氧基化的脂肪酸烷基酯(例如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯)、烷基酚乙氧基化物(APE)、壬基酚乙氧基化物(NPE)、烷基多糖苷(APG)、烷氧基化的胺、脂肪酸单乙醇酰胺(FAM)、脂肪酸二乙醇酰胺(FADA)、乙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(EFAM)、丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(PFAM)、多羟基烷基脂肪酸酰胺、或葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物(葡糖酰胺(GA)、或脂肪酸葡糖酰胺(FAGA))、连同在SPAN和TWEEN商品名下可获得的产品、及其组合。可商购的非离子表面活性剂包括来自BASF公司的Plurafac™、Lutensol™和Pluronic™类、来自科宁公司(Cognis)的Dehypon ™系列和来自科莱恩特公司(Clariant)的Genapol™系列。

[0344] 优选地，助洗剂选自磷酸盐、柠檬酸钠助洗剂、碳酸钠、硅酸钠、铝硅酸钠(沸石)。适合的助洗剂是碱金属或磷酸铵、聚磷酸盐、磷酸酯、聚磷酸酯、碳酸盐、碳酸氢盐、硼酸盐、柠檬酸盐和聚羧酸盐。柠檬酸盐助洗剂，例如柠檬酸及其可溶性盐(特别是钠盐)是聚羧酸盐助洗剂。柠檬酸盐可以与沸石、硅酸盐如BRITESIL类型、和/或层状硅酸盐助洗剂组合使用。助洗剂优选以按重量计约0-65％(例如按重量计约5％至约50％)的量添加。在衣物洗涤洗涤剂中，助洗剂的水平通常为按重量计约40％-65％、特别是按重量计约50％-65％、特别是按重量计从20％至50％。助洗剂和/或共助洗剂可以具体是形成具有Ca和Mg的水溶性复合物的螯合试剂。可以利用本领域中已知的、在清洁洗涤剂中使用的任何助洗剂和/或共助洗剂。助洗剂的非限制性实例包括沸石、二磷酸盐(焦磷酸盐)、三磷酸盐例如三磷酸钠(STP或STPP)、碳酸盐例如碳酸钠、可溶性硅酸盐例如偏硅酸钠、层状硅酸盐(例如来自赫斯特公司(Hoechst)的SKS-6)和(羧甲基)菊粉(CMI)及其组合。助洗剂的进一步的非限制性实例包括柠檬酸盐；螯合剂，例如氨基羧酸盐、氨基聚羧酸盐和膦酸盐；以及烷基琥珀酸或烯基琥珀酸。另外的具体实例包括2,2',2"-次氮基三乙酸(NTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、甲基甘氨酸-N,N-二乙酸(MGDA)、谷氨酸-N,N-二乙酸(GLDA)、1-羟基乙烷-1,1-二膦酸、N-(2-羟基乙基)亚氨基二乙酸(EDG)、天冬氨酸-N-单乙酸(ASMA)、天冬氨酸-N,N-二乙酸(ASDA)、天冬氨酸-N-单丙酸(ASMP)、亚氨基二琥珀酸(IDA)、N-(磺甲基)天冬氨酸(SMAS)、N-(2-磺乙基)-天冬氨酸(SEAS)、N-(磺甲基谷氨酸(SMGL)、N-(2-磺乙基)-谷氨酸(SEGL)、N-甲基亚氨基二乙酸(MIDA)、丝氨酸-N,N-二乙酸(SEDA)、异丝氨酸-N,N-二乙酸(ISDA)、苯丙氨酸-N,N-二乙酸(PHDA)、邻氨基苯甲酸-N,N-二乙酸(ANDA)、磺胺酸-N,N-二乙酸(SLDA)、牛磺酸-N,N-二乙酸(TUDA)以及N'-(2-羟基乙基)-亚乙基二胺-N,N,N'-三乙酸(HEDTA)、二乙醇甘氨酸(DEG)、及其组合和盐。

[0345] 适合在此使用的膦酸酯包括1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(HEDP)、乙二胺四(亚甲基膦酸)(EDTMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTMPA或DTPMPA或DTPMP)、次氮基三(亚甲基膦酸)(ATMP或NTMP)、2-膦酰基丁烷-1,2,4-三羧酸(PBTC)、六亚甲基二胺四(亚甲基膦酸)(HDTMP)。

[0346] 该洗涤剂组合物还可以含有按重量计0-50％，如约5％至约30％的洗涤剂共助洗

剂。

[0347] 洗涤剂组合物可以只包括共助洗剂,或结合助洗剂,例如沸石助洗剂。共助洗剂的非限制性实例包括聚丙烯酸酯的均聚物或其共聚物,如聚(丙烯酸)(PAA)或共聚(丙烯酸/马来酸)(PAA/PMA)或聚天冬氨酸。

[0348] 进一步的示例性助洗剂和/或共助洗剂描述于例如WO 09/102854、US 5977053中。

[0349] 在一个优选的实施例中,该助洗剂是基于非磷的助洗剂,例如柠檬酸和/或甲基甘氨酸-N,N-二乙酸(MGDA)和/或谷氨酸-N,N-二乙酸(GLDA)和/或其盐。

[0350] 在优选的助洗剂包括柠檬酸盐和/或甲基甘氨酸-N,N-二乙酸(MGDA)和/或谷氨酸-N,N-二乙酸(GLDA)和/或其盐的情况下,该衣物洗涤组合物也可以是无磷酸盐的。

[0351] 本发明的一个实施例涉及液体衣物洗涤组合物,该液体衣物洗涤组合物包含:

[0352] a)每升组合物至少0.005mg活性DNA酶,其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42中任一项的多肽或与其具有至少80%序列一致性的DNA酶,

[0353] b)按重量计1%至15%的至少一种表面活性剂,其中该表面活性剂是LAS、AEOS和/或SLES,以及

[0354] c)按重量计5%至50%的至少一种助洗剂,该助洗剂选自HEDP、DTMPA或DTPMPA。

[0355] 该液体洗涤剂组合物可以典型地含有按重量计至少20%并且高达95%的水,如高达70%的水、高达50%的水、高达40%的水、高达30%的水、或高达20%的水。包括但不限于链烷醇、胺、二醇、醚以及多元醇的其他类型的液体可以被包括在水性液体洗涤剂中。水性液体洗涤剂可以含有从0-30%的有机溶剂。液体洗涤剂甚至可以是非水性的,其中水含量低于10%,优选低于5%。

[0356] 粉末组合物

[0357] 该洗涤剂组合物还可以配制在用于衣物洗涤或餐具洗涤的颗粒洗涤剂中。本发明的一个实施例涉及颗粒状洗涤剂组合物,该洗涤剂组合物包含

[0358] a)每克组合物至少0.005mg活性DNA酶,其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20中任一项的多肽或与其具有至少80%序列一致性的DNA酶,

[0359] b)5wt%至50wt%阴离子表面活性剂

[0360] c)1wt%至8wt%非离子表面活性剂,以及

[0361] d)5wt%至40wt%助洗剂,例如碳酸盐、沸石、磷酸盐助洗剂、钙螯合助洗剂或络合剂。

[0362] 该表面活性剂可以是在如上描述的非离子、阴离子和/或两性离子表面活性剂中选择的,优选地阴离子或非离子表面活性剂也可以使用两性离子表面活性剂。通常,优选是漂白剂稳定的表面活性剂。优选的阴离子表面活性剂是硫酸盐表面活性剂并且具体地烷基醚硫酸盐,特别是C-9-15醇醚硫酸盐、C12-15伯醇乙氧基化物、C8-C16酯硫酸盐和C10-C14酯硫酸盐,例如单十二烷基酯硫酸盐。阴离子表面活性剂的非限制性实例包括硫酸盐和磺酸盐,具体地是直链烷基苯磺酸盐(LAS)、LAS的异构体、支链烷基苯磺酸盐(BABS)、苯基链烷磺酸盐、α-烯烃磺酸盐(AOS)、烯烃磺酸盐、链烯烃磺酸盐、链烷-2,3-二基双(硫酸盐)、羟基链烷磺酸盐以及二磺酸盐、烷基硫酸盐(AS)(如十二烷基硫酸钠(SDS))、脂肪醇硫酸盐

(FAS)、伯醇硫酸盐(PAS)、醇醚硫酸盐(AES或AEOS或FES,也被称为醇乙氧基硫酸盐或脂肪醇醚硫酸盐)、仲链烷磺酸盐(SAS)、石蜡烃磺酸盐(PS)、酯磺酸盐、磺化的脂肪酸甘油酯、α-磺酸基脂肪酸甲酯(α-SFMe或SES)(包括甲酯磺酸盐(MES))、烷基琥珀酸或烯基琥珀酸、十二烯基/十四烯基琥珀酸(DTSA)、氨基酸的脂肪酸衍生物、磺酸基琥珀酸的二酯和单酯或脂肪酸的盐(皂)、及其组合。

[0363] 阴离子表面活性剂优选地以盐的形式添加至洗涤剂中。在这些盐中的适合的阳离子为碱金属离子,例如钠、钾和锂以及铵盐,例如(2-羟基乙基)铵、二(2-羟基乙基)铵和三(2-羟基乙基)铵盐。

[0364] 非离子型表面活性剂的非限制性实例包括醇乙氧基化物(AE或AEO)、醇丙氧基化物、丙氧基化的脂肪醇(PFA)、烷氧基化的脂肪酸烷基酯(例如乙氧基化的和/或丙氧基化的脂肪酸烷基酯)、烷基酚乙氧基化物(APE)、壬基酚乙氧基化物(NPE)、烷基多糖苷(APG)、烷氧基化的胺、脂肪酸单乙醇酰胺(FAM)、脂肪酸二乙醇酰胺(FADA)、乙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(EFAM)、丙氧基化的脂肪酸单乙醇酰胺(PFAM)、多羟基烷基脂肪酸酰胺、或葡萄糖胺的N-酰基N-烷基衍生物(葡糖酰胺(GA)、或脂肪酸葡糖酰胺(FAGA))、连同在SPAN和TWEEN商品名下可获得的产品、及其组合。

[0365] 可商购的非离子表面活性剂包括来自BASF公司的Plurafac™、Lutensol™和Pluronic™类、来自科宁公司(Cognis)的Dehypon™系列和来自科莱恩特公司(Clariant)的Genapol™系列。

[0366] 该助洗剂可以是非磷酸盐的,例如柠檬酸盐,优选为钠盐和/或沸石。膦酸酯助洗剂可以是上文描述的那些中的任一者。

[0367] 该助洗剂优选地选自如以上所述的磷酸盐、和柠檬酸钠助洗剂、碳酸钠、硅酸钠、铝硅酸钠(沸石)。适合的助洗剂是上文描述的并且包括碱金属或磷酸铵、聚磷酸盐、膦酸酯、聚膦酸酯、碳酸盐、碳酸氢盐、硼酸盐、聚羟基磺酸盐、聚乙酸盐、羧酸盐、柠檬酸盐和聚羧酸盐。柠檬酸盐助洗剂,例如柠檬酸及其可溶性盐(特别是钠盐)是聚羧酸盐助洗剂。优选地该助洗剂以按重量计约0-65%、例如按重量计约5%至约50%、例如按重量计5%至40%、例如按重量计10%至40%、例如按重量计10%至30%、例如按重量计15%至20%或例如按重量计20%至40%的量添加。该助洗剂可以是膦酸酯助洗剂,包括1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(HEDP)、乙二胺四(亚甲基膦酸)(EDTMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTMPA或DTPMPA)、二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTPMP)、氨基三(亚甲基膦酸)(ATMP)、2-膦酰基丁烷-1,2,4-三羧酸(PBTC)、和六亚甲基二胺四(亚甲基膦酸)(HDTMP)。

[0368] 优选的膦酸酯包括1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(HEDP)和/或二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)(DTMPA或DTPMPA)。优选地膦酸酯以约在如下水平的量添加:组合物的按重量计从约0.01%至约10%、优选按重量计从0.1%至约5%、更优选地按重量计从0.5%至3%。

[0369] 在优选的助洗剂包括柠檬酸盐、碳酸盐和/或铝硅酸钠(沸石)的情况下,衣物洗涤组合物也可以是无磷酸盐的。

[0370] 洗涤剂可以含有按重量计0-30%,例如约1%至约20%的漂白系统。可以利用包含本领域已知的用于清洁洗涤剂中的组分的任何漂白系统。适合的漂白系统组分包括过氧化氢源;过酸源;和漂白催化剂或增效剂。

[0371] 过氧化氢源:

[0372] 适合的过氧化氢的来源是无机过酸盐，包括碱金属盐例如过碳酸钠和过硼酸钠(通常是一水合物或四水合物)，以及过氧化氢－尿素(1/1)。

[0373] 过酸源：

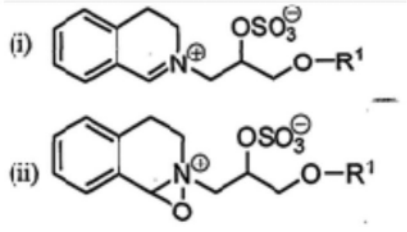
[0374] 过酸可以是(a)直接作为预成型过酸掺入，或(b)从过氧化氢和漂白活化剂(过水解)在洗液中原位形成，或(c)从过氧化氢和过氧化氢酶和后者适合的底物(例如酯)在洗液中原位形成。

[0375] a)适合的预成型过酸包括但不限于：过氧羧酸例如过氧苯甲酸及其环取代的衍生物、过氧基-α-萘甲酸、过氧邻苯二甲酸、过氧月桂酸、过氧硬脂酸、ε-邻苯二甲酰亚氨基过氧羊油酸[邻苯二甲酰亚氨基过氧己酸(PAP)]、和邻-羧基苯甲酰胺基过氧羊油酸；脂肪族和芳香族二过氧二羧酸例如二过氧十二烷二酸、二过氧壬二酸、二过氧癸二酸、二过氧十三烷二酸、2-癸基二过氧丁二酸、以及二过氧邻苯二甲酸、二过氧间苯二甲酸和二过氧对苯二甲酸；过亚氨酸；过氧单硫酸；过氧二硫酸；过氧磷酸；过氧硅酸；以及所述化合物的混合物。应当理解的是，在有些情况下，所提到的过酸可能最好是作为适合的盐的添加，例如碱金属盐(例如Oxone®)或碱土金属盐。

[0376] b)适合的漂白活化剂包括属于酯、酰胺、酰亚胺、腈类或酸酐类别的那些，以及适用时，其盐。适合的实例是四乙酰基乙二胺(TAED)、4-[(3,5,5-三甲基己酰基)氧基]苯-1-磺酸钠(ISONOBS)、4-(十二酰基氧基)苯-1-磺酸钠(LOBS)、4-(癸酰基氧基)苯-1-磺酸钠、4-(癸酰基氧基)苯甲酸(DOBA)、4-(壬酰基氧基)苯-1-磺酸钠(NOBS)和/或披露于WO 98/17767中的那些。感兴趣的漂白活化剂的具体家族披露于EP624154中并且在那个家族中特别优选的是乙酰柠檬酸三乙酯(ATC)。ATC或短链甘油三酸酯(像三醋精)具有它们是环境友好的优点。此外，乙酰柠檬酸三乙酯和三醋精在存储时在产品中具有良好的水解稳定性，并且是有效的漂白活化剂。最后，ATC是多功能的，因为在过水解反应中释放的柠檬酸盐可以作为助洗剂起作用。

[0377] 漂白催化剂和加强剂：该漂白系统还可以包括漂白催化剂或增效剂。可用于本发明组合物中的漂白催化剂的一些非限制性实例包括草酸锰、乙酸锰、锰胶原、钴-胺催化剂和锰三氮杂环壬烷(MnTACN)催化剂；特别优选锰与1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Me3-TACN)或1,2,4,7-四甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷(Me4-TACN)的络合物，具体地是Me3-TACN，如双核锰络合物[(Me3-TACN)Mn(O)3Mn(Me3-TACN)](PF6)2、和[2,2',2"-次氮基三(乙烷-1,2-二基氮烷基亚基-κN-甲基亚基)三酚并-κ3O]锰(III)。这些漂白催化剂也可以是其他金属化合物，如铁或钴络合物。

[0378] 在其中过酸的来源包括在内的一些实施例中，可以使用具有下式之一的有机漂白催化剂或漂白增效剂：

[0379] 

[0380] (iii)及其混合物；其中每个R1独立地是含有从9到24个碳的支链烷基或含有从11到24个碳的直链烷基，优选地每个R1独立地是含有从9到18个碳的支链烷基或含有从11到

18个碳的直链烷基，更优选地每个R1独立地选自下组，该组由以下组成：2-丙基庚基、2-丁基辛基、2-戊基壬基、2-己基癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、十八烷基、异壬基、异癸基、异十三烷基以及异十五烷基。

[0381] 其他示例性漂白系统描述于例如WO 2007/087258、WO 2007/087244、WO 2007/087259、EP 1867708(维生素K)以及WO 2007/087242中。适合的光漂白剂可以例如是磺化的酞菁锌或酞菁铝。

[0382] 根据一个实施例和前述实施例中任一项，本发明还涉及一种洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物包含：

[0383] a)每克组合物至少0.005mg活性DNA酶，其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20中任一项的多肽或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶，

[0384] b)10-50wt％助洗剂，以及

[0385] c)至少一种漂白组分，其中该漂白剂是过氧化物并且该漂白催化剂是锰化合物。

[0386] 氧漂白剂优选地是过碳酸盐和锰催化剂，优选地是1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷或乙酸锰(III)四水合物。

[0387] 根据一个实施例和前述实施例中任一项，本发明还涉及一种洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物包含：

[0388] a)每克组合物至少0.005mg活性DNA酶，其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20中任一项的多肽或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶，

[0389] b)10wt％-50wt％助洗剂，该助洗剂选自柠檬酸、甲基甘氨酸-N,N-二乙酸(MGDA)和/或谷氨酸-N,N-二乙酸(GLDA)及其混合物，以及

[0390] c)至少一种漂白组分，其中该漂白剂是氧漂白剂并且该漂白催化剂是锰化合物。

[0391] 氧漂白剂优选地是过碳酸盐和锰催化剂，优选地是1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷或乙酸锰(II)四水合物。

[0392] 根据一个实施例和前述实施例中任一项，本发明还涉及一种洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物包含：

[0393] a)每克组合物至少0.005mg活性DNA酶，其中该DNA酶是选自包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20中任一项的多肽或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶，

[0394] b)10wt％-50wt％助洗剂，该助洗剂选自柠檬酸、甲基甘氨酸-N,N-二乙酸(MGDA)和/或谷氨酸-N,N-二乙酸(GLDA)及其混合物，以及

[0395] c)0.1-40wt％、优选从0.5-30wt％的漂白组分，其中该漂白组分是过氧化物，优选地是过碳酸盐和含金属的漂白催化剂，优选地是1,4,7-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷或乙酸锰(II)四水合物(MnTACN)。

[0396] 洗涤剂组分的选择可以包括(用于纺织品护理)有待清洁的纺织品的类型、污垢的类型和/或程度、进行清洁时的温度、以及洗涤剂产品的配制的考虑。尽管根据一种具体的功能性对以下提及的组分由通用标题进行分类，但是这并不被解释为限制，因为如将被普通技术人员所理解，一种组分可以包含另外的功能性。

[0397] 助水溶物

[0398] 洗涤剂组合物可以含有按重量计0-10%，例如按重量计0-5%，例如约0.5%至约5%、或约3%至约5%的助水溶剂。可以利用本领域中已知的用于在洗涤剂中使用的任何助水溶物。助水溶剂的非限制性实例包括苯磺酸钠、对甲苯磺酸钠(STS)、二甲苯磺酸钠(SXS)、枯烯磺酸钠(SCS)、伞花烃磺酸钠、氧化胺、醇和聚乙二醇醚、羟基萘甲酸钠、羟基萘磺酸钠、乙基己基磺酸钠及其组合。

[0399] 聚合物

[0400] 该清洁组合物可以含有按重量计0-10%，如0.5%-5%、2%-5%、0.5%-2%、或0.2%-1%的聚合物。可以利用本领域中已知的在洗涤剂中使用的任何聚合物。该聚合物可以作为如上文提到的共助洗剂起作用，或可以提供抗再沉积、纤维保护、污垢释放、染料转移抑制、油污清洁和/或抑泡特性。一些聚合物可以具有多于一种的以上提到的特性和/或多于一种的以下提到的基序。示例性聚合物包括(羧甲基)纤维素(CMC)、聚(乙烯醇)(PVA)、聚(乙烯吡咯烷酮)(PVP)、聚(乙二醇)或聚(环氧乙烷)(PEG)、乙氧基化的聚(亚乙基亚胺)、羧甲基菊粉(CMI)、和聚羧化物，如PAA、PAA/PMA、聚-天冬氨酸、和甲基丙烯酸月桂酯/丙烯酸共聚物、疏水修饰的CMC(HM-CMC)和硅酮、对苯二甲酸和低聚乙二醇的共聚物、聚(对苯二甲酸乙二酯)和聚(氧乙烯对苯二甲酸乙二酯)的共聚物(PET-POET)、PVP、聚(乙烯基咪唑)(PVI)、聚(乙烯吡啶-N-氧化物)(PVPO或PVPNO)以及聚乙烯吡咯烷酮-乙烯基咪唑(PVPVI)。另外的示例性聚合物包括磺化的聚羧酸酯、聚环氧乙烷和聚环氧丙烷(PEO-PPO)以及乙氧基硫酸二季铵盐。其他示例性聚合物披露于例如WO 2006/130575中。也考虑了以上提到的聚合物的盐。

[0401] 织物调色剂

[0402] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括织物调色剂，如染料或色素，当配制在洗涤剂组合物中时，当所述织物与一种洗液接触时织物调色剂可以沉积在织物上，该洗液包含所述洗涤剂组合物，并且因此通过可见光的吸收/反射改变所述织物的色彩。荧光增白剂发射至少一些可见光。相比之下，因为它们吸收至少一部分可见光光谱，所以织物调色剂改变表面的色彩。适合的织物调色剂包括染料和染料-粘土钜合物，并且还可以包括色素。适合的染料包括小分子染料和聚合物染料。适合的小分子染料包括选自下组的小分子染料，该组由落入颜色索引(Colour Index)(C.I.)分类的以下染料组成：直接蓝、直接红、直接紫、酸性蓝、酸性红、酸性紫、碱性蓝、碱性紫和碱性红、或其混合物，例如描述于WO 2005/03274、WO 2005/03275、WO 2005/03276和EP 1876226中(将其通过引用而特此结合)。洗涤剂组合物优选包含从约0.00003wt%至约0.2wt%、从约0.00008wt%至约0.05wt%、或甚至从约0.0001wt%至约0.04wt%的织物调色剂。该组合物可以包含从0.0001wt%至0.2wt%的织物调色剂，当该组合物处于单位剂量袋的形式时，这可以是特别优选的。适合的调色剂还披露于例如WO 2007/087257和WO 2007/087243中。

[0403] 酶

[0404] 本发明的洗涤剂组合物可以包含一种或多种另外的酶如蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、碳水化物酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木聚糖酶、氧化酶，例如漆酶、和/或过氧化物酶。

[0405] 一般而言，一种或多种所选酶的特性应与选定的洗涤剂相容(即，最适pH，与其他

酶和非酶成分的相容性等),并且该一种或多种酶应以有效量存在。

[0406] 纤维素酶

[0407] 适合的纤维素酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。适合的纤维素酶包括来自芽孢杆菌属、假单胞菌属、腐质霉属、镰刀菌属、梭孢壳属、支顶孢属的纤维素酶,例如披露于US 4,435,307、US 5,648,263、US 5,691,178、US 5,776,757以及WO 89/09259中的由特异腐质霉、嗜热毁丝霉和尖孢镰刀菌产生的真菌纤维素酶。

[0408] 特别适合的纤维素酶是具有颜色护理益处的碱性或中性纤维素酶。这类纤维素酶的实例是在EP 0 495 257、EP 0 531 372、WO 96/11262、WO 96/29397、WO 98/08940中描述的纤维素酶。其他实例是例如描述于WO 94/07998、EP 0 531 315、US 5,457,046、US 5,686,593、US 5,763,254、WO 95/24471、WO 98/12307以及WO 99/001544中的那些纤维素酶变体。

[0409] 其他纤维素酶是具有以下序列的内切-β-1,4-葡聚糖酶,该序列与WO 2002/099091的SEQ ID NO:2的位置1至位置773的氨基酸序列具有至少97%一致性,或家族44木葡聚糖酶,该木葡聚糖酶具有以下序列,该序列与WO 2001/062903的SEQ ID NO:2的位置40-559具有至少60%一致性。

[0410] 可商购的纤维素酶包括Celluzyme™和Carezyme™(诺维信公司)、Carezyme Premium™(诺维信公司)、Celluclean™(诺维信公司)、Celluclean Classic™(诺维信公司)、Cellusoft™(诺维信公司)、Whitezyme™(诺维信公司)、Clazinase™和Puradax HA™(杰能科国际公司(Genencor International Inc.))以及KAC-500(B)™(花王株式会社(Kao Corporation))。

[0411] 蛋白酶

[0412] 适合的蛋白酶包括细菌、真菌、植物、病毒或动物来源的那些,例如植物或微生物来源。优选的是微生物来源。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。它可以是碱性蛋白酶,例如丝氨酸蛋白酶或金属蛋白酶。丝氨酸蛋白酶可以例如是S1家族(如胰蛋白酶)或S8家族(如枯草杆菌蛋白酶)。金属蛋白酶可以例如是来自例如家族M4的嗜热菌蛋白酶或其他金属蛋白酶,如来自M5、M7或M8家族的那些。

[0413] 术语“枯草杆菌酶”是指根据Siezen等人,Protein Engng.[蛋白质工程]4(1991)719-737和Siezen等人,Protein Science[蛋白质科学]6(1997)501-523的丝氨酸蛋白酶亚组。丝氨酸蛋白酶是通过在活性位点具有与底物形成共价加合物的丝氨酸来表征的蛋白酶的一个亚组。枯草杆菌蛋白酶(subtilase)可以划分为6个亚部,即,枯草杆菌蛋白酶家族、嗜热蛋白酶(Thermitase)家族、蛋白酶K家族、羊毛硫氨酸抗生素肽酶(Lantibiotic peptidase)家族、Kexin家族和Pyrolysin家族。

[0414] 枯草杆菌酶的实例是获得自芽孢杆菌属的那些,例如描述于US 7262042和WO 09/021867中的迟缓芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌;和描述于WO 89/06279中的枯草杆菌蛋白酶lentus、枯草杆菌蛋白酶Novo、枯草杆菌蛋白酶Carlsberg、地衣芽孢杆菌、枯草杆菌蛋白酶BPN’、枯草杆菌蛋白酶309、枯草杆菌蛋白酶147和枯草杆菌蛋白酶168以及描述于(WO 93/18140)中的蛋白酶PD138。其他有用的蛋白酶可以是描述于WO 92/175177、WO 01/016285、WO 02/026024以及

WO 02/016547中的那些。胰蛋白酶样蛋白酶的实例是胰蛋白酶(例如猪或牛来源的)和镰刀菌属蛋白酶(描述于WO 89/06270、WO 94/25583和WO 05/040372中),以及获得自纤维单胞菌属(Cellumonas)的糜蛋白酶(描述于WO 05/052161和WO 05/052146中)。

[0415] 进一步优选的蛋白酶是来自迟缓芽孢杆菌DSM 5483的碱性蛋白酶(如描述于例如WO 95/23221中)、及其变体(描述于WO 92/21760、WO 95/23221、EP 1921147以及EP 1921148中)。

[0416] 金属蛋白酶的实例是如描述于WO 07/044993(杰能科国际公司(Genencor Int.))中的中性金属蛋白酶,例如获得自解淀粉芽孢杆菌的那些。

[0417] 有用的蛋白酶的实例是于以下中的变体:WO 92/19729、WO 96/034946、WO 98/20115、WO 98/20116、WO 99/011768、WO 01/44452、WO 03/006602、WO 04/03186、WO 04/041979、WO 07/006305、WO 11/036263、WO 11/036264,尤其是在以下位置的一个或多个中具有取代的变体:3、4、9、15、27、36、57、68、76、87、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、106、118、120、123、128、129、130、160、167、170、194、195、199、205、206、217、218、222、224、232、235、236、245、248、252以及274,使用BPN'编号。更优选地,这些枯草杆菌酶变体可以包含以下突变:S3T、V4I、S9R、A15T、K27R、*36D、V68A、N76D、N87S,R、*97E、A98S、S99G,D,A、S99AD、S101G,M,R S103A、V104I,Y,N、S106A、G118V,R、H120D,N、N123S、S128L、P129Q、S130A、G160D、Y167A、R170S、A194P、G195E、V199M、V205I、L217D、N218D、M222S、A232V、K235L、Q236H、Q245R、N252K、T274A(使用BPN'编号)。

[0418] 适合的可商购蛋白酶包括以下列商品名出售的那些:Alcalase®、Duralase™、Durazym™、Relase®、 Relase®Ultra、Savinase®、 Savinase®Ultra、Primase®、Polarzyme®、 Kannase®、 Liquanase®、 Liquanase®Ultra、Ovozyme®、 Coronase®、Coronase®Ultra、Neutrase®、 Everlase®以及Esperase®(诺维信公司),以下列商品名出售的那些:Maxatase®、 Maxacal®、 Maxapem®、 Purafect®、Purafect Prime®、Preferenz™、PurafectMA®、PurafectOx®、PurafectOxP®、 Puramax®、 Properase®、Effectenz™、FN2®、 FN3®、 FN4®、 Excellase®、、 Opticlean®以及Optimase®(丹尼斯克/杜邦公司(Danisco/DuPont))、Axapem™(吉斯特布罗卡德斯公司(Gist-Brocases N.V.))、BLAP(序列示于US 5352604的图29中)及其变体(汉高股份(Henkel AG))以及来自花王株式会社(Kao)的KAP(嗜碱芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶)。

[0419] 脂肪酶和角质酶

[0420] 适合的脂肪酶和角质酶包括细菌来源或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变酶或蛋白质工程化的突变酶。实例包括来自嗜热丝孢菌属(Thermomyces)(例如来自疏绵状嗜热丝孢菌(T.lanuginosus)(以前命名为柔毛腐质霉(Humicola lanuginosa))的脂肪酶(如描述于EP 258 068和EP 305 216中)、来自腐质霉(例如,特异腐质霉(H.insolens)(WO 96/13580))的角质酶、来自假单胞菌属(Pseudomonas)(这些假单胞菌属中的一些现在重命名为伯克氏菌属(Burkholderia))的脂肪酶(例如,产碱假单胞菌(P.alcaligenes)或类产碱假单胞菌(P.pseudoalcaligene))(EP 218272)、洋葱假单胞菌(P.cepacia)(EP 331 376)、菌株SD 705(WO 95/06720&WO 96/27002)、威斯康星假单胞菌(P.wisconsinensis)(WO 96/

12012)、GDSL型链霉菌属脂肪酶(WO 10/065455)、来自稻瘟病菌(Magnaporthe grisea)(WO 10/107560)的角质酶、来自门多萨假多胞菌(Pseudomonas mendocina)(US 5,389,536)的角质酶、来自嗜热裂孢菌(Thermobifida fusca)的脂肪酶(WO 11/084412)、嗜热脂肪土芽孢杆菌(Geobacillus stearothermophilus)脂肪酶(WO 11/084417)、来自枯草芽孢杆菌的脂肪酶(WO 11/084599)、以及来自灰色链霉菌(WO 11/150157)和始旋链霉菌(WO 12/137147)的脂肪酶。

[0421] 其他实例是脂肪酶变体,例如描述于EP 407225、WO 92/05249、WO 94/01541、WO 94/25578、WO 95/14783、WO 95/30744、WO 95/35381、WO 95/22615、WO 96/00292、WO 97/04079、WO 97/07202、WO 00/34450、WO 00/60063、WO 01/92502、WO 07/87508以及WO 09/109500中的那些。

[0422] 优选的商业化脂肪酶产品包括Lipolase™、Lipex™;Lipolex™和Lipoclean™(诺维信公司),Lumafast(来自杰能科公司(Genencor))以及Lipomax(来自吉斯特布罗卡德斯公司(Gist-Brocades))。

[0423] 再其他实例是有时称为酰基转移酶或过水解酶的脂肪酶,例如与南极假丝酵母(Candida antarctica)脂肪酶A具有同源性的酰基转移酶(WO 10/111143)、来自耻垢分枝杆菌(Mycobacterium smegmatis)的酰基转移酶(WO 05/56782)、来自CE 7家族的过水解酶(WO 09/67279)以及耻垢分枝杆菌过水解酶的变体(特别是来自亨斯迈纺织品染化有限公司(Huntsman Textile Effects Pte Ltd)的商业产品Gentle Power Bleach中所用的S54V变体)(WO 10/100028)。

[0424] 淀粉酶

[0425] 可以与本发明的DNA酶一起使用的适合的淀粉酶可以是α-淀粉酶或葡糖淀粉酶并且可以是细菌或真菌来源的。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。淀粉酶包括例如从芽孢杆菌属,例如地衣芽孢杆菌的特定菌株(更详细地描述于GB1,296,839中)获得的α-淀粉酶。

[0426] 适合的淀粉酶包括具有在WO 95/10603中的SEQ ID NO:2的淀粉酶或其与SEQ ID NO:3具有90%序列一致性的变体。优选的变体描述于WO 94/02597、WO 94/18314、WO 97/43424以及WO 99/019467的SEQ ID NO:4中,如在以下位置中的一个或多个处具有取代的变体:15、23、105、106、124、128、133、154、156、178、179、181、188、190、197、201、202、207、208、209、211、243、264、304、305、391、408以及444。

[0427] 不同的适合的淀粉酶包括具有WO 02/010355中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90%序列一致性的变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在位置181和182中具有缺失并且在位置193中具有取代的那些。

[0428] 其他适合的淀粉酶是包含示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中的获得自解淀粉芽孢杆菌的α-淀粉酶的残基1-33和示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:4中的地衣芽孢杆菌α-淀粉酶的残基36-483的杂合α-淀粉酶或其具有90%序列一致性的变体。这一杂合α-淀粉酶的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:G48、T49、G107、H156、A181、N190、M197、I201、A209以及Q264。包含示于WO 2006/066594的SEQ ID NO:6中的获得自解淀粉芽孢杆菌的α-淀粉酶的残基1-33和SEQ ID NO:4的残基36-483的杂合α-淀粉酶的最优选变体是具有以下取代的那些:

[0429] M197T;

[0430] H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S;或

[0431] G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264。

[0432] 另外的适合的淀粉酶是具有在WO 99/019467中的SEQ ID NO:6的淀粉酶或其与SEQ ID NO:6具有90％序列一致性的变体。SEQ ID NO:6的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:R181、G182、H183、G184、N195、I206、E212、E216和K269。特别优选的淀粉酶是在位置R181和G182或位置H183和G184中具有缺失的那些。

[0433] 能被使用的另外的淀粉酶是那些具有WO 96/023873的SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的淀粉酶或其与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:7具有90％序列一致性的变体。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、或SEQ ID NO:7的优选的变体是在以下一个或多个位置具有取代、缺失或插入的变体的那些:140、181、182、183、184、195、206、212、243、260、269、304和476,使用WO 96/023873的SEQ ID 2用于编号。更优选的变体是在选自181、182、183和184的两个位置中具有缺失的那些,例如位置181和182、182和183、或位置183和184。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:7的最优选淀粉酶变体是在位置183和184具有缺失并在位置140、195、206、243、260、304和476中的一个或多个中具有取代的那些。

[0434] 可以使用的其他淀粉酶是具有WO 08/153815的SEQ ID NO:2、WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的淀粉酶或其与WO 08/153815的SEQ ID NO:2具有90％序列一致性或与WO 01/66712中的SEQ ID NO:10具有90％序列一致性的变体。WO 01/66712中的SEQ ID NO:10的优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:176、177、178、179、190、201、207、211以及264。

[0435] 另外的适合的淀粉酶是具有WO 09/061380的SEQ ID NO:2的淀粉酶或其与SEQ ID NO:2具有90％序列一致性的变体。SEQ ID NO:2的优选变体是具有C-末端截短和/或在以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:Q87、Q98、S125、N128、T131、T165、K178、R180、S181、T182、G183、M201、F202、N225、S243、N272、N282、Y305、R309、D319、Q320、Q359、K444和G475。SEQ ID NO:2的更优选变体是在以下位置中的一个或多个中具有取代:Q87E,R、Q98R、S125A、N128C、T131I、T165I、K178L、T182G、M201L、F202Y、N225E,R、N272E,R、S243Q,A,E,D、Y305R、R309A、Q320R、Q359E、K444E以及G475K,和/或在位置R180和/或S181或T182和/或G183中具有缺失的那些。SEQ ID NO:2的最优选的淀粉酶变体是具有以下取代的那些:

[0436] N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;

[0437] N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;

[0438] S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;或

[0439] S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K,其中这些变体是C-末端截短的并且任选地进一步在位置243处包含取代和/或在位置180和/或位置181处包含缺失。

[0440] 其他合适的淀粉酶是具有WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的α-淀粉酶或与SEQ ID NO:12具有90％序列一致性的变体。优选的淀粉酶变体是在WO 01/66712中的SEQ ID NO:12的以下位置中的一个或多个中具有取代、缺失或插入的那些:R28、R118、N174;R181、G182、

D183、G184、G186、W189、N195、M202、Y298、N299、K302、S303、N306、R310、N314;R320、H324、E345、Y396、R400、W439、R444、N445、K446、Q449、R458、N471、N484。特别优选的淀粉酶包括具有D183和G184的缺失并且具有取代R118K、N195F、R320K及R458K的变体,以及在选自下组的一个或多个位置中另外具有取代的变体:M9、G149、G182、G186、M202、T257、Y295、N299、M323、E345和A339,最优选的是在所有这些位置中另外具有取代的变体。

[0441] 其他的实例是淀粉酶变体,例如在WO 2011/098531、WO 2013/001078和WO 2013/001087中描述的那些。

[0442] 可商购的淀粉酶是Duramyl™、Termamyl™、Fungamyl™、Stainzyme ™、Stainzyme Plus™、Natalase™、Liquozyme X及BAN™(来自诺维信公司),以及Rapidase™、Purastar™/Effectenz™、Powerase及Preferenz S100(来自杰能科国际有限公司/杜邦公司(Genencor International Inc./DuPont))。

[0443] 过氧化物酶/氧化酶

[0444] 根据本发明的过氧化物酶是由如由国际生物化学与分子生物学联合会命名委员会(IUBMB)陈述的酶分类EC 1.11.1.7包含的过氧化物酶,或获得自其中的表现出过氧化物酶活性的任何片段。

[0445] 适合的过氧化物酶包括植物、细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰的突变体或蛋白质工程化的突变体。有用的过氧化物酶的实例包括来自拟鬼伞属,例如来自灰盖拟鬼伞(C.cinerea)的过氧化物酶(EP 179,486),及其变体,如在WO 93/24618、WO 95/10602以及WO 98/15257中描述的那些。

[0446] 根据本发明的过氧化物酶还包括卤代过氧化物酶,如氯过氧化物酶、溴过氧化物酶以及展示出氯过氧化物酶或溴过氧化物酶活性的化合物。卤过氧化物酶依据它们对卤离子的特异性来分类。氯过氧化物酶(E.C.1.11.1.10)催化从氯根离子形成次氯酸盐。

[0447] 在一个实施例中,本发明的卤代过氧化物酶是氯过氧化物酶。优选地,该卤代过氧化物酶是钒卤代过氧化物酶,即含钒酸盐的卤代过氧化物酶。在本发明的优选方法中,将含钒酸盐的卤代过氧化物酶与氯根离子来源组合。

[0448] 已经从许多不同真菌,特别是从暗色丝孢菌(dematiaceous hyphomycete)真菌组中分离出了卤代过氧化物酶,如卡尔黑霉属(Caldariomyces)(例如,煤卡尔黑霉(C.fumago))、链格孢属、弯孢属(例如,疣枝弯孢(C.verruculosa)和不等弯孢(C.inaequalis))、内脐蠕孢属、细基格孢属以及葡萄孢属。

[0449] 还已经从细菌,如假单胞菌属(例如,吡咯假单胞菌(P.pyrrocinia))和链霉菌属(例如,金色链霉菌(S.aureofaciens))中分离出了卤代过氧化物酶。

[0450] 在一个优选实施例中,该卤代过氧化物酶可源自弯孢属物种,特别是疣枝弯孢(Curvularia verruculosa)和不等弯孢,例如如描述于WO 95/27046中的不等弯孢CBS102.42或描述于WO 97/04102中的疣枝弯孢CBS 147.63或疣枝弯孢CBS 444.70;或可源自如描述于WO 01/79459中的Drechslera hartlebii,如描述于WO 01/79458中的盐沼小树状霉(Dendryphiella salina)、如描述于WO 01/79461中的Phaeotrichoconis crotalarie或如描述于WO 01/79460中的Geniculosporium物种。

[0451] 根据本发明的氧化酶具体包括由酶分类EC 1.10.3.2囊括的任何漆酶或获得自其中的展示出漆酶活性的片段、或展示出类似活性的化合物,如儿茶酚氧化酶(EC

1.10.3.1)、邻氨基苯酚氧化酶(EC 1.10.3.4)或胆红素氧化酶(EC 1.3.3.5)。

[0452] 优选的漆酶是微生物来源的酶。这些酶可以获得自植物、细菌或真菌(包括丝状真菌和酵母)。

[0453] 来自真菌的适合实例包括可源自以下项的菌株的漆酶:曲霉属,脉孢菌属(例如,粗糙脉孢菌),柄孢壳菌属,葡萄孢属,金钱菌属(Collybia),层孔菌属(Fomes),香菇属,侧耳属,栓菌属(例如,长绒毛栓菌和变色栓菌),丝核菌属(例如,立枯丝核菌(R.solani)),拟鬼伞属(例如,灰盖拟鬼伞、毛头拟鬼伞(C.comatus)、弗瑞氏拟鬼伞(C.friesii)及C.plicatilis),小脆柄菇属(Psathyrella)(例如,白黄小脆柄菇(P.condelleana)),斑褶菇属(例如,蝶形斑褶菇(P.papilionaceus)),毁丝霉属(例如,嗜热毁丝霉),Schytalidium(例如,S.thermophilum),多孔菌属(例如,P.pinsitus),射脉菌属(例如,射脉侧菌(P.radiata))(WO 92/01046)或革盖菌属(例如,毛革盖菌(C.hirsutus))(JP 2238885)。

[0454] 来自细菌的适合实例包括可源自芽孢杆菌属的菌株的漆酶。

[0455] 优选的是获得自拟鬼伞属或毁丝霉属的漆酶;特别是获得自灰盖拟鬼伞的漆酶,如披露于WO 97/08325中;或源自嗜热毁丝霉,如披露于WO 95/33836中。

[0456] 该一种或多种洗涤剂酶可以通过添加含有一种或多种酶的单独的添加剂,或通过添加包含所有这些酶的组合添加剂而被包括于洗涤剂组合物中。本发明的洗涤剂添加剂,即单独的或组合的添加剂,可以配制成例如颗粒、液体、浆液等,优选的洗涤剂添加剂剂型为颗粒,特别是无粉尘颗粒;液体,特别是稳定化液体;或者浆液。

[0457] 无尘颗粒例如可以如在US 4,106,991和4,661,452中所披露的那样产生并且可以任选地通过本领域已知的方法包衣。蜡状包衣材料的实例是平均分子量为1000至20000的聚(环氧乙烷)产品(聚乙二醇,PEG);具有从16个到50个环氧乙烷单位的乙氧基化壬基酚;具有从12个至20个碳原子并且存在15至80个环氧乙烷单位的乙氧基化脂肪族醇;脂肪醇;脂肪酸;以及脂肪酸的甘油单酯、甘油二酯、和甘油三酯。适用于通过流化床技术应用的成膜包衣材料的实例在GB 1483591中给出。液体酶制剂可以例如通过根据已确立的方法添加多元醇(例如丙二醇)、糖或糖醇、乳酸或硼酸而稳定化。受保护的酶可以根据EP 238,216中披露的方法来制备。

[0458] 其他材料

[0459] 还可以利用本领域中已知的用于在本发明的洗涤剂组合物中使用的任何洗涤剂组分。其他任选的洗涤剂组分包括防腐剂、防缩剂、抗污垢再沉积剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、腐蚀抑制剂、崩解剂(disintegrant)/崩解试剂(disintegration agent)、染料、酶稳定剂(包括硼酸、硼酸盐、CMC、和/或多元醇如丙二醇)、织物整理剂(包括粘土)、填充剂/加工助剂、荧光剂增白剂/光学增亮剂、增泡剂、泡沫(泡)调节剂、香料、污垢助悬剂、软化剂、抑泡剂、晦暗抑制剂、以及芯吸剂,单独或组合使用。可以使用本领域中已知用于洗涤剂中的任何成分。此类成分的选择完全在普通技术人员的技术内。

[0460] 分散剂

[0461] 本发明的洗涤剂组合物还可以含有分散剂。具体而言,粉状洗涤剂可以包含分散剂。适合的水溶性有机材料包括均聚合或共聚合的酸或其盐,其中聚羧酸包含被不多于两个碳原子彼此分开的至少两个羧基。适合的分散剂例如描述于Powdered Detergent[粉末洗涤剂],Surfactant Science Series[表面活性剂科学系列],第71卷,马塞尔·德克尔公

司(Marcel Dekker、Inc)。

[0462] 染料转移抑制剂

[0463] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种染料转移抑制剂。适合的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮与N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮以及聚乙烯咪唑或其混合物。当在受试组合物中存在时,染料转移抑制剂可以按该组合物的重量计以从约0.0001%至约10%、从约0.01%至约5%或甚至从约0.1%至约3%的水平存在。

[0464] 荧光增白剂

[0465] 本发明的洗涤剂组合物将优选地还含有另外的组分,这些组分可以给正在清洁的物品着色,如荧光增白剂或光学增亮剂。当存在时,该增亮剂优选以约0.01%至约0.5%的水平存在。在本发明的组合物中可以使用适合用于在衣物洗涤剂组合物中使用的任何荧光增白剂。最常用的荧光增白剂是属于以下类别的那些:二氨基芪-磺酸衍生物、二芳基吡唑啉衍生物和二苯基-联苯乙烯基衍生物。二氨基芪-磺酸衍生物类型的荧光增白剂的实例包括以下的钠盐:4,4'-双-(2-二乙醇氨基-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐、4,4'-双-(2,4-二苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2.2'-二磺酸盐、4,4'-双-(2-苯胺基-4-(N-甲基-N-2-羟基-乙基氨基)-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐、4,4'-双-(4-苯基-1,2,3-三唑-2-基)芪-2,2'-二磺酸盐以及5-(2H-萘并[1,2-d][1,2,3]三唑-2-基)-2-[(E)-2-苯基乙烯基]苯磺酸钠。优选的荧光增白剂是可从汽巴-嘉基股份有限公司(Ciba-Geigy AG)(巴塞尔,瑞士)获得的天来宝(Tinopal)DMS和天来宝CBS。天来宝DMS是4,4'-双-(2-吗啉代-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸盐的二钠盐。天来宝CBS是2,2'-双-(苯基-苯乙烯基)-二磺酸盐的二钠盐。还优选荧光增白剂,是可商购的Parawhite KX,由派拉蒙矿物与化学(Paramount Minerals and Chemicals),孟买,印度供应。天来宝CBS-X是一种4.4'-双-(磺基苯乙烯基)-联苯基二钠盐,也称作二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠盐。适合用于在本发明中使用的其他荧光剂包括1-3-二芳基吡唑啉和7-烷氨基香豆素。

[0466] 适合的荧光增亮剂水平包括从约0.01wt%、从0.05wt%、从约0.1wt%或甚至从约0.2wt%的较低水平至0.5wt%或甚至0.75wt%的较高水平。

[0467] 污垢释放聚合物

[0468] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种污垢释放聚合物,这些聚合物帮助从织物(如棉和基于聚酯的织物)去除污垢,特别是从基于聚酯的织物去除疏水性污垢。污垢释放聚合物可以例如是基于非离子型或阴离子型对苯二甲酸的聚合物、聚乙烯基己内酰胺和相关共聚物、乙烯基接枝共聚物、聚酯聚酰胺,参见例如Powdered Detergents[粉末洗涤剂],Surfactant science series[表面活性剂科学系列]第71卷第7章,马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker,Inc.)。另一种类型的污垢释放聚合物是包含核心结构和附接至该核心结构的多个烷氧基化基团的两亲性烷氧基化油污清洁聚合物。核心结构可以包含聚烷基亚胺结构或聚烷醇胺结构,如WO 2009/087523中详细描述的(将其通过引用而特此结合)。此外,随机接枝共聚物是适合的污垢释放聚合物。适合的接枝共聚物更详细地描述于WO 2007/138054、WO 2006/108856和WO 2006/113314中(将其通过引用而特此结合)。其他污垢释放聚合物是取代的多糖结构,尤其是取代的纤维素结构,如修饰的纤维素衍生物,如EP 1867808或WO 2003/040279中描述的那些(将二者都通过引用结合在此)。适合的纤维素聚

合物包括纤维素、纤维素醚、纤维素酯、纤维素酰胺及其混合物。适合的纤维素聚合物包括阴离子修饰的纤维素、非离子修饰的纤维素、阳离子修饰的纤维素、兼性离子修饰的纤维素及其混合物。适合的纤维素聚合物包括甲基纤维素、羧甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、酯羧甲基纤维素及其混合物。

[0469] 抗再沉积剂

[0470] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种抗再沉积剂，如羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚氧乙烯和/或聚乙二醇(PEG)、丙烯酸的均聚物、丙烯酸和马来酸的共聚物、和乙氧基化的聚乙亚胺。在以上污垢释放聚合物下描述的基于纤维素的聚合物还可以用作抗再沉积剂。

[0471] 流变改性剂

[0472] 本发明的洗涤剂组合物还可以包括一种或多种流变改性剂、结构剂或增稠剂，不同于降粘剂。流变改性剂选自下组，该组由以下组成：非聚合物结晶、羟基功能材料、聚合物流变改性剂，它们为液体洗涤剂组合物的水性液相基质赋予剪切稀化特征。可以通过本领域已知的方法修饰和调整洗涤剂的流变学和粘度，例如如在EP 2169040中所示。

[0473] 其他适合的辅料包括但不限于防缩剂、抗皱剂、杀细菌剂、粘合剂、载体、染料、酶稳定剂、织物柔软剂、填充剂、泡沫调节剂、助水溶剂、香料、色素、抑泡剂、溶剂以及用于液体洗涤剂的结构剂和/或结构弹性剂。

[0474] 抗寄生虫/病毒化合物

[0475] 该洗涤剂组合物可以进一步包含抗寄生虫化合物，该抗寄生虫化合物可以是以下中的一种或多种：苯并吡咯，如阿苯达唑、甲苯达唑和噻苯达唑；唑，如甲硝唑和替硝唑；大环，如两性霉素B、利福平和伊维菌素；双羟萘酸噻嘧啶；乙胺嗪；氯硝柳胺；吡喹酮；米拉索普(melarsopro)；和依氟鸟氨酸。

[0476] 该抗病毒化合物可以是以下中的一种或多种：核苷类逆转录酶抑制剂中，如阿昔洛韦、地达诺新、司他夫定、叠氮胸苷、拉米夫定、阿巴卡韦、恩曲他滨和恩替卡韦；未包衣的抑制剂，如金刚胺、金刚乙胺和普拉康纳利；蛋白酶抑制剂，如沙奎那韦、利托那韦、茚地那韦、奈非那韦和氨普那韦；扎那米韦；奥塞米韦；和利福平。抗细菌化合物可以是以下中的一种或多种：氨基糖苷，如庆大霉素、卡那霉素和链霉素；β-内酰胺，如青霉素、氨比西林和亚胺培南；头孢菌素，如头孢他啶、喹啉酮如环丙沙星；大环内酯，如阿奇毒素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素和泰利霉素；噁唑烷酮，如利奈唑胺；袢霉素，如利福霉素；磺酰胺；四环素，如多西环素；糖肽，如万古霉素；磺胺异噁唑、三甲氧苄二氨嘧啶、新生霉素、达托霉素和利奈唑胺。

[0477] 抗真菌化合物可以是以下中的一种或多种：唑，如咪可纳唑、酮康唑、克霉唑、益康唑、奥莫康唑、联苯苄唑、布康唑、芬替康唑、异康唑、舍他康唑、硫康唑、噻康唑、氟康唑、伊曲康唑、艾沙康唑、雷夫康唑、泊沙康唑、伏立康唑、特康唑和阿巴芬净；大环，如纳他霉素、龟裂杀菌素、非律平、制霉菌素、两性霉素B、坎底辛、哈霉素；烯丙基胺，如特比萘芬、萘替芬和布替萘芬；棘球白素，如阿尼芬净、卡泊芬净和米卡芬净；或其他如水蓼二醛、环吡酮、托萘酯、苯甲酸、十一烯酸、氟胞嘧啶和灰黄霉素。

[0478] 在微囊中DNA酶的配制

[0479] 本发明的DNA酶可以配制在微囊中或包含微囊的液体洗涤剂中。本发明的液体洗

涤剂组合物可以包含总浓度按重量计是至少3％的表面活性剂和洗涤剂助洗剂，以及酶，该酶可以是含微囊的DNA酶，其中该微囊的膜是通过具有高于1kDa分子量的多支化的多胺的交联而产生。将酶例如DNA酶包封在具有半透膜的微囊中，并且在这些微囊(在添加至该液体洗涤剂之前)中具有高于该液体洗涤剂中的水活度时，当被添加到该洗涤剂(水正溢出)中时这些囊将经历(部分地)崩溃，因此在这些囊中留下更为浓缩的并且更粘的含酶内部。该膜的崩溃还可导致可透性的降低。这可以通过添加稳定剂/聚合物进一步使用，尤其是不会通过该膜可透的那些。该崩溃和所得黏度增加将降低/妨碍敌对组分(例如，表面活性剂或螯合剂)扩散进入这些囊中，并且因此增加液体洗涤剂中酶例如DNA酶的储存稳定性。该液体洗涤剂中的对该酶敏感的组分(例如，充当该酶底物的组分)还被保护免于受该酶的降解。在洗涤过程中，该液体洗涤剂被水稀释，因此增加了水活度。水现在将扩散进这些囊(渗透作用)中。这些囊将溶胀并且该膜将变得对该酶可透过由此它们可以离开这些囊，或简单地胀裂并且以此方式释放该酶。该概念在稳定这些酶例如本发明的DNA酶对抗液体洗涤剂中的敌对组分方面非常有效，反之亦然还保护该液体洗涤剂中酶敏感的组分不受酶的影响。

[0480] 对酶敏感并且可以被酶降解的洗涤剂组分的实例包括(括号中的相关酶)：黄原胶(黄原胶酶)、具有酯键的聚合物(脂肪酶)、氢化蓖麻油(脂肪酶)、香料(脂肪酶)、甲酯磺酸盐表面活性剂(脂肪酶)、纤维素和纤维素衍生物(例如，CMC)(纤维素酶)、和糊精和环糊精(淀粉酶)。

[0481] 敏感的洗涤剂成分还可以被囊化，并且由此被稳定化在本发明的微囊中。敏感的洗涤剂成分在储存期间易于降解。这类洗涤剂成分包括漂白化合物、漂白活化剂、香料、聚合物、助洗剂、表面活性剂等。

[0482] 通常，这些微囊可以被用于分离洗涤剂中不相容的组分/化合物。

[0483] 将这些微囊添加到洗涤剂中可以被用于影响该洗涤剂产品的可视外观，例如不透光效应(小型微囊)或明显可见的颗粒(大型微囊)的效应。这些微囊也可以是着色的。

[0484] 这些微囊可以被用于在处理和加工酶产品期间降低酶尘埃水平。

[0485] 除非另外指明，贯穿本申请所有的百分比指示为按重量计的百分比(％w/w)。

[0486] 微囊：典型地，这些微囊通过将水滴形成不可与水混溶的连续体而产生-即典型地通过制备油包水乳剂-并且随后通过界面聚合经由添加交联剂形成该膜。在最终固化之后，可以收获这些囊并进行进一步清洗并通过本领域已知的方法进行配制。随后将该囊配制品添加到该洗涤剂中。

[0487] 在水相中发现了有效负载、有待囊化的主膜成分和最终另外的组分。在该连续体中发现了稳定化这些水滴趋向凝聚的组分(乳化剂、乳化稳定剂、表面活性剂等)，并且还通过该连续体添加该交联剂。

[0488] 可以通过本领域中已知的任何方法来制备该乳剂，例如，通过机械搅动、滴注方法、膜乳化、微流体技术、超声处理等。在一些情况下，这些相的简单混合将自动导致一种乳剂，通常被称为自乳化。使用方法导致一个窄的粒度分布是有利的。

[0489] 随后典型地将该或这些交联剂添加到该乳剂中，这是直接或更典型地通过制备交联剂在一种溶剂中的溶液，该溶剂在连续相中是可溶的。该乳剂和交联剂或其溶液可以通过本领域中常规使用的方法来混合，例如，通过简单混合或通过仔细地控制该乳剂以及该

交联剂溶液流动通过一个串联混合器。

[0490] 在一些情况下,需要固化这些囊来完成膜的形成。固化经常是简单的搅拌这些囊一段时间以允许界面聚合反应结束。在其他情况下,该膜的形成可以通过添加反应淬灭剂来终止。

[0491] 这些囊可以被后修饰,例如通过使组分反应到该膜上以阻碍或减少这些颗粒在如在WO 99/01534中所述的洗涤剂中的絮凝。

[0492] 可以通过本领域中已知的方法分离或浓缩这些产生的囊,例如,通过过滤、离心、蒸馏或倾析该囊分散体。

[0493] 这些所得囊可以被进一步配制,例如,通过添加表面活性剂以赋予产物对于存储、运输和稍后处理以及添加至洗涤剂的所需特性。其他微囊配制剂包括流变改性剂、杀生物剂(例如,Proxel)、用于pH调节的酸/碱(其也将在这些微囊内调节)、以及用于调节水活度的水。

[0494] 该囊形成方法可以包括以下步骤:

[0495] -制备初始的一个或多个水相和油相,

[0496] -形成油包水乳剂,

[0497] -通过界面聚合形成膜,

[0498] -任选的后修饰,

[0499] -任选的分离和/或配制,

[0500] -添加至洗涤剂。

[0501] 该方法可以是一个分批法或是一个连续或半连续方法。

[0502] 微囊可以是小型的水性球体,其周围有一个均匀的膜。该微囊内部的材料被称为核心、内相、或填充物,而该膜有时被称为壳、包衣、或壁。这些微囊典型地具有在0.5μm和2毫米之间的直径。优选地,这些微囊的平均直径是在1μm至1000μm的范围中,更优选地在5μm至500μm的范围中,甚至更优选地在10μm至500μm的范围中,甚至更优选地在50μm至500μm的范围中,并且最优选地在50μm至200μm的范围中。可替代地,这些微囊的直径是在0.5μm至30μm的范围中;或在1μm至25μm的范围中。该微囊的直径是当聚合作用完成之后在油相中测定的。该囊的直径可以根据周围化学环境的水活度改变。

[0503] 酶的微囊化可以通过界面聚合来进行,其中聚合反应中的这两种反应物在一个界面处相遇并且快速反应。这一方法的基础是多胺与酸衍生物的反应,通常是酸性卤化物,充当一种交联剂。该多胺优选地是基本上水溶性的(当处于游离碱形式时)。在正确的条件下,柔性薄膜在该界面处快速形成。进行该聚合作用的一种方式是使用该酶和多胺的一种水性溶液,其与一种非水溶剂(以及一种乳化剂)进行乳化,并添加含有该酸衍生物的溶液。该酶溶液中可以存在碱剂以中和在该反应过程中形成的酸。聚合物(聚酰胺)膜在这些乳滴的界面处立即形成。该微囊的聚合物膜典型地具有阳离子性质,并且因此与具有阴离子性质的化合物结合/络合。

[0504] 这些微囊的直径是通过这些乳滴的大小而确定的,乳滴的大小通过例如搅拌速率来控制。

[0505] 乳剂:乳剂是一个液相在第二液相内暂时或永久的分散体。该第二液相通常被称为连续相。表面活性剂通常用于帮助乳剂的形成和稳定化。不是所有的表面活性剂都能同

样地稳定化乳剂。需要针对最优乳剂效用选择表面活性剂的类型和数量，尤其是对于该乳剂的制备和物理稳定性，以及在稀释或进一步加工过程中的稳定性。物理稳定性是指将乳剂以分散体形式进行维持。如凝聚、聚合、吸附至容器壁、沉降和乳油化的过程是物理不稳定性的多种形式，并且应被避免。适合的表面活性剂的实例描述于WO 97/24177，第19-21页；以及WO 99/01534中。

[0506] 可以将乳剂进一步分类为简单的乳剂，其中该分散的液相是一种简单的均质液体，或一种更复杂的乳剂，其中该分散的液相是液相或固相的非均质组合，如双重乳剂或复合型乳剂。例如，可以形成一种油包水双重乳剂或复合型乳剂，其中该水相本身进一步含有乳化的油相；这种类型的乳剂可以被指定为一种油包水包油(o/w/o)乳剂。可替代地，可以形成油包水乳剂，其中该水相含有分散的固相，通常被称为一种悬浮液-乳剂。可以描述其他更复杂的乳剂。因为在描述这类系统方面固有的困难，术语乳剂用于描述简单和更复杂的乳剂两者，不必要限制乳剂的形式或存在的相类型和相数。

[0507] 多胺：膜的刚性/柔性和可透性主要受多胺选择的影响。根据本发明的多胺是一种多支化的多胺。每个分支(优选地以一个伯氨基团结束)充当膜网络中的一个系拴点，从而产生本发明的有利特性。根据本发明的多支化的多胺是一种具有多于两个分支点和多于两个反应性氨基的多胺(能够与交联剂反应，即，伯氨基团和仲氨基团)。当制备该乳剂时，该多支化的多胺被用作起始材料-它不是从其他起始材料原位形成的。为了得到引人注目的特性，该多胺的多支化结构必须作为起始材料存在。

[0508] 分支点数目和伯胺数目之间存在密切的关系，由于伯胺将总是位于分支的端：一个直链胺只能含有两个伯胺。对于假设地引入这样一种直链二胺的每个分支点将允许一个或多个伯胺引入到这个或这些被引入的分支的端。在上下文中，我们将该伯氨基团理解为该分支的一部分，即该分支的端点。例如，认为三(2-氨乙基)胺和1,2,3-丙烷三胺都是具有一个分支点的分子。该多胺具有至少四个伯胺。可以从脂肪族烃链从不饱和的碳键(如在，例如3,3’-二氨基联苯胺中)、或从叔氨基团(如在N,N,N’,N’-四-(2-氨乙基)乙二胺)中引入多个分支点。

[0509] 除了分支点的数目之外，反应性氨基团的紧密度非常重要。例如，N,N,N’,N’-四-(12-氨十二基)乙二胺的物质是不适合的。肽或蛋白(例如一种酶)都不适合用于膜形成。因此，该多支化的多胺不是肽或蛋白质。

[0510] 这些反应性氨基团优选地构成该多支化的多胺至少15％的分子量，如超过20％，或超过25％。优选地，该多支化的多胺的分子量至少为1kDa。更优选地，该多支化的多胺的分子量至少为1.3kDa。

[0511] 该多支化的多胺可以是聚乙烯亚胺(PEI)，及其修饰体，具有多于两个分支点和多于两个反应性氨基，其中这些反应性氨基构成该PEI至少15％的分子量，如超过20％，或超过25％。优选地，该PEI的分子量是至少为1kDa。

[0512] 不同的多支化的多胺的组合可以用于制备该微囊。

[0513] 可以通过添加一种或多种具有小于1kDa分子量的小胺来改进微囊的有利特性(例如，酶储存稳定性、降低的酶渗出、降低的洗涤剂成分的入通量)。该小胺优选地是基本上水溶性的(当处于游离碱形式时)并且可以是一种例如乙二胺、六亚甲基二胺、己二胺、二亚乙基四胺、乙四胺、苯二胺、哌嗪、四亚甲基五胺或、优选地二亚乙基三胺(DETA)的物质。在制

备微囊时，可以按小胺和多支化的多胺的总含量重量计高达50％、优选地高达40％、高达30％、高达20％、高达10％、高达5％的量添加这些小胺。

[0514] 交联剂：如在本发明中所使用的交联剂是一种具有至少两个能够与胺类反应形成共价键的基团/位点的分子。

[0515] 该交联剂优选地是油可溶性的并且可以呈酸酐或酸性卤化物的形式，优选地为酰基氯。例如，它可以是己二酰氯、癸二酰氯、十二烷基二酰氯、邻苯二甲酰氯、对苯二甲酰氯、间苯二甲酰氯、或均苯三甲酰氯，但优选地，该交联剂是对苯二甲酰氯或均苯三甲酰氯。

[0516] 该液体的洗涤剂组合物可以包含微胶囊，并且由此形成处于任何形式的任何洗涤剂组合物的一部分，如液体和粉状洗涤剂，以及皂和洗涤剂条。

[0517] 该微囊(如上所述)可以按对应于从0.0001％至5％(w/w)活性酶蛋白(AEP)的量被添加至该液体洗涤剂组合物；优选地从0.001％至5％，更优选地从0.005％至5％，更优选地从0.005％至4％，更优选地从0.005％至3％，更优选地从0.005％至2％，甚至更优选地从0.01％至2％，并且最优选地从0.01％至1％(w/w)活性酶蛋白。

[0518] 该液体洗涤剂组合物具有一种物理形式，它不是固体(或气体)。它可以是可倾流的液体，糊剂，可倾流的凝胶或不可倾流的凝胶。它可以是各向同性的亦或结构化的，优选是各向同性的。它可以是一种配制品，用于在自动洗涤机中洗涤或用于手洗。它还可以是个人护理产品，例如个人护理产品洗发水、牙膏、或洗手皂。

[0519] 该微囊进一步在WO 2014/177709中描述，将其通过引用进行结合。

[0520] 共颗粒中酶的配制

[0521] 该DNA酶可以被配制为颗粒，例如，配制为结合一种或多种酶的共颗粒。然后，每种酶将存在于多种颗粒中，这些颗粒确保酶在洗涤剂中的分布更均匀。这还减少了由于不同的粒度，不同酶的物理隔离。用于生产针对洗涤剂工业的多酶共颗粒的方法披露于IP.com公开内容IPCOM000200739D中。

[0522] 通过使用共颗粒的酶的配制品的另一个实例披露于WO 2013/188331中，其涉及包含以下的洗涤剂组合物：(a)多酶共颗粒；(b)少于10wt沸石(无水基底)；和(c)少于10wt磷酸盐(无水基底)，其中所述酶共颗粒包含从10至98wt％的水分汇组分，并且该组合物另外还包含从20至80wt％的洗涤剂水分汇组分。WO 2013/188331还涉及处理和/或清洁表面的方法，优选织物表面，该方法包括以下步骤：(i)将所述表面与在含水洗液中如在此要求保护的并且描述的洗涤剂组合物接触，(ii)冲洗和/或干燥该表面。

[0523] 洗涤剂的配制

[0524] 洗涤剂成分可以通过水可溶性袋中的区室彼此物理性地分开。因此，可以避免组分间的不良的存储相互作用。在洗涤溶液中，每个室的不同溶解曲线还可以引起选择的组分的延迟溶解。

[0525] 该洗涤剂组合物可以采用一种单位剂量产品的形式。单位剂量产品是不可重复使用的容器中的单一剂量的包装。它越来越多地用于针对衣物的洗涤剂中。一个洗涤剂单位剂量产品是在单次洗涤中所用的洗涤剂量值的包装(例如，在由一种水溶性膜制得的一个袋中)。

[0526] 袋可以是适于保存该组合物的任意形式、任何形状、和任何材料，例如不允许该组合物在与水接触之前从该袋中释放出。袋由封装内体积的水溶性膜制成。所述内部体积可

以分成袋的室。优选的膜是高分子材料，优选地形成膜或薄片的聚合物。优选的聚合物、共聚物或其衍生物选自聚丙烯酸酯、和水溶性丙烯酸酯共聚物、甲基纤维素、羧甲基纤维素、糊精钠、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、麦芽糊精、聚甲基丙烯酸酯，最优选地是聚乙烯醇共聚物以及羟丙基甲基纤维素(HPMC)。优选地，聚合物在膜例如PVA中的水平是至少约60％。优选的平均分子量将典型地是约20,000至约150,000。膜还可以是一种混合组合物，包含可通过水解可降解的以及水溶性的聚合物混合物，如聚乳酸和聚乙烯醇(已知在贸易参考(Trade reference)M8630下，由克里斯克拉夫特工业产品公司(Chris Craft In.Prod.Of Gary,Ind.)，美国销售)，以及增塑剂，像甘油、乙二醇、丙二醇、山梨糖醇及其混合物。这些袋可以包含固体衣物洗涤洗涤剂组合物或部分组分和/或液体洗涤剂组合物或由水溶性膜分开的部分组分。组合物中，液体组分的室可以与含固体的室不同(参见例如，US2009/0011970)。

[0527] 衣物皂条

[0528] 本发明的DNA酶可以被添加至衣物皂条中并且用于手洗衣物、织物和/或纺织品。术语衣物皂条包括衣物条、皂条、组合条(combo bar)、合成洗涤剂条以及洗涤剂条。条的类型通常区别在于它们含有的表面活性剂的类型，并且术语衣物皂条包括含有来自脂肪酸的皂和/或合成皂的那些。衣物皂条具有在室温下为固体而非液体、凝胶或粉末的物理形式。术语固体被定义为不随时间显著变化的物理形式，即如果固体物体(例如，衣物皂条)被置于容器里，该固体物体不会为了填充其被放置的容器而发生改变。该条是固体时典型地是条的形式但也可能是其他的固体形状如圆形或椭圆。

[0529] 该衣物皂条可以含有一个或多个另外的酶、蛋白酶抑制剂如肽醛类(或次硫酸盐加合物或半缩醛加合物)、硼酸、硼酸盐、硼砂和/或苯基硼酸衍生物如4-甲酸基本硼酸、一个或多个皂或合成的表面活性剂、多元醇如甘油、pH控制化合物如脂肪酸、柠檬酸、乙酸和/或甲酸、和/或一价阳离子和有机阴离子的盐，其中该一价阳离子可以是例如Na^+、K^+或NH_4^+并且该有机阴离子可以是例如甲酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐或乳酸盐，因此该一价阳离子和有机阴离子的盐可以是例如甲酸钠。

[0530] 洗涤皂条还可以含有络合剂像EDTA和HEDP、香料和/或不同类型的填充剂、表面活性剂例如阴离子型合成表面活性剂、助洗剂、聚合的污垢释放剂、洗涤剂螯合剂、稳定剂、填充剂、染料、着色剂、染料转移抑制剂、烷氧基化的聚碳酸酯、抑泡剂、结构剂、粘合剂、浸出剂、漂白活化剂、粘土去污剂、抗再沉积剂、聚合分散剂、增亮剂、织物柔软剂、香料和/或本领域已知的其他化合物。

[0531] 衣物洗涤皂条可以在常规的衣物洗涤皂条制造设备中进行加工，例如但不限制于：混合器、压条机例如双级真空压条机、挤出机、切割机、标识压模机(logo-stamper)、冷却隧道以及包装机。本发明不局限于通过任何单一方法制备衣物洗涤皂条。可以在过程的不同阶段向皂中添加本发明的预混料。例如，可以制备含有皂、DNA酶、任选地一种或多种另外的酶、蛋白酶抑制剂以及一价阳离子和有机阴离子的盐的预混料并且然后将该混合物压条。可以同时添加作为例如处于液态的蛋白酶抑制剂的DNA酶以及任选的另外的酶。除了混合步骤和压条步骤以外，该过程还可以进一步包括研磨、挤出、切割、压模、冷却和/或包装的步骤。

[0532] 药物组合物以及用途

[0533] 本发明进一步涉及包含根据本发明的一种或多种多肽的药物组合物和药物佐剂成分，其中该多肽具有DNA酶活性。该佐剂成分可以是任何适合用于药物组合物的赋形剂。该佐剂/赋形剂是在技术人员的选择范围内。该药物组合物进一步包含多肽，该多肽选自下组，该组由以下组成：包含SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的多肽或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶。该药物组合物可以用于释放或去除生物膜或防止表面(例如医疗装置)上生物膜形成。

[0534] 该用途可以是内留置医疗装置，其特征在于将所述装置的病人可接触表面的至少一部分用包含本发明的DNA酶的药物组合物进行涂覆。

[0535] 该装置可以是导管如中央静脉导管、血管内导管、导尿管、希克曼导管、腹膜透析管、气管导管、或其中该装置是机械心脏瓣膜、心脏起搏器、动静脉分流、巩膜扣、人工关节、鼓膜造孔插管、气管造口管、声音假体、阴茎假体、人工尿道括约肌、合成的耻骨阴道吊带、手术用缝线、骨锚、骨螺钉、人工晶状体、接触镜、宫内节育器、主动脉股动脉移植物、血管移植物、针、Luer-Lok连接器、无针连接器或外科器械。该药物组合物可以被配制为液体、洗液、霜剂、喷雾剂、凝胶或软膏。该药物组合物可以用于向动物患者给予。动物患者可以是哺乳动物患者。该哺乳动物患者可以是人类。

[0536] 在以下各段落中进一步概述本发明：

[0537] 1.具有DNA酶活性的多肽用于防止、减少或去除来自物品(其中该物品是纺织品)的生物膜的用途，其中该多肽选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20、或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶。

[0538] 2.根据段落1所述用于防止、减少或去除物品的粘性的用途。

[0539] 3.根据段落1或2中任一项所述用于预处理该物品上的污渍的用途。

[0540] 4.根据段落1-3中任一项所述用于防止、减少或去除洗涤循环过程中污垢的再沉积的用途。

[0541] 5.根据段落1-4中任一项所述用于防止、减少或去除污垢在该物品上的附着的用途。

[0542] 6.根据以上段落中任一项所述用于维持或改进该物品的白度的用途。

[0543] 7.根据以上段落中任一项所述的用途，其中该多肽是如段落45-54所述的多肽。

[0544] 8.根据以上段落中任一项所述的用途，其中从该物品减少或去除恶臭。

[0545] 9.根据以上段落中任一项所述的用途，其中该恶臭是通过E-2-壬烯醛引起的。

[0546] 10.根据以上段落中任一项所述的用途，其中减少或去除在湿纺织品上存在的E-2-壬烯醛的量。

[0547] 11.根据以上段落中任一项所述的用途，其中减少或去除在干纺织品上存在的E-2-壬烯醛的量。

[0548] 12.一种洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物包含具有脱氧核糖核酸酶(DNA酶)活性的多肽和洗涤剂佐剂成分，该多肽选自下组，该组由以下组成：SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20或与其具有至少80％序列一致性的DNA酶。

[0549] 13.根据段落12的洗涤剂组合物，其中该多肽获得自类芽孢杆菌属物种-62212、类芽孢杆菌属物种-62605、芽孢杆菌属物种-62738、短小芽孢杆菌、堀越氏芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62490、芽孢杆菌属物种-13390、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-

13376、芽孢杆菌属物种-62738、绿青链霉菌、婴儿链球菌、芽孢杆菌属物种-62599、秋叶氏芽孢杆菌、Paenibacillus xylanexedens、网孢正青霉菌(Penicillium reticulisporum)、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719、藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)、微小杆菌属物种NG55、来自环境样品J的宏基因组、Streptomyces thermoalcalitoleranshuo来自环境样品C的宏基因组。

[0550] 14.根据以上组合物段落中任一项的洗涤剂组合物,其中具有SEQ ID NO 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽分别地获得自类芽孢杆菌属物种-62212、类芽孢杆菌属物种-62605、芽孢杆菌属物种-62738、短小芽孢杆菌、堀越氏芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62490、芽孢杆菌属物种-13390、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376、芽孢杆菌属物种-62738、绿青链霉菌、婴儿链球菌、芽孢杆菌属物种-62599、秋叶氏芽孢杆菌、Paenibacillus xylanexedens、网孢正青霉菌(Penicillium reticulisporum)、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719、藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)、微小杆菌属物种NG55、来自环境样品J的宏基因组、Streptomyces thermoalcalitolerans或来自环境样品C的宏基因组。

[0551] 15.根据以上段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该多肽是如段落45-54所述的多肽。

[0552] 16.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该洗涤剂佐剂成分选自下组,该组由以下组成:表面活性剂、助洗剂、絮凝助剂、螯合剂、染料转移抑制剂、酶、酶稳定剂、酶抑制剂、催化材料、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预形成的过酸、聚合的分散剂、粘土去污剂/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构弹力剂、织物柔软剂、载体、助水溶物、助洗剂和共助洗剂、织物调色剂、防沫剂、分散剂、加工助剂、和/或颜料。

[0553] 17.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该组合物进一步包含选自下组的一种或多种酶,该组由以下组成:蛋白酶、脂肪酶、角质酶、淀粉酶、糖酶、纤维素酶、果胶酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶、半乳聚糖酶、木聚糖酶和氧化酶。

[0554] 18.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该酶是动物、植物或微生物来源的蛋白酶。

[0555] 19.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该蛋白酶是化学修饰的或蛋白质工程的。

[0556] 20.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中蛋白酶是丝氨酸蛋白酶或金属蛋白酶,优选碱性微生物蛋白酶或胰蛋白酶样蛋白酶。

[0557] 21.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该蛋白酶选自下组,该组由以下组成:芽胞杆菌属,例如,枯草杆菌蛋白酶诺和、枯草杆菌蛋白酶嘉士伯、枯草杆菌蛋白酶309、枯草杆菌蛋白酶147、枯草杆菌蛋白酶168、牛源胰蛋白酶、猪源的胰蛋白酶和镰孢属蛋白酶。

[0558] 22.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中洗涤剂组合物能够减少选自下组的细菌的附着至表面,该组由以下组成:不动杆菌属物种、气微菌属物种、短波单胞菌属物种、微杆菌属物种、滕黄微球菌、假单胞菌属物种、表皮葡萄球菌以及寡养单胞菌属物种,或能够使细菌从它们粘附至其上的表面释放。

[0559] 23.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物,其中该表面是纺织品表

面。

[0560] 24.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该纺织品由棉、棉/聚酯、聚酯、聚酰胺、聚丙烯和/或丝绸制成。

[0561] 25.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该组合物是条，均匀的片剂，具有两个或更多个层的片剂，具有一个或多个室的袋，规则的或压缩的粉末，颗粒，膏，凝胶，或规则的、压缩的或浓缩的液体。

[0562] 26.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该组合物是液体洗涤剂、粉状洗涤剂或颗粒洗涤剂。

[0563] 27.一种用于洗涤物品的洗涤方法，该方法包括以下步骤：

[0564] a.将一种物品暴露于一种洗液，该洗液包含如段落45-54所述的多肽或根据段落12-26中任一项所述的洗涤剂组合物；

[0565] b.完成至少一个洗涤循环；以及

[0566] c.任选地冲洗该物品，

[0567] 其中该物品是纺织品。

[0568] 28.根据段落27所述的方法，其中该洗液的pH在1至11的范围内。

[0569] 29.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该洗液的pH在5.5至11的范围内，如在7至9的范围内，在7至8的范围内或在7至8.5的范围内。

[0570] 30.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该洗液的温度在5℃至95℃的范围内、或在10℃至80℃的范围内、在10℃至70℃的范围内、在10℃至60℃的范围内、在10℃至50℃的范围内、在15℃至40℃的范围内或在20℃至30℃的范围内。

[0571] 31.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该洗液的温度是30℃。

[0572] 32.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该方法进一步包括在完成洗涤周期后排掉洗液或部分洗液。

[0573] 33.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中在第一个并且任选地第二个或第三个洗涤循环过程中，将该物品暴露于该洗液。

[0574] 34.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中在暴露于该洗液后，漂洗该物品。

[0575] 35.根据以上方法段落中的任一项所述的方法，其中将该物品用水或用包含调节剂的水进行漂洗。

[0576] 36.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该物品的粘性被减少。

[0577] 37.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中将物品上存在的污渍用如段落45-54所述的多肽或根据段落12-26中任一项所述的洗涤剂组合物进行预处理。

[0578] 38.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中污垢再沉积被减少。

[0579] 39.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中污垢在物品上的附着被减少或去除。

[0580] 40.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该物品的白度被维持或改进。

[0581] 41.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中从该物品减少或去除恶臭。

[0582] 42.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中该恶臭是由E-2-壬烯醛引起的。

[0583] 43.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中在湿或干纺织品上存在的E-2-

壬烯醛的量被减少或去除。

[0584] 44.根据以上方法段落中任一项所述的方法，其中洗液中多肽的浓度是每升洗液至少1mg的DNA酶蛋白，例如至少5mg的蛋白质、优选至少10mg的蛋白质、更优选至少15mg的蛋白质、甚至更优选至少20mg的蛋白质、最优选至少30mg的蛋白质、并且甚至最优选至少40mg的蛋白质。

[0585] 45.一种具有DNA酶活性的多肽，该多肽选自下组，该组由以下组成：

[0586] a.与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽中任一项具有至少60％序列一致性的多肽；

[0587] b.由如下多核苷酸编码的多肽，该多核苷酸在低严格条件下与以下杂交：

[0588] i.成熟多肽编码序列，

[0589] ii.(i)的全长补体；

[0590] c.SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的成熟多肽的变体，该变体在一个或多个位置处包含取代、缺失和/或插入；以及

[0591] d.(a)、(b)或(c)的多肽的片段，该片段具有DNA酶活性；

[0592] 46.如段落45的多肽，该多肽与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽中任一项具有至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％序列一致性。

[0593] 47.根据段落45-46中任一项所述的多肽，该多肽包含SEQ ID NO:8、9或10或者由其组成。

[0594] 48.根据段落45-47中任一项所述的多肽，该多肽是SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的多肽的变体，该变体在一个或多个位置处包含取代、缺失和/或插入。

[0595] 49.根据段落48的多肽，该多肽是SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20的片段，其中该片段具有DNA酶活性。

[0596] 50.一种编码根据段落45-49中任一项所述的多肽的多核苷酸。

[0597] 51.一种核酸构建体或表达载体，该核酸构建体或表达载体包含如段落50所述的多核苷酸，该多核苷酸有效地连接至指导该多肽在表达宿主内产生的一个或多个控制序列。

[0598] 52.一种重组宿主细胞，该重组宿主细胞包含如段落50-51所述的多核苷酸，该多核苷酸有效地连接至指导多肽的产生的一个或多个控制序列。

[0599] 53.一种产生如段落45-49中任一项所述的多肽的方法，该方法包括：在有益于产生该多肽的条件下培养细胞，该细胞以其野生型形式产生该多肽。

[0600] 54.如段落53所述的方法，该方法进一步包括回收该多肽。

[0601] 55.一种产生具有DNA酶活性的多肽的方法，该方法包括：在有益于产生该多肽的条件下培养如段落52所述的宿主细胞。

[0602] 56.如段落55所述的方法，该方法进一步包括回收该多肽。

[0603] 57.一种产生蛋白质的方法，该方法包括：在有益于产生该蛋白质的条件下培养该重组宿主细胞，该重组宿主细胞包括编码有效地连接至如段落50所述的多核苷酸上的蛋白

质的基因，其中该基因对于编码该多肽的多核苷酸来说是异源的。

[0604] 58.如段落57所述的方法，该方法进一步包括回收该蛋白质。

[0605] 59.一种全培养液配制品或细胞培养组合物，包含如段落45-49中任一项所述的多肽。

[0606] 60.根据段落27-44中任一项所述的方法洗涤的物品。

[0607] 61.一种药物组合物，该药物组合物包含具有DNA酶活性的多肽和药物佐剂成分，其中该多肽获得自细菌来源。

[0608] 62.根据段落61所述的药物组合物，其中具有DNA酶活性的多肽获得自、芽孢杆菌、链霉菌属、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)、青霉菌属、微小杆菌属或类芽孢杆菌属。

[0609] 63.根据段落61-62中任一项所述的药物组合物，其中该具有DNA酶活性的多肽获得自类芽孢杆菌属物种-62212、类芽孢杆菌属物种-62605、芽孢杆菌属物种-62738、短小芽孢杆菌、堀越氏芽孢杆菌、芽孢杆菌属物种-62490、芽孢杆菌属物种-13390、腌海鲜芽孢杆菌属(Jeotgalibacillus)物种-13376、芽孢杆菌属物种-62738、绿青链霉菌、婴儿链球菌、芽孢杆菌属物种-62599、秋叶氏芽孢杆菌、Paenibacillus xylanexedens、网孢正青霉菌(Penicillium reticulisporum)、虚构芽孢杆菌属(Fictibacillus)物种-62719、藻居芽孢杆菌(Bacillus algicola)、微小杆菌属物种NG55、来自环境样品J的宏基因组、Streptomyces thermoalcalitoleranshuo来自环境样品C的宏基因组。

[0610] 64.根据段落61-63中任一项所述的药物组合物，其中该多肽是如段落45-49所述的多肽。

[0611] 65.根据段落61-64中任一项所述的药物组合物，其中将该组合物配制为牙膏、液体牙膏、漱口剂、含片或牙龈按摩软膏剂。

[0612] 66.根据段落61-65中任一项所述的药物组合物，该药物组合物进一步包含一种或多种抗微生物化合物，如抗细菌化合物、抗寄生虫化合物、抗真菌化合物和抗病毒化合物。

[0613] 67.一种内留置医疗装置，其特征在于将所述装置的病人可接触表面的至少一部分用如段落61-66中任一项所述药物组合物进行涂覆。

[0614] 68.根据段落67所述的装置，其中所述装置是导管如中央静脉导管、血管内导管、导尿管、希克曼导管、腹膜透析管、气管导管、或其中该装置是机械心脏瓣膜、心脏起搏器、动静脉分流、巩膜扣、人工关节、鼓膜造孔插管、气管造口管、声音假体、阴茎假体、人工尿道括约肌、合成的耻骨阴道吊带、手术用缝线、骨锚、骨螺钉、人工晶状体、接触镜、宫内节育器、主动脉股动脉移植物、血管移植物、针、Luer-Lok连接器、无针连接器或外科器械。

[0615] 69.一种产生如段落45-49中任一项所述的多肽的方法，该方法包括：在有益于产生该多肽的条件下培养如段落52所述的宿主细胞。

[0616] 70.如段落69所述的方法，该方法进一步包括回收该多肽。

[0617] 71.如段落52所述的重组宿主细胞，进一步包含编码感兴趣的第二多肽的多核苷酸；优选感兴趣的酶；更优选感兴趣的分泌的酶，甚至更优选水解酶、异构酶、连接酶、裂解酶、氧化还原酶、或转移酶；并且最优选该分泌的酶是α-半乳糖苷酶、α-葡糖苷酶、氨肽酶、淀粉酶、天冬酰胺酶、β-半乳糖苷酶、β-葡糖苷酶、β-木糖苷酶、糖酶、羧肽酶、过氧化氢酶、纤维二糖水解酶、纤维素酶、壳多糖酶、角质酶、环糊精糖基转移酶、脱氧核糖核酸酶、内切

葡聚糖酶、酯酶、绿色荧光蛋白、葡聚糖转移酶、葡糖淀粉酶、转化酶、漆酶、脂肪酶、甘露糖苷酶、变聚糖酶、氧化酶、果胶分解酶、过氧化物酶、植酸酶、多酚氧化酶、蛋白质水解酶、核糖核酸酶、转谷氨酰胺酶、或木聚糖酶。

[0618] 72.如段落71的重组宿主细胞，其中该感兴趣的第二多肽是与宿主细胞异源的或同源的。

[0619] 73.如段落71或72所述的重组宿主细胞，该重组宿主细胞是细菌宿主细胞；优选地原核生物宿主细胞；更优选地革兰氏阳性宿主细胞；甚至更优选地芽胞杆菌属、梭状芽孢杆菌、肠球菌属、土芽孢杆菌属、乳杆菌属、乳球菌属、海洋芽孢杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属、或链霉菌属宿主细胞；和最优选地嗜碱芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、克劳氏芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、坚强芽孢杆菌、灿烂芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、和苏云金芽孢杆菌宿主细胞。

[0620] 74.一种产生如段落69-70中任一项所定义的感兴趣的第二多肽的方法，该方法包括：在有益于产生该感兴趣的第二多肽的条件下培养如段落71-73中任一项所述的宿主细胞。

[0621] 75.如段落74所述的方法，该方法进一步包括回收该感兴趣的第二多肽。

[0622] 76.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该洗涤剂佐剂成分是表面活性剂。

[0623] 77.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该洗涤剂佐剂成分是助洗剂。

[0624] 78.根据以上组合物段落中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该洗涤剂佐剂成分是粘土去污剂/抗再沉淀剂。

[0625] 79.根据段落12-26所述的洗涤剂组合物，其中该组合物是一种液体洗涤剂组合物，包含总浓度按重量计是至少3％的表面活性剂和洗涤剂助洗剂，和含洗涤剂酶的微囊，其中该微囊的膜是通过具有高于1kDa分子量的多支化的多胺的交联而产生。

[0626] 80.根据段落79所述的洗涤剂组合物，其中该多支化的多胺的这些反应性氨基构成该分子量的至少15％。

[0627] 81.根据段落79-80中任一项所述的洗涤剂组合物，其中通过使用酰基氯作为交联剂生成该微囊。

[0628] 82.根据段落79-81中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该微囊的直径是至少50微米，或大于50微米。

[0629] 83.根据段落79-82中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该微囊含有按重量计至少1％的活性酶。

[0630] 84.根据段落79-83中任一项所述的洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物进一步包括醇，例如多元醇。

[0631] 85.根据段落79-84中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该表面活性剂是阴离子表面活性剂。

[0632] 86.根据段落79-85中任一项所述的洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物是液体衣物洗涤组合物。

[0633] 87.根据段落79-86中任一项所述的洗涤剂组合物，该洗涤剂组合物含有按重量计少于90％的水。

[0634] 88.根据段落79-87中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该洗涤剂酶是具有DNA酶活性的多肽、蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、纤维素酶、甘露聚糖酶、果胶酶、或氧化还原酶。

[0635] 89.根据段落79-88中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该蛋白酶是金属蛋白酶或碱性丝氨酸蛋白酶，例如枯草杆菌蛋白酶。

[0636] 90.根据段落79-89中任一项所述的洗涤剂组合物，其中具有DNA酶活性的多肽是根据段落45-49中任一项所述的多肽。

[0637] 91.根据段落79-90中任一项所述的洗涤剂组合物，其中使用酰基氯作为交联剂，通过界面聚合来生成该微囊。

[0638] 92.根据段落79-90中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该多支化的多胺是聚乙亚胺。

[0639] 93.根据段落79-90中任一项所述的洗涤剂组合物，其中该微囊包含Mg2+、Ca2+、或Zn2+离子的来源，如Mg2+、Ca2+、或Zn2+的难溶盐。

[0640] 测定和洗涤剂组合物

[0641] 洗涤剂组合物

[0642] 可以将以下提及的洗涤剂组合物结合本发明的酶一起使用。

[0643] Biotex黑(液体)

[0644] 5％-15％的阴离子表面活性剂、<5％非离子表面活性剂、香料、酶、DMDM和乙内酰脲。

[0645] 碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂组合物、液体洗涤剂组合物

[0646] 水、酒精乙氧基硫酸盐、醇乙氧基化物、氨基氧化物、柠檬酸、C12-18拔顶棕榈仁脂肪酸、蛋白酶、糖苷酶、淀粉酶、乙醇、1,2丙二醇、甲酸钠、氯化钙、氢氧化钠、有机硅乳液、跨硫酸EHDQ(这些成分以递减次序列出)。

[0647] WFK IEC-A标准洗涤剂的组合物(粉末)

[0648] 成分：直链烷基苯磺酸钠8.8％、乙氧基化的脂肪醇C12-18(7EO)4.7％、钠皂3.2％、消泡剂DC2-4248S 3.9％、硅酸铝钠沸石4A28.3％、碳酸钠11.6％、丙烯酸和马来酸的共聚物的钠盐(Sokalan CP5)2.4％、硅酸钠3.0％、羧甲基纤维素1.2％、Dequest 2066 2.8％，光学增白剂0.2％、硫酸钠6.5％、蛋白酶0.4％。

[0649] 标准洗涤剂A组合物(液体)

[0650] 成分：12％LAS、11％AEO Biosoft N25-7(NI)、7％AEOS(SLES)、6％MPG(丙二醇)、3％乙醇、3％TEA、2.75％可可皂、2.75％大豆皂、2％甘油、2％氢氧化钠、2％柠檬酸钠、1％甲酸钠、0.2％DTMPA和0.2％PCA(所有的百分数都是w/w)

[0651] 碧浪Actilift组合物(液体)

[0652] 成分：5％-15％阴离子表面活性剂；<5％非离子型表面活性剂、磷酸盐、肥皂；酶、光学增亮剂、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、香料、α-异甲基紫罗兰酮、香茅醇、香叶醇、芳樟醇。

[0653] 碧浪Actilift彩色&风格组合物(液体)

[0654] 成分：5％-15％阴离子表面活性剂；<5％非离子型表面活性剂、磷酸盐、肥皂；酶、

香料、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、α-异甲基紫罗兰酮、丁苯基甲基丙醛、香茅醇、香叶醇、芳樟醇。

[0655] 宝莹小&强大洗涤剂组合物(液体)

[0656] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、非离子型表面活性剂、5%-15%皂、<5%聚羧酸酯、香料、磷酸盐、光学增亮剂

[0657] 宝莹2合1与舒适西番莲粉末

[0658] 硫酸钠、碳酸钠、十二烷基苯磺酸钠、膨润土、碳酸钠过氧化物、硅酸钠、沸石、水、柠檬酸、TAED、C12-15Pareth-7、硬脂酸、香精、丙烯酸钠/MA共聚物、纤维素胶、所修饰的玉米淀粉、氯化钠、羟乙磷酸四钠、EDTMP钙钠、苯胺吗啉三嗪基-氨基苯磺酸二钠、碳酸氢钠、苯丙基乙基聚甲基硅氧烷、丁苯基甲基丙醛、甘油硬脂酸酯、碳酸钙、聚丙烯酸钠、α-异甲基紫罗兰酮、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、纤维素、蛋白酶、柠檬烯、PEG-75、二氧化钛、糊精、蔗糖、聚芳基磺酸钠、CI 12490、CI 45100、CI 42090、硫代硫酸钠、CI 61585。

[0659] 宝莹生物粉末

[0660] 蔗糖、山梨醇、硅酸铝、聚甲醛三聚氰胺、聚芳基磺酸钠、CI 61585、CI 45100、脂肪酶、淀粉酶、黄胞胶、羟丙基甲基纤维素、CI 12490、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、硫代硫酸钠、CI 42090、甘露聚糖酶、CI 11680、羟乙磷酸、EDTA四钠。

[0661] 宝莹生物片剂

[0662] 碳酸钠、碳酸钠过氧化物、碳酸氢钠、沸石、水、硅酸钠、月桂基硫酸钠、纤维素、TAED、十二烷基苯磺酸钠、半纤维素、木质素、月桂基葡糖苷、丙烯酸钠/MA共聚物、膨润土、氯化钠、香精、羟乙磷酸四钠、硫酸钠、聚丙烯酸钠、二甲硅油、苯胺基吗啉代三嗪基氨基芪磺酸二钠盐、十二烷基苯磺酸、三甲基硅氧基硅酸盐、碳酸钙、纤维素、PEG-75、二氧化钛、糊精、蛋白酶、所修饰的玉米淀粉、蔗糖、CI 12490、聚芳基磺酸钠、硫代硫酸钠、淀粉酶、高岭土。

[0663] 宝莹色彩护理生物粉末

[0664] 枯草杆菌蛋白酶、咪唑啉酮、己基肉桂醛、蔗糖、山梨醇、硅酸铝、聚甲醛三聚氰胺、CI 61585、CI 45100、脂肪酶、淀粉酶、黄胞胶、羟丙基甲基纤维素、CI 12490、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、硫代硫酸钠、CI 42090、甘露聚糖酶、CI 11680、羟乙磷酸、EDTA四钠。

[0665] 宝莹色彩护理生物片剂

[0666] 碳酸氢钠、碳酸钠、沸石、水、硅酸钠、十二烷基硫酸钠、纤维素胶、十二烷基苯磺酸钠、月桂基葡糖苷、氯化钠、丙烯酸钠/MA共聚物、香精、硫代乙酸钠、PVP、硫酸钠、羟乙磷酸四钠、聚丙烯酸钠、二甲硅油、膨润土、十二烷基苯磺酸、三甲基硅氧基硅酸盐、碳酸钙、纤维素、PEG-75、二氧化钛、糊精、蛋白酶、所修饰的玉米淀粉、蔗糖、硫代硫酸钠、淀粉酶、CI 74160、高岭土。

[0667] 宝莹双效胶囊生物制品

[0668] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、羟乙磷酸四钠、聚乙烯醇、甘油、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、丙二醇、香精、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、山梨醇、MEA-硫酸、乙醇胺、枯草杆菌蛋白酶、乙二醇、丁苯基甲基丙醛、硼酸、(4-甲酰苯基)、己基肉桂醛、柠檬烯、芳樟醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、α-异甲基紫罗兰酮、香叶醇、淀粉酶、聚合的蓝色着色剂、聚合的黄色着色剂、滑石粉、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、甘

露聚糖酶、苯酸苄铵酰胺。

[0669] 宝莹2合1与舒适晴天粉末

[0670] 硫酸钠、碳酸钠、十二烷基苯磺酸钠、膨润土、碳酸钠过氧化物、硅酸钠、沸石、水、柠檬酸、TAED、C12-15Pareth-7、香精、硬脂酸、丙烯酸钠/MA共聚物、纤维素胶、所修饰的玉米淀粉、氯化钠、羟乙磷酸四钠、EDTMP钙钠、苯胺吗啉三嗪基-氨基苯磺酸二钠、碳酸氢钠、苯丙基乙基聚甲基硅氧烷、丁苯基甲基丙醛、甘油硬脂酸酯、碳酸钙、聚丙烯酸钠、香叶醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、纤维素、蛋白酶、PEG-75、二氧化钛、糊精、蔗糖、聚芳基磺酸钠、CI 12490、CI 45100、CI 42090、硫代硫酸钠、CI 61585。

[0671] 宝莹小&强大2合1与舒适晴天

[0672] 水、C12-15Pareth-7、十二烷基苯磺酸钠、丙二醇、氢化椰油酸钠、三乙醇胺、甘油、TEA-氢化椰油酸酯、香精、氯化钠、聚季铵盐-10、PVP、聚合的粉色着色剂、硫酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、丁苯基甲基丙醛、苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、己基肉桂醛、香茅醇、丁子香酚、聚乙烯醇、乙酸钠、异丙醇、聚合的黄色着色剂、十二烷基硫酸钠。

[0673] 宝莹小&强大生物制品

[0674] 水、MEA-十二烷基苯磺酸、丙二醇、月桂醇醚硫酸钠、C12-15Pareth-7、TEA-氢化椰油酸酯、MEA-柠檬酸、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、MEA-羟乙磷酸、三乙醇胺、香精、丙烯酸酯共聚物、山梨醇、MEA-硫酸、亚硫酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、丁苯基甲基丙醛、苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、香茅醇、硫酸钠、肽、盐、来自发酵(过程)的糖、枯草杆菌蛋白酶、甘油、硼酸、(4-甲酰苯基)、香叶醇、果胶裂解酶、淀粉酶、十二烷基硫酸钠、甘露聚糖酶、CI 42051。

[0675] 宝莹小&强大胶囊生物制品

[0676] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、甘油、聚乙烯醇、香精、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、丙二醇、山梨醇、MEA-硫酸、乙醇胺、枯草杆菌蛋白酶、乙二醇、丁苯基甲基丙醛、己基肉桂醛、淀粉、硼酸、(4-甲酰苯基)、柠檬烯、芳樟醇、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、α-异甲基紫罗兰酮、香叶醇、淀粉酶、滑石粉、聚合的蓝色着色剂、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、苯酸苄铵酰胺、聚合的黄色着色剂、甘露聚糖酶。

[0677] 宝莹小&强大胶囊色彩护理

[0678] MEA-十二烷基苯磺酸、MEA-氢化椰油酸、C12-15Pareth-7、二丙二醇、水、甘油、聚乙烯醇、香精、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、二亚乙基三胺五亚甲基磷酸钠、丙二醇、MEA-硫酸、乙醇胺、PVP、山梨醇、丁苯基甲基丙醛、枯草杆菌蛋白酶、己基肉桂醛、淀粉、柠檬烯、芳樟醇、硼酸、(4-甲酰苯基)、α-异甲基紫罗兰酮、香叶醇、滑石粉、聚合的蓝色着色剂、苯酸苄铵酰胺、聚合的黄色着色剂。

[0679] 宝莹小&强大色彩护理

[0680] 水、MEA-十二烷基苯磺酸、丙二醇、月桂醇醚硫酸钠、C12-15Pareth-7、TEA-氢化椰油酸酯、MEA-柠檬酸、氮丙啶、乙氧基化的均聚物、MEA-羟乙磷酸、三乙醇胺、香精、丙烯酸酯共聚物、山梨醇、MEA-硫酸、亚硫酸钠、甘油、丁苯基甲基丙醛、香茅醇、硫酸钠、肽、盐、来自发酵(过程)的糖,苯乙烯/丙烯酸酯共聚物、枯草杆菌蛋白酶、硼酸、(4-甲酰苯基)、香叶醇、果胶裂解酶、淀粉酶、十二烷基硫酸钠、甘露聚糖酶、CI 61585、CI 45100。

[0681] Fairy非生物制品组合物(液体)

[0682] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、5-15%非离子表面活性剂、肥皂、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、香料

[0683] 标准洗涤剂T组合物(粉末)

[0684] 成分:11%LAS、2%AS/AEOS、2%肥皂、3%AEO、15.15%碳酸钠、3%硅酸钠、18.75%沸石、0.15%螯合剂、2%柠檬酸钠、1.65%AA/MA共聚物、2.5%CMC和0.5%SRP(所有的百分数都是w/w)。

[0685] 标准洗涤剂X组合物(粉末)

[0686] 成分:16.5%LAS、15%沸石、12%二硅酸钠、20%碳酸钠、1%sokalan、35.5%硫酸钠(所有的百分数都是w/w)。

[0687] 碧浪Actilift彩色&风格组合物(粉末)

[0688] 成分:15%-30%阴离子表面活性剂、<5%非离子表面活性剂、磷酸盐、聚羧酸盐、沸石;酶、香料、己基肉桂醛。

[0689] 碧浪Actilif组合物(粉末)

[0690] 成分:5%-15%阴离子表面活性剂、基于氧的漂白剂、<5%非离子表面活性剂、磷酸盐、聚羧酸盐、沸石、光学增亮剂、酶、香料、丁苯基甲基丙醛、香豆素、己基肉桂醛

[0691] 宝莹Megaperls组合物(粉末)

[0692] 成分:以下的15%-30%:阴离子表面活性剂、基于氧的漂白剂和沸石,以下的少于5%:非离子表面活性剂、磷酸盐、聚羧酸盐、肥皂、另外成分:香料、己基肉桂醛、水杨酸苄酯、芳樟醇、光学增亮剂、酶和香茅醇。

[0693] 嘉盛液体,原版:

[0694] 成分:水、醇乙氧基硫酸盐、二乙二醇、醇乙氧化物、乙醇胺、直链烷基苯磺酸盐、脂肪酸钠、聚乙烯亚胺乙氧基化物、柠檬酸、硼砂、枯烯磺酸钠、丙二醇、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、二丙乙基四氨、氢氧化钠、甲酸钠、甲酸钙、二甲硅油、淀粉酶、蛋白酶、Liquitint™、氢化蓖麻油、香味。

[0695] 汰渍液体,原版:

[0696] 成分:线形烷基苯磺酸酯、丙二醇、柠檬酸、氢氧化钠、硼砂、乙醇胺、乙醇、醇硫酸盐、聚乙烯亚胺乙氧基化物、脂肪酸钠、乙氧基硫酸二季铵盐、蛋白酶、二乙二醇、月桂醇聚醚-9、烷基二甲胺氧化物、香味、淀粉酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、DTPA、甲酸钠、甲酸钙、聚乙二醇4000、甘露聚糖酶、Liquitint™蓝、二甲硅油。

[0697] 液体汰渍,自由和温和型:

[0698] 水、醇乙氧基硫酸钠、丙二醇、硼砂、乙醇、线形烷基苯磺酸钠、盐、聚乙烯亚胺乙氧基化物、二乙二醇、反式硫酸化和乙氧基化的六亚甲基二胺、醇乙氧化物、线形烷基苯磺酸酯、MEA盐、甲酸钠、烷基硫酸钠、DTPA、氧化胺、甲酸钙、二氨基二苯乙烯二钠、二磺酸盐、淀粉酶、蛋白酶、二甲硅油、苯并异噻唑啉酮

[0699] 汰渍冷水液体,清香型:

[0700] 水、醇乙氧基硫酸酯、直链烷基苯磺酸酯、二乙二醇、丙二醇、乙醇胺、柠檬酸、硼砂、醇硫酸盐、氢氧化钠、聚乙烯亚胺、乙氧基化物、脂肪酸钠、乙醇、蛋白酶、月桂醇聚醚-9、乙氧基硫酸二季铵盐、月桂基胺氧化物、异丙苯钠、磺酸盐、香味、DTPA、淀粉酶、二钠、二氨

基二苯乙烯、二磺酸盐、甲酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、甲酸钙、聚乙二醇4000、甘露聚糖酶、果胶酶、Liquitint™蓝、二甲硅油

[0701] 汰渍TOTALCARE™液体，冷棉：

[0702] 水、醇乙氧基硫酸酯、丙二醇、脂肪酸钠、月桂基三甲基氯化铵、乙醇、氢氧化钠、枯烯磺酸钠、柠檬酸、乙醇胺、二乙二醇、聚醚硅氧烷、硼砂、香味、聚乙烯亚胺乙氧基化物、蛋白酶、月桂醇聚醚-9、

[0703] DTPA、聚丙烯酰胺季铵盐氯化物、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甲酸钠、Liquitint™橙、二丙基乙四胺、二甲硅油、纤维素酶。

[0704] 液体汰渍加漂白剂Alternative™，生动白和鲜艳、最初以及清洁微风：

[0705] 水、醇乙氧基硫酸钠、烷基硫酸钠、MEA柠檬酸、直链烷基苯磺酸酯、MEA盐、丙二醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、乙醇、脂肪酸钠、乙醇胺、月桂基胺氧化物、硼砂、月桂醇聚醚-9、DTPA、枯烯磺酸钠、甲酸钠、甲酸钙、直链烷基苯磺酸酯、钠盐、醇硫酸盐、氢氧化钠、乙氧基硫酸二季铵盐、香味、淀粉酶、蛋白酶、甘露聚糖酶、果胶酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、苯并异噻唑啉酮、Liquitint™蓝、二甲硅油、二丙基乙四胺。

[0706] 液体汰渍HE，原味：

[0707] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、烷基硫酸钠、醇乙氧化物、线形烷基苯磺酸酯、MEA盐、脂肪酸钠、聚乙烯亚胺乙氧基化物、二乙二醇、丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、硼砂、聚乙烯亚胺、乙氧基化物丙氧基化物、乙醇、枯烯磺酸钠、香味、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甘露聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶、甲酸钠、甲酸钙、月桂基胺氧化物、Liquitint™蓝、二甲硅油/聚二甲基硅酮。

[0708] 汰渍TOTALCARE HE液体，新生雨润(renewing Rain)：

[0709] 水、醇乙氧基硫酸酯、线形烷基苯磺酸酯、醇乙氧化物、柠檬酸、乙醇胺、脂肪酸钠、二乙二醇、丙二醇、氢氧化钠、硼砂、聚乙烯亚胺乙氧基化物、聚醚硅氧烷、乙醇、蛋白酶、枯烯磺酸钠、乙氧基硫酸二季铵盐、月桂醇聚醚-9、香味、淀粉酶、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、甲酸钠、甲酸钙、甘露聚糖酶、Liquitint™橙、二甲硅油、聚丙烯酰胺季铵盐氯化物、纤维素酶、二丙基乙四胺。

[0710] 汰渍液体HE自由：

[0711] 水、醇乙氧基硫酸酯、二乙二醇、单乙醇胺柠檬酸、甲酸钠、丙二醇、线形烷基苯磺酸酯、乙醇胺、乙醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、淀粉酶、苯并异噻唑啉、硼砂、甲酸钙、柠檬酸、乙二烯三胺五乙酸钠、二甲硅油、乙氧基硫酸二季铵盐、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、月桂醇聚醚-9、甘露聚糖酶、蛋白酶、枯烯磺酸钠、脂肪酸钠。

[0712] 汰渍冷水HE液体，清香型：

[0713] 水、醇乙氧基硫酸酯、MEA柠檬酸、醇硫酸盐、醇乙氧化物、线形烷基苯磺酸酯MEA、脂肪酸钠、聚乙烯亚胺乙氧基化物、二乙二醇、丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、硼砂、聚乙烯亚胺乙氧基化物丙氧基化物、乙醇、枯烯磺酸钠、香味、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、蛋白酶、甘露聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶、甲酸钠、甲酸钙、月桂基胺氧化物、Liquitint™蓝、二甲硅油。

[0714] 汰渍冷水HE自由液体：

[0715] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、线形烷基苯磺酸酯：钠盐、醇乙氧化物、线形烷基

苯磺酸酯:MEA盐、脂肪酸钠、聚乙烯亚胺乙氧基化物、二乙二醇、丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、硼砂、蛋白酶、聚乙烯亚胺乙氧基化物丙氧基化物、乙醇、枯烯磺酸钠、淀粉酶、柠檬酸、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甲酸钠、甲酸钙、二甲硅油。

[0716] 汰渍简单洁净与清新:

[0717] 水、醇乙氧化物硫酸盐、直链烷基苯磺酸钠/MEA盐、丙二醇、二乙二醇、甲酸钠、乙醇、硼砂、脂肪酸钠、香味、月桂基胺氧化物、DTPA、聚乙烯胺乙氧基化物、甲酸钙、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、二甲硅油、四胺、Liquitint™蓝。

[0718] 汰渍舱,海雾,神秘森林,春天牧场:

[0719] 线形烷基苯磺酸酯、C12-16Pareth-9、丙二醇、醇乙氧基硫酸酯、水、聚乙烯亚胺乙氧基化物、甘油、脂肪酸盐、PEG-136聚乙酸乙烯酯、乙二胺琥珀酸盐、单乙醇胺柠檬酸、亚硫酸氢钠、乙二烯三胺五乙酸钠、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、甲酸钙、甘露聚糖酶、木葡聚糖酶、甲酸钠、氢化蓖麻油、natalase、染料、termamyl、枯草杆菌蛋白酶、苯并异噻唑啉、香料。

[0720] 汰渍去污笔(Tide to Go):

[0721] 去离子水、二丙二醇丁基醚、烷基硫酸钠、过氧化氢、乙醇、硫酸镁、烷基二甲基氧化胺、柠檬酸、氢氧化钠、三甲氧基苯甲酸、香味。

[0722] 汰渍污渍释放液体:

[0723] 水、烷基乙氧基化物、直链烷基苯磺酸盐、过氧化氢、乙氧基硫酸二季铵盐、乙醇胺、二苯乙烯基联苯基二磺酸二钠、四丁基乙叉基双酚、F&DC黄3、香味。

[0724] 汰渍污渍释放粉末:

[0725] 过碳酸钠、硫酸钠、碳酸钠、铝硅酸钠、壬酰氧基苯磺酸盐、聚丙烯酸钠、水、烷基苯磺酸钠、DTPA、聚乙二醇、棕榈酸钠、淀粉酶、蛋白酶、修饰的淀粉、FD&C蓝1、香味。

[0726] 汰渍污渍释放,预处理器喷雾:

[0727] 水、烷基乙氧基化物、MEA硼酸盐、直链烷基苯磺酸盐、丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、氯化钙酶、蛋白酶、乙醇胺、苯并异噻唑啉酮、淀粉酶、柠檬酸钠、氢氧化钠、香味。

[0728] 汰渍去污渍橡皮擦:

[0729] 水、烷基氧化胺、二丙二醇苯基醚、过氧化氢、柠檬酸、乙二胺二琥珀酸钠盐、烷基硫酸钠、香味。

[0730] 汰渍氧化加强:

[0731] 碳酸氢钠、碳酸钠、过碳酸钠、醇乙氧化物、氯化钠、马来酸/丙烯酸共聚物、壬酰氧基苯磺酸盐、硫酸钠、着色剂、乙二烯三胺五乙酸钠盐、水合硅铝酸盐(沸石)、聚乙二醇、烷基苯磺酸钠、棕榈酸钠、淀粉、水、香味。

[0732] 汰渍污渍释放加强双重Pac:

[0733] 聚乙烯醇袋膜,其中有被包装的液体部分和粉末部分:

[0734] 液体成分:二丙二醇、乙氧基硫酸二季铵盐、水、甘油、LiquitintTM橙,粉末成分:过碳酸钠、壬酰氧基苯磺酸盐、碳酸钠、硫酸钠、铝硅酸钠、聚丙烯酸钠、烷基苯磺酸钠、马来酸/丙烯酸共聚物、水、淀粉酶、聚乙二醇、棕榈酸钠、修饰的淀粉、蛋白酶、甘油、DTPA、香味。

[0735] 汰渍超级污渍释放:

[0736] 水、醇乙氧基硫酸钠、直链烷基苯磺酸盐、钠/MEA盐、MEA柠檬酸、丙二醇、聚乙烯亚

胺乙氧基化物、乙醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺丙氧基乙氧基化物、脂肪酸钠、蛋白酶、硼砂、枯烯磺酸钠、DTPA、香味、淀粉酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甲酸钙、甲酸钠、葡聚糖酶、二甲硅油、Liquitint™蓝、甘露聚糖酶。

[0737] 具有少许**Downy®**粉状洗涤剂的超级汰渍，四月清新/清洁微风/四月精华：

[0738] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、膨润土、水、过碳酸钠、聚丙烯酸钠、硅酸盐、烷基硫酸盐、壬酰氧基苯酚酯磺酸、DTPA、聚乙二醇4000、硅胶、乙氧基化物、香味、聚氧化乙烯、棕榈酸、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、蛋白酶、Liquitint™红、FD&C蓝1、纤维素酶。

[0739] 具有少许Downy清洁微风的超级汰渍：

[0740] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、直链烷基苯磺酸盐：钠/MEA盐、丙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、乙醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺、丙氧基乙氧基化物、乙氧基硫酸二季铵盐、醇硫酸盐、二甲硅油、香味、硼砂、脂肪酸钠、DTPA、蛋白酶、亚硫酸氢钠、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、淀粉酶、葡聚糖酶、蓖麻油、甲酸钙、MEA、苯乙烯丙烯酯共聚物、甲酸钠、Liquitint™蓝。

[0741] 具有Downy阳花的超级汰渍：

[0742] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、直链烷基苯磺酸盐：钠/MEA盐、丙二醇、乙醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺丙氧基乙氧基化物、聚乙烯亚胺乙氧基化物、醇硫酸盐、二甲硅油、香味、硼砂、脂肪酸钠、DTPA、蛋白酶、亚硫酸氢钠、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、淀粉酶、蓖麻油、甲酸钙、MEA、苯乙烯丙烯酯共聚物、丙铵丙酰胺、葡聚糖酶、甲酸钠、Liquitint™蓝。

[0743] 具有Downy四月清新/甜蜜梦境的超级汰渍：

[0744] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、直链烷基苯磺酸盐：钠/MEA盐、丙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、乙醇、二乙二醇、聚亚乙基亚胺丙氧基乙氧基化物、乙氧基硫酸二季铵盐、醇硫酸盐、二甲硅油、香味、硼砂、脂肪酸钠、DTPA、蛋白酶、亚硫酸氢钠、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、淀粉酶、葡聚糖酶、蓖麻油、甲酸钙、MEA、苯乙烯丙烯酯共聚物、丙铵丙酰胺、甲酸钠、Liquitint™蓝。

[0745] 超级汰渍自由粉状洗涤剂：

[0746] 碳酸钠、铝硅酸钠、烷基硫酸盐、硫酸钠、直链烷基苯磺酸酯、水、聚丙烯酸钠、硅酸盐、乙氧基化物、过碳酸钠、聚乙二醇4000、蛋白酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、硅胶、纤维素酶。

[0747] 超级汰渍粉状洗涤剂，清洁微风/春日薰衣草/森林泉：

[0748] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、烷基硫酸盐、过碳酸钠、水、聚丙烯酸钠、硅酸盐、壬酰氧基苯酚酯磺酸、乙氧基化物、聚乙二醇4000、香味、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、棕榈酸、蛋白酶、硅胶、纤维素酶。

[0749] 超级汰渍HE(高效率)粉状洗涤剂，清洁微风：

[0750] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、水、壬酰氧基苯酚酯磺酸、烷基硫酸盐、聚丙烯酸钠、硅酸盐、过碳酸钠、乙氧基化物、聚乙二醇4000、香味、DTPA、棕榈酸、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、蛋白酶、硅胶、纤维素酶。

[0751] 超级汰渍冷水粉状洗涤剂，清香型：

[0752] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、过碳酸钠、烷基硫酸盐、线形烷基苯磺酸酯、水、壬酰氧

基苯酚酯磺酸、聚丙烯酸钠、硅酸盐、乙氧基化物、聚乙二醇4000、DTPA、香味、Natalase、棕榈酸、蛋白酶、二钠、二氨基二苯乙烯二磺酸盐、FD&C蓝1、硅胶、纤维素酶、烷基醚硫酸盐。

[0753] 具有漂白剂粉状洗涤剂的超级汰渍，清洁微风：

[0754] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、过碳酸钠、壬酰氧基苯酚酯磺酸、烷基硫酸盐、水、硅酸盐、聚丙烯酸钠、乙氧基化物、聚乙二醇4000、香味、DTPA、棕榈酸、蛋白酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、硅胶、FD&C蓝1、纤维素酶、烷基醚硫酸盐。

[0755] 具有Febreeze Freshness™粉状洗涤剂的超级汰渍，春日新生：

[0756] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、过碳酸钠、烷基硫酸盐、水、聚丙烯酸钠、硅酸盐、壬酰氧基苯酚酯磺酸、乙氧基化物、聚乙二醇4000、DTPA、香味、纤维素酶、蛋白酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、硅胶、FD&C蓝1。

[0757] 具有Febreeze Freshness的液体汰渍加-运动HE活跃新鲜：

[0758] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、线形烷基苯磺酸酯、钠盐、线形烷基苯磺酸酯：MEA盐、醇乙氧化物、脂肪酸钠、丙二醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物丙氧基化物、乙氧基硫酸二季铵盐、

[0759] 乙醇、枯烯磺酸钠、硼砂、香味、DTPA、硫酸氢钠、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甘露聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶、甲酸钠、甲酸钙、

[0760] 月桂基胺氧化物、Liquitint™蓝、二甲硅油/聚二甲基硅酮。

[0761] 汰渍加Febreeze Freshness春日新生：

[0762] 水、醇乙氧基硫酸钠、直链烷基苯磺酸盐：钠/MEA盐、MEA柠檬酸、丙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物、香味、乙醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺丙氧基乙氧基化物、蛋白酶、醇硫酸盐、硼砂、脂肪酸钠、DTPA、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、MEA、甘露聚糖酶、葡聚糖酶、甲酸钠、二甲硅油、Liquitint™蓝、四胺。

[0763] 具有Febreeze Freshness的液体汰渍加，运动HE胜利新鲜：

[0764] 水、醇乙氧基硫酸钠、MEA柠檬酸、线形烷基苯磺酸酯、钠盐、线形烷基苯磺酸酯：MEA盐、醇乙氧化物、脂肪酸钠、丙二醇、二乙二醇、聚乙烯亚胺乙氧基化物丙氧基化物、乙氧基硫酸二季铵盐、乙醇、枯烯磺酸钠、硼砂、香味、DTPA、硫酸氢钠、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、甘露聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶、甲酸钠、甲酸钙、

[0765] 月桂基胺氧化物、Liquitint™蓝、二甲硅油/聚二甲基硅酮。

[0766] 汰渍生动白+鲜艳，原版：

[0767] 碳酸钠、铝硅酸钠、硫酸钠、线形烷基苯磺酸酯、过碳酸钠、壬酰氧基苯酚酯磺酸、烷基硫酸盐、水、硅酸盐、聚丙烯酸钠乙氧基化物、聚乙二醇4000、香味、DTPA、棕榈酸、蛋白酶、二氨基二苯乙烯二磺酸钠、硅胶、FD&C蓝1、纤维素酶、烷基醚硫酸盐。

[0768] HEY SPORT纺织品洗涤剂

[0769] 水、十二烷基苯磺酸、月桂醇聚醚-11、peg-75羊毛脂、丙二醇、改性醇、大豆油酸钾、氢氧化钾、椰油两性二乙酸二钠、乙二胺三乙椰子烷基酰胺、香精、蓖麻醇酸锌、氯化钠、苯并异噻唑啉酮、甲基异噻唑啉酮、ci 16255、苯甲醇。

[0770] 命名为汰渍、碧浪、嘉盛和Fairy的产品是由宝洁公司(Procter&Gamble)提供的可商购产品。命名为宝莹的产品是由联合利华和汉高公司(Unilever and Henkel)提供的可商购产品。命名为Hey Sport的产品是由Hey Sport提供的可商购产品。

[0771]

成分	量（按 wt %计）
阴离子去污表面活性（如烷基苯磺酸盐、烷基乙氧基化硫酸盐及其	从 8 wt %至 15 wt %的混合物）
非离子去污表面活性剂（如烷基乙氧基化醇）	从 0.5 wt %至 4 wt %
阳离子去污表面活性剂（如季铵化合物）	从 0 至 4 wt %
其他去污表面活性剂（如兼性离子去污表面活性剂、两性表面活性剂及其混合物）	从 0 wt %至 4 wt %
羧酸酯聚合物（如马来酸和丙烯酸的共聚物）	从 1 wt %至 4 wt %
聚乙二醇聚合物（如包含聚乙酸乙烯酯侧链的聚乙二醇聚合物）	从 0.5 wt %至 4 wt %
聚酯污垢释放聚合物（如 Repel-o-tex 和/或 Texcare 聚合物）	0.1 至 2 wt %
纤维素聚合物（如羧甲基纤维素、甲基纤维素及其组合）	从 0.5 wt %至 2 wt %
其他聚合物（如胺聚合物、染料转印抑制剂聚合物、六亚甲基二胺衍生物聚合物、及其混合物）	从 0 wt %至 4 wt %
沸石助洗剂和磷酸盐助洗剂（如沸石 4A 和/或三聚磷酸钠）	从 0 wt %至 4 wt %
其他助洗剂（如柠檬酸钠和/或柠檬酸）	从 0 wt %至 3 wt %
碳酸盐（如碳酸钠和/或碳酸氢钠）	从 15 wt %至 30 wt %
硅酸盐（如硅酸钠）	从 0 wt %至 10 wt %
填料（如硫酸钠和/或生物填料）	从 10 wt %至 40 wt %
可用氧的来源（如过碳酸钠）	从 10 wt %至 20 wt %
漂白活化剂（如四乙酰基乙二胺（TAED）和/或壬酰基羟苯磺酸盐（NOBS））	从 2 wt %至 8 wt %
漂白催化剂（如基于氧氮环丙烷的漂白催化剂和/或过渡金属漂白催化剂）	从 0 wt %至 0.1 wt %
其他漂白剂（如还原漂白剂和/或预形成的过酸）	从 0 wt %至 10 wt %
螯合剂（如乙二胺-N'N'-琥珀酸（EDDS）和/或羟乙基二磷酸（HEDP））	从 0.2 wt %至 1 wt %
光漂白剂（如磺化的酞菁锌和/或铝）	从 0 wt %至 0.1 wt %
调色剂（如直接紫 99、酸性红 52、酸性蓝 80、直接紫 9、溶剂紫 13及其任何组合）	从 0 wt %至 1 wt %

[0772]

增亮剂（如增亮剂 15 和/或增亮剂 49）	从 0.1 wt %至 0.4 wt %
蛋白酶(如 Savinase, Savinase Ultra, Purafect, FN3, FN4 及其任何组合)	从 0.1 wt %至 0.4 wt %
淀粉酶（如 Termamyl、Termamyl ultra Natalase、Optisize、Stainzyme、Stainzyme Plus、及其任何组合）	从 0.05 wt %至 0.2 wt %
纤维素酶（如 Carezyme 和/或 Celluclean）	从 0.05 wt %至 0.2 wt %
脂肪酶（如 Lipex、Lipolex、Lipoclean 及其任何组合）	从 0.2 至 1 wt %
其他酶（如木葡聚糖酶、角质酶、果胶酸裂解酶、甘露聚糖酶、漂白酶）	从 0 wt %至 2 wt %
织物柔软剂（如蒙脱石粘土和/或聚二甲基硅氧烷（PDMS））	从 0 wt %至 4 wt %
絮凝剂（如聚氧化乙烯）	从 0 wt %至 1 wt %
抑泡剂（如硅酮和/或脂肪酸）	从 0 wt %至 0.1 wt %
香料（如香料微囊、喷雾香料、淀粉封装的香料 accord、装载香料的沸石、及其组合物）	从 0.1 wt %至 1 wt %
美学（如彩色肥皂环和/或彩色斑点/条）	从 0 wt %至 1 wt %
杂项	余量

[0773]

成分	量
含有羧基基团的聚合物(按质量计包含从约 60%至约 70%的基于丙烯酸的单体（A）；和按重量计从约 30%至约 40%的含磺酸基团的单体（B））；并且其中平均分子量从约 23,000 至约 50,000，优选地在从约 25,000 至约 38,000 的范围内，如在 WO 2014032269 中所述的。	从约 0.5 wt%至约 1.5 wt%
淀粉酶（Stainzyme Plus（R），具有 14 mg 活性酶/g 的酶活性）	从约 0.1wt%至约 0.5 wt%
阴离子去污表面活性（如烷基苯磺酸盐、烷基乙氧基化硫酸盐及其混合物）	从约 8 wt%至约 15 wt%
非离子去污表面活性剂（如烷基乙氧基化醇）	从约 0.5 wt%至 4 wt%
阳离子去污表面活性剂（如季铵化合物）	从约 0 wt%至约 4 wt%
其他去污表面活性剂（如兼性离子去污表面活性剂、两性表面活性剂及其混合物）	从约 0 wt%至 4 wt%
羧酸酯聚合物（如马来酸和丙烯酸的共聚物）	从约 1 wt%至约 4 wt%
聚乙二醇聚合物（如包含聚乙酸乙烯酯侧链的聚乙二醇聚合物）	从约 0 wt%至约 4 wt%
聚酯污垢释放聚合物（如 Repel-O-Tex（R）和/或 Texcare（R）聚合物）	从约 0.1 wt%至约 2 wt%
纤维素聚合物（如羧甲基纤维素、甲基纤维素及其组合）	从约 0.5wt%至约 2

	wt%
其他聚合物（如胺聚合物、染料转印抑制剂聚合物、六亚甲基二胺衍生物聚合物、及其混合物）	从约 0 wt%至约 4 wt%
沸石助洗剂和磷酸盐助洗剂（如沸石 4A 和/或三聚磷酸钠）	从约 0 wt%至约 4 wt%
其他助洗剂（如柠檬酸钠和/或柠檬酸）	从约 0 wt%至约 3 wt%
碳酸盐（如碳酸钠和/或碳酸氢钠）	从约 15 t%至约 30 wt%
硅酸盐（如硅酸钠）	从约 0 wt%至约 10 wt%
填料（如硫酸钠和/或生物填料）	从约 10 wt%至约 40 wt%
可用氧的来源（如过碳酸钠）	从约 10 wt%至约 20 wt%
漂白活化剂（如四乙酰基乙二胺（TAED）和/或壬酰基羟苯磺酸盐（NOBS））	从约 2 wt%至约 8 wt%
漂白催化剂(如基于氧氮环丙烷的漂白催化剂和/或过渡金属漂白催化剂)	从约 0 wt%至约 0.1 wt%
其他漂白剂（如还原漂白剂和/或预形成的过酸）	从约 0 wt%至约 10 wt%
[0774] 螯合剂(如乙二胺-N'N'-琥珀酸(EDDS)和/或羟乙基二磷酸(HEDP))	从约 0.2wt%至约 1wt%
光漂白剂（如磺化的酞菁锌和/或铝）	从约 0 wt%至约 0.1 wt%
调色剂（如直接紫 99、酸性红 52、酸性蓝 80、直接紫 9、溶剂紫 13 及其任何组合）	从约 0 wt%至约 0.5 wt%
增亮剂（如增亮剂 15 和/或增亮剂 49）	从约 0.1wt%至约 0.4 wt%
蛋白酶（如 Savinase、Polarzyme、Purafect、FN3、FN4 及其任何组合，典型地具有从约 20 mg 至约 100mg 活性酶/g 的酶活性）	从约 0.1wt%至约 1.5 wt%
淀粉酶（Termamyl(R)、Termamyl Ultra(R)、Natalase(R)、Optisize HT Plus(R)、Powerase(R)、Stainzyme(R)及其任何组合，典型地具有从约 10 mg 至约 50 mg 活性酶/g 的酶活性）	从约 0.05 wt%至约 0.2 wt%
纤维素酶（如 Carezyme(R)、Celluzyme(R)和/或 Celluclean(R)、典型地具有约从 10 mg 至 50 mg 活性酶/g 的酶活性）	从约 0.05 wt%至 0.5 wt%
脂肪酶（如 Lipex(R)、Lipolex(R)、Lipoclean(R)及其任何组合，典型地具有从约 10 mg 至约 50 mg 活性酶/g 的酶活性）	从约 0.2 wt%至约 1 wt%
其他酶（如木葡聚糖酶（例如，Whitezyme(R)）、角质酶、果胶酸裂解酶、甘露聚糖酶、漂白酶，典型地具有从约 10 mg 至约 50 mg 活性酶/g 的酶活性）	从 0 wt%至 2 wt%
织物柔软剂（如蒙脱石粘土和/或聚二甲基硅氧烷（PDMS））	从 0 wt%至 15 wt%

[0775]

絮凝剂（如聚氧化乙烯）	从0 wt%至1 wt%
抑泡剂（如硅酮和/或脂肪酸）	从0 wt%至0.1wt%
香料（如香料微囊、喷雾香料、淀粉封装的香料accord、装载香料的沸石、及其组合物）	从 0.1 wt%至 1 wt%
美学（如彩色肥皂环和/或彩色斑点/条）	从0 wt%至1 wt%
杂项	余量

[0776] 所有酶水平表达为rug活性酶蛋白/100g洗涤剂组合物。表面活性剂成分获得自巴斯夫公司(BASF)、路德维希港、德国(Lutensol(R));壳牌化学公司(Shell Chemicals),伦敦,英国;斯泰潘公司(Stepan),诺思菲尔德,III,美国;亨斯曼公司(Huntsman),盐湖城,犹他州,美国;科莱恩公司(Clariant),苏尔茨巴赫市,德国(Praepagen(R))。

[0777] 三聚磷酸钠可以获得自罗地亚公司(Rhodia)、巴黎、法国。沸石可以获得自工业沸石(英国)有限公司,格雷士,艾塞克斯,英国。柠檬酸和柠檬酸钠可以获得自永本兹劳尔公司(Jungbunzlauer),巴塞尔,瑞士。NOBS是壬酰基羟苯磺酸钠,由伊士曼公司(Eastman),贝茨维尔,阿肯色州,美国提供。

[0778] TAED是四乙酰乙二胺,在科莱恩有限公司(Clariant GmbH),祖尔茨巴赫,德国的Peractive(R)品牌下提供。

[0779] 碳酸钠和碳酸氢钠可以获得自索尔维公司(Solvay),布鲁塞尔,比利时。

[0780] 聚丙烯酸酯、聚丙烯酸酯/马来酸酯共聚物可以获得自巴斯夫公司、路德维希港、德国。

[0781] Repel-O-Tex(R)可以获得自罗地亚公司(Rhodia)、巴黎、法国。

[0782] Texcare(R)可以获得自科莱恩公司,祖尔茨巴赫,德国。过碳酸钠和碳酸钠可以获得自索尔维公司,休斯顿,德克萨斯州,美国。

[0783] 乙二胺-N,N'-二琥珀酸的Na盐,(S,S)异构体(EDDS)是通过联合奥泰公司(Octel),埃尔斯米尔港,英国提供。

[0784] 羟基乙醇二磷酸盐(HEDP)是由美国陶氏化学公司(Dow Chemical),米德兰,密歇根州,美国提供。

[0785] 酶Savinase(R)、Savinase(R)Ultra、Stainzyme(R)Plus、Lipex(R)、Lipolex(R)、Lipoclean(R)、Celluclean(R)、Carezyme(R)、Natalase(R)、Stainzyme(R)、Stainzyme(R)Plus、Termamyl(R)、Termamyl(R)ultra、和Mannaway(R)可以获得自诺维信公司(Novozymes),巴格斯瓦德,丹麦。

[0786] 酶Purafect(R)、FN3、FN4和Optisize可以获得自杰能科国际公司(Genencor International Inc.),帕洛阿尔托,加利福尼亚州,美国。

[0787] 直接紫9和99可以获得自巴斯夫公司,路德维希港,德国。溶剂紫13可以获得自宁波立兴化工有限公司(Ningbo Lixing Chemical Co.,Ltd.),宁波,浙江,中国。增亮剂可以获得自汽巴精化有限公司,巴塞尔,瑞士。

[0788] 除非另外指明,所有百分比和比率都是按重量计计算。除非另外指明,所有百分比和比率都是基于总组合物计算。应当理解的是贯穿本说明书给出的每一最大数值限度包括每一较低的数值限度,如同此类较低数值限度在此被明确写出。贯穿本说明书给出的每一最小数值限度将包括每一较高的数值限度,如同此类较高数值限度在此被明确写出。本说

明书中所给出的每个数值范围将包括落入在这样更宽泛数值范围内的每一狭小的范围,好像这样狭小的数值范围都在这里被书面表达了。

[0789] 洗涤测定

[0790] Launder-O-Meter(LOM)模式洗涤系统

[0791] Launder-O-Meter(LOM)是中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试多达20种不同洗涤条件。LOM基本上是大型的具有20个封闭金属烧杯在其中旋转的温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的洗涤机并且在一次实验过程中,每个试管将含有一种具有特定的有待测试的洗涤剂/酶系统连同在关于其进行测试的弄脏的和未弄脏的织物。机械压力由在水浴中旋转的烧杯并且由包括在烧杯中的金属球实现。

[0792] LOM标准洗涤系统主要在欧洲洗涤条件下用于洗涤剂和酶的中等规模测试。在LOM实验中,因素如压载物与污垢的比率和织物与洗液的比率可以变化。因此,LOM提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在前面加载型洗涤机中的更费时的全规模实验之间的联系。

[0793] 迷你Launder-O-Meter(迷你LOM)模式洗涤系统

[0794] 迷你LOM是Launder-O-Meter(LOM)的修饰的迷你洗涤系统,其是中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试多达20种不同洗涤条件。LOM基本上是大型的具有20个封闭金属烧杯在其中旋转的温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的洗涤机并且在一次实验过程中,每个试管将含有一种具有特定的有待测试的洗涤剂/酶系统连同在关于其进行测试的弄脏的和未弄脏的织物。机械压力由在水浴中旋转的烧杯并且由包括在烧杯中的金属球实现。

[0795] LOM标准洗涤系统主要在欧洲洗涤条件下用于洗涤剂和酶的中等规模测试。在LOM实验中,因素如压载物与污垢的比率和织物与洗液的比率可以变化。因此,LOM提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在前面加载型洗涤机中的更费时的全规模实验之间的联系。

[0796] 在迷你LOM中,洗涤是在置于斯图尔特(Stuart)旋转器中的50ml试管中进行的。

[0797] Terg-O-tometer(TOM)洗涤测定

[0798] Tergo-To-Meter(TOM)是一种中等规模标准洗涤系统,它可以应用于同时测试12种不同洗涤条件。TOM基本上是大型的具有多达12个开放金属烧杯淹没至其中的温度受控的水浴。每个烧杯构成一个小的顶部加载型洗涤机器并且在实验期间,它们中的每一者将含有特定洗涤剂/酶系统的溶液并且对弄脏的和未弄脏的织物测试其性能。通过旋转搅拌臂获得机械应力,该旋转搅拌臂搅拌在每个烧杯内的液体。因为TOM杯子不含盖子,所以有可能在TOM实验期间收回样品并且在洗涤期间在线分析信息。

[0799] TOM标准洗涤系统主要用于清洁剂和酶的中等规模测试,在例如US或LA/AP洗涤条件下。在TOM实验中,如压载物与污垢的比率和织物与洗液的比率的因素可以变化。因此,TOM提供了在小规模实验(如AMSA和微型洗涤)与在顶部加载型洗涤机中的更费时的全规模实验之间的联系。

[0800] 设备:水浴具有12个钢制烧杯并且每个烧杯1个旋转臂,每个烧杯的容量是500或1200mL的洗涤剂溶液。温度范围是从5℃至80℃。水浴应当用去离子水填充。转速可以设定为70至120rpm/min。

[0801] 设定Terg-O-Tometer中的温度并且开始在水浴中旋转。等待温度调整(公差是+/-0,5℃)应该对所有烧杯进行清洁并且不含微量先前测试物质。

[0802] 在一个桶中制备具有所希望的量的洗涤剂、温度和水硬度的洗涤溶液。在磁体搅拌10min期间允许洗涤剂溶解。洗液应在制备后30至60min内使用。

[0803] 将800ml洗液添加到TOM烧杯中。将洗液在120rpm下进行搅拌,并且任选地将一种或多种酶添加到该烧杯中。将小块布样撒到烧杯中并且然后是压载加载物。当小块布样和压载物添加到烧杯中时开始时间测量。将小块布样洗涤20分钟,此后,停止搅拌。随后,将洗涤加载物从TOM烧杯转移到筛,并且用冷自来水冲洗。将弄脏的小块布样从压载加载物中分离。在流动的水下,将污垢小块布样转移到含冷自来水的5L烧杯,持续5分钟针对即将到来的灭活,分开存放压载加载物。用手轻轻压出小块布样中的水,并且置于铺有纸的托盘上。将另一张纸置于小块布样的顶部。在经受分析之前,允许小块布样干燥过夜,例如,如在此描述的使用Color Eye测量颜色强度。

[0804] 酶测定

[0805] 测定I:DNA酶活性测试

[0806] 在具有甲基绿(BD公司,富兰克林湖,新泽西州,美国)的DNA酶测试琼脂上确定DNA酶活性。简言之,将21g琼脂溶于500ml水中,并且然后在121℃处高压灭菌15min。将高压蒸汽处理的琼脂在水浴中温和至48℃,并且将20ml的琼脂倒入培养皿并且允许在室温下通过孵育来固化。在固化的琼脂平板上,添加5μl的酶溶液,并且DNA酶活性被观察为斑点酶溶液周围的无色区域。

[0807] 测定II

[0808] 使用电子鼻分析纺织品上的E-2-壬烯醛。

[0809] 测试纺织品上的恶臭的存在的一种方式是通过使用作为恶臭的标志物的E-2-壬烯醛,因为此化合物引起衣物上的恶臭。

[0810] 将E-2-壬烯醛的溶液添加至5cm x 5cm纺织品小块布样上并且将该小块布样放入20mL玻璃小瓶中用于GC分析并且盖住该小瓶。在40℃处孵育20分钟后,在来自法国阿尔法M.O.S.(Alpha M.O.S.)的Heracles II电子鼻中分析来自加帽小瓶的5mL顶部空间(具有2个FID的双柱气相色谱仪,柱1:MXT5以及柱2:MXT1701)。

[0811] 实例

[0812] 方法

[0813] PCR、克隆、连接核苷酸等的一般方法是本领域普通技术人员熟知的并且可以例如发现于“Molecular cloning:A laboratory manual[分子克隆:实验室手册]”Sambrook等人(1989),冷泉港实验室(Cold Spring Harbor lab.),冷泉港,纽约州;Ausubel,F·M等人(编辑);“Current protocols in Molecular Biology[分子生物学实验指南]”,约翰威立父子公司(John Wiley and Sons),(1995);Harwood,C·R和Cutting,S·M(编辑);“DNA Cloning:A Practical Approach[DNA克隆:实用方法],第I和II卷”,D.N.Glover编辑(1985);“Oligonucleotide Synthesis[寡核苷酸合成]”,M.J.Gait编辑(1984);“Nucleic Acid Hybridization[核酸杂交]”,B.D.Hames&S.J.Higgins编辑(1985);“A Practical Guide To Molecular Cloning[分子克隆实用指南]”,B.Perbal(1984)。

[0814] 实例1:细菌DNA酶的克隆和表达

[0815] DNA酶是来源于通过标准的微生物分离技术或通过从环境样品分离的DNA的宏基因组测序从环境样品分离的细菌菌株。鉴定纯菌株并基于16S核糖体基因的DNA测序进行分类学分类(表1)。

[0816] 表1：

[0817]

生物体	来源国家	SEQ ID:
类芽孢杆菌属物种-62212	瑞典	1
类芽孢杆菌属物种-62605	瑞典	2
芽孢杆菌属物种-62738	丹麦	3
短小芽胞杆菌（Bacillus pumilus）	美国	4
堀越氏芽孢杆菌	日本	5
芽孢杆菌属物种-62490	美国	6
芽孢杆菌属物种-13390	希腊	7
腌海鲜芽孢杆菌属（Jeotgalibacillus）物种-13376	加拿大	8
芽孢杆菌属物种-62738	丹麦	9
绿青链霉菌	牙买加	10
婴儿链球菌	瑞典	11
芽孢杆菌属物种-62599	瑞典	12
秋叶氏芽孢杆菌	希腊	13
Paenibacillus xylanexedens	丹麦	14
虚构芽孢杆菌属（Fictibacillus）物种-62719	美国	15
藻居芽孢杆菌（Bacillus algicola）	丹麦	16

[0818]

微小杆菌属物种 NG55	美国	17
来自环境样品 J 的宏基因组	美国	18
Streptomyces thermoalcalitolerans（DSM41741）	印度尼西亚	19
环境样品 C 的宏基因组	西班牙	20

[0819] 用来自凯杰公司(Qiagen)(希尔登,德国)的DNeasy血液&组织试剂盒从各个菌株的纯培养物或从混合的环境培养物中分离染色体DNA,并使用Illumina技术进行全基因组测序基因测序,随后的读取和基因发现的装配(即基因功能的注释)对于本领域技术人员是已知的并且该服务是可商购的。

[0820] 对来自PFAM数据库家族PF14040、PF07510、PF01223和PF00565的推定的DNA酶的基因组序列进行分析(R.D.Finn等人,Nucleic Acids Research[核酸研究](2014),42:D222-D230)。该分析鉴定了编码推定的DNA酶的20个基因,将该20个基因随后在枯草芽孢杆菌中克隆并重组表达。

[0821] 编码DNA酶的基因通过PCR扩增或化学合成,并且与调节元件、亲和纯化标签以及同源区域融合,用于重组进枯草芽孢杆菌基因组。线性整合构建体是SOE-PCR融合产物(Horton,R.M.,Hunt,H.D.,Ho,S.N.,Pullen,J.K.以及Pease,L.R.(1989),Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes、gene splicing by overlap extension[不使用限制酶,通过重叠延伸的基因剪接的工程化杂种基因]Gene[基因]77:61-68)),该融合产物由两个枯草芽孢杆菌染色体区域之间的基因连同强启动子与氯霉素抗性标记的融合制备。SOE PCR方法也描述于专利申请WO 2003095658中。在三联启动子系

统(如WO 99/43835中所述)的控制下表达该基因,该启动子系统由包括稳定化序列的地衣芽孢杆菌α-淀粉酶基因启动子(amyL)、解淀粉芽孢杆菌α-淀粉酶基因启动子(amyQ)和苏云金芽孢杆菌cryIIIA启动子组成。用DNA编码克劳氏芽孢杆菌分泌信号(编码以下氨基酸序列:MKKPLGKIVASTALLISVAFSSSIASA(SEQ ID NO 21))代替天然分泌信号来融合该基因。此外,表达构建体导致由6个连续组氨酸残基组成的羧基末端多组氨酸尾的添加。该SOE-PCR产物被转化进枯草芽孢杆菌中并且在染色体上通过同源重组将其整合到果胶酸裂解酶基因座中。随后将含有该整合表达构建体的重组枯草芽孢杆菌克隆在液体培养基中进行生长。将培养液离心(20000xg,20min)并且将上清液小心地与沉淀物滗析分开,并用于酶的纯化或替代地将无菌过滤的上清液直接用于测定。

[0822] 实例2迷你LOM液体洗涤剂

[0823] 分离衣物特定细菌菌株

[0824] 在本实例中使用分离自衣物的短波单胞菌属物种的一种菌株。在研究期间分离短波单胞菌属物种,其中调研分别在15℃、40℃和60℃处洗涤后衣物中的细菌多样性。在从丹麦家庭收集的衣物上进行该研究。对于每种洗涤,使用范围为4:3:2:2:1:1:1的20g的衣物物品(茶巾、毛巾、洗碗布、背带裤、打底T恤、T恤领、袜子)。在15℃、40℃或60℃处于Laundr-O-Meter(LOM)中进行洗涤。对于15℃和40℃处的洗涤,使用碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂(Ariel Sensitive White&Color),而对于60℃处的洗涤,使用WFK IEC-A*标准洗涤剂。通过称出5.1g并添加自来水直到1000ml,随后搅拌5分钟来制备碧浪灵敏性白色与彩色衣物洗涤剂。通过称出5g并添加自来水直到1300ml,随后搅拌15min来制备WFK IEC-A*标准洗涤剂(该WFK IEC-A*标准洗涤剂可从WFK测试织物有限公司(WFK Testgewebe GmbH)获得)。分别在15℃、40℃和60℃处进行洗涤1小时,随后在15℃处用自来水冲洗2次持续20min。

[0825] 分别在15℃、40℃和60℃处洗涤后立即对衣物进行取样。向二十克的衣物中添加0.9%(w/v)NaCl(1.06404;Merck(默克公司),达姆施塔特,德国)与0.5%(w/w)tween 80,以在匀质器(stomacher)袋中产生1:10稀释液。使用匀质器在中速下将混合物均质化2分钟。均质化后,在0.9%(w/v)NaCl中制备十倍稀释液。将细菌在30℃处于胰胨大豆琼脂(Tryptone Soya Agar)(TSA)(CM0129,Oxoid公司,贝辛斯托克,汉普郡,英国)上需氧地孵育5-7天并对其计数。为了抑制酵母和霉菌的生长T,添加0.2%山梨酸(359769,西格玛公司(Sigma))和0.1%放线酮(18079;西格玛公司)。从可计数的板中选择细菌菌落并且通过在TSA上再划线两次进行纯化。对于长期存储,将纯化的分离株于-80℃处存储在含有20%(w/v)甘油(49779;西格玛公司)的TSB中。

[0826] 制备具有生物膜的小块布样

[0827] 使短波单胞菌属物种在30℃处于胰胨大豆琼脂(TSA)(pH 7.3)(CM0131;Oxoid有限责任公司,贝辛斯托克,英国)上预生长2-5天。将来自一个单菌落的满环物转移至10mL的TSB中并且伴随振荡(240rpm)于30℃处孵育1天。繁殖后,通过离心(西格玛实验室离心机6K15)(3000g,在21℃处,7min)沉淀短波单胞菌属物种并且将其重悬于10mL用水稀释两次的TSB中。使用分光计(POLARstar Omega(BMG莱伯泰科(BMG Labtech),奥滕贝格,德国))测量600nm处的光密度(OD)。将用水稀释两次的新鲜TSB接种至0.03的OD_{600nm},并且将1.6mL添加至12孔聚苯乙烯平底微板(3512;康宁公司(Corning Incorporated),康宁,纽约州,美

国)的每个孔中,向该微板中放入无菌聚酯WFK30A的圆的小块布样(直径2cm)。伴随振荡(100rpm)在15℃处孵育24h后,将小块布样用0.9%(w/v)NaCl冲洗两次。

[0828] 洗涤实验

[0829] 通过称重并将洗涤剂溶解在硬度15°dH的水中制备液体的标准洗涤剂A的洗液。标准洗涤剂A的剂量是3.33g/L。向洗液添加颜料污垢(Pigmentschmutz,09V,wfk,克雷费尔德(Krefeld),德国)(0.7g/L)。将DNA酶(0.5ppm)添加至该洗液。作为对照,制备不含DNA酶的洗液。向50ml测试管中添加洗液(10ml),其中放置具有短波单胞菌属物种生物膜的五个经冲洗的小块布样和五个无菌聚酯(WFK30A)小块布样。在30℃处,将试管放入斯图尔特(Stuart)旋转器(迷你LOM)中,持续1小时。将小块布样用自来水冲洗两次并且在滤纸上干燥过夜。使用Color Eye(Macbeth Color Eye 7000反射分光光度计)测量色差(L值)。在入射光中没有UV的情况下进行测量并且从CIE Lab色空间中提取L值。色差(L值,L*)代表在L*=0下的最暗的黑色,并且在L*=100下的最亮白色。数据表示为ΔL值,意指用DNA酶洗涤的小块布样的L值减去不用DNA酶洗涤的小块布样的L值。

[0830] 表2DNA酶的深度清洁效果

[0831]

宿主名称	L-值 标准洗涤剂 A	ΔL 标准洗涤剂 A
无酶	83.59	n/a
类芽孢杆菌属物种-62212	84.34	0.76
类芽孢杆菌属物种-62605	87.68	4.09
芽孢杆菌属物种-62738	85.46	1.88
短小芽胞杆菌（Bacillus pumilus）	84.18	0.60
堀越氏芽孢杆菌	88.11	4.52
芽孢杆菌属物种-62490	84.61	1.03
芽孢杆菌属物种-13390	87.16	3.57
腌海鲜芽孢杆菌属（Jeotgalibacillus）物种-13376	88.80	5.21
芽孢杆菌属物种-62738	84.78	1.20
绿青链霉菌	88.17	4.58
婴儿链球菌	87.93	4.35
芽孢杆菌属物种-62599	88.32	4.73
秋叶氏芽孢杆菌	86.04	2.45
Paenibacillus xylanexedens	85.25	1.67
网孢正青霉菌（Penicillium reticulisporum）	88.00	4.41
虚构芽孢杆菌属（Fictibacillus）物种-62719	92.93	3.66
藻居芽孢杆菌（Bacillus algicola）	92.82	3.55
微小杆菌属物种 NG55	91.69	2.42
来自环境样品 J 的宏基因组	93.11	3.84
Streptomyces thermoalcalitolerans	90.31	1.04
来自环境样品 C 的宏基因组	90.65	1.38

[0832] 表2显示所有的测试DNA酶具有“深度清洁”效果，即减少或去除在液体洗涤剂中的生物膜或生物膜小块布样的组分。

[0001] 序列表

[0002] <110> 诺维信公司

[0003] Gjermansen, Morten

[0004] <120> 多肽

[0005] <130> 14030-WO-PCT

[0006] <160> 21

[0007] <170> PatentIn 3.5版

[0008] <210> 1

[0009] <211> 122

[0010] <212> PRT

[0011] <213> 类芽孢杆菌属物种-62212

[0012] <400> 1

[0013] Glu Thr Glu Pro Thr Thr Gln Gln Ala Ala Gly Ser Thr Ser Ala Glu

[0014] 1 5 10 15

[0015] Thr Ile Thr Leu Tyr Phe Pro Gln Asp Arg Phe Pro Glu Thr Gly Lys

[0016] 20 25 30

[0017] His Ile Lys Asn Ala Ile Ala Ser Gly Glu Ser Ser Ile Cys Thr Ile

[0018] 35 40 45

[0019] Asp Arg Lys Gln Ala Glu Glu Asn Arg Lys His Ser Leu Lys Gly Ile

[0020] 50 55 60

[0021] Pro Thr Lys Lys Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala Met Cys

[0022] 65 70 75 80

[0023] Ala Glu Gly Gly Thr Gly Ala Asp Ile Ala Tyr Ile Ser Pro Ser Asp

[0024] 85 90 95

[0025] Asn Arg Gly Ala Gly Ser Trp Val Ser Asn Gln Leu Glu Lys Tyr Glu

[0026] 100 105 110

[0027] Asp Gly Thr Lys Ile Leu Phe Ile Val Lys

[0028] 115 120

[0029] <210> 2

[0030] <211> 118

[0031] <212> PRT

[0032] <213> 类芽孢杆菌属物种-62605

[0033] <400> 2

[0034] Asn Asp Thr Ser Val Thr Thr Ser Ser Thr Glu Ala Asp Val Lys Ile

[0035] 1 5 10 15

[0036] Val Phe Pro Ser Asp Arg Phe Pro Glu Thr Ala Lys His Ile Lys Asp

[0037] 20 25 30

[0038] Ala Ile Ala Ala Gly Glu Ser Pro Ile Cys Thr Ile Asp Arg Asp Gly

[0039] 35 40 45

[0040] Ala Glu Glu Asn Arg Lys Glu Ser Leu Lys Gly Ile Ala Thr Lys Lys

[0041] 50 55 60

[0042] Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala Met Cys Ala Glu Gly Gly

[0043] 65 70 75 80

[0044] Ala Gly Ala Asp Ile Ala Tyr Ile Thr Pro Ser Asp Asn Arg Gly Ala

[0045] 85 90 95

[0046] Gly Ser Trp Val Gly Asn Gln Leu Glu Lys Tyr Thr Asp Gly Thr Arg

[0047] 100 105 110

[0048] Val Glu Phe Val Val Glu

[0049] 115

[0050] <210> 3

[0051] <211> 115

[0052] <212> PRT

[0053] <213> 芽孢杆菌属物种-62738

[0054] <400> 3

[0055] Ser Glu Thr Ala Asp Ser Lys Gly Tyr Asp Gln Val Val Glu Leu Pro

[0056] 1 5 10 15

[0057] Ala Asp Lys Tyr Pro Glu Thr Ala Ala His Ile Lys Asn Ala Ile Ala

[0058] 20 25 30

[0059] Lys Gly Lys Thr Asp Met Cys Thr Ile Asp Arg Lys Gly Ala Lys Asp

[0060] 35 40 45

[0061] Arg Arg Lys Gln Ser Leu Ala His Ile Pro Thr Lys Lys Gly Tyr Asp

[0062] 50 55 60

[0063] Arg Asp Glu Phe Pro Met Ala Phe Cys Lys Glu Gly Gly Ser Gly Ala

[0064] 65 70 75 80

[0065] Asp Ile Glu Tyr Ile Ser Pro Glu Asp Asn Arg Gly Ala Gly Ser Tyr

[0066] 85 90 95

[0067] Ile Gly Asn Lys Val Glu Asn Leu Lys Asp Gly Thr Arg Val Lys Ile

[0068] 100 105 110

[0069] Ala Val Asn

[0070] 115

[0071] <210> 4

[0072] <211> 120

[0073] <212> PRT

[0074] <213> 短小芽孢杆菌

[0075] <400> 4

[0076] Gln Leu Glu Gln Ser Lys Gln Glu Thr Thr Asn Ser Ser Tyr Asp Lys

[0077] 1 5 10 15

[0078] Thr Ile His Phe Pro Ser Asp Arg Tyr Pro Glu Thr Ala Lys His Ile
[0079] 20 25 30
[0080] Glu Glu Ala Ile Asp Glu Gly His Ser Ser Val Cys Thr Ile Asp Arg
[0081] 35 40 45
[0082] Lys His Ser Asp Glu Gln Arg Asp Gln Ser Leu His Gly Ile Pro Thr
[0083] 50 55 60
[0084] Lys Arg Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala Met Cys Lys Glu
[0085] 65 70 75 80
[0086] Gly Gly Thr Gly Ala Ser Val Lys Tyr Ile Ser Pro Ser Asp Asn Arg
[0087] 85 90 95
[0088] Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly His Gln Leu Ser Asp Asp Pro Asp Gly
[0089] 100 105 110
[0090] Thr Arg Ile Gln Phe Ile Ile Asp
[0091] 115 120
[0092] <210> 5
[0093] <211> 249
[0094] <212> PRT
[0095] <213> 堀越氏芽孢杆菌
[0096] <400> 5
[0097] Val Glu Asp Gly Ser Ser Thr Gln Leu Ala Asn Asn Ser Thr Asn His
[0098] 1 5 10 15
[0099] Glu Pro Ser Ile Lys Val Arg Glu Glu Thr Glu Thr Asn Ile Glu Glu
[0100] 20 25 30
[0101] Asn His Glu Phe Pro Arg Thr Glu Val Pro Leu Ile Arg Val Ile Asp
[0102] 35 40 45
[0103] Gly Asp Thr Ile Lys Val Lys Ile Asp Gly Lys Glu Glu Asn Val Arg
[0104] 50 55 60
[0105] Phe Leu Leu Val Asp Thr Pro Glu Thr Ser His Pro Arg Met Asn Gly
[0106] 65 70 75 80
[0107] Pro Gln Pro Phe Gly Pro Glu Ala Lys Glu Phe Met Glu Glu Phe Ala
[0108] 85 90 95
[0109] Ala Thr Gly Lys Leu Glu Leu Glu Leu Asp Val Ser Glu Arg Asp Arg
[0110] 100 105 110
[0111] Tyr Gly Arg Val Leu Ala Tyr Val Tyr Val Asn Gly Val Ser Ala Gln
[0112] 115 120 125
[0113] Glu Glu Leu Leu Lys Arg Gly Leu Ala Arg Val Ala Tyr Ile Tyr Pro
[0114] 130 135 140
[0115] Pro Asn Thr Arg Tyr Val Asp His Tyr Gln Ala Leu Gln Glu Lys Ala
[0116] 145 150 155 160

[0117] Gln Ala Asp Gly Val Gly Ile Trp Ser Val Glu Asn Tyr Ala Gln Asp
[0118] 165 170 175
[0119] Asp Gly Phe Tyr Pro Glu Tyr Val Glu Asp Pro Asp Leu Lys Glu Ser
[0120] 180 185 190
[0121] Thr Glu Lys Gln Pro Val Thr Glu Asn Cys Pro Val Lys Gly Asn Ile
[0122] 195 200 205
[0123] Ser Ser Ser Gly Glu Lys Ile Tyr His Val Lys Thr Gly Ala Phe Tyr
[0124] 210 215 220
[0125] Glu Arg Thr Ile Pro Glu Glu Cys Phe Asn Thr Glu Glu Glu Ala Met
[0126] 225 230 235 240
[0127] Lys Ala Gly Tyr Arg Lys Ser Lys Arg
[0128] 245
[0129] <210> 6
[0130] <211> 245
[0131] <212> PRT
[0132] <213> 芽孢杆菌属物种-62490
[0133] <400> 6
[0134] Ser Thr Tyr Glu Glu Thr Lys Pro Ser Ser Thr Val Glu Thr Asp Glu
[0135] 1 5 10 15
[0136] Ile Glu Val Asp Glu Thr Gln Lys Glu Glu Ile Ile Glu Glu Thr Ser
[0137] 20 25 30
[0138] Glu Ser Phe Ile Gln Ala Thr Val Val Arg Val Val Asp Gly Asp Thr
[0139] 35 40 45
[0140] Val Ile Val Lys Leu Pro Asn Asn Gln Glu Glu Arg Val Arg Leu Leu
[0141] 50 55 60
[0142] Leu Val Asp Thr Pro Glu Ser Val His Pro Thr Lys Pro Val Gln Pro
[0143] 65 70 75 80
[0144] Phe Gly Ile Glu Ser Ser Glu Phe Ala Lys Gln Leu Met Tyr Pro Gly
[0145] 85 90 95
[0146] Lys Thr Val Glu Leu Glu Leu Asp Ile Asn Glu Arg Asp Lys Tyr Gly
[0147] 100 105 110
[0148] Arg Leu Leu Ala Tyr Val Trp Val Gly Glu Lys Met Leu Asn Glu Leu
[0149] 115 120 125
[0150] Leu Leu Glu Lys Gly Leu Ala Arg Val Ala Tyr Ile Phe Ala Pro Asn
[0151] 130 135 140
[0152] Thr Arg His Val Asp Arg Phe Leu Glu Ile Gln Lys Lys Ala Gln Gln
[0153] 145 150 155 160
[0154] Gln Glu Leu Gly Ile Trp Ser Ile Glu Asn Tyr Ala Thr Glu Ser Gly
[0155] 165 170 175

[0156] Phe Ala Glu Glu Ala Val Leu Glu Lys Gln Glu Pro Thr Lys Leu Thr
[0157] 180 185 190
[0158] Lys Ala Cys Asp Asp Pro Lys Ile Lys Gly Asn His Ser Ser Ser Gly
[0159] 195 200 205
[0160] Glu Leu Ile Tyr His Ile Pro Gly Gly Gln Tyr Tyr Glu Lys Thr Asn
[0161] 210 215 220
[0162] Pro Glu Glu Met Phe Cys Thr Glu Asp Glu Ala Leu Glu Ala Gly Tyr
[0163] 225 230 235 240
[0164] Arg Lys Ser Met Arg
[0165] 245
[0166] <210> 7
[0167] <211> 223
[0168] <212> PRT
[0169] <213> 芽孢杆菌属物种-13390
[0170] <400> 7
[0171] Lys Glu Ser Asn Ser Lys Glu Ala Val Glu Gln Arg Phe Ile Gln Ala
[0172] 1 5 10 15
[0173] Ser Val Val Arg Val Val Asp Gly Asp Thr Leu Ile Val Lys Leu Asp
[0174] 20 25 30
[0175] His Lys Lys Glu Glu Arg Val Arg Leu Leu Leu Ile Asp Thr Pro Glu
[0176] 35 40 45
[0177] Ser Val His Pro Asp Lys Pro Val Gln Pro Phe Gly Ile Glu Ala Ser
[0178] 50 55 60
[0179] Glu Met Val Lys Glu Leu Met Lys Pro Gly Asp Leu Ile His Leu Glu
[0180] 65 70 75 80
[0181] Leu Asp Val Ser Glu Arg Asp Lys Tyr Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Val
[0182] 85 90 95
[0183] Trp Ile Glu Asp Lys Met Val Asn Glu Leu Leu Leu Glu Lys Gly Phe
[0184] 100 105 110
[0185] Ala Arg Val Ala Tyr Val Tyr Ala Pro Asn Thr Lys Tyr Val Asp Gln
[0186] 115 120 125
[0187] Phe Tyr Asp Ile Gln Lys Gln Ala Gln Glu Arg Gly Ile Gly Ile Trp
[0188] 130 135 140
[0189] Ser Leu Glu Asn Tyr Val Val Asp Arg Gly Phe Asn Glu Glu Val Tyr
[0190] 145 150 155 160
[0191] Leu Glu Lys Asp Asn Pro Ser His Ser Asp Leu Ser Cys Ser Asn Pro
[0192] 165 170 175
[0193] Met Ile Lys Gly Asn His Ser Ser Arg Gly Asp Phe Ile Tyr His Val
[0194] 180 185 190

[0195] Pro Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Gln Thr Asn Ala Glu Glu Met Phe Cys
[0196] 195 200 205
[0197] Thr Glu Glu Glu Ala Lys Ala Ala Gly Tyr Arg Lys Ser Met Lys
[0198] 210 215 220
[0199] <210> 8
[0200] <211> 210
[0201] <212> PRT
[0202] <213> 腌海鲜芽孢杆菌属物种-13376
[0203] <400> 8
[0204] Asp Lys Pro Glu Arg Leu Asn Ala Val Val Thr Asn Val Val Asp Gly
[0205] 1 5 10 15
[0206] Asp Thr Ile Asp Val Lys Thr Glu Asp Gly Ser Ile Glu Arg Val Arg
[0207] 20 25 30
[0208] Leu Leu Leu Ile Asp Thr Pro Glu Thr Lys His Pro Gln Met Gly Val
[0209] 35 40 45
[0210] Gln Pro Phe Gly His Glu Ala Ser Ile Tyr Thr Glu Ser Ala Leu Leu
[0211] 50 55 60
[0212] Gly Glu Lys Ile Gln Leu Glu Phe Asp Val Ser Glu Arg Asp Arg Tyr
[0213] 65 70 75 80
[0214] Gly Arg Val Leu Ala Tyr Ile Trp His Gln Asp Glu Leu Phe Asn Gln
[0215] 85 90 95
[0216] Thr Leu Ile Glu Lys Gly Leu Ala Arg Val Ser Ile Tyr Pro Pro Asp
[0217] 100 105 110
[0218] Ile Lys Tyr Val Asp Glu Phe Glu Lys Ile Gln Glu Glu Ala Arg Lys
[0219] 115 120 125
[0220] Ser Glu Leu Gly Ile Trp Ser Leu Gln Asn Tyr Val Thr Lys Lys Gly
[0221] 130 135 140
[0222] Tyr Glu Arg Lys Leu Asp Gln Ser Lys Asp Glu Glu Ile Ile Gln Pro
[0223] 145 150 155 160
[0224] Asp Gly Cys Thr Ile Lys Gly Asn Ile Asn Ser Lys Gly Glu Lys Ile
[0225] 165 170 175
[0226] Tyr His Asp Thr Asn Ser Arg Ser Tyr Ser Gln Thr Ile Pro Glu Glu
[0227] 180 185 190
[0228] Trp Phe Cys Thr Ile Glu Glu Ala Lys Ala Ala Gly Phe Arg Ala Pro
[0229] 195 200 205
[0230] Arg Asn
[0231] 210
[0232] <210> 9
[0233] <211> 231

[0234] <212> PRT

[0235] <213> 芽孢杆菌属物种-62738

[0236] <400> 9

[0237] Ser Thr Asn Lys Gln Glu Pro Ser Gln Ala Thr Thr Lys Gln Glu Ser

[0238] 1 5 10 15

[0239] Asn Gln Thr Gln Asn Lys Thr Ser Asn Gly Gln Gln Gln Ser Tyr Asn

[0240] 20 25 30

[0241] Ile Glu Asp Ile Ala Lys Asn Tyr Lys Gly Gln Lys Val Val Glu Ile

[0242] 35 40 45

[0243] Asn Gly Asn Lys Ala Asp Phe Thr Gln Asp Gln Leu Asp Lys Val Gln

[0244] 50 55 60

[0245] Leu Lys Asn Thr Asn Pro Thr Trp Gln Glu Phe Ser Asn Leu Asp Ser

[0246] 65 70 75 80

[0247] Lys Asn Arg Val Gly Val Ala Thr Ala Leu Ile Gly Lys Glu Ile Gln

[0248] 85 90 95

[0249] Pro Lys Glu Lys Arg Asp Glu Arg Leu Asn Thr Lys Pro Thr Gly Trp

[0250] 100 105 110

[0251] His Gln Lys Lys Leu Ser Asp Gly Ser Thr Leu Phe Asp Arg Ser His

[0252] 115 120 125

[0253] Leu Ile Gly Tyr Gln Leu Thr Gly Gln Asn Asp Asn Pro Lys Asn Leu

[0254] 130 135 140

[0255] Met Thr Gly Thr Lys Asp Phe Asn Arg His Ser Met Leu Lys Tyr Glu

[0256] 145 150 155 160

[0257] Asn Met Val Asp Lys Glu Val Glu Lys Gly Ser Tyr Val Leu Tyr Glu

[0258] 165 170 175

[0259] Val Lys Pro Val Phe Ile Gly Asp Glu Leu Val Ala Arg Gly Val Gln

[0260] 180 185 190

[0261] Met Lys Ala Lys Thr Val Asn Asn Asn His Leu Asp Phe Asn Val Phe

[0262] 195 200 205

[0263] Cys Phe Asn Val Gln Asp Gly Val Glu Ile Asp Tyr Lys Asp Gly Thr

[0264] 210 215 220

[0265] Ser Lys Leu Val Asn Lys Gln

[0266] 225 230

[0267] <210> 10

[0268] <211> 268

[0269] <212> PRT

[0270] <213> 绿青链霉菌

[0271] <400> 10

[0272] Arg Ser Leu Leu Asp Leu Leu Lys Pro Pro Thr Gln His Gln Glu Gln

[0273] 1 5 10 15

[0274] Thr Ser Arg Ser Gly Ser Ile Ser Gln Ser Ala Ala Leu Asp Leu Tyr

[0275] 20 25 30

[0276] Ser Asn Gln Gln Lys Gln Ala Ser Phe Asp Gly Cys Ala Glu Leu Phe

[0277] 35 40 45

[0278] Pro Ala Ala Lys Pro Ile Asn Val Ala Thr Val Pro Ala Thr Met Asn

[0279] 50 55 60

[0280] Pro Met Ala Leu Cys Ser Asp Asn Phe Ala Val Leu Tyr Ser Gln Thr

[0281] 65 70 75 80

[0282] Ser Lys Thr Pro Leu Ile Val Val Glu Arg Leu Asn Ala Ser Gln Leu

[0283] 85 90 95

[0284] Gln Asp Ala Lys Gly Glu Glu Arg Thr Asn Gln Phe Tyr Pro Asp Pro

[0285] 100 105 110

[0286] Arg Ile Pro Lys Ser Gly Arg Ala Glu Leu Ser Asp Tyr Arg Gly Gln

[0287] 115 120 125

[0288] His Pro Ala Val Asp Arg Gly His Gln Ser Pro Ala Ala Asp Ala Pro

[0289] 130 135 140

[0290] Asn Pro Asn Ala Met Ala Gln Ser Phe Ala Leu Ser Asn Met Val Pro

[0291] 145 150 155 160

[0292] Gln Asp Pro Thr Asn Asn Arg Lys Ile Trp Ser Lys Val Glu Ser Asp

[0293] 165 170 175

[0294] Val Arg Lys Phe Ala Lys Arg Ala Asp Gly Asn Val Phe Val Phe Thr

[0295] 180 185 190

[0296] Gly Pro Leu Phe Asp Ser Gly His Ser Thr Ile Gly Glu Asn Lys Val

[0297] 195 200 205

[0298] Trp Val Pro Thr Arg Leu Phe Lys Leu Val Tyr Asp Ala Ser Ser Lys

[0299] 210 215 220

[0300] Arg Ala Trp Ala Tyr Val Leu Pro Asn Ala Glu Thr Arg Ile Glu Lys

[0301] 225 230 235 240

[0302] Pro Met Asp Tyr Asp Ala Phe Val Lys Ser Thr Gly Leu Lys Leu Leu

[0303] 245 250 255

[0304] Gly Asn Leu Pro Ile Ser Gly Ser Val Gly Arg Thr

[0305] 260 265

[0306] <210> 11

[0307] <211> 245

[0308] <212> PRT

[0309] <213> 婴儿链球菌

[0310] <400> 11

[0311] Ser Asn Ala Thr Pro Gln Thr Gln Val Asn Gln Lys Ser Gln Ser Leu

[0312] 1 5 10 15

[0313] Asp Thr Pro Ser Gln Lys Leu Ala Glu Ser Val Leu Thr Asp Ser Val

[0314] 20 25 30

[0315] Lys Lys Gln Ile Lys Gly Thr Leu Glu Trp Asn Gly Ser Gly Ala Phe

[0316] 35 40 45

[0317] Ile Val Asn Gly Asn Lys Thr Asn Leu Asp Ala Lys Val Ser Ser Lys

[0318] 50 55 60

[0319] Pro Tyr Ala Asp Asn Lys Thr Lys Thr Val Gly Gly Glu Thr Val Pro

[0320] 65 70 75 80

[0321] Thr Val Ala Asn Ala Leu Met Ser Lys Ala Thr Arg Gln Tyr Lys Asp

[0322] 85 90 95

[0323] Arg Glu Glu Thr Gly Asn Gly Ser Thr Ser Trp Thr Pro Ala Gly Trp

[0324] 100 105 110

[0325] His Gln Val Lys Asn Leu Lys Gly Thr Tyr Asn His Ala Val Asp Arg

[0326] 115 120 125

[0327] Gly His Leu Leu Gly Tyr Ala Leu Ile Gly Gly Leu Asp Gly Phe Asp

[0328] 130 135 140

[0329] Ala Ser Thr Ser Asn Pro Lys Asn Ile Ala Val Gln Thr Ala Trp Ala

[0330] 145 150 155 160

[0331] Asn Gln Ala Arg Ala Glu Asp Ser Thr Gly Gln Asn Tyr Tyr Glu Ser

[0332] 165 170 175

[0333] Leu Val Arg Lys Ala Leu Asp Gln Asn Lys Arg Val Arg Tyr Arg Val

[0334] 180 185 190

[0335] Thr Leu Leu Tyr Ala Thr Glu Glu Asp Leu Val Pro Ser Ala Ser Gln

[0336] 195 200 205

[0337] Ile Glu Ala Lys Ser Ser Asp Gly Glu Leu Glu Phe Asn Val Val Val

[0338] 210 215 220

[0339] Pro Asn Val Gln Lys Gly Ile Gln Leu Asp Tyr Arg Thr Gly Lys Val

[0340] 225 230 235 240

[0341] Thr Val Thr Lys Asn

[0342] 245

[0343] <210> 12

[0344] <211> 110

[0345] <212> PRT

[0346] <213> 芽孢杆菌属物种-62599

[0347] <400> 12

[0348] Ala Ser Ser Tyr Asp Ala Thr Leu Thr Phe Pro Ser Asp Lys Tyr Pro

[0349] 1 5 10 15

[0350] Tyr Thr Ala Asp His Ile Arg Asp Ala Ile Ala Ala Gly Gln Ser Ser

[0351] 20 25 30

[0352] Ile Cys Thr Ile Asp Arg Asp Gly Ala Glu Gln Asn Arg Glu Glu Ser

[0353] 35 40 45

[0354] Leu Arg Gly Ile Pro Thr Lys Lys Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro

[0355] 50 55 60

[0356] Met Ala Met Cys Glu Glu Gly Gly Ala Gly Ala Asp Val Arg Tyr Val

[0357] 65 70 75 80

[0358] Pro Ser Ser Asp Asn Arg Gly Ser Gly Ala Trp Val Gly Asn Gln Leu

[0359] 85 90 95

[0360] Ser Lys Tyr Pro Asp Gly Thr Arg Val Lys Phe Tyr Val Pro

[0361] 100 105 110

[0362] <210> 13

[0363] <211> 251

[0364] <212> PRT

[0365] <213> 秋叶氏芽孢杆菌

[0366] <400> 13

[0367] Ser Thr Asp Glu Asn Lys Glu Asp Ile Leu Ile Glu Thr Ser Ser Ala

[0368] 1 5 10 15

[0369] Val Glu Thr Asp Glu Val Glu Val Asp Glu Gln Glu His Lys Glu Glu

[0370] 20 25 30

[0371] Ser Pro Glu Glu Ser Asn Gly Thr Phe Ile Gln Ala Thr Val Val Arg

[0372] 35 40 45

[0373] Val Val Asp Gly Asp Thr Val Ile Val Lys Leu Pro Asn Asn Thr Glu

[0374] 50 55 60

[0375] Glu Arg Val Arg Leu Leu Leu Ile Asp Thr Pro Glu Ser Val His Pro

[0376] 65 70 75 80

[0377] Thr Lys Pro Val Gln Pro Phe Gly Leu Glu Ala Ser Glu Phe Ala Lys

[0378] 85 90 95

[0379] Glu Leu Met Tyr Pro Gly Lys Thr Val Glu Leu Glu Leu Asp Ile Asn

[0380] 100 105 110

[0381] Glu Arg Asp Arg Tyr Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Val Trp Ile Gly Asp

[0382] 115 120 125

[0383] Glu Met Leu Asn Glu Leu Leu Leu Glu Asn Gly Leu Ala Arg Val Ala

[0384] 130 135 140

[0385] Tyr Ile Phe Ala Pro Asn Thr Arg His Val Asp Arg Phe Tyr Glu Ile

[0386] 145 150 155 160

[0387] Gln Lys Lys Ala Gln Gln Gln Ala Ile Gly Ile Trp Ser Ile Glu Asn

[0388] 165 170 175

[0389] Tyr Ala Thr Glu Gly Gly Phe Ala Glu Glu Val Asp Leu Glu Lys Gln

[0390] 180 185 190

[0391] Glu Pro Ser Lys Leu Ala Asn Ala Cys Asp Asp Pro Lys Ile Lys Gly

[0392] 195 200 205

[0393] Asn His Ser Ser Ser Gly Asp Leu Ile Tyr His Ile Pro Gly Gly Gln

[0394] 210 215 220

[0395] Tyr Tyr Glu Lys Thr Asn Pro Glu Glu Met Phe Cys Thr Glu Glu Glu

[0396] 225 230 235 240

[0397] Ala Lys Glu Ala Gly Tyr Arg Lys Ser Met Arg

[0398] 245 250

[0399] <210> 14

[0400] <211> 125

[0401] <212> PRT

[0402] <213> Paenibacillus xylanexedens

[0403] <400> 14

[0404] Gly Gly Glu Trp Pro Glu Glu Ile Pro Asn Pro Phe Gly Gly Thr Asn

[0405] 1 5 10 15

[0406] Lys Ser Val Asp His Thr Ile Thr Phe Pro Ser Glu Arg Tyr Pro Glu

[0407] 20 25 30

[0408] Thr Ala Lys His Ile Lys Ala Ala Ile Lys Ala Gly His Ser Asp Val

[0409] 35 40 45

[0410] Cys Thr Ile Asp Arg Asn Gly Ala Glu Gly Asn Arg Asp Leu Ser Leu

[0411] 50 55 60

[0412] Lys Gly Val Pro Val Lys Lys Gly Lys Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met

[0413] 65 70 75 80

[0414] Ala Met Cys Ala Glu Gly Gly Thr Gly Ala Asp Ile Gln Tyr Ile Thr

[0415] 85 90 95

[0416] Pro Lys Asp Asn Arg Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Gln Leu Ser

[0417] 100 105 110

[0418] Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Arg Val Lys Phe Val Val Lys

[0419] 115 120 125

[0420] <210> 15

[0421] <211> 182

[0422] <212> PRT

[0423] <213> 虚构芽孢杆菌属物种-62719

[0424] <400> 15

[0425] Leu Pro Pro Gly Thr Pro Thr Lys Ser Ala Ala Gln Ser Gln Leu Asn

[0426] 1 5 10 15

[0427] Ala Leu Val Val Lys Thr Glu Gly Thr Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp

[0428] 20 25 30

[0429] Leu Phe Pro His Trp Ser Ser Gln Gly Gly Gly Cys Asp Thr Arg Gln
[0430] 35 40 45
[0431] Val Val Leu Lys Arg Asp Ala Asp Ser Phe Ser Gly Asn Cys Pro Val
[0432] 50 55 60
[0433] Thr Ser Gly Ser Trp Tyr Ser Tyr Tyr Asp Gly Ile Thr Ile Thr Asn
[0434] 65 70 75 80
[0435] Pro Ser Asp Leu Asp Ile Asp His Val Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp
[0436] 85 90 95
[0437] Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Thr Asp Arg Arg Glu Ala Phe Ala
[0438] 100 105 110
[0439] Asn Asp Leu Thr Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Thr Ala Ser Ser Asn
[0440] 115 120 125
[0441] Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Lys Pro Thr Arg Thr
[0442] 130 135 140
[0443] Ala Ala Gly Cys Gly Tyr Ala Lys Trp Trp Ile Gln Thr Lys Tyr Asn
[0444] 145 150 155 160
[0445] Trp Gly Leu Asn Leu Gln Ser Ala Glu Lys Thr Ser Leu Gln Ser Met
[0446] 165 170 175
[0447] Leu Asn Thr Cys Thr Tyr
[0448] 180
[0449] <210> 16
[0450] <211> 182
[0451] <212> PRT
[0452] <213> 居藻芽孢杆菌
[0453] <400> 16
[0454] Phe Pro Pro Gly Thr Pro Ser Lys Ser Glu Ala Gln Ser Gln Leu Asn
[0455] 1 5 10 15
[0456] Ser Leu Thr Val Gln Ser Glu Gly Ser Met Ser Gly Tyr Ser Arg Asp
[0457] 20 25 30
[0458] Lys Phe Pro His Trp Ile Gly Gln Gly Asn Gly Cys Asp Thr Arg Gln
[0459] 35 40 45
[0460] Leu Val Leu Gln Arg Asp Ala Asp Tyr Tyr Ser Gly Asp Cys Pro Val
[0461] 50 55 60
[0462] Thr Ser Gly Lys Trp Tyr Ser Tyr Phe Asp Gly Val Thr Val Tyr Asp
[0463] 65 70 75 80
[0464] Pro Ser Asp Leu Asp Ile Asp His Met Val Pro Met Ala Glu Ala Trp
[0465] 85 90 95
[0466] Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Ser Thr Gln Lys Arg Glu Asp Phe Ala
[0467] 100 105 110

[0468] Asn Asp Leu Ser Gly Pro His Leu Ile Ala Val Thr Ala Ser Ser Asn
[0469] 115 120 125
[0470] Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Lys Pro Thr Arg Tyr
[0471] 130 135 140
[0472] Gly Ala His Cys Gly Tyr Ala Lys Trp Trp Ile Asn Thr Lys Tyr Val
[0473] 145 150 155 160
[0474] Tyr Asp Leu Thr Leu Gln Ser Ser Glu Lys Thr Glu Leu Gln Ser Met
[0475] 165 170 175
[0476] Leu Asn Thr Cys Ser Tyr
[0477] 180
[0478] <210> 17
[0479] <211> 182
[0480] <212> PRT
[0481] <213> 微小杆菌属物种NG55
[0482] <400> 17
[0483] Phe Pro Pro Asn Ile Pro Ser Lys Ala Asp Ala Leu Thr Lys Leu Asn
[0484] 1 5 10 15
[0485] Ala Leu Thr Val Lys Asn Glu Gly Ser Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp
[0486] 20 25 30
[0487] Ile Phe Pro His Trp Ser Ser Gln Gly Ser Gly Cys Asn Thr Arg His
[0488] 35 40 45
[0489] Ile Val Leu Lys Arg Asp Ala Asp Ser Val Val Asp Gln Cys Pro Val
[0490] 50 55 60
[0491] Thr Thr Gly Ser Trp Tyr Ser Tyr Tyr Asp Gly Leu Thr Phe Thr Ser
[0492] 65 70 75 80
[0493] Ala Ser Asp Ile Asp Ile Asp His Val Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp
[0494] 85 90 95
[0495] Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Thr Thr Lys Arg Gln Ser Phe Ala
[0496] 100 105 110
[0497] Asn Asp Leu Asn Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Ser Ala Ser Ser Asn
[0498] 115 120 125
[0499] Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Gln Pro Pro Arg Thr
[0500] 130 135 140
[0501] Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Ala Lys Met Trp Val Glu Thr Lys Ser Arg
[0502] 145 150 155 160
[0503] Trp Gly Leu Ser Leu Gln Ser Ala Glu Lys Ser Ala Leu Thr Thr Ala
[0504] 165 170 175
[0505] Ile Asn Ala Cys Ser Tyr
[0506] 180

[0507] <210> 18

[0508] <211> 182

[0509] <212> PRT

[0510] <213> 来自环境样品J的宏基因组

[0511] <400> 18

[0512] Leu Pro Pro Asn Ile Pro Ser Lys Ala Asp Ala Leu Thr Lys Leu Asn

[0513] 1 5 10 15

[0514] Ala Leu Thr Val Gln Thr Glu Gly Pro Met Thr Gly Tyr Ser Arg Asp

[0515] 20 25 30

[0516] Leu Phe Pro His Trp Ser Ser Gln Gly Asn Gly Cys Asn Thr Arg His

[0517] 35 40 45

[0518] Val Val Leu Lys Arg Asp Ala Asp Ser Val Val Asp Thr Cys Pro Val

[0519] 50 55 60

[0520] Thr Thr Gly Arg Trp Tyr Ser Tyr Tyr Asp Gly Leu Val Phe Thr Ser

[0521] 65 70 75 80

[0522] Ala Ser Asp Ile Asp Ile Asp His Val Val Pro Leu Ala Glu Ala Trp

[0523] 85 90 95

[0524] Arg Ser Gly Ala Ser Ser Trp Thr Ser Thr Lys Arg Gln Ser Phe Ala

[0525] 100 105 110

[0526] Asn Asp Leu Asn Gly Pro Gln Leu Ile Ala Val Ser Ala Thr Ser Asn

[0527] 115 120 125

[0528] Arg Ser Lys Gly Asp Gln Asp Pro Ser Thr Trp Gln Pro Pro Arg Ala

[0529] 130 135 140

[0530] Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Ala Lys Met Trp Val Glu Thr Lys Ser Arg

[0531] 145 150 155 160

[0532] Trp Gly Leu Thr Leu Gln Ser Ser Glu Lys Ala Ala Leu Gln Thr Ala

[0533] 165 170 175

[0534] Ile Asn Ala Cys Ser Tyr

[0535] 180

[0536] <210> 19

[0537] <211> 216

[0538] <212> PRT

[0539] <213> Streptomyces thermoalcalitolerans

[0540] <400> 19

[0541] Cys Thr Glu Asp Thr Gly Gly Pro Gly Thr Pro Glu Lys Thr Ala Ala

[0542] 1 5 10 15

[0543] Gly Ala Ala Leu Ala Ala Val Glu Glu Leu Pro Val Lys Gly Arg Ala

[0544] 20 25 30

[0545] Pro Lys Thr Gly Tyr Glu Arg Glu Lys Phe Gly Arg Ala Trp Ala Asp

[0546] 35 40 45

[0547] Thr Asp Ser Asn Gly Cys Arg Thr Arg Asp Asp Ile Leu Lys Arg Asp

[0548] 50 55 60

[0549] Leu Glu Gln Val Arg Phe Thr Asp Gly Thr Cys Lys Val Ser Tyr Gly

[0550] 65 70 75 80

[0551] Val Leu Ala Ser Asp Pro Tyr Ser Gly Lys Glu Ile Val Phe Arg Arg

[0552] 85 90 95

[0553] Gly His Ser Gln Ile Asp Ile Asp His Val Val Ala Leu Ser Asp Ala

[0554] 100 105 110

[0555] Trp Gln Lys Gly Ala Lys Tyr Trp Asp Ala Ser Lys Arg Ile Ala Leu

[0556] 115 120 125

[0557] Ala Asn Asp Pro Leu Asn Leu Leu Ala Val Asp Ala Arg Thr Asn Arg

[0558] 130 135 140

[0559] Ala Lys Gly Asp Gly Asp Thr Ala Thr Trp Leu Pro Pro Asn Lys Ala

[0560] 145 150 155 160

[0561] Tyr Arg Cys Gln Tyr Val Ala Arg Gln Val Ala Val Lys Lys Lys Tyr

[0562] 165 170 175

[0563] Glu Leu Trp Val Thr Ala Ala Glu Lys Ala Ala Met Lys Arg Val Leu

[0564] 180 185 190

[0565] Ser Thr Cys Pro Asp Gln Lys Leu Pro Ser Gly Gly Thr Pro Thr Lys

[0566] 195 200 205

[0567] Ala Pro Glu Arg Phe Arg Ala Gln

[0568] 210 215

[0569] <210> 20

[0570] <211> 200

[0571] <212> PRT

[0572] <213> 来自环境样品C的宏基因组

[0573] <400> 20

[0574] Ser Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Pro Ile Ser Thr Pro Thr Ser Gly Leu

[0575] 1 5 10 15

[0576] Ala Thr Pro Ala Ser Asp Ala Ser Pro Ser Asp Arg Lys Asp Arg Thr

[0577] 20 25 30

[0578] Asp Tyr Asp Tyr Glu Leu Val Phe Pro Ser Asp Lys Tyr Pro Glu Thr

[0579] 35 40 45

[0580] Ala Leu His Ile His Gly Ala Ile Glu Met Gly Tyr Ser Asp Val Cys

[0581] 50 55 60

[0582] Thr Ile Asp Arg Gly Gly Ala Glu Gln Asn Arg Lys Glu Ser Leu Ala

[0583] 65 70 75 80

[0584] Gly Ile Glu Thr Arg Gln Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala

[0585] 85 90 95

[0586] Met Cys Gly Glu Gly Gly Ala Gly Ala Ser Val Ala Tyr Ile Asp Ala

[0587] 100 105 110

[0588] Gly Asp Asn Arg Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Gln Leu Lys Glu

[0589] 115 120 125

[0590] Tyr Pro Asp Gly Thr Arg Ile Leu Phe Ile Val Asp Lys Pro Ala Asn

[0591] 130 135 140

[0592] Leu Phe Pro Ala Gln Ser Pro Asn Ala Ser Ser Gln Pro Ala Asp Asp

[0593] 145 150 155 160

[0594] Ala Glu Val Tyr Tyr Lys Asn Cys Thr Ala Val Arg Glu Ala Gly Lys

[0595] 165 170 175

[0596] Ala Pro Leu His Lys Gly Glu Pro Gly Tyr Ala Ala His Leu Asp Arg

[0597] 180 185 190

[0598] Asp Gly Asn Gly Val Ala Cys Glu

[0599] 195 200

[0600] <210> 21

[0601] <211> 27

[0602] <212> PRT

[0603] <213> 人工的

[0604] <220>

[0605] <223> 克劳氏芽孢杆菌分泌信号

[0606] <400> 21

[0607] Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile

[0608] 1 5 10 15

[0609] Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala

[0610] 20 25