

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C11D 3/386 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410039977.0

[45] 授权公告日 2007 年 1 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1295313C

[22] 申请日 1998.10.23

[21] 申请号 200410039977.0

分案原申请号 98812610.9

[30] 优先权

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956323

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956564

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956324

[73] 专利权人 宝洁公司

地址 美国俄亥俄州

共同专利权人 詹伦卡国际有限公司

[72] 发明人 C·K·高希 A·C·贝克

R·奥塔尼 A·布施

M·S·肖维尔 V·彻伦伯格

小 J·T·凯利斯 C·佩斯

J·纳德赫尼 D·P·纳基

K·D·科利尔 R·M·卡德维尔
A·J·普洛瑟

[56] 参考文献

US5679630 A 1997.10.21 C11D7/42

WO9530010A1 1995.11.9 C07H21/04

WO9221760A1 1992.12.10 C07H21/04

WO8906279A 1989.4.13 C07H21/04

WO9628566A2 1996.9.19 C07H21/04

EP0405901 A 1991.1.2 C07H21/04

WO9855634A1 1998.12.10 C07H21/04

审查员 李 伟

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 郭广迅

权利要求书 13 页 说明书 144 页 附图 6 页

[54] 发明名称

含多取代蛋白酶变体的清洗组合物

[57] 摘要

含蛋白酶变体的清洗组合物及其用法, 该组合物所含蛋白酶变体包括解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的相应 103 位点的氨基酸残基被另一种天然氨基酸残基取代, 同时取代的还包括如说明书所述位点处的氨基酸残基, 其中若所述蛋白酶变体包括相应位点 103 和 76 的氨基酸残基取代时, 也同时包括相应下述位点以外的说明书所列位点的氨基酸残基的取代: 27, 99, 101, 104, 107, 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 和 274; 该清洗组合物还含清洗添加剂。另一种清洗组合物含解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的相应 62、212、230、232、252 和 257 位点处被另一种天然氨基酸残基取代的蛋白酶变体, 并含清洗添加剂。

1. 一种织物和/或餐具洗涤和/或硬表面清洗组合物, 包含:
 - (a) 有效量蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括对 1 个或多个对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的 230 和 232 位点处氨基酸残基以另一种天然存在的氨基酸残基进行取代; 以及
 - (b) 1 种或多种清洗添加剂材料。
2. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体由芽胞杆菌属枯草杆菌蛋白酶衍生而来。
3. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体由迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶 309 衍生而来。
4. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体包括对 1 个或多个选自下列位点的氨基酸残基进行取代:
 - (1) 位点 230 以及下列中 1 个或多个位点: 68、103、104、159、232、236 和 245;
 - (2) 位点 232 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 76,

97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;
 - (3) 位点 232 以及下列中 1 个或多个位点: 103、104、236 和 245;
 - (4) 位点 232 和 103 以及下列中 1 个或多个位点: 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275
 - (5) 位点 232 和 104 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,

68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;
 - (6) 位点 232 和 236 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275:

(7) 位点 232 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275:

(8) 位点 232、103、104、236 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205,
209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275.

5. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体包括对选自下列中一组的位点的取代:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
 68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
 68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
 68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;
 68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
 76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
 97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;

98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
 102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
 103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
 103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; 和
 103/104/159/232/236/245/257.

6. 权利要求 5 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体包括对选自下列一组的位点的取代:

12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;

68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; 和
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

7. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述清洗添加剂材料选自下列材料: 表面活性剂、溶剂、缓冲剂、酶、去污剂、去粘土污垢剂、分散剂、增白剂、抑泡剂、织物柔软剂、起泡助剂、酶稳定剂、助洗剂、其他漂白剂、染料、香料、螯合剂及其混合物。

8. 权利要求 7 的清洗组合物, 其中所述清洗添加剂材料包含至少 1 种洗涤表面活性剂。

9. 权利要求 8 的清洗组合物, 其中所述的洗涤表面活性剂是支链表面活性剂。

10. 权利要求 9 的清洗组合物, 其中所述的洗涤表面活性剂是中

链支化的表面活性剂。

11. 权利要求 7 的清洗组合物, 其中清洗添加剂材料包含组合物重量的至少 0.1wt% 表面活性剂, 所述表面活性剂包含选自下列的材料: 烷基苯磺酸盐、伯烷基硫酸盐、仲烷基硫酸盐、烷基烷氧基硫酸盐、烷基烷氧基羧酸盐、烷基聚糖苷以及其相应的硫酸化聚糖苷、 α -磺化脂肪酸酯、烷基及烷基酚的烷氧基化物、甜菜碱及磺基甜菜碱、氧化胺、N-甲基葡糖酰胺、非离子伯醇乙氧基化物、非离子伯醇混合乙氧基/丙氧基化物, 以及上述的混合物。

12. 权利要求 11 的清洗组合物, 还包含至少 5% 助洗剂, 选自沸石、多羧化物、层状硅酸盐、磷酸盐, 及其混合物。

13. 权利要求 7 的清洗组合物, 其中所述清洗添加剂材料包含至少 1 种洗涤酶, 选自纤维素酶、脂酶、淀粉酶、磷脂酶、其他蛋白酶、过氧化物酶, 及其混合物。

14. 权利要求 7 的清洗组合物, 其中所述清洗添加剂材料包含至少 1 种漂白剂, 以及视需要还包含至少 1 种漂白活化剂, 还视需要包含至少 1 种漂白催化剂。

15. 权利要求 14 的清洗组合物, 其中所述的漂白剂选自过碳酸盐、过硼酸盐及其混合物; 所述的漂白活化剂选自苯甲酰氧基苯磺酸盐、壬酰氧基苯磺酸盐、癸酰氧基苯磺酸盐、辛酰氧基苯磺酸盐、全水解酯、4-[N-(壬酰基)氨基己酰氧基]-苯磺酸钠盐、月桂酰氧基苯磺酸盐、10-十一碳烯酰氧基苯磺酸盐以及十二酰氧基苯甲酸及其混合物; 所述的漂白催化剂是丙烷磺酸 3-(3,4-二氢异喹啉鎓)。

16. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述清洗组合物是织物清洗组合物, 包含组合物重量的至少 5% 表面活性剂及至少 5 wt% 助洗剂。

17. 权利要求 16 的清洗组合物, 其中所述的织物清洗组合物为液体、粒状、条块状、片剂、凝胶、粉末或泡沫形式。

18. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述清洗组合物是织物清洗组合物, 包含:

(a) 0.0001%~10 wt% 所述蛋白酶变体; 以及

(b) 至少 5 wt% 表面活性剂; 而且其中助洗剂选自沸石、多羧化物、层状硅酸盐、磷酸盐, 及其混合物; 以及

(c) 至少 5 wt% 助洗剂。

19. 权利要求 18 的清洗组合物, 其中组分(b)的表面活性剂选自烷基苯磺酸盐、伯烷基硫酸盐、仲烷基硫酸盐、烷基烷氧基硫酸盐、烷基烷氧基羧酸盐、烷基聚糖苷以及它们相应的硫酸化聚糖苷、 α -磺化脂肪酸酯、烷基及烷基酚烷氧基化物、甜菜碱及磺基甜菜碱、氧化胺、N-甲基葡糖酰胺、非离子伯醇乙氧基化物、非离子伯醇混合乙氧基/丙氧基化物, 以及上述的混合物; 组分(C)的助洗剂选自沸石、多羧化物、层状硅酸盐、磷酸盐, 及其混合物。

20. 权利要求 18 或 19 的清洗组合物, 为浓缩粒状织物清洗组合物形式, 包含至少 15%表面活性剂。

21. 一种清洁织物的方法, 所述方法包括令需要清洁的织物与权利要求 16-19 中任一项的清洗组合物进行接触。

22. 权利要求 1 的清洗组合物, 其中所述清洗组合物是餐具洗涤组合物, 包含:

(a) 0.0001%~10 wt%所述蛋白酶变体; 以及

(b) 0.1%~10 wt%表面活性剂。

23. 权利要求 22 的清洗组合物, 其中所述的餐具洗涤组合物为液体、粒状、粉末, 凝胶或片剂形式。

24. 一种清洗餐具的方法, 所述方法包括令需要清洗的餐具与权利要求 22 或 23 的清洗组合物进行接触。

25. 一种个人清洗组合物, 包含:

(a) 有效量蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括以另一种天然存在的氨基酸残基对 1 个或多个对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的 230 和 232 位点的氨基酸残基进行取代; 以及

(b) 1 种或多种清洗添加剂材料。

26. 权利要求 25 的个人清洗组合物, 其中所述个人清洗组合物包含:

(a) 0.001%~5wt%所述蛋白酶变体; 和

(b) 0.1%~95 wt%表面活性剂体系; 以及

(c) 视需要含有 0.05%~50 wt%酶稳定剂。

27. 权利要求 26 的个人清洗组合物, 其中所述组分(a)的蛋白酶变体的含量为 0.001~2wt%; 所述组分(b)的表面活性剂体系选自阴离子羧酸盐、氧化胺、烷基葡糖苷、葡糖酰胺、烷基硫酸盐、烷基醚硫

酸盐、酰基羟乙磺酸盐、烷基磺基琥珀酸盐、烷基磷酸酯、乙氧基化磷酸酯、烷基甘油醚磺酸盐，及其混合物。

28. 权利要求 27 的个人清洗组合物，其中所述组分(a)的蛋白酶变体的含量为 0.002%~0.8 wt%，所述组分(b)的表面活性剂体系选自皂类、酰基谷氨酸盐、烷基肌氨酸盐、氧化月桂胺、氧化椰子胺、椰子酰氨基氧化丙胺、癸基葡糖苷、月桂基硫酸盐、月桂基乙基硫酸盐、C₁₂₋₁₈ 酰基羟乙磺酸盐，及其混合物。

29. 权利要求 26-28 中任一项的个人清洗组合物，其中所述表面活性剂是皂，其用量为清洗组合物重量的至少 2%。

30. 权利要求 29 的个人清洗组合物，其中所述表面活性剂的用量为清洗组合物重量的至少 10%。

31. 权利要求 30 的个人清洗组合物，其中所述表面活性剂的用量为清洗组合物重量的至少 25 wt%。

32. 权利要求 29 的个人清洗组合物，其中皂与蛋白酶变体之间的比例为 2,000:1~8:1。

33. 权利要求 32 的个人清洗组合物，其中皂与蛋白酶变体之间的比例为 400:1~40:1。

34. 一种个人清洁方法，所述方法包括令人体或较低级动物身体需要清洗的部分与权利要求 25 的清洗组合物进行接触。

35. 一种预处理需要清洗的织物的方法，所述方法包括在以含表面活性剂的水溶液洗涤所述织物之前，令所述织物与权利要求 16-19 中任一项的清洗组合物接触。

36. 一种织物和/或洗餐具和/或硬表面清洗组合物，含有：

(a) 有效量蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括以另一种天然氨基酸残基，对解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的相应 62、212、230、232、252 和 257 处一个或多个氨基酸位点的氨基酸残基进行取代；其中所述蛋白酶变体包括对选自下列的一个或多个位点处的氨基酸残基的取代：

(1) 位点 62 以及下列中 1 个或多个位点：103, 104, 109, 159, 213, 232, 236, 245, 248 和 252；

(2) 位点 212 以及下列中 1 个或多个位点：12, 98, 102, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 和 252；

(3) 位点 230 以及下列中 1 个或多个位点: 68, 103, 104, 159, 232, 236 和 245;

(4) 位点 232 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 76,
97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230,
236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(5) 位点 232 以及下列中 1 个或多个位点:

103, 104, 236 和 245;

(6) 位点 232 和 103 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(7) 位点 232 和 104 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(8) 位点 232 和 236 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(9) 位点 232 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62,
68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213,
217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(10) 位点 232、103、104、236 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205,
209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 和 275;

(11) 位点 252 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 97,
98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245,
248 和 270;

(12) 位点 252 以及下列中 1 个或多个位点: 103、104、236 及 245;

(13) 位点 252 和 103 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61,
62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232,
236, 245, 248 和 270;

(14) 位点 252 和 104 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61,
62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232,
236, 245, 248 和 270;

(15) 位点 252 和 236 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61,
62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232,
236, 245, 248 和 270;

(16) 位点 252 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61,
62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232,
236, 245, 248 和 270;

(17) 位点 252、103、104、236 和 245 以及下列中 1 个或多个位点:

12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210,
212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 和 270;

(18) 位点 257 以及下列中 1 个或多个位点: 68, 103, 104, 205,

209, 210, 232, 236, 245 和 275。

37. 一种织物和/或洗餐具和/或硬表面清洗组合物, 含有:

(a) 有效量蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括以另一种天然氨基酸残基, 对解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的相应 62、212、230、232、252 和 257 处一个或多个氨基酸位点的氨基酸残基进行取代; 其中所述蛋白酶变体包括选自下列的各组取代:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;	61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252;	62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252;	62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;	
68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;	
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252;	68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252;	68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245;	68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275;	68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252;	68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245;	68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245;	68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245;	68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245;	68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260;	68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252;	68/103/104/232/236/245/257/275;
68/103/104/159/213/232/236/245;	76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260;	76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
97/103/104/159/232/236/245/248/252;	98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;	101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252;	103/104/159/232/236/245;
103/104/159/248/252/270;	103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257	103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257;	103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252;	103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252;	103/104/159/205/209/232/236/245; 和
103/104/159/232/236/245/257.	

38. 权利要求 37 的清洗组合物, 其中所述蛋白酶变体包括选自下列的各组取代:

12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;

68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210L/232V/236H/245R/257V; 和
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

含多取代蛋白酶变体的清洗组合物

本申请是申请日为 1998 年 10 月 23 日、申请号为 98812610.9 的专利申请的分案申请。

本发明领域

本发明涉及包含 1 种或多种多取代蛋白酶变体和 1 种或多种清洁添加剂材料的清洗组合物。更具体地说,本发明涉及包含 1 种或多种多取代蛋白酶变体和 1 种或多种清洁添加剂材料的衣物洗涤剂组合物、餐具洗涤剂组合物、硬表面清洗组合物及个人清洗组合物。

本发明背景

各种类型的酶被用于衣物洗涤剂中以促进某些污渍从织物上的脱除。每一类酶(淀粉酶、蛋白酶等)通常能催化特定的化学反应。比如,蛋白酶以其水解(使化合物分解为 2 种或更多种更简单的化合物)其他蛋白(质)的能力而著称。此种能力一直是通过将天然存在或制造的蛋白酶加入到衣物洗涤剂组合物中而加以利用的。

近年来,人们还研究了各种酶在自动餐具洗涤组合物中的应用。遗憾的是,许多酶,例如许多传统蛋白酶,不能很好地转译为洗涤环境。具体地说,需要对热稳定性、pH 稳定性、氧化稳定性及底物特异性进行优化才能获得满意的效果。

授予 Estell 等人的美国专利 RE34,606 公开了枯草杆菌蛋白酶氨基酸残基的改性,这些残基对应于解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)枯草杆菌蛋白酶中的下列位置:酪氨酸-1、天冬氨酸+32、天冬酰胺+155、酪氨酸+104、甲硫氨酸+222、甘氨酸+166、组氨酸+64、甘氨酸+169、苯丙氨酸+189、丝氨酸+33、丝氨酸+221、酪氨酸+217、谷氨酸+156 及丙氨酸+152。

美国专利 5,182,204 公开了对解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶中氨基酸+224 残基的改性,以及对可通过取代、插入或缺失实现其他枯草杆菌蛋白酶中相同位置(残基)上的改性,此种改性物还可配合着实施对美国专利 RE34,606 中指出的各种残基的改性,最终形成有用的枯草杆菌蛋白酶突变体或变体。美国专利 5,182,204 还公开了对枯草杆菌蛋白酶中多种氨基酸残基的改性,这些残基具体地包括 +99、+101、+103、107、+126、+128、+135、+197 和 +204。

美国专利 5,155,033 公开了类似的突变体枯草杆菌蛋白酶,它们

在与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的+225 等同的位置进行了改性。

美国专利 5,185,258 和 5,204,015 公开了类似的突变体枯草杆菌蛋白酶，它们在位点+123 和/或+274 进行了改性。

美国专利 4,914,031 公开了某种枯草杆菌蛋白酶类似物，包括在位点+76 改性的枯草杆菌蛋白酶。

授予 Baeck 等人的美国专利 5,679,630 公开了一种包含蛋白酶变体的清洗组合物，该变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 76 并结合在 1 个或多个下列位点用其他氨基酸残基对(原来)氨基酸残基进行的取代:99、101、103、104、107、123、27、105、109、126、128、135、156、166、195、197、204、206、210、216、217、218、222、260、265 和/或 274；以及 1 种或多种清洗组合物材料。

然而，目前依然存在着对于当用于洗涤剂及清洗组合物中时能改善和强化清洁能力的蛋白酶，特别是丝氨酸蛋白酶。

而且，本申请中要求保护的特异性组合乃是任何先有技术文献中从未提到的。

本发明概述

本发明满足了上述要求：现已惊奇地发现，本发明的多取代蛋白酶变体当用于清洗组合物中时可改善并强化清洁能力，包括但不限于，在污渍和/或污垢的脱除和/或减少，和/或保持白度和/或污渍的清除和/或色斑和/或膜状物的脱除和/或减少上，均优于传统含蛋白酶清洗组合物。

本发明的多取代蛋白酶变体适用于高及低密度粒状、重垢型及轻垢型液态、片剂以及合成洗涤剂条(块)状组合物，乃至其他清洗组合物。

本发明一个方面提供一种清洗组合物，包含：

(a)蛋白酶变体，优选有效数量蛋白酶变体，更优选占清洗组合物重量的约 0.0001 ~ 约 10% 的蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的氨基酸残基位点 103 用另一种天然存在的氨基酸残基取代其氨基酸残基，并结合在解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶 1 个或多个下列氨基酸残基位点用另一

天然存在的氨基酸残基取代其氨基酸残基:

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 及 275

其中当所述蛋白酶变体包括对应于位点 103 及 76 上的氨基酸残基取代时, 则还存在 1 个或多个除对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的氨基酸残基位点 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 以外的氨基酸残基位点上的氨基酸残基取代; 以及

(b) 1 种或多种清洁添加剂材料。

本发明另一个方面提供一种织物清洗组合物, 包含:

(a) 蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占织物清洗组合物的约 0.0001 ~ 约 10 wt% 蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体如同上面所述; 以及

(b) 占织物清洗组合物的至少约 5 wt% 表面活性剂; 以及

(c) 占织物清洗组合物的至少约 5 wt% 助洗剂。

本发明又一个方面提供一种清洁需要清洁的织物的方法, 包括令织物与本发明的织物清洗组合物进行接触。

本发明又一个方面提供一种餐具洗涤组合物, 包含:

(a) 蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占餐具洗涤组合物的约 0.0001 ~ 约 10 wt% 蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体如同上面所述; 以及

(b) 约 0.1% ~ 约 10 wt% 表面活性剂。

本发明又一个方面提供一种清洁需要清洁的餐具的方法, 包括令餐具与本发明的餐具洗涤组合物进行接触。

本发明又一个方面提供一种个人清洗组合物, 包括:

(a) 蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占个人清洗

组合物的约 0.001 ~ 约 5 wt%蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体如同上面所述; 以及

(b)占个人清洗组合物的约 0.1% ~ 约 95 wt%表面活性剂体系; 以及

(c)任选地, 占个人清洗组合物的约 0.05% ~ 约 50 wt%酶稳定剂。

本发明又一个方面提供一种清洁人体或较低级动物身体需清洁部分的方法, 包括令该部分与本发明的个人清洗组合物进行接触。

本发明又一个方面提供一种清洗组合物, 包含:

(a)蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占清洗组合物的约 0.0001 ~ 约 10 wt%蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 62、212、230、232、252 及 257 中 1 个或多个氨基酸残基位点用另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基; 以及

(b)1 种或多种清洁添加剂材料。

本发明另一个方面提供一种织物清洗组合物, 包含:

(a)蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占织物清洗组合物的约 0.0001 ~ 约 10 wt%蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 62、212、230、232、252 及 257 中 1 个或多个氨基酸残基位点用另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基; 以及

(b)占织物清洗组合物的至少约 5 wt%表面活性剂; 以及

(c)占织物清洗组合物的至少约 5 wt%助洗剂。

本发明又一个方面提供一种清洁需要清洁的织物的方法, 包括令织物与本发明的织物清洗组合物进行接触。

本发明又一个方面提供一种餐具洗涤组合物, 包含:

(a)蛋白酶变体, 优选有效数量蛋白酶变体, 更优选占餐具洗涤组合物的约 0.0001 ~ 约 10 wt%蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 62、212、230、232、252 及 257 中 1 个或多个氨基酸残基位点用另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基; 以及

(b)占餐具洗涤组合物的约 0.1% ~ 约 10 wt%表面活性剂。

本发明又一个方面提供一种清洁需要清洁的餐具的方法，包括令餐具与本发明的餐具洗涤组合物进行接触。

本发明又一个方面提供一种个人洗漱组合物，包括：

(a)蛋白酶变体，优选有效数量蛋白酶变体，更优选占个人洗漱组合物的约 0.001 ~ 约 5 wt%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 62、212、230、232、252 及 257 中 1 个或多个氨基酸残基位点用另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基；以及

(b)占个人洗漱组合物的约 0.1% ~ 约 95 wt%表面活性剂体系；以及

(c)任选地，占个人洗漱组合物的约 0.05% ~ 约 50 wt%任选的酶稳定剂。

本发明又一个方面提供一种清洁人体或较低级动物身体需洗漱部分的方法，包括令该部分与本发明的个人洗漱组合物进行接触。

综上所述，本发明的一个目的是提供清洗组合物，它包含能改善并强化织物、餐具、餐桌用具、厨房用具、炊具及其他硬表面清洁效果的蛋白酶变体。本发明另一个目的是提供采用本发明含蛋白酶变体的清洗组合物来清洗织物、餐具、餐桌用具、厨房用具、炊具及其他硬表面的方法。

以上以及其他目的、特征及优点在研读了下面的详细描述、实施例及所附权利要求之后将变得更加清楚。

本文所使用的所有百分率、比值和比例均以重量为基准，除非另行指明。

附图简述

图 1A ~ C 描绘出解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的 DNA 和氨基酸序列以及此种基因的局部限制图。

图 2 描绘出来自解淀粉芽胞杆菌(BPN)'及迟缓芽胞杆菌(*Bacillus lentus*) (野生型)的枯草杆菌蛋白酶之间的保守氨基酸残基。

图 3A 和 3B 描绘出 4 种枯草杆菌蛋白酶的氨基酸序列。顶部的一行代表来自解淀粉芽胞杆菌的枯草杆菌蛋白酶(有时亦称作枯草杆菌蛋白酶 BPN')的氨基酸序列。第 2 行描绘出来自枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)的枯草杆菌蛋白酶的氨基酸序列。第 3 行描绘出

来自地衣芽胞杆菌 (*B. Licheniformis*) 的枯草杆菌蛋白酶的氨基酸序列。第 4 行描绘出来自迟缓芽胞杆菌的枯草杆菌蛋白酶(在 PCT WO89/06276 中亦称作枯草杆菌蛋白酶 309)的氨基酸序列。符号*表示与枯草杆菌蛋白酶 BPN'相比, 不存在的特异氨基酸残基。

本发明详述

蛋白酶-蛋白酶是通常会导致蛋白或肽的肽键发生断裂的羧基水解酶。本文所使用的术语“蛋白酶”是指天然存在的蛋白酶或重组蛋白酶。天然存在的蛋白酶包括 α -氨基肽基肽水解酶、肽基氨基酸水解酶、酰氨基水解酶、丝氨酸羧肽酶、金属羧肽酶、硫醇蛋白酶、羧基蛋白酶及金属蛋白酶。丝氨酸、金属、硫醇及酸型蛋白酶, 乃至内切及外切-蛋白酶, 一律包括在内。

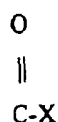
本发明包括的非天然存在的蛋白酶是这样一类羧基水解酶变体(蛋白酶变体), 它具有的蛋白水解活性、稳定性、底物特异性、pH 特性曲线和/或性能特征不同于衍生出该变体氨基酸序列的前体羧基水解酶。具体地说, 此类蛋白酶变体所具有的氨基酸序列在自然界中不存在, 它是通过以不同的氨基酸取代前体蛋白酶的多个氨基酸残基而衍生的。前体蛋白酶可以是天然存在的或者是重组蛋白酶。前面已经提到, 这些蛋白酶变体被设计成具备类似胰蛋白酶的专一性并优选对漂白保持稳定。

这里有用的蛋白酶变体涵盖: 19 种天然存在的 L-氨基酸中任何一种在指定氨基酸残基位点发生了取代。

此种取代可在任何前体枯草杆菌蛋白酶(原核/真核/哺乳动物类等)中实施。在本申请全文中, 各种氨基酸采用其常用的 1-和 3-字母代码来称呼。此种代码可见诸于 Dale. M.W.(1989), 《细菌分子遗传学》, John Wiley & Sons 公司, 附录 B。

这里有用的蛋白酶变体优选由芽胞杆菌属枯草杆菌蛋白酶衍生而来。更优选的是, 这些蛋白酶变体由迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶和/或枯草杆菌蛋白酶 309 衍生而来。

羧基水解酶-羧基水解酶是能水解含



键的化合物的蛋白酶，其中 X 是氧或氮。它们包括天然存在的羧基水解酶和重组羧基水解酶。天然存在的羧基水解酶主要包括诸如肽水解酶之类的水解酶，如枯草杆菌蛋白酶或金属蛋白酶。肽水解酶包括 α -氨基肽基肽水解酶、酰氨基水解酶、丝氨酸羧肽酶、金属羧肽酶、硫醇蛋白酶、羧基蛋白酶及金属蛋白酶。丝氨酸、金属、硫醇及酸型蛋白酶的，乃至内切及肽外切蛋白酶均包括在内。

枯草杆菌蛋白酶-枯草杆菌蛋白酶是通常能使蛋白或肽的肽基断裂的细菌和真菌类蛋白酶。本文所使用的术语“枯草杆菌蛋白酶”是指天然存在的枯草杆菌蛋白酶或重组枯草杆菌蛋白酶。已知有一系列天然存在的枯草杆菌蛋白酶可由各种各样微生物种产生，常常是分泌出来。这一系列当中，各个成员的氨基酸序列不完全是同源的。然而，这系列中的枯草杆菌蛋白酶却表现出相同或相近类型的蛋白水解活性。这类丝氨酸蛋白酶具有相同的氨基酸序列，该序列确定了使其区别于与胰凝乳蛋白酶相关的一类丝氨酸蛋白酶的催化三分体。与枯草杆菌蛋白酶和胰凝乳蛋白酶相关的丝氨酸蛋白酶都具有包含天冬氨酸、组氨酸及丝氨酸的催化三分体。在枯草杆菌蛋白酶相关的蛋白酶中，这些氨基酸的相对序列，当从氨基末端读到羧基末端时，为天冬氨酸-组氨酸-丝氨酸。然而在胰凝乳蛋白酶相关的蛋白酶中，该相对序列则是组氨酸-天冬氨酸-丝氨酸。因此本文的枯草杆菌蛋白酶是指具有枯草杆菌蛋白酶系催化三分体的丝氨酸蛋白酶。例子包括但不限于，本文图 3 中给出的枯草杆菌蛋白酶。一般地且就本发明目的而言，蛋白酶中的氨基酸编号与图 1 中给出的成熟解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶序列的指定代号相对应。

蛋白酶变体-蛋白酶变体具有由其“前体蛋白酶”氨基酸序列衍生的氨基酸序列。前体蛋白酶包括天然存在和重组的蛋白酶。蛋白酶变体的氨基酸序列是通过 1 个或多个前体氨基酸序列的氨基酸实施取代、缺失或插入，由前体蛋白酶氨基酸序列“衍生”而来。这样的改性是针对编码前体蛋白酶氨基酸序列的“前体 NDA 序列”

所做的改变，而不是对前体蛋白酶本身所做的改变。对前体 DNA 序列实施此种改变的适当方法包括本文所公开的方法，以及本领域技术人员熟知的方法(例如参见，EP 0328 299、WO 89/06279 及本文已援引的美国专利和申请)。

在优选的实施方案中，可用在本发明清洗组合物中作为蛋白酶的蛋白酶变体包含：一种蛋白酶变体，它涵盖在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 103 的氨基酸残基位点用另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基，并另外在 1 个或多个对应于解淀粉芽胞杆菌下列位点的氨基酸残基位点以另一种天然存在的氨基酸残基取代氨基酸残基：

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 及 275。

其中当所述蛋白酶变体包括对应于位点 103 及 76 的氨基酸残基的取代时，则还存在 1 个或多个除对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的氨基酸残基位点 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 以外的氨基酸残基位点上的氨基酸残基取代；以及 1 种或多种清洁添加剂材料。

虽然可采取以上所列举的氨基酸取代的任意组合，但用作本发明的优选蛋白酶变体酶则包括按下列组合的氨基酸残基取代、缺失或插入：

(1)包括对位点 103 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体：236 及 245；

(2)包括对位点 103 及 236 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体：

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230, 232,
248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(3)包括对位点 103 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 104, 109, 130, 131, 159, 170, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 222,
230, 232, 248, 252, 257, 260, 261, 270 及 275;

以及

(4)包括对位点 103 及 236 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98,
101, 102, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 211, 212, 213, 215, 217, 230,
232, 243, 248, 252, 257, 260, 270 及 275.

可用于本发明清洗组合物的更优选的蛋白酶变体包括选自下表的取代组(在下表I中每一行对应于一个取代组)的取代:

表 1

76	98	103	104									
76	78	103	104									
76	103	104	107									
4	76	103	104									

76	103	104	246										
76	77	103	104										
76	103	104	183	218									
16	76	103	104	248									
1	76	103	104										
76	103	104	261										
76	103	104	160										
76	103	104	216										
17	76	103	104										
37	76	103	104										
76	77	103	104	174									
38	76	103	104										
38	76	103	104	237									
8	76	103	104										
76	103	104	183										
19	76	103	104										
13	76	103	104										
19	76	103	104										
76	103	104	184										
76	103	104	252										
76	103	104	259										
76	103	104	251										
76	86	103	104										
72	76	103	104	185									
76	103	104	237	274									
76	103	104	160										
76	103	104	228										
55	76	103	104	240									
76	103	104	254										
76	103	104	204										
76	103	104	204										
43	76	103	104										

76	103	104	159									
10	76	103	104	177								
58	76	103	104									
76	103	104	270									
76	103	104	185									
27	76	103	104									
76	103	104	262									
76	78	103	104									
24	76	103	104									
76	103	104	166	236	251							
17	76	103	104	237								
76	103	104	130									
76	103	104	109									
76	99	103	104	204								
76	103	104	181									
12	76	103	104									
76	103	104	212	271								
76	103	104	252	261								
76	103	104	242									
76	103	104	271									
12	76	103	104	242								
43	76	103	104	116	183							
76	103	104	258									
76	103	104	271									
61	76	103	104									
38	76	103	104	182	263							
76	103	104	182	272								
76	103	104	109	246								
76	87	103	104	206	249	265						
76	103	104	137	238	271							
103	104	228										
76	103	104	182	198								

21	76	103	104	182								
76	103	104	119	137								
76	103	104	137	248								
13	76	103	104	206								
76	103	104	206									
76	103	104	212	258								
58	76	103	104	271								
76	103	104	206	261								
4	76	103	104	206								
76	77	103	104	206								
76	103	104	158									
76	103	104	206									
4	76	103	104	159	217	251						
4	76	103	104	159	217	252						
76	77	103	104	133	185	251						
76	103	104	159	206	244							
4	76	103	104	188								
4	76	103	104	158								
76	77	103	104	185								
76	103	104	206	251								
48	76	103	104	111	159							
68	76	103	104	159	236							
42	76	103	104	159								
12	62	76	103	104	159							
42	76	103	104	159								
76	103	104	146	159								
76	103	104	159	238								
76	103	104	159	224								
76	103	104	212	268	271							
76	89	103	104									
76	87	103	104	212	271							
76	103	104	212	245	271							

76	103	104	134	141	212	271						
76	103	104	212	236	243	271						
76	103	104	109	245								
76	103	104	109	210								
20	62	76	103	104								
68	76	103	104	236								
68	76	103	104	159	236	271						
68	76	103	104	159	236	245						
68	76	103	104	159	217	236	271					
17	68	76	103	104								
68	76	103	104									
68	76	103	104	159	236							
68	75	76	103	104	159	236						
68	76	76	103	114	121	159	236	245				
12	68	76	103	104	159	236						
68	76	103	104	159	209	236	253					
68	76	103	104	117	159	184	236					
68	76	103	104	159	236	243						
68	76	103	104	159	236	245						
68	76	103	104	142	159							
68	76	103	104	123	159	236	249					
68	76	103	104	159	236	249						
76	103	104	222	245								
12	76	103	104	222	249							
76	103	104	173	222								
76	103	104	222	263								
21	76	103	104	222	237	263						
76	103	104	109	222								
76	103	104	109	222	271							
61	76	103	104	222								
76	103	104	137	222								
76	103	104	109	222	248							

76	103	104	222	249								
68	76	103	104	159	236	245	261					
68	76	103	104	141	159	236	245	255				
68	76	103	104	159	236	245	247					
68	76	103	104	159	174	204	236	245				
68	76	103	104	159	204	236	245					
68	76	103	104	133	159	218	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	194	203	236	245				
12	76	103	104	222	245							
76	103	104	232	245								
24	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	232	236	245	252					
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
12	76	103	104	222	244	245						
12	76	103	222	210	245							
12	76	103	104	130	222	245						
22	68	76	103	104								
68	76	103	104	184								
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	232	236	245						
68	103	104	140	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245					
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
68	87	103	104	159	232	236	245	252	275			
12	76	103	104	130	222	245	248	262				
12	76	103	104	130	215	222	245					
12	76	103	104	130	222	227	245	262				
12	76	103	104	130	222	245	261					
76	103	104	130	222	245							
12	76	103	104	130	218	222	245	262	269			

12	57	76	103	104	130	222	245	251				
12	76	103	104	130	170	185	222	243	245			
12	76	103	104	130	222	245	268					
12	76	103	104	130	222	210	245					
68	103	104	159	232	236	245	257					
68	103	104	116	159	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
10	68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	203	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	237	245					
68	76	79	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	183	232	236	245					
68	103	104	159	174	206	232	236	245				
68	103	104	159	188	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	98	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	215	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245	257				
76	103	104	232	236	245	257						
68	103	104	159	232	236	245	257	275				
76	103	104	257	275								
68	103	104	159	224	232	236	245	257				
76	103	104	159	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	209	232	236	245				
68	76	103	104	159	211	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245			
68	76	103	104	159	215	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	232	236	245				
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259			

68	76	87	103	104	159	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	232	236	245	261				
76	103	104	232	236	242	245						
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245			
76	103	104	232	236	245							
76	103	104	159	192	232	236	245					
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251			
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272			
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245			
68	76	103	104	159	232	236	245	256				
68	76	103	104	159	206	232	236	245				
27	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245		
61	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	99	159	184	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	185	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	213	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252			

20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	173	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	251	252			
68	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
55	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	257			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	258			
8	68	103	104	159	232	236	245	248	252	269		
68	103	104	116	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	76	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	232	236	245	248	252					
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
18	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	76	101	103	104	159	213	218	232	236	245	260	
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252			
33	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260	
61	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
103	104	159	205	210	232	236	245					
61	68	103	104	130	159	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	133	137	159	232	236	245	248	252	
61	103	104	133	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252			

61	68	103	104	159	160	232	236	245	248	252		
3	61	68	76	103	104	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	159	167	232	236	245	248	252		
97	103	104	159	232	236	245	248	252				
98	103	104	159	232	236	245	248	252				
99	103	104	159	232	236	245	248	252				
101	103	104	159	232	236	245	248	252				
102	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	106	159	232	236	245	248	252				
103	104	109	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	245	248	252	261				
62	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	166	232	236	245	248	252				
103	104	159	217	232	236	245	248	252				
20	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	159	206	217	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
103	104	130	159	232	236	245	248	252				
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
27	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	271		
68	76	103	104	159	209	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	205	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	232	236	245	260			
68	103	104	159	213	232	236	245	260				
76	103	104	159	213	232	236	245	260				
68	103	104	159	209	232	236	245					

68	103	104	159	210	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	103	104	159	126	232	236	245					
68	103	104	159	205	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
103	104	159	230	236	245							
68	103	104	159	232	236	245	260					
103	104	159	232	236	245							
68	103	104	159	174	232	236	245	257				
68	103	104	159	194	232	236	245	257				
68	103	104	159	209	232	236	245	257				
103	104	159	232	236	245	257						
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	261		
68	103	104	159	232	236	245	257	261				
103	104	159	213	232	236	245	260					
103	104	159	210	232	236	245	248	252				
103	104	159	209	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
12	103	104	159	209	213	232	236	245	260			
103	104	209	232	236	245	257						
103	104	159	205	210	213	232	236	245	260			
103	104	159	205	209	232	236	245	260				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245			
103	104	159	205	209	210	232	236	245	257			
103	104	159	205	209	232	236	245	257				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245	260		
103	104	159	205	209	210	232	236	245				
103	104	159	209	210	232	236	245					
103	104	159	205	210	232	236	245					
68	103	104	128	159	232	236	245					
48	103	104	159	230	236	245						
48	68	103	104	159	209	232	236	245				

48	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
48	68	103	104	159	232	236	245	257	261			
102	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
12	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
101	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
102	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	244	245	248	252				
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252	256		
12	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	248	252			
62	103	104	109	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252		
62	101	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252	
103	104	159	232	245	248	252						
103	104	159	230	245								
62	103	104	130	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	130	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	128	159	232	236	245	248	252			
62	101	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
101	103	104	131	159	232	236	245	248	252			

98	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
99	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
76	103	104	167	170	194							
101	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	205	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	230	236	245						
101	103	104	159	194	232	236	245	248	252			
76	101	103	104	159	194	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	230	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	185	206	213	232	236	245	248	252	271

可用于本发明清洗组合物的进一步优选的蛋白酶变体包括选自下表的取代组(在下表II中每一行对应于一个取代组)的取代:

表II

N76D	A98E	S103A	V104I									
N76D	S78T	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	I107V									
V4E	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	I246V									
N76D	N77D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	N183D	N218I								
A16T	N76D	S103A	V104I	N248D								
A1E	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	N261D									
N76D	S103A	V104I	S160T									
N76D	S103A	V104I	S216C									
H17Q	N76D	S103A	V104I									
S37T	N76D	S103A	V104I									
N76D	N77D	S103A	V104I	A174V								
T38S	N76D	S103A	V104I									

T38S	N76D	S103A	V104I	K237Q								
I8V	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	N183D									
R19L	N76D	S103A	V104I									
A13V	N76D	S103A	V104I									
R19C	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	N184D									
N76D	S103A	V104I	N252D									
N76D	S103A	V104I	S259C									
N76D	S103A	V104I	K251T									
N76D	P86S	S103A	V104I									
I72V	N76D	S103A	V104I	N185D								
N76D	S103A	V104I	K237E	T274A								
N76D	S103A	V104I	S160L									
N76D	S103A	V104I	A228V									
P55S	N76D	S103A	V104I	S240T								
N76D	S103A	V104I	A254T									
N76D	S103A	I104N	N204T									
N76D	S103A	V104I	N204D									
N43S	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	G159D									
R10H	N76D	S103A	V104I	V177A								
T58S	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	A270V									
N76D	S103A	V104I	N185D									
K27N	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	L262M									
N76D	S78P	S103A	V104I									
S24P	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	S166G	Q236R	K251R							
H17L	N76D	S103A	V104I	K237E								
N76D	S103A	V104I	S130L									
N76D	S103A	V104I	O109R									
N76D	S99F	S103A	V104I	N204T								
N76D	S103A	V104I	D181N									

Q12R	N76D	S103A	V104I									
N76D	S103A	V104I	S212P	E271V								
N76D	S103A	V104I	N252K	N261Y								
N76D	S103A	V104I	S242T									
N76D	S103A	V104I	E271Q									
Q12R	N76D	S103A	V104I	S242T								
N43S	N76D	S103A	V104I	N116K	N183I							
N76D	S103A	V104I	G258R									
N76D	S103A	V104I	E271G									
G61R	N76D	S103A	V104I									
T38S	N76D	S103A	V104I	Q182R	Y263H							
N76D	S103A	V104I	Q182R	A272S								
N76D	S103A	V104I	Q109R	I246V								
N76D	S87G	S103A	V104I	Q206R	H249Q	S265G						
N76D	S103A	V104I	Q137R	N238Y	E271V							
S103A	V104I	A228T										
N76D	S103A	V104I	Q182R	I198V								
L21M	N76D	S103A	V104I	Q182R								
N76D	S103A	V104I	M119I	Q137R								
N76D	S103A	V104I	Q137R	N248S								
A13T	N76D	S103A	V104I	Q206R								
N76D	S103A	V104I	Q206R									
N76D	S103A	V104I	S212P	G258R								
T38S	N76D	S103A	V104I	E271Q								
N76D	S103A	V104I	Q206E	N261D								
V4E	N76D	S103A	V104I	Q206E								
N76D	N77D	S103A	V104I	Q206E								
N76D	S103A	V104I	A158E									
N76D	S103A	V104I	Q206E									
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	K251Q						
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	N252D						
N76D	N77D	S103A	V104I	A133T	N185D	K251T						
N76D	S103A	V104I	G159D	Q206E	V244A							
V4E	N76D	S103A	V104I	S188E								
V4E	N76D	S103A	V104I	A158E								
N76D	N77D	S103A	V104I	N185D								

N76D	S103A	V104I	Q206E	K251T															
A48T	N76D	S103A	V104I	L111M	G159D														
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H														
L42V	N76D	S103A	V104I	G159D															
Q12H	N62H	N76D	S103A	V104I	G159D														
L42I	N76D	S103A	V104I	G159D															
N76D	S103A	V104I	G146S	G159D															
N76D	S103A	V104I	G159D	N238S															
N76D	S103A	V104I	G159D	T224A															
N76D	S103A	V104I	S212P	V268F	E271V														
N76D	E89A	S103A	V104I																
N76D	S87R	S103A	V104I	S212P	E271V														
N76D	S103A	V104I	S212P	Q245L	E271V														
N76D	S103A	V104I	T134S	S141N	S212P	E271V													
N76D	S103A	V104I	S212P	Q236L	N243S	E271V													
N76D	S103A	V104I	Q109R	Q245R															
N76D	S103A	V104I	Q109R	P210L															
G20V	N62S	N76D	S103A	V104I															
V68A	N76D	S103A	V104I	Q236H															
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	E271V													
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R													
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	L217I	Q236H	E271V												
H17Q	V68A	N76D	S103A	V104I															
V68A	N76D	S103A	V104I																
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236R														
V68A	L75R	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H													
V68A	N76D	N76D	S103A	A114V	V121I	G159D	Q236H	Q245R											
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H													
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209S	Q236H	T253K												
V68A	N76D	S103A	V104I	N117K	G159D	N184S	Q236H												
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	N243I													
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245L													
V68A	N76D	S103A	V104I	A142V	G159D														
V68A	N76D	S103A	V104I	N123S	G159D	Q236H	H249Y												
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	H249Q													
N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R															

Q12R	N76D	S103A	V104I	M222S	H249R							
N76D	S103A	V104I	N173R	M222S								
N76D	S103A	V104I	M222S	Y263F								
L21M	N76D	S103A	V104I	M222S	K237R	Y263F						
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S	E271D							
Q61R	N76D	S103A	V104I	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q137R	M222S								
N76D	S103A	V104I	Q109R	M222S	N248S							
N76D	S103A	V104I	M222S	H249R								
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R	N261D					
V68A	N76D	S103A	V104I	S141N	G159D	Q236H	Q245R	T255S				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q236H	Q245R	R247H					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A174V	N204D	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N204D	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	A133V	G159D	N218D	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A194I	V203A	Q236H	Q245R				
Q12R	N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R							
N76D	S103A	V104I	A232V	Q245R								
S24T	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
Q12R	N76D	S103A	I104T	M222S	V244I	Q245R						
Q12R	N76D	S103A	M222S	P210T	Q245R							
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R						
T22K	V68A	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I	N184D								
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S87G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K	R275S			
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N248S	L262M				

Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	A215V	M222S	Q245R						
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	V227A	Q245R	L262S					
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	A215T	M222S	Q245R						
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N261D						
N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R								
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	N218D	M222S	Q245R	L262S	N269D				
Q12R	S57P	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	K251Q					
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	R170S	N185D	M222S	N243D	Q245R				
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	V268A						
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	P210S	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	S103A	V104I	N116D	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D						
R10C	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	V203E	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	K237E	Q245R						
V68A	N76D	I79N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	N183D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	Q206L	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	S188C	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A230T	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	A98T	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A215T	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	L257V							
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	R275H					
N76D	S103A	V104I	L257V	R275H									
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R					
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	IY214L	A232V	Q236H	Q245R				

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
Q20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G			
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261G				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	S242P	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R				
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R							
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R					
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R				
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	N116T	G159D	R170S	N185S	A232V	Q236H	Q245R		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	S99N	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212A	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			

V68A	S103A	V104I	G159D	S212E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	A103V	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G20A	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N173D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	K251V	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L				
P35S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256E			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	L257R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	G258D			
I8V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N269D		
V68A	S103A	V104I	N116S	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260E		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	A232S	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236R	Q245R	N248D	N252K				
N18S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	N76D	S101T	S103A	V104I	G159D	T213R	N21ES	A232V	Q236H	Q245R	T260A	

V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
T33S	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
G61E	V68A	S103A	V104I	S130A	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	A133B	Q137R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
G61E	S103A	V104I	A133V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S160V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S3L	G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S167F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G97E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
A98D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S99E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	S106E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	Q109E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R				
S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	S166D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G20R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	G159D	Q206R	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
K27N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	E271G		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	V205I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	L126F	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R							
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	A194S	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	N261W		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W				
S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
Q12R	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R				
S103A	V104I	G159D	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R					

S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
A48V	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R				
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W			
G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q12R	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G102A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244T	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244A	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
Q12R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Q206E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	T213Q	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	Q109R	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
S103A	V104I	G159D	A232V	Q245R	N248D	N252K						
S103A	V104I	G159D	A230V	Q245R								
N62D	S103A	V104I	S130G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		

N62D	S103A	V104I	S128L	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260A			
S101G	S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98V	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S99G	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N76D	S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	N185D	Q206E	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	E27I

Q

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表I的取代组的取代，但下列表III的取代组除外：

表III

76	103	104	259							
76	86	103	104							
76	103	104	130							
76	99	103	104	204						
76	103	104	242							
76	103	104	104	182	198					
21	76	103	104	182						
76	103	104	119	137						
76	103	104	173	222						
61	76	103	104	222						
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表IV的取代组的取代：

表 IV

76	103	104	222	245							
76	103	104	222	249							
68	103	104	159	232	236	245	252				
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260		
22	68	76	103	104							
68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	140	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245				
12	76	103	104	130	222	245	261				
76	103	104	130	222	245						
68	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	210	232	236	245			
68	103	104	159	224	232	236	245	257			
76	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	211	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245		
68	76	103	104	159	215	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	232	236	245			
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259		
68	76	87	103	104	159	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	232	236	245	261			
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245		
76	103	104	159	192	232	236	245				
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251		
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272		
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245		

68	76	103	104	159	232	236	245	256			
68	76	103	104	159	206	232	236	245			
27	68	76	103	104	159	232	236	245			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
68	103	104	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252		

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表V的取代组的取代：

表V

V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N		

V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
Q20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
Q12R	N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R	N261D				
N76D	S103A	I104T	S130T	M222S	Q245R						
N76D	S103A	V104I	M222S	H249R							
N76D	S103A	V104I	M222S	Q245R							
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R				
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R		
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R			
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
Q20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G		
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V		
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
T22K	V68A	N76D	S103A	V104I							
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252S				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			

N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				

可用于本发明清洗组合物的高度优选的蛋白酶变体包括选自下列取代组的取代:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 12/76/103/104/130/170/185/222/243/245;
 12/76/103/104/130/222/245/261; 12/76/103/104/130/222/245;
 12/76/103/104/222/245;
 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
 68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/76/103/104/159/236; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
 68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
 68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/103/104/159/236;
 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260; 68/103/104/159/236/245;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/76/103/104/159/236/245;
 68/103/104/232/236/245/257/275; 68/103/104/159/213/232/236/245;

76/103/222/245;	76/103/104/222/245;
76/103/104/159/232/236/245;	
76/103/104/159/213/232/236/245/260;	76/103/104/159;
76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;	97/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;	98/103/104/159/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252;	102/103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/232/236/245;	103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257	103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257;	103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252;	103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/230/236/245;	103/104/159/236/245;
103/104/159/248/252/270;	103/104/131/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245; 及	103/104/159/232/236/245/257.

可用于本发明清洗组合物的更高度优选的蛋白酶变体包括选自下列取代组的取代:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R;
12R/76D/103A/104I/222S/245R;
12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
12R/76D/103A/104T/130G/222S/245R/261D;
12R/76D/103A/104T/130G/170S/185D/222S/243D/245R;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/236H;
68A/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;

68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/236H;
68A/76D/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
76D/103A/222S/245R;
76D/103A/104I/222S/245R;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/159D;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/230V/236H/245R;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/236H/245R;

103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; 及
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

可用于本发明清洗组合物的进一步高度优选的蛋白酶变体包括选自下列取代组的取代:

12/76/103/104/130/222/245/261;
62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245;
68/103/104/159/230/232/236/245;
68/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/213/232/236/245;
98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/230/236/245;
103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252;
103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/213/232/236/245/248/252; 及

103/104/159/232/236/245

可用于本发明清洗组合物的最优选的蛋白酶变体包括选自下列取代组的取代:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R/261D;
 62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
 68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
 68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
 98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/230V/236H/245R;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K; 及
 103A/104I/159D/232V/236H/245R.

在另一种优选实施方案中，可用在本发明清洗组合物中作为蛋白酶的蛋白酶变体包含这样一类蛋白酶变体，它涵盖在 1 个或多个对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 62、212、230、232、252 和 257 的氨基酸残基位点上取代氨基酸残基。

虽然可采取以上所列举的氨基酸取代的任意组合，但用作本发明的优选蛋白酶变体酶包括对下列组合的氨基酸残基取代、缺失或插入：

(I)包括对位点 62 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的

蛋白酶变体:103,104, 109, 159, 213, 232, 236, 245, 248 及 252;

(2)包括对位点 212 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:12, 98, 102, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 及 252;

(3)包括对位点 230 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:68,103,104,159,232,236 和 245;

(4)包括对位点 232 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体: 12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(5)包括对位点 232 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:103, 104, 236 及 245;

(6)包括对位点 232 及 103 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245,
248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(7)包括对位点 232 及 104 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245,
248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(8)包括对位点 232 及 236 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245,
248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(9)包括对位点 232 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 76, 97, 98, 101,
102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217, 230, 236, 245,
248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(10)包括对位点 232、103、104、236 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68,
76, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 205, 209, 210, 212, 213, 217,
230, 236, 245, 248, 252, 257, 260, 270 及 275;

(11)包括对位点 252 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 97, 98, 101, 102, 103,
104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248 及 270;

(12)包括对位点 252 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:103、104、236 及 245;

(13)包括对位点 252 及 103 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 97, 98,
101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248
及 270;

(14)包括对位点 252 及 104 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 97, 98,
101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248
及 270;

(15)包括对位点 252 及 236 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 97, 98,
101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248
及 270;

(16)包括对位点 252 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61, 62, 68, 97, 98,
101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232, 236, 245, 248
及 270;

(17)包括对位点 252、103、104、236 及 245 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

12, 61,
62, 68, 97, 98, 101, 102, 103, 104, 109, 130, 131, 159, 183, 185, 210, 212, 213, 217, 232,
236, 245, 248 及 270;

以及

(18)包括对位点 257 以及下列中 1 个或多个位点氨基酸残基取代的蛋白酶变体:

68, 103, 104, 205, 209, 210, 232, 236,
245 及 275.

可用于本发明清洗组合物的更优选的蛋白酶变体包括选自表VI的取代组(在下表VI中每一行对应于一个取代组)的取代:

表VI

76	103	104	212	271								
76	103	104	252	261								
76	103	104	212	258								
4	76	103	104	159	217	252						

12	62	76	103	104	159							
76	103	104	212	268	271							
76	87	103	104	212	271							
76	103	104	212	245	271							
76	103	104	134	141	212	271						
76	103	104	212	236	243	271						
20	62	76	103	104								
68	76	103	104	159	232	236	245					
76	103	104	232	245								
24	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	232	236	245	252					
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	232	236	245						
68	103	104	140	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
43	68	103	104	159	232	236	245					
43	68	103	104	159	232	236	245	252				
68	87	103	104	159	232	236	245	252	275			
68	103	104	159	232	236	245	257					
68	103	104	116	159	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
10	68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	203	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	237	245					
68	76	79	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	183	232	236	245					
68	103	104	159	174	206	232	236	245				
68	103	104	159	188	232	236	245					
68	103	104	159	230	232	236	245					
68	98	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	159	215	232	236	245					
68	103	104	159	232	236	245	248					
68	76	103	104	159	232	236	245					
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
68	76	103	104	159	232	236	245	257				

76	103	104	232	236	245	257						
68	103	104	159	232	236	245	257	275				
76	103	104	257	275								
68	103	104	159	224	232	236	245	257				
76	103	104	159	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	209	232	236	245				
68	76	103	104	159	211	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245			
68	76	103	104	159	215	232	236	245				
12	68	76	103	104	159	232	236	245				
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259			
68	76	87	103	104	159	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	232	236	245	261				
76	103	104	232	236	242	245						
68	76	103	104	159	210	232	236	245				
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245			
76	103	104	232	236	245							
76	103	104	159	192	232	236	245					
76	103	104	147	159	232	236	245	248	251			
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272			
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245			
68	76	103	104	159	232	236	245	256				
68	76	103	104	159	206	232	236	245				
27	68	76	103	104	159	232	236	245				
68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245		
61	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	99	159	184	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	185	232	236	245	248	252			

68	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	185	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	213	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252			
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	173	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	251	252			
68	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
55	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	257			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	258			
8	68	103	104	159	232	236	245	248	252	269		
68	103	104	116	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	103	104	159	232	236	245	248	252	261			
68	76	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	232	236	245	248	252					
103	104	159	232	236	245	248	252					
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
18	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	76	101	103	104	159	213	218	232	236	245	260	
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252			
33	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260	
61	68	76	103	104	159	232	236	245	248	252		
103	104	159	205	210	232	236	245					
61	68	103	104	130	159	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	133	137	159	232	236	245	248	252	

61	103	104	133	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252			
61	68	103	104	159	160	232	236	245	248	252		
3	61	68	76	103	104	232	236	245	248	252		
61	68	103	104	159	167	232	236	245	248	252		
97	103	104	159	232	236	245	248	252				
98	103	104	159	232	236	245	248	252				
99	103	104	159	232	236	245	248	252				
101	103	104	159	232	236	245	248	252				
102	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	106	159	232	236	245	248	252				
103	104	109	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	245	248	252	261				
62	103	104	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	166	232	236	245	248	252				
103	104	159	217	232	236	245	248	252				
20	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	159	206	217	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
103	104	130	159	232	236	245	248	252				
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
27	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	103	104	159	232	236	245	248	252				
38	76	103	104	159	213	232	236	245	260			
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	271		
68	76	103	104	159	209	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	205	213	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	210	232	236	245	260			
68	103	104	159	213	232	236	245	260				
76	103	104	159	213	232	236	245	260				
68	103	104	159	209	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					

68	103	104	159	230	232	236	245					
68	103	104	159	126	232	236	245					
68	103	104	159	205	232	236	245					
68	103	104	159	210	232	236	245					
103	104	159	230	236	245							
68	103	104	159	232	236	245	260					
103	104	159	232	236	245							
68	103	104	159	174	232	236	245	257				
68	103	104	159	194	232	236	245	257				
68	103	104	159	209	232	236	245	257				
103	104	159	232	236	245	257						
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260	261		
68	103	104	159	232	236	245	257	261				
103	104	159	213	232	236	245	260					
103	104	159	210	232	236	245	248	252				
103	104	159	209	232	236	245	257					
68	76	103	104	159	210	213	232	236	245	260		
12	103	104	159	209	213	232	236	245	260			
103	104	209	232	236	245	257						
103	104	159	205	210	213	232	236	245	260			
103	104	159	205	209	232	236	245	260				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245			
103	104	159	205	209	210	232	236	245	257			
103	104	159	205	209	232	236	245	257				
68	103	104	159	205	209	210	232	236	245	260		
103	104	159	205	209	210	232	236	245				
103	104	159	209	210	232	236	245					
103	104	159	205	210	232	236	245					
68	103	104	128	159	232	236	245					
48	103	104	159	230	236	245						
48	68	103	104	159	209	232	236	245				
48	68	103	104	159	232	236	245	248	252			
48	68	103	104	159	232	236	245	257	261			
102	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
12	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
101	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		

98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
102	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
103	104	131	159	232	236	245	248	252				
103	104	159	184	232	236	245	248	252				
103	104	159	232	236	244	245	248	252				
62	103	104	159	213	232	236	245	248	252	256		
12	62	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	185	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	206	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	213	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	102	103	104	159	232	236	245	248	252			
98	102	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
98	102	103	104	159	212	232	236	248	252			
62	103	104	109	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252		
62	101	103	104	159	212	213	232	236	245	248	252	
103	104	159	232	245	248	252						
103	104	159	230	245								
62	103	104	130	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	130	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	128	159	232	236	245	248	252			
62	101	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
62	103	104	128	159	213	232	236	245	248	252		
101	103	104	159	232	236	245	248	252	260			
101	103	104	131	159	232	236	245	248	252			
98	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
99	101	103	104	159	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	212	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	209	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	210	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	205	232	236	245	248	252			
101	103	104	159	230	236	245						
101	103	104	159	194	232	236	245	248	252			
76	101	103	104	159	194	232	236	245	248	252		

101	103	104	159	230	232	236	245	248	252			
62	103	104	159	185	206	213	232	236	245	248	252	271

可用于本发明清洗组合物的进一步优选的蛋白酶变体包括选自表VII的取代组(在下表VII中每一行对应于一个取代组)的取代:

表VII

N76D	S103A	V104I	S212P	E271V								
N76D	S103A	V104I	N252K	N261Y								
N76D	S103A	V104I	S212P	Q258R								
V4E	N76D	S103A	V104I	G159D	L217E	N252D						
Q12H	N62H	N76D	S103A	V104I	G159D							
N76D	S103A	V104I	S212P	V268F	E271V							
N76D	S87R	S103A	V104I	S212P	E271V							
N76D	S103A	V104I	S212P	Q245L	E271V							
N76D	S103A	V104I	T134S	S141N	S212P	E271V						
N76D	S103A	V104I	S212P	Q236L	N243S	E271V						
G20V	N62S	N76D	S103A	V104I								
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N76D	S103A	V104I	A232V	Q245R								
S24T	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S87G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K	R275S			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	N116D	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D					
R10C	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					

V68A	S103A	V104I	G159D	V203E	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	K237E	Q245R						
V68A	N76D	I79N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	N183D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	Q206L	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	S188C	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A230T	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	A98T	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A215T	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	L257V							
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	R275H					
N76D	S103A	V104I	L257V	R275H									
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q211R	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q211V	A232V	Q236H	Q245R					
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R					
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G				
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261G					
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W					
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	S242P	Q245R							
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R					
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R								
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R						
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R				
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R				

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R				
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
V68A	N76D	S103A	V104I	N116T	G159D	R170S	N185S	A232V	Q236H	Q245R		
Q61E	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	899N	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N185D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212A	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	A103V	V104I	G159D	T213E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	S216C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q20A	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	N173D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	K251V	N252K			

V68A	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L				
P33S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252F			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256E			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	L257R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	Q258D			
I8V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N269D		
V68A	S103A	V104I	N116S	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260E		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261D			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	A232S	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236R	Q245R	N248D	N252K				
N18S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245V	N248D	N252K				
V68A	N76D	S101T	S103A	V104I	G159D	T213R	N218S	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
V68A	S103A	V104I	G159D	A238V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
T33S	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	
G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
G61E	V68A	S103A	V104I	S130A	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	A133S	Q137R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
G61E	S103A	V104I	A133V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S160V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S31L	G61E	V68A	N76D	S103A	V104I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G61E	V68A	S103A	V104I	G159D	S167F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G97E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				

A98D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S99E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101E	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	S106E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	Q109E	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	N261R				
S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	N184D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	S166D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
G20R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	G159D	Q206R	L217E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
K27N	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
T38A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	E271G		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	V205I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	L126F	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R							

V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260A						
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R								
V68A	S103A	V104I	G159D	A174V	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	G159D	A194S	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V							
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A	N261W			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W					
S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A						
S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V						
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
Q12R	S103A	V104I	G159D	Y209W	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
S103A	V104I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V							
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A				
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	T260A					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R				
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	L257V					
V68A	S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R	T260A			
S103A	V104I	G159D	V205I	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R					
S103A	V104I	G159D	Y209W	P210I	A232V	Q236H	Q245R						
S103A	V104I	G159D	V205I	P210I	A232V	Q236H	Q245R						
V68A	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R						
A48V	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R							
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R					
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
A48V	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V	N261W				
Q102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
Q12R	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	Q102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	Q102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
Q102A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					
S103A	V104I	G159D	N184S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K					

S103A	V104I	G159D	N184G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244T	Q245R	N248D	N252K				
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	V244A	Q245R	N248D	N252K				
N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		
Q12R	N62D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101O	S103A	V104I	G159D	N185D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Q206E	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101O	S103A	V104I	G159D	T213Q	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	G102A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
A98L	G102A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	N248D	N252K			
N62D	S103A	V104I	Q109R	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S101O	S103A	V104I	G159D	S212G	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	
S103A	V104I	G159D	A232V	Q245R	N248D	N252K						
S103A	V104I	G159D	A230V	Q245R								
N62D	S103A	V104I	S130G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	S130G	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128O	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	S128L	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N62D	S101G	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128G	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N62D	S103A	V104I	S128L	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260A			
S101G	S103A	V104I	P131V	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
A98V	S101O	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S99G	S101G	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101G	S103A	V104I	G159D	P210I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101O	S103A	V104I	G159D	V205I	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
S101O	S103A	V104I	G159D	A230V	Q236H	Q245R						
S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
N76D	S101G	S103A	V104I	G159D	A194P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S101G	S103A	V104I	G159D	A230V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			

N62D	S103A	V104I	G159D	N185D	Q206E	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	E271Q
------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表VI的取代组的取代，但下面的表VIII中的取代组除外：

表VIII

68	76	103	104	116	159	170	185	232	236	245
----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表IX的取代组的取代：

表IX

68	103	104	159	232	236	245	252				
68	76	103	104	159	213	232	236	245	260		
68	103	104	159	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	232	236	245					
68	103	104	140	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245	252			
43	68	103	104	159	232	236	245				
68	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	210	232	236	245			
68	103	104	159	224	232	236	245	257			
76	103	104	159	232	236	245	257				
68	76	103	104	159	211	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	214	232	236	245		
68	76	103	104	159	215	232	236	245			
12	68	76	103	104	159	232	236	245			
20	68	76	103	104	159	232	236	245	259		
68	76	87	103	104	159	232	236	245	260		
68	76	103	104	159	232	236	245	261			
12	48	68	76	103	104	159	232	236	245		
76	103	104	159	192	232	236	245				

76	103	104	147	159	232	236	245	248	251		
12	68	76	103	104	159	232	236	245	272		
68	76	103	104	159	183	206	232	236	245		
68	76	103	104	159	232	236	245	256			
68	76	103	104	159	206	232	236	245			
27	68	76	103	104	159	232	236	245			
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
103	104	159	232	236	245	248	252				
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	109	159	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	209	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	210	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	212	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	213	232	236	245	248	252		
68	103	104	213	232	236	245	248	252			
68	103	104	159	215	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	216	232	236	245	248	252		
20	68	103	104	159	232	236	245	248	252		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	255		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	256		
68	103	104	159	232	236	245	248	252	260		
68	103	104	159	228	232	236	245	248	252		
68	76	89	103	104	159	210	213	232	236	245	260
68	103	104	159	218	232	236	245	248	252		

可用于本发明清洗组合物的更进一步优选的蛋白酶变体包括选自表X的取代组的取代：

表 X

V68A	S103A	V104I	G159D	A228V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	N218S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	N76D	E89D	S103A	V104I	G159D	P210L	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256R		

V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T260R		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	T255V		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K	S256N		
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252L			
V68A	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216T	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S216V	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	T213S	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	P210L	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212C	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	S212G	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209W	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	Q109R	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
G20R	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	Y209F	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
N76D	S103A	V104I	G159D	Y192F	A232V	Q236H	Q245R				
N76D	S103A	V104I	V147I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248S	K251R		
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	A272S		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	N183K	Q206L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S256R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Q206R	A232V	Q236H	Q245R			
K27R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	A48V	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N261W			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	G211V	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	Y214L	A232V	Q236H	Q245R		
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A215R	A232V	Q236H	Q245R			
Q12R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R			
G20R	V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	S259G		
V68A	N76D	S87R	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	T260V		
N76D	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				
V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	T213R	A232V	Q236H	Q245R	T260A		

V68A	N76D	S103A	V104I	G159D	P210R	A232V	Q236H	Q245R			
V68A	S103A	V104I	G159D	S212P	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K		
V68A	S103A	V104I	G159D	T224A	A232V	Q236H	Q245R	L257V			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252S				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K				
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N248D	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R					
V68A	S103A	V104I	N140D	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43S	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
N43K	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R				
N43D	V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	N252K			
V68A	S103A	V104I	G159D	A232V	Q236H	Q245R	L257V				

可用于本发明清洗组合物的高度优选的蛋白酶变体包括选自下列取代组的取代：

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;
68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;

102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
103/104/159/248/252/270; 103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; 及
103/104/159/232/236/245/257.

可用于本发明清洗组合物的更高度优选的蛋白酶变体包括选自
下列取代组的取代:

12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;

68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; 及
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

重组蛋白酶/重组枯草杆菌蛋白酶-“重组蛋白酶”或“重组枯草杆菌蛋白酶”是指这样的蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶，其中编码天然存在的蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶的 DNA 序列分别经过了修饰，从而形成突变体 DNA 序列，该序列编码蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶氨基酸序列中 1 个或多个氨基酸的“取代、插入或缺失”的编码。合适的改性方法公开在本文以及美国专利 RE 34,606、5,204,015 及 5,185,258 中。

非人体蛋白酶/非人体枯草杆菌蛋白酶-“非人体蛋白酶”或“非人体枯草杆菌蛋白酶”及编码它们的 DNA 编码可从许多原核及真核

生物体中获得。原核生物合适例子包括革兰氏阴性生物，如大肠杆菌 *E.coli* 或假单胞菌属；以及革兰氏阳性细菌如微球菌属或芽胞杆菌属。可由其获得羧基水解酶及其基因的真核生物的例子包括例如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)，真菌如曲霉菌及非人体哺乳动物源，例如牛，由它可获得编码蛋白酶凝乳酶或枯草杆菌蛋白酶凝乳酶的基因。有一系列蛋白酶和/或枯草杆菌蛋白酶可由各种各样相关的品种获得，这些品种具有的氨基酸序列虽在该系列成员之间不完全同源但却表现出相同或相近类型的生物活性。因此，本发明使用的非人体蛋白酶或非人体枯草杆菌蛋白酶具有分别涉及蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶的功能定义，它们又直接或间接与原核和真核源相联系。

变体 DNA 序列-编码这些蛋白酶或枯草杆菌蛋白酶变体的变体 DNA 序列衍生自编码天然存在或重组体前体酶的前体 DNA 序列。变体 DNA 序列是通过改变前体 DNA 序列以便编码对应于解淀粉芽胞杆菌位点 103 并配合 1 个或多个下列位点上，前体 DNA 序列编码的 1 个或多个特定氨基酸残基的取代：

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16,
17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77,
78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121,
123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167,
170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209,
210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238,
240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259,
260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 及 275

其中当所述蛋白酶变体包括在对应于位点 103 和 76 的氨基酸残基的取代时，则还存在对应于 1 个或多个除解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 氨基酸残基位点以外的氨基酸残基位点上的氨基酸残基取代。虽然这里所指出的氨基酸残基改性位点是按照适用于解淀粉芽胞杆菌的编号法给出的(该方法已成为确定所有枯草杆菌蛋白酶中的残基位点的惯用方法)，但是可用于本发明的优选前体 DNA 序列则是如图 3 所示的迟缓芽胞杆菌的

DNA 序列。

在优选的实施方案中，这些变体 DNA 序列编码对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 103 以及配合着在 1 个或多个对应于下列解淀粉芽胞杆菌位点上的氨基酸残基的取代、插入或缺失：

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24,

27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98,
99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131,
133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181,
182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214,
215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245,
246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265,
268, 269, 270, 271, 272, 274 及 275

其中当所述蛋白酶变体包括在对应于位点 103 和 76 的位点氨基酸残基的取代时，则还存在对应于 1 个或多个除解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 氨基酸残基位点以外的氨基酸残基位点上的氨基酸残基取代。更优选的是，这些变体 DNA 序列编码这里所描述的蛋白酶变体。

在另一种优选的实施方案中，这些变体 DNA 序列编码对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 62、212、230、232、252 及 257 上的氨基酸残基的取代、插入或缺失。更优选的是，这些变体 DNA 序列编码这里所描述的蛋白酶变体。

虽然这里所指出的氨基酸残基是按照适用于解淀粉芽胞杆菌的编号法给出的(该方法已成为确定所有枯草杆菌蛋白酶中的残基位点的惯用方法)，但是可用于本发明的优选前体 DNA 序列则是如图 3 所示的迟缓芽胞杆菌的 DNA 序列。

这些重组体 DNA 序列编码具有新颖氨基酸序列的蛋白酶变体，且通常该变体具有至少 1 种性质显著不同于前体蛋白酶 DNA 序列编码的酶的性质。这些性质包括在蛋白水解活性、底物特异性、稳定性、pH 曲线发生改变和/或性能特性上得到强化。

特异性取代对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 103

并配合着 1 个或多个下列位点：

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27,
33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99,
101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133,
134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182,
183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215,
216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246,
247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268,
269, 270, 271, 272, 274 及 275

其中当所述蛋白酶变体包括在对应于位点 103 和 76 的氨基酸残基取代时，则还存在对应于 1 个或多个除解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 氨基酸残基位点以外的氨基酸残基位点上的氨基酸残基取代，其中这里所描述的编号位点对应于来自解淀粉芽胞杆菌的天然存在的枯草杆菌蛋白酶，或者对应于其他羧基水解酶或枯草杆菌蛋白酶(如迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶)中的等价氨基酸残基。再有，特异性取代对应于位点 62、212、230、232、252 和 257 中的 1 个或多个，其中这里所描述的编号位点对应于来自解淀粉芽胞杆菌的天然存在的枯草杆菌蛋白酶，或者对应于其他羧基水解酶或枯草杆菌蛋白酶(如迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶)中的等价氨基酸残基。这些氨基酸位点代号可参见图 1 中给出的成熟解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶序列。然而，本发明不限于此种特殊枯草杆菌蛋白酶的突变体，它可延伸至含有与前面具体指出的解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶残基等价的位点上的氨基酸残基的前体蛋白酶。在本发明的优选实施方案中，前体蛋白酶是迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶，而取代、缺失或插入则发生在对应于上面列举的迟缓芽胞杆菌的等价氨基酸残基上。

某种前体蛋白酶的残基(氨基酸)等价于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶残基的条件是，它与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶中的某一特定残基或该残基的部分同源(即，一级或三级结构中的位置上的对应)或者类似(即：具有相同或相近的结合、反应或化学相互作用

的功能)。

为了确认与一级结构为同源性，应直接将该前体蛋白酶的氨基酸序列与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶一级序列，特别是与已知序列的枯草杆菌蛋白酶中已知未变异的一组残基进行对比。例如，本文的图 2 给出了解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶与迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶之间保守的残基。将这些保守残基对齐，同时做一些必要的插入和缺失以便维持对齐(即避免由于随意的缺失和插入而导致保留残基被消除)之后，便可确定与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的一级序列中特定氨基酸等价的残基。保守残基的对齐结果，优选应保留 100%此种残基。然而，大于 75%或低至 50%保守残基的对齐也就足以确定等价残基了。催化三分体--Asp32/His64/Ser221--的保守性应当保持。

例如，在图 3 中，将来自解淀粉芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌(*carlsbergensis*)及迟缓芽胞杆菌的枯草杆菌蛋白酶的氨基酸序列对齐，便可提供各种氨基酸序列之间最大程度的同源性。这些序列之间的对比表明，在每种序列中均包含大量保守残基。这些保守残基(例如 BPN'与 *B.lentus* 之间)在图 2 中标出。

于是，可利用这些保守残基来确定迟缓芽胞杆菌(PCT 公开号 W089/0629,1989-07-13 发表)，即本发明优选的蛋白酶前体酶或者被称之为 PB92(EP 0 328 299)的枯草杆菌蛋白酶，的对应等价氨基酸残基，这是一种与优选的迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶高度同源的蛋白酶的等价残基。这些枯草杆菌蛋白酶中某些的氨基酸序列在图 3A 和 3B 中与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶对齐排列在一起，对齐原则是使它们的保守残基之间达到最大限度的对应。从图中可见，与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶相比，在迟缓芽胞杆菌的序列中存在许多缺失。譬如，在解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶中的等价于 Val165 的氨基酸，在其他枯草杆菌蛋白酶中则为对应于迟缓芽胞杆菌和地衣芽胞杆菌的异亮氨酸。于是，例如+76 位点上的氨基酸在解淀粉芽胞杆菌和迟缓芽胞杆菌中均为天冬酰胺(N)。然而在本发明蛋白酶变体中，等价于解淀粉芽胞杆菌中+76 的氨基酸被取代为天冬氨酸(D)了。本发明针对所有氨基酸所使用的缩写和一字母代号均与《patentin 使用者手册》一致(GenBank, Mountain View, CA)1990。

p.101).

“等价残基”还可以通过在前体蛋白酶的三级结构水平上确定同源性而定义，其三级结构是通过 x 射线结晶学方法确定的。等价残基的定义是前体蛋白酶与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的 2 或更多个特定氨基酸残基主链原子的原子坐标(之差)(N 对 N, CA 对 CA, C 对 C, O 对 O)，对齐之后在 0.13 nm 范围内，优选 0.1 nm 之内。达到对齐的标准是，将最佳模型取向并定位，使待测蛋白酶的非氢蛋白原子的原子坐标与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶达到最大重合的程度。最佳模型是，在能达到的最高分辨率条件下能产生最低用于衍射实验数据的 R 系数值的结晶学模型。

$$R_{factor} = \frac{\sum_h |F_o(h)| - |F_c(h)|}{\sum_h |F_o(h)|}$$

在功能上与解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶特定残基等价的残基被定义为这样的前体蛋白酶氨基酸，即，它能采取某种构象，以致使其能经过改变、改性或促进而获得如同针对解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶特定残基所规定和特有的蛋白结构、底物结合或催化的行为。而且，它们又是这样的前体蛋白酶(其三级结构已用 X 射线结晶学方法获得)残基，它占据的位置是如此近似，以致虽然该给定残基的主链原子可能不满足按照占据同源位置来衡量的等价标准，但是该残基的至少 2 个侧链原子的位置与对应的解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶侧链原子之间相差在 0.13 nm 范围内。解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的三维结构坐标载于 EPO 公开号 0 251 446(等价于美国专利 5,182,204，其公开内容并入本文作为参考)，可被用来按照上面概述的那样在三级结构水平上确定等价残基。

所指出的可进行取代、插入或缺失的残基中，有些是保守残基，而有些则不是。在不是保守残基的情况下，1 个或多个氨基酸的取代应限制在所产生的变体氨基酸序列乃是自然界中不存在的那些取代。在保守残基的情况下，此种取代不应导致天然存在序列的生成。本发明的蛋白酶变体包括蛋白酶变体的各种成熟形式，以及此种蛋白酶变体的原-及前-原-形式。前原-形式是优选的：因为这将有

利于蛋白酶变体的表达、分泌及成熟。

“原序列”是指一种结合在蛋白酶成熟形式的 N-末端部分上的氨基酸序列，当它被去掉时，将导致该蛋白质“成熟”形式的出现。许多蛋白水解酶是以转译酶原酶产物的形式存在于自然界的，在没有转译后加工的情况下，总是以此种方式来表达。产生蛋白酶变体的优选原序列是解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的这种推断原序列，虽然也可使用其他蛋白酶原序列。

“信号序列”或“前序列”是指任何结合在可参与该蛋白酶成熟或原形式的分泌的蛋白酶 N 末端部分，或原蛋白酶 N-末端部分上的氨基酸序列。信号序列的这一定义是功能定义，旨在涵盖所有编码在天然条件下参与实现蛋白酶分泌过程的氨基酸序列的蛋白酶基因 N-末端部分。本发明利用此种序列来实现这里所规定的蛋白酶变体的分泌。一种可能的信号序列包含：来自枯草芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的该信号序列的头 7 个氨基酸残基融合到来自迟缓芽胞杆菌的枯草杆菌蛋白酶其余信号序列上(ATCC 21536)。

蛋白酶变体的“前原”形式由这样的蛋白酶成熟形式组成，它具有一个可操作地连接到蛋白酶的氨基末端的原序列，以及一个可操作地连接到该原序列氨基末端上的“前”或“信号”序列。

“表达载体”是指一种 DNA 结构，它所包含的 DNA 序列可操作地连接到一个能实现所述 DNA 在适当宿主中表达的适当控制序列上。此种控制序列包括一个能实现转录的启动子、一个任选的控制此种转录过程的操纵子序列、一个载有适当 mRNA 核糖体结合位点编码的序列以及能控制转录或转译终止的序列。该载体可以是质粒、噬菌体颗粒或者简单地是一种潜在的基因组插入物。一旦转移到适当的宿主中，载体可复制并独立于该宿主基因组地发挥作用，或者在某些情况下结合到基因组本身中。在本说明中，“质粒”和“载体”有时可彼此通用，因为质粒是目前最普遍使用的载体形式。然而，本发明还意在包括那些能起到等价功能且在技术上已知或将变为已知的其他表达载体形式。

本发明所使用的术语“宿主细胞”通常是原核或真核宿主，它优选地按照美国专利 RE 34,606 公开的方法操作过，从而使之不能分泌具有酶促活性的内切蛋白酶。用于表达蛋白酶的优选宿主细胞

是缺乏“具有酶促活性的中性蛋白酶及碱性蛋白酶(枯草杆菌蛋白酶)”的 *Bacillus* 菌株 BG2036。菌株 BG2036 的结构详细描述于美国专利 5,264,366 中。用于表达蛋白酶的其他宿主细胞包括枯草芽胞杆菌 168(还见诸于美国专利 RE34,606 和美国专利 5,264,366 中,在此将其公开内容并入本文作为参考),以及任何合适的杆菌菌株如地衣芽胞杆菌、迟缓芽胞杆菌等)。

宿主细胞由采用重组 DNA 技术所构造的载体予以转化或转染。此种经转化的宿主细胞能复制编码蛋白酶变体的载体或者能表达所要求的蛋白酶变体。在该载体编码蛋白酶变体的前-或前原-形式的情况下,在表达此种变体时,通常是将其从宿主细胞内分泌到宿主细胞介质中。

“可操作地连接”,当描述 2 个 DNA 区域之间的关系时,简单地表示它们在功能上彼此相关。例如,若某一原序列起到信号序列的功能,参与蛋白成熟形式的分泌过程,最可能涉及该信号序列的分裂,则该原序列便可操作地连接在相应的肽上了。“某启动子可操作地连接在某一编码序列上”,是指它能控制该序列的转录;核糖体结合位点可操作地连接在一个编码序列上,是指它所处的位置使得转译得以发生。

载有天然存在的前体蛋白酶的基因可按照本领域技术人员普遍已知的方法获得。这些方法一般包括合成具有目标蛋白酶推断序列编码区的标记探针,由表达该蛋白酶的生物制备基因组文库,以及通过与探针杂交,从文库中筛选出该目标基因。然后,对阳性杂交克隆进行作图和测序。

然后用该克隆的蛋白酶来转化宿主细胞,以表达该蛋白酶。随后,将该蛋白酶基因连接到高拷贝数的质粒上。该质粒在宿主中进行复制的结果应使它包含为实现质粒复制所需要的熟知要素:一种可操作地连接在目标基因上的启动子(如果它被识别,即被宿主转录的话,它可以该基因本身的同源启动子的形式提供给宿主)、转录终止及多腺苷酸化区域(为使宿主从某些真核宿主细胞中转录的蛋白酶基因 mRNA 达到稳定化所需要的),它可以是外来的或者是由该蛋白基因的内源终止子区提供的,以及优选地,一种选择基因,例如抗生素抗性基因:它可以通过在含抗生素介质中的生长使被质粒感染

的宿主细胞维持连续培养。高拷贝数质粒还包含针对宿主的复制起点，从而使大量质粒得以在细胞质中产生，而不受染色体限制。然而，将多拷贝的蛋白酶基因结合到宿主基因组中的做法也属于本发明的范围。这一方法可通过特别容易发生同源重组的原核及真核生物的采用而得到加速。这种基因可以是天然迟缓芽胞杆菌基因。作为替代的方案，可制备一种编码天然存在或突变体前体蛋白酶的合成基因。按此种方式实施时，测定该前体蛋白酶的 DNA 或/或氨基酸序列。随后，合成多个重叠、合成的、单一链 DNA 片断，它们在杂交并连接之后，将生成编码前体蛋白酶编码的合成 DNA。合成基因制备的例子载于美国专利 5,204,105，实施例 3 中，在此将其公开内容并入本文作为参考。

一旦克隆了天然存在或合成的前体蛋白酶基因之后，可采取多种改性措施，以便使该基因的用途超出天然前体蛋白酶“合成”的范畴。这类改性包括：重组蛋白酶的制备，如公开在美国专利 RE 34,606 及 EPO 公开号 0 251 446 中；以及本文所描述的蛋白酶变体的制备。

下面的盒式诱变方法可能有助于本发明蛋白酶变体的制备，尽管其他方法也可使用。首先，获得编码该蛋白酶的天然存在的基因并全部或部分地测序。然后，扫描该序列以找出希望对编码酶中 1 个或多个氨基酸实施突变(缺失、插入或取代)的点。评估该点两侧的序列，找出用于以某种当表现出来时将编码各种不同突变体的寡核苷酸库取代该基因某一短片断的限制位点。此种限制位点优选是蛋白酶基因中唯一的位点，以便有利于该基因片断的取代。然而，任何方便的限制位点，只要在蛋白酶基因中不是过度冗余的，均可使用，但条件是，通过限制消化所产生的基因片断能够按恰当序列进行重组。倘若限制位点不是位于距所选点一段方便的距离内(10~15 个核苷酸)，则通过对基因中核苷酸的取代来生成此种位点，此间，最终构造中的读框及其编码的氨基酸均不得发生改变。为将基因序列改变为符合所要求序列的基因突变，是通过熟知的方法的 M13 引物延伸技术实现的。找出合适的两侧区域及评估为获得 2 个方便的限制位点序列所需进行的改变--这一任务已成为一种由遗传密码的丰度、基因限制酶图谱和大量不同的限制性酶所组成的常规操作程

序。要注意的是,如果现成就存在某种方便的两侧限制位点,则上述方法只需针对不含此种位点的两侧区域使用。

一旦克隆了天然存在的 DNA 或合成 DNA,就用“同源限制酶”消化掉待诱发突变位点两侧的限制位点,并在该基因上连接大量末端互补的寡核苷酸框。采用这一方法可简化诱变过程,因为所有的寡核苷酸都可合成,从而具有相同的限制位点,而且不需要合成接头来创造限制位点。本文所使用的术语“蛋白水解活性”的定义是,每毫克活性酶的肽键水解速率。现有许多熟知的程序,可用来测定蛋白水解活性(K.M. Kalisz,“微生物蛋白酶”《生物化学工程/生物技术进步》,A.Fiechter 主编,1988)。与改性后蛋白水解活性并存或作为替代的性质,本发明变体酶还可具有其他改性性质,例如 K_m 、 $k_{\text{催化}}$ 、 $k_{\text{催化}}/K_m$ 比值和/或改性底物特异性和/或改性 pH 活性曲线。此类酶还可专为特定底物定制,这些底物例如是存在于肽的制备中的,或者针对水解过程如用于洗衣的。

本发明的一个目的是制取与前体蛋白酶相比,蛋白水解活性改变的变体蛋白酶,因为提高此种活性(数值增大),将使得该酶能更有效地作用于目标底物。同样重要的是,该变体酶,与前体相比,在热稳定性上发生了改变和/或底物特异性发生了改变。在某些情况下,可能希望较低的蛋白水解活性,例如,蛋白水解活性的降低在希望获得蛋白酶“合成活性”的场合是有用的(譬如用于肽的合成)。人们之所以希望降低此种活性,可能因为它能破坏此种合成的产物。相反,在某些情况下,可能希望提高变体酶相对于其前体的蛋白水解活性。另外,可能希望提高或降低变体稳定性,不论对碱或对热的稳定性。提高或降低 K_m 、 $k_{\text{催化}}$ 或 $k_{\text{催化}}/K_m$ 都是针对测定这些动力学参数所使用的底物而言的。

本发明另一个方面是确定了如下事实:在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 103 并配合在 1 个或多个下列位点实施取代:

1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 及 275

, 对调节酶的全面稳定性和/或蛋白水解活性是重要的。

本发明又一个方面是确定了: 在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶位点 62、212、230、232、252 及 257 中 1 个或多个上的取代, 对调节酶的全面稳定性和/或蛋白水解活性也是重要的。

这种取代优选在迟缓芽胞杆菌(重组或天然型)枯草杆菌蛋白酶上实施, 虽然该取代可在任何芽胞杆菌属蛋白酶上实施。

根据对由这些变体蛋白酶所获结果的筛选, 解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶所发生的显著突变对于此种酶的蛋白水解活性和/或稳定性乃至此种变体酶的清洁或洗涤性能都是重要的。

制备用于本发明洗涤剂 and 清洗组合物中的酶的方法和程序是已知的, 且公开在 PCT 公开号 WO 95/10615 中。

本发明的酶具备类似胰蛋白酶的特异性。就是说, 本发明的酶通过择优裂解带电荷的氨基酸残基肽键来水解蛋白质, 更具体地讲, 诸如精氨酸和赖氨酸之类的氨基酸残基, 而不是择优裂解疏水氨基酸残基, 更具体地说苯丙氨酸、色氨酸及酪氨酸的肽键。具有后一种特征的酶具备类似胰凝乳蛋白酶的特异性。上面所讨论的底物特异性可利用酶对 2 种合成底物的作用来说明。具备类似胰蛋白酶特异性的蛋白酶优先于合成底物 sucAAPF-pNA 地水解合成底物 bVGR-pNA。而类似胰凝乳蛋白酶的蛋白酶则与此相反, 它水解 sucAAPF-pNA 的速率比水解 bVGR-pNA 快。为本发明的目的, 采用下面的程序来定义本发明蛋白酶的似胰蛋白酶特异性:

固定数量的 pH 等于 10、温度 25℃的甘氨酸缓冲液被加入到标准 10 mL 试管中。在该试管中加入 0.5 ppm 待测活性酶。在该试管中加入约 1.25 mg 合成底物每 mL 缓冲液。让混合物在 25℃温育 15 分钟。温育时间结束之后, 向混合物中按 0.5 mg 每毫升缓冲液用量加入酶抑制剂 PMSF。读取混合物在 410 nm 的吸收率或 OD 值。

如此获得的吸收值表示酶在合成底物上的活性。吸收值越大，对该底物的活性越高。

为随后确定个别酶的特异性，可将这 2 种合成底物上的吸收值换算为特异性比。为本发明的目的，该比值由如下公式的特异性数值来确定：

$$[\text{sAAPF-pNA 上的活性}]/[\text{bVGR-pNA 上的活性}]$$

若酶的该比值小于约 10，更优选小于约 5，最优选小于约 2.5，则认为该酶表现出似胰蛋白酶活性。

此种变体一般至少有一种性质不同于衍生出该变体氨基酸序列的蛋白酶前体的同一性质。

本发明的一个方面是组合物，如洗涤剂 and 清洗组合物，用于处理纺织品、餐具、餐桌用具、厨房用具、炊具以及其他硬表面底物，该组合物包含 1 种或多种本发明变体蛋白酶。该含蛋白酶组合物可用于处理例如：丝、毛乃至其他类型织物，正如 RD 216,034、EP 134,267、美国专利 4,533,359 及 EP 344,259 中所描述的；以及餐具、餐桌用具、厨房用具、炊具和其他硬表面底物，如美国专利 5,478,742、美国专利 5,346,822、美国专利 5,679,630 及美国专利 5,677,272 中所描述的。

清洗组合物

本发明清洗组合物除了包含以上所描述的 1 种或多种蛋白酶变体之外，还包含 1 种或多种清洁添加剂材料，优选是与这些蛋白酶变体相容的。本文所使用的术语“清洁添加剂材料”是指针对所要求的清洗组合物具体类型和产品形式(液体、粒状、粉末、条块、膏体、喷雾剂、片剂、凝胶、泡沫组合物)来选择的任何液体、固体或气体材料，该材料还优选与组合物中所用蛋白酶相容。粒状组合还可呈“紧凑”形式；液体组合物还可呈“浓缩”形式。

清洁添加剂材料的具体选择可根据待清洁表面、物品或织物以及清洗组合物使用时的要求形式(例如，根据洗涤剂用途)等因素的考虑方便地确定。本文所使用的术语“相容”是指这些清洗组合物材料不使蛋白酶的蛋白水解活性降低到在正常使用条件下达不到其所要求的有效程度。合适的清洁添加剂材料的例子包括但不限于：表面活性剂、助洗剂、漂白剂、漂白活化剂、漂白催化劑、其他酶

酶稳定体系、螯合剂、荧光增白剂、去污聚合物、染料转移剂、分散剂、抑泡剂、染料、香料、着色剂、填料盐、水溶助长剂、光活化剂、荧光剂、织物调理剂、可水解表面活性剂、防腐剂、抗氧化剂、防缩剂、防皱剂、灭菌剂、杀真菌剂、彩色斑、银器清洁剂、防霉暗剂和/或防腐蚀剂、碱性源、增溶剂、载体、加工助剂、颜料及pH 控制剂，正如美国专利 5,705,464、5,710,115、5,698,504、5,695,679、5,686,014 和 5,646,101 中所描述的。下面将详细说明具体的清洗组合物材料的例子。

倘若清洁添加剂材料与清洗组合物中的蛋白酶变体不相容，则可采用适宜的适宜方法是将清洁添加剂材料与蛋白酶变体分开保存(保持不接触)，直至适合将这 2 种组分合在一起时。合适的方法可以是技术上已知的任何方法，例如凝胶盖子(gelcaps)、胶囊、片剂、物理分隔等。

优选将有效数量 1 种或多种上面所描述的蛋白酶变体包括在用于清除各种各样需要清除蛋白类污渍的表面的组合物中。此种清洗组合物包括清洁硬表面的、形式不限的(例如液体和粒状)洗涤剂组合物；用于清洁织物的、形式不限(例如粒状、液体及条块配制物)的洗涤剂组合物；餐具洗涤组合物(形式不限的，既包括粒状也包括液体的自动洗碗机用)；口腔清洗组合物，形式不限的(例如牙粉、牙膏及漱口制剂)；以及牙托清洗组合物，形式不限的(例如，液体、片剂)。

本文所使用的术语“有效数量蛋白酶变体”是指为使特定清洗组合物达到所需酶活性所需上述蛋白酶变体的数量。该有效数量可由本领域技术人员很容易地确定，要考虑多种因素，例如所用的具体变体、清洁用途、清洗组合物的具体组成，以及需要液态抑或干燥的(例如粒状、条块)组合物等因素。

优选的是，该清洗组合物包含以清洗组合物重量为基准，从约 0.0001%，优选从约 0.001%，更优选从约 0.01% 1 种或多种本发明蛋白酶变体，到约 10%，优选到约 1%，更优选到约 0.1%。还优选的是，本发明蛋白酶变体在组合物中的含量足以提供一定的每 100 克组合物的活性蛋白酶毫克数与洗涤液中任何过氧酸提供可用 O_2 (“AvO₂”) 理论 ppm 数值之间的比值，本文称之为酶/漂白剂比(E/B

比), 它应介于约 1:1 ~ 约 20:1。下面将讨论可使用本发明蛋白酶变体的各种清洗组合物的几个例子。还有, 该清洁织物还可包括占组合物重量的约 1% ~ 约 99% 清洁添加剂材料。

本发明清洗组合物可以“织物清洗组合物”或“非织物清洗组合物”形式使用。

本文所使用的术语“织物清洗组合物”包括手洗及机洗衣物洗涤剂组合物, 包括含有洗衣添加剂组合物, 及适用于污渍织物浸泡和/或预处理使用的组合物。

本文所使用的术语“非织物清洗组合物”包括硬表面清洗组合物、餐具洗涤剂组合物、口腔清洗组合物、牙托清洗组合物及个人清洗组合物。

当本发明清洗组合物配制成适合洗衣机洗涤方法用的组合物时, 本发明组合物优选包含表面活性剂及助洗剂化合物, 以及另外 1 种或多种清洁添加剂材料, 优选地选自有机聚合物化合物、漂白剂、附加酶、抑泡剂、分散剂、钙皂分散剂、污垢悬浮剂及抗再沉积剂和缓蚀剂。洗衣组合物还可包含柔软剂, 作为外加的清洁添加剂材料。

本发明组合物还可当作固体或液体形式的洗涤剂添加剂产品使用。此种添加剂产品的作用在于弥补或强化传统洗涤剂组合物的性能, 且可在清洁过程的任何阶段加入。

当配制成用于手工餐具洗涤法的组合物时, 本发明组合物优选包含表面活性剂, 并优选包含其他清洁添加剂材料, 选自有机聚合物化合物、增泡剂、族 II 金属离子、溶剂、水溶助长剂及附加酶。

需要的话, 本发明衣物洗涤剂组合物在 20℃ 测定的密度介于 400 ~ 1200 g/L, 优选 500 ~ 950 g/L 组合物。

这里所说的清洗组合物的“坚实”形式最好地反映在密度上, 而就组成而言, 则反映在无机填料盐的含量上; 无机填料盐是粉末形式洗涤剂组合物中的惯用成分; 在传统洗涤剂组合物中, 填料盐占相当大的比例, 典型含量占整个组合物的 17 ~ 35 wt%。在坚实组合物中, 填料盐含量不超过整个组合物的 15 wt%, 优选不超过 10%, 最优选不超过 5 wt%。无机填料盐, 例如本发明组合物中所指的, 选自碱金属和碱土金属的硫酸盐和氯化物盐。优选的填料盐是硫酸钠。

本发明的液体清洗组合物还可是“浓缩形式”的，在这种情况下，本发明液体清洗组合物将具有比传统液体洗涤剂低的含水量。就典型而言，浓缩液体清洗组合物的含水量优选小于清洗组合物重量的 40%，更优选小于 30%，最优选小于 20%。

清洁添加剂材料

表面活性剂体系-含于本发明的全配方清洗组合物中的洗涤表面活性剂占到清洗组合物重量的至少 0.01%，优选至少约 0.1%，更优选至少约 0.5%，最优选至少约 1%，直至约 60%，更优选至约 35%，最优选至约 30%，视所用具体表面活性剂及所要求的效果而定。

洗涤表面活性剂可以是非离子、阴离子、两性、两性离子、阳离子、半极性非离子类型的及其混合型，其非限制性例子公开在美国专利 5,707,950 及 5,576,282 中。优选的洗涤剂及清洗组合物包含阴离子洗涤表面活性剂，或阴离子表面活性剂与其他表面活性剂，尤其与非离子表面活性剂的混合物。

可用于本发明的表面活性剂非限制性例子包括传统的 $C_{11} \sim C_{18}$ 烷基苯磺酸盐和伯、仲及无规烷基硫酸盐、 $C_{10} \sim C_{18}$ 烷基烷氧基硫酸盐、 $C_{10} \sim C_{18}$ 烷基聚糖苷及其相应的硫酸化聚糖苷、 $C_{12} \sim C_{18}\alpha$ -磺化脂肪酸酯、 $C_{12} \sim C_{18}$ 烷基及烷基酚的烷氧基化物(尤其是乙氧基化物和乙氧基/丙氧基混合物)、 $C_{12} \sim C_{18}$ 甜菜碱及磺基甜菜碱(“sultaine”)、 $C_{10} \sim C_{18}$ 氧化胺等。其他传统使用的表面活性剂可参见各种标准中的规定。

表面活性剂优选配制成与组合物中存在的酶组分彼此相容的。在液体或凝胶组合物中，表面活性剂最优选配制成能提高，或者至少不恶化这些组合物中任何酶的稳定性的形式。

非离子表面活性剂-聚环氧乙烷、聚环氧丙烷及聚环氧丁烷与烷基酚的缩合产物适合作为本发明表面活性剂体系的非离子表面活性剂使用，其中以聚环氧乙烷缩合产物为优选。此种类型市售非离子表面活性剂包括 Igepal™ CO-630，由 GAF 公司销售；及 Triton™ X-45、X-114、X-100 及 X-102，全部由 Rohm & Haas 公司销售。这些表面活性剂统称烷基酚烷氧基化物(例如，烷基酚乙氧基化物)。

伯及仲脂族醇与约 1~约 25 mol 环氧乙烷的缩合产物适合用作本发明非离子表面活性剂体系的非离子表面活性剂。这类型市售非

离子表面活性剂的例子包括 Tergitol™ 15-S-9($C_{11} \sim C_{15}$ 线型醇与 9 mol 环氧乙烷的缩合产物)、Tergitol™ 24-L-6 NMW($C_{12} \sim C_{14}$ 伯醇与 6 mol 环氧乙烷的缩合产物, 具有窄分子量分布), 这 2 种均由联合碳化物公司销售; Neodol™ 45-9($C_{14} \sim C_{15}$ 线型醇与 9 mol 环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™ 23-3($C_{12} \sim C_{13}$ 线型醇与 3.0 mol 环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™ 45-7($C_{14} \sim C_{15}$ 线型醇与 7 mol 环氧乙烷的缩合产物)、Neodol™ 45-5($C_{14} \sim C_{15}$ 线型醇与 5 mol 环氧乙烷的缩合产物), 由壳牌化学公司销售; Kyro™ EOB($C_{13} \sim C_{15}$ 醇与 3 或 5 mol 环氧乙烷的缩合产物), 由 procter & Gamble 公司销售; 以及 Genapol LA O3O 或 O5O($C_{12} \sim C_{14}$ 线型醇与 3 或 5 mol 环氧乙烷的缩合产物), 由 Hoechst 销售。这些产品的优选 HLB 值介于 8~11, 最优选 8~10。

还可用作本发明表面活性剂体系的非离子表面活性剂的是美国专利 4,565,647 中所公开的烷基聚糖。

优选的烷基聚糖苷具有通式: $R^2O(C_nH_{2n}O)_t(\text{糖基})_x$, 其中 R^2 选自烷基、烷基苯基、羟烷基、羟烷基苯基及其混合物, 其中烷基基团包含约 10~约 18, 优选约 12~约 14 个碳原子; n 是 2 或 3, 优选 2; t 是 0~约 10, 优选 0; x 为约 1.3~约 10, 优选约 1.3~约 3, 最优选约 1.3~2.7。

环氧乙烷与由环氧丙烷-丙二醇缩合生成的疏水基之间的缩合产物也适合作为本发明的附加非离子表面活性剂。这类型化合物的例子包括某些市售品 Plurafac™ LF404 和 Pluronic™ 表面活性剂, 由 BASF 销售。

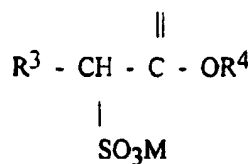
也适合作为本发明非离子表面活性剂体系的非离子表面活性剂的是环氧乙烷与, 环氧丙烷-乙二胺反应产物生成的缩合产物。这类型非离子表面活性剂的例子包括某些市售 Tetronic™ 化合物, 由 BASF 销售。

优选作为本发明表面活性剂体系的非离子表面活性剂的是烷基酚的聚环氧乙烷缩合产物、伯和仲脂族醇与约 1~约 25 mol 环氧乙烷的缩合产物、烷基聚糖及其混合物。最优选的是具有 3~15 个乙氧基基团的 $C_8 \sim C_{14}$ 烷基酚乙氧基化物及具有 2~10 个乙氧基基团的 $C_8 \sim C_{18}$ 醇乙氧基化物(优选平均 C_{10}), 及其混合物。

高度优选的非离子表面活性剂是如下通式的多羟基脂肪酸酰胺表面活性剂: $R^2-C(O)-N(R^1)-Z$, 其中 R^1 是 H, 或 R^1 是 C_1-4 烷基、2-羟乙基、2-羟丙基或其混合物, R^2 是 C_5-31 烷基, Z 是具有链上直接连接着至少 3 个羟基的线型烃基链的多羟基烃基或其烷氧基化衍生物。优选的是, R^1 是甲基, R^2 是直链 C_{11-15} 烷基或 C_{16-18} 烷基或链烯基链, 如椰子烷基或其混合物, Z 是在还原胺化反应中由还原性糖, 如由葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖衍生而来的。

阴离子表面活性剂-适合使用的阴离子表面活性剂是线型烷基苯磺酸盐、烷基酯磺酸盐表面活性剂, 包括, 按照《美国石油化学家协会会志》, 52(1975), pp. 323 ~ 329, 以气态三氧化硫实施磺化的 C_8-C_{20} 羧酸(即脂肪酸)-线型(烷基)酯。合适的原料包括天然脂肪物质, 如由牛脂、棕榈油等衍生而来。

优选的烷基酯磺酸盐表面活性剂, 尤其用于洗衣用途的, 包含下列结构通式的烷基酯磺酸盐表面活性剂:



其中 R^3 是 C_8-C_{20} 烷基, 优选烷基或其组合, R^4 是 C_1-C_6 烷基, 优选烷基, 或其组合, M 是与烷基酯磺酸形成水溶性盐的阳离子。合适的成盐阳离子包括诸如钠、钾及锂之类金属, 以及取代或未取代的铵阳离子如单乙醇胺、二乙醇胺及三乙醇胺。优选的是, R^3 是 $C_{10}-C_{16}$ 烷基, R^4 是甲基、乙基或异丙基。尤其优选式中 R^3 是 $C_{10}-C_{16}$ 烷基的甲基酯磺酸盐。

其他合适的阴离子表面活性剂包括烷基硫酸(盐)表面活性剂, 它是通式 $ROSO_3M$ 的水溶性盐或酸, 其中 R 优选是 $C_{10}-C_{24}$ 烷基, 优选为具有 $C_{10}-C_{20}$ 烷基成分的烷基或羟烷基, 更优选 $C_{12}-C_{18}$ 烷基或羟烷基, M 是 H 或阳离子。就典型而言, $C_{12}-C_{16}$ 烷基链优选用于较低温度的洗涤(例如, 低于约 50°C), 而 $C_{16}-C_{18}$ 烷基链则优选用于较高温度的洗涤(如高于约 50°C)。

其他洗涤目的用阴离子表面活性剂包括下列化合物的盐: 皂类、

$C_8 \sim C_{22}$ 伯或仲链烷磺酸盐、 $C_8 \sim C_{24}$ 链烯磺酸盐、通过对柠檬酸碱土金属盐热解产物进行的磺化制备的磺化多羧酸, 例如描述于英国专利说明书 1,082,179 中, $C_8 \sim C_{24}$ 烷基聚乙二醇醚磺酸盐(含最多 10 mol 环氧乙烷); 烷基甘油磺酸盐、脂族酰基甘油磺酸盐、脂族油基甘油磺酸盐、烷基酚环氧乙烷醚磺酸盐、石蜡磺酸盐、烷基磷酸盐, 羟乙磺酸盐如酰基羟乙磺酸盐、N-酰氨基乙磺酸盐、烷基琥珀酸及磺基琥珀酸盐; 磺基琥珀酸单酯(尤其是饱和及不饱和 $C_{12} \sim C_{18}$ 单酯)盐及磺基琥珀酸二酯(尤其是饱和及不饱和 $C_6 \sim C_{12}$ 二酯)盐、酰基肌氨酸盐、烷基聚糖磺酸盐, 如烷基聚葡萄糖苷磺酸盐(其非离子非硫酸化的化合物见下文)、支链伯烷基硫酸盐以及烷基聚乙氧基羧酸盐如通式 $RO(CH_2CH_2O)_k-CH_2COO-M^+$, 其中 R 是 $C_8 \sim C_{22}$ 烷基, k 是 1~10 的整数, M 是可溶性成盐阳离子。树脂酸及氢化树脂酸也是合适的, 例如松香、氢化松香以及以妥尔油或其衍生物形式存在的树脂酸及氢化树脂酸。

进一步的实施例描述于《表面活性剂及洗涤剂》(卷 I 及 II, 由 Schwartz、Perry 及 Berch 主编)。各种各样此类表面活性剂还一般性地公开在美国专利 3,929,678 中, 1975-12-30 授予 Laughlin 等人, 23 栏 58 行-29 栏, 23 行(在此并入本文作为参考)。

高度优选的阴离子表面活性剂包括通式 $RO(A)_mSO_3M$ 的烷基烷氧基化硫酸盐表面活性剂, 可以是水溶性盐或其酸, 其中 R 是未取代的 $C_{10} \sim C_{24}$ 烷基或具有 $C_{10} \sim C_{24}$ 烷基部分的羟烷基基团, 优选 $C_{12} \sim C_{20}$ 烷基或羟烷基, 更优选 $C_{12} \sim C_{18}$ 烷基或羟烷基, A 是乙氧基或丙氧基单元, m 大于 0, 典型值介于约 0.5~约 6 之间, 更优选介于约 0.5~约 3, M 是 H 或阳离子, 例如可以是金属阳离子(例如钠、钾、锂、钙、镁等), 铵或取代的铵阳离子。烷基乙氧基化硫酸盐乃至烷基丙氧基化硫酸盐也包括在内。取代的铵阳离子的具体例子包括甲基-、二甲基-、三甲基-铵阳离子及季铵盐阳离子如四甲基-铵及二甲基吡啶阳离子及由烷基胺如乙胺、二乙胺、三乙胺衍生的那些, 及其混合物等。范例表面活性剂是 $C_{12} \sim C_{18}$ 烷基聚乙氧基(1.0)化硫酸盐($C_{12} \sim C_{18}E(1.0)M$)、 $C_{12} \sim C_{18}$ 烷基聚乙氧基(2.25)化硫酸盐($C_{12} \sim C_{18}E(3.0)M$), 以及 $C_{12} \sim C_{18}$ 烷基聚乙氧基(4.0)化硫酸盐($C_{12} \sim C_{18}E(4.0)M$), 其中 M 可方便地选自钠和钾。

当加入其中时, 本发明清洗组合物一般地包含重量百分比约1%, 优选约3%~约40%, 更优选约20 wt%此类阴离子表面活性剂。

阳离子表面活性剂-适用于本发明清洗组合物中的阳离子洗涤剂是具有1个长链烷基基团的那些。此类阳离子表面活性剂的例子包括铵表面活性剂, 如卤化烷基三甲基铵, 以及具有通式 $[R^2(OR^3)_y]R^4(OR^3)_zR^5N^+X^-$ 的表面活性剂, 其中 R^2 是烷基链中有约8~约18个碳原子的烷基或烷基苄基基团, 每个 R^3 选自 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CH_2OH)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 及其混合物; 每个 R^4 选自 $C_1 \sim C_4$ 烷基、 $C_1 \sim C_4$ 羟烷基、由2个 R^4 基团连接形成的苄基环结构、 $-CH_2CHOH-CHOH-COR^6-CHOHCH_2OH$, 其中 R^6 是任何分子量小于约1000的己糖或己糖聚合物, 以及当 y 不是0时, 是氢; R^5 与 R^4 相同或者是烷基链, 其中 R^2+R^5 的碳原子总数不大于约18; 每个 y 是0~约10, 且 y 值的总和是0~约15; X 是任何相容的阴离子。

高度优选的阳离子表面活性剂是对本发明有用的水溶性季铵化合物, 具有通式(i): $R_1R_2R_3R_4N^+X^-$, 其中 R_1 是 $C_8 \sim C_{16}$ 烷基, R_2 、 R_3 及 R_4 中每一个独立地是 $C_1 \sim C_4$ 烷基、 $C_1 \sim C_4$ 羟烷基、苄基及 $-(C_2H_4)_xH$, 其中 x 是2~5的数值, X 是阴离子。 R_2 、 R_3 或 R_4 中为苄基的应不超过1个。 R_1 的优选烷基链长是 $C_{12} \sim C_{15}$, 尤其是当该烷基基团是由椰子或棕榈仁脂肪或者按合成方法由烯烃聚合或者由OXO醇合成衍生的不同链长的混合物时。优选作为 R_2 、 R_3 及 R_4 的基团是甲基及羟乙基基团, 阴离子 X 可选自卤素、甲基硫酸、乙酸及磷酸(根)离子。

适合本发明的通式(i)的季铵化合物的例子包括但不限于: 氯化或溴化椰子(基)三甲基铵; 氯化或溴化椰子甲基二羟乙基铵; 氯化或溴化癸基三乙基铵; 氯化或溴化癸基二甲基羟乙基铵; 氯化或溴化 C_{12-15} 二甲基羟乙基铵; 氯化或溴化椰子二甲基羟乙基铵; 甲基硫酸肉豆蔻基三甲基铵; 氯化或溴化月桂基二甲基苄基铵; 氯化或溴化月桂基二甲基(乙氧基)₄铵; 胆碱酯(通式(i)的化合物, 但其中 R_1 是

$CH_2-CH_2-O-C-C_{12-14}$ 烷基且 $R_2R_3R_4$ 是甲基者);



以及二烷基咪唑啉[(i)]。

其他可用于本发明的阳离子表面活性剂还可见诸于美国专利

4,228,044, 1980-10-14 授予 Cambre, 以及欧洲专利申请 EP 000,224.

当加入其中时, 本发明的清洗组合物一般包含从约 0.2%, 优选从约 1%到约 25%, 优选至约 8 wt%此类阳离子表面活性剂.

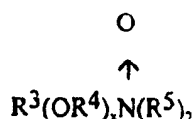
两性表面活性剂-两性表面活性剂, 其例子描述于美国专利 3,929,678 中, 也适用于本发明的清洗组合物.

当加入其中时, 本发明清洗组合物一般包含从约 0.2%, 优选从约 1%, 至约 15%, 优选至约 10 wt%此类两性表面活性剂.

两性离子表面活性剂-两性离子表面活性剂, 其例子描述于美国专利 3,929,678 中, 也适用于本发明的清洗组合物.

当加入其中时, 本发明清洗组合物一般包含从约 0.2%, 优选从约 1%, 至约 15%, 优选至约 10 wt%此类两性离子表面活性剂.

半极性非离子表面活性剂-半极性非离子表面活性剂是一类特殊的非离子表面活性剂, 包括如下通式的水溶性氧化胺:



其中 R^3 是烷基、羟烷基或烷基苯基基团或其混合物, 它们包含约 8~约 22 个碳原子; R^4 是包含约 2~约 3 个碳原子的亚烷基或羟亚烷基基团或其混合物; x 是 0~约 3; 每个 R^5 是包含约 1~约 3 个碳原子的烷基或羟烷基基团或者包含约 1~约 3 个氧乙烯基团的聚环氧乙烷基团(R^5 基团可彼此连接, 例如通过氧或氮原子, 形成一个环状结构); 含一个约 10~18 个碳原子的烷基部分及 2 个选自含约 1~约 3 个碳原子烷基基团和羟烷基基团部分的水溶性氧化膦; 含 1 个约 10~约 18 个碳原子烷基部分及 1 个选自约 1~约 3 个碳原子烷基及羟烷基部分的水溶性亚砷.

该氧化胺表面活性剂尤其包括 C_{10} ~ C_{18} 烷基二甲基氧化胺和 C_8 ~ C_{12} 烷氧基乙基二羟基乙基氧化胺.

当加入其中时, 本发明的清洗组合物一般包含从约 0.2%, 优选从约 1%到约 15%, 优选至约 10 wt%此类半极性非离子表面活性剂.

助表面活性剂-本发明清洗组合物还可包含助表面活性剂. 选自

伯或叔胺。适合本发明使用的伯胺包括符合通式 R_1NH_2 的胺，其中 R_1 是 $C_6 \sim C_{12}$ ，优选 $C_6 \sim C_{10}$ 烷基链或 $R_4X(CH_2)_n$ ， X 是 $-O-$ 、 $-C(O)NH-$ 或 $-NH-$ ， R_4 是 $C_6 \sim C_{12}$ 烷基链， n 介于 1~5，优选 3。 R_1 烷基链可以是直链或支链且中间可嵌入最多 12，优选少于 5 个氧乙烯部分。

优选的以上通式的胺是正烷基胺。适合用于此处的胺选自 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺及月桂胺。其他优选的伯胺包括 $C_8 \sim C_{10}$ 氧丙基胺、辛基氧基丙基胺、2-乙基己基-氧丙基胺、月桂酰胺基丙胺及酰胺基丙胺(amido propylamine)。最优选用于本发明组合物的胺是 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺、1-十二烷基胺。尤其可人的是正十二烷基二甲胺和二羟乙基椰子基烷基胺及油基胺的 7 倍乙氧基化物。月桂酰胺基丙胺及椰子酰胺基丙胺。

LFNI-本发明的自动餐具洗涤组合物(ADD)中的尤其优选的表面活性剂是低泡沫非离子表面活性剂(LFNI)，描述于美国专利 5,705,464 及 5,710,115 中。LFNI 的含量在 0.01~约 10 wt%，优选约 0.1%~约 10%，最优选约 0.25%~约 4%。LFNI 最典型的用途是用于 ADD 产品，这是因为它们能改善 ADD 产品成水膜作用(water-sheeting)，(尤其是从玻璃上流过时)。它们还涵盖下面将进一步说明且据知具有对自动洗碗中遇到的食物污垢的消泡作用的非硅氧烷、非磷酸酯聚合物材料。

优选的 LFNI 包括非离子烷氧基化表面活性剂，尤其是由伯醇衍生的乙氧基化物，及其与更复杂的表面活性剂的共混物，如美国专利 5,705,464 和 5,710,115 描述的聚环氧丙烷/聚环氧乙烷/聚环氧丙烷(PO/EO/PO)反向嵌段聚合物。

还可使用的 LFNI 包括 Olin 公司供应的那种 POLY-TERGENT® SLF-18 非离子表面活性剂以及具有上面所描述的熔点性质的任何可生物降解 LFNI。

这些以及其他非离子表面活性剂在技术上是熟知的，较详细地描述在 Kirk Othmer 的《化学技术大全》，第 3 版，卷 22，pp. 260~379，“表面活性剂及洗涤剂体系”，在此并入本文作为参考。

漂白体系-本发明的清洗组合物优选包含漂白体系。漂白体系通常包含“漂白剂”(过氧化氢源)及“引发剂”或“催化剂”，当存在时。漂白剂的典型含量为组合物重量的从约 1%。优选约 5%~

约 30%，更优选至约 20%。存在的话，漂白活化剂的典型含量为含该漂白剂加漂白活化剂组成的漂白组合物的从约 0.1%，优选约 0.5 ~ 约 60%，更优选至约 40 wt%。

漂白剂-过氧化氢源详细描述在收作本文参考的 Kirk Othmer 的《化学技术大全》，第 4 版(1992, John Wiley & Sons)，卷 4，pp. 271 ~ 300，“漂白剂(综述)”，它包括各种形式的过硼酸钠和过碳酸钠，包括其各种涂层的及改性的形式。

优选用于本发明的过氧化氢源可以是任何方便的来源，包括过氧化氢本身。例如可使用，过硼酸盐，如过硼酸钠(任何水合物，但优选一-或四水合物)、碳酸钠过氧水合物(双氧水合物)或等价的过碳酸盐、焦磷酸钠过氧水合物、尿素过氧水合物或过氧化钠。市售氧源也可使用，例如过硫酸盐漂白剂(如，OXONE，杜邦公司制造)。过硼酸钠一水合物及过碳酸钠是尤其优选的。任何方便的过氧化氢源的混合物也可使用。

优选的过碳酸盐漂白剂包含约平均粒度在约 500 μm ~ 约 1,000 μm 的干颗粒，所述颗粒中小于约 200 μm 者不超过约 10 wt%，且所述颗粒中大于约 1,250 μm 者不超过约 10 wt%。任选地，过碳酸盐可涂以硅酸盐、硼酸盐或水溶性表面活性剂涂层。过碳酸盐可由各种商业来源获得，例如 FMC、Solvay 及 Tokai Denka 等公司。

本发明清洗组合物还可包含氯型漂白材料作为漂白剂。此种剂在技术上是熟知的，例如包括二氯代异氰尿酸钠(“NaDCC”)。然而，氯型漂白剂对于包含酶的组合物来说是较次优选的。

(a)漂白活化剂-该组合物中的过氧化氢漂白成分优选与活化剂(过氧酸前体)配合使用。活化剂的含量为组合物重量的从约 0.01%，优选从约 0.5%，更优选从约 1%，至约 15%，优选至约 10%，更优选至约 8%。优选的活化剂选自四乙酰乙二胺(TAED)、苯甲酰己内酰胺(BzCL)、4-硝基苯甲酰己内酰胺、3-氯苯甲酰己内酰胺、苯甲酰氧基苯磺酸盐(BOBS)、壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS)、苯甲酸苯酯(PhBz)、癸酰氧基苯磺酸盐(C_{10} -OBS)、苯甲酰戊内酰胺(BZVL)、辛酰氧基苯磺酸盐(C_8 -OBS)、全水解酯及其混合物，最优选苯甲酰己内酰胺及苯甲酰戊内酰胺。在 pH 约 8 ~ 约 9.5 范围尤其优选使用的漂白活化剂选自具有 OBS 或 VL 离去基团的那些。

优选的疏水漂白活化剂包括(但不限于), 壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS)、4-[N-(壬酰氧基)氨基己酰氧基]-苯磺酸钠盐(NACA-OBS), 其一例描述于美国专利 5,523,434 中, 十二烷酰氧基苯磺酸盐(LOBS 或 C₁₂-OBS)、10-十一烷酰氧基苯磺酸盐(UDOBS 或 C₁₁-OBS, 其不饱和键位于 10 位), 以及癸酰氧基苯甲酸(DOBA)。

优选的漂白活化剂描述于美国专利 5,698,504,1997-12-16 授予 Christie 等人; 美国专利 5,695,679,1997-12-09 授予 Christie 等人; 美国专利 5,686,401,1997-11-11 授予 Willey 等人; 美国专利 5,686,014,1997-11-11 授予 Hartshorn 等人; 美国专利 5,405,412,1995-04-11 授予 Willey 等人; 美国专利 5,405,413,1995-04-11 授予 Willey 等人; 美国专利 5,130,045,1992-07-14 授予 Mitchel 等人; 以及美国专利 4,412,934,1983-11-01 授予 Chung 等人, 以及共同未决美国专利申请序列号 08/709,072、08/064,564, 一律并入本文作为参考。

在本发明中, 过氧漂白化合物(记作 AvO)对漂白活化剂的摩尔比一般至少从 1:1, 优选从约 20:1, 更优选从约 10:1, 至约 1:1, 优选至约 3:1。

季铵取代的漂白活化剂也可包括在内。本发明清洗组合物优选包含季铵取代的漂白活化剂(QSBA)或季铵取代的过氧酸(QSP); 前者更为优选。优选的 QSBA 结构进一步描述于美国专利 5,686,015,1997-11-11 授予 Willey 等人; 美国专利 5,654,421,1997-08-05 授予 Taylor 等人; 美国专利 5,460,747,1995-10-24 授予 Gosselink 等人; 美国专利 5,584,888,1996-12-17 授予 Miracle 等人; 以及美国专利 5,578,136,1996-11-26 授予 Taylor 等人; 一律并入本文作为参考。

本发明高度优选的漂白活化剂是酰胺取代的, 如描述于美国专利 5,698,504、美国专利 5,695,679 及美国专利 5,686,014 中, 这些均已在上面举出过。此类漂白活化剂的优选实施例包括:(6-辛酰胺己酰)氧基苯磺酸盐、(6-壬酰胺己酰)氧基苯磺酸盐、(6-癸酰胺己酰)氧基苯磺酸盐及其混合物。

其他有用的活化剂, 公开在美国专利 5,698,504, 美国专利 5,695,679, 美国专利 5,686,014, 均在上面援引过。以及美国专利

4,966,723,1990-10-30 授予 Hodge 等人的, 包括苯并口恶嗪型活化剂, 如 C_6H_4 环, 其 1,2-位上稠合了一个 $-C(O)OC(R^1)=N$ -部分。

依活化剂及具体用途而定, 良好的漂白结果可由使用时 pH 值约 6~约 13, 优选约 9.0~约 10.5 的漂白体系来获得。就典型而言, 例如具有吸电子部分的活化剂可用于接近中性或亚中性 pH 范围。可采用碱或缓冲剂来获得此种 pH。

酰基内酰胺活化剂, 如描述于美国专利 5,698,504、美国专利 5,695,679 及美国专利 5,686,014 中, 均在上面提到过, 非常适用于本发明, 尤其是酰基己内酰胺(例如参见 WO94-28102A)及酰基戊内酰胺(参见美国专利 5,503,639,1996-04-02 授予 Willey 等人, 并入本文作为参考)。

(b)有机过氧化物, 尤其是二酰基过氧化物-这些均全面描述于 Kirk Othmer 的《化学技术大全》, 卷 17, John Wiley & Sons 1982, pp. 27-90, 尤其是 pp. 63~72 中, 全部内容并入本文作为参考。若使用二酰基过氧化物, 优选它对成斑/成膜的不利影响应尽量小。

(c)含金属漂白催化剂-本发明组合物及方法可利用在漂白组合物中使用有效的含金属漂白催化剂。优选含锰及钴的漂白催化剂。

一种类型含金属漂白催化剂是包含:有规定漂白催化活性的过渡金属阳离子的催化剂体系, 例如含铜、铁、钛、钒、钨、钼或锰阳离子; 有很小或没有漂白催化活性的辅助金属阳离子, 如锌或铝阳离子; 以及对催化及辅助金属阳离子有规定稳定常数的螯合剂, 特别是乙二胺四乙酸、乙二胺四(亚甲基膦酸)及其水溶性盐。这类催化剂公开在美国专利 4,430,243 中, 1982-02-02 授予 Bragg。

锰金属配合物-需要的话, 本发明组合物可借助锰化合物来催化。这类化合物及其用量乃是技术上熟知的, 例如包括: 锰基催化剂, 公开在美国专利 5,576,282、5,246,621、5,244,594、5,194,416 及 5,114,606; 以及欧洲专利申请公开号 549,271 A1、549,272 A1、544,440 A2 及 544,490 A1; 这些催化剂的优选实施例包括 $Mn^{IV}_2(u-O)_3(1,4,7\text{-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷})_2(PF_6)_2$ 、 $Mn^{III}_2(u-O)_3(1,4,7\text{-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷})_2(ClO_4)_2$ 、 $Mn^{IV}_2(u-O)_3(1,4,7\text{-三氮杂环壬烷})_2(ClO_4)_2$ 、 $Mn^{III}Mn^{IV}_4(u-O)_1(u-OAc)_2(1,4,7\text{-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷})_2(ClO_4)_3$ 、 $Mn^{IV}(1,4,7\text{-三甲基-1,4,7-三氮杂环壬烷})_2(ClO_4)_3$ 。

(OCH₃)₃(PF₆), 及其混合物. 其他金属基漂白催化剂包括公开在美国专利 4,430,243 及美国专利 5,114,611 中的那些. 还有, 以锰与各种配位体来改善漂白效果的用法也见诸于下列文献的报道: 美国专利 4,728,455、5,284,944、5,246,612、5,256,779、5,280,117、5,274,147、5,153,161 以及 5,227,084.

钴金属配合物-可用于本发明的钴漂白催化剂是已知的, 例如描述在美国专利 5,597,936、5,595,967 及 5,703,030 及 M.L. Tobe, “过渡金属配合物的碱性水解” 《Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.》(1983), 2, pp. 1 ~ 94. 最优选用于本发明的钴催化剂是通式为 [Co(NH₃)₅OAc]T_y 的乙酸五氨合钴的盐, 其中 “OAc” 代表乙酸根部分, “T_y” 是阴离子; 尤其是: 氯化乙酸五氨合钴, 即 [Co(NH₃)₅OAc]Cl₂; 以及 [Co(NH₃)₅OAc](OAc)₂; [Co(NH₃)₅OAc](PF₆)₂; [Co(NH₃)₅OAc](SO₄); [Co(NH₃)₅OAc](BF₄)₂; 及; [Co(NH₃)₅OAc](NO₃)₂ (本文称 “PAC”).

这些钴催化剂可采用已知的程序方便地制备, 例如按美国专利 5,597,936、5,595,967 和 5,703,030 的公开; Tobe 的文章及其援引的参考文献中的; 以及美国专利 4,810,410; 《J. Chem. Ed.》(1989), 66(12), 1043 ~ 45; 《无机化合物的合成及鉴定》, W.L. Jolly (Printice-Hall, 1970), pp. 461 ~ 3; 《无机化学》, 18, 1497 ~ 1502 (1979); 《无机化学》21, 2881 ~ 2885 (1982); 《无机化学》, 18, 2023 ~ 2025 (1979); 《无机合成》, 173 ~ 176 (1960); 以及《物理化学杂志》, 56, 22 ~ 25 (1952) 中的方法.

“大多环刚性配位体”的过渡金属配合物-本发明组合物也宜于包含大多环配位体的过渡金属配合物, 作为漂白催化剂. 术语“大多环刚性配位体”在下面的讨论中有时简写为 “MRL”. 其用量为催化有效的数量, 合适的数值为约 1 ppb 或更多, 最高例如至约 99.9%, 更典型的约 0.001 ppm 或更多, 优选约 0.05 ppm ~ 约 500 ppm (其中 “ppb” 代表每十亿重量份的份数; “ppm” 代表每百万重量份的份数).

下面将举例说明合适的过渡金属, 如 Mn. “大多环”意思是, 一种 MRL 既是大环, 又是多环. “多环”是指至少 2 个环. 术语 “刚性” 在这里涵盖 “具有超结构” 和 “横越桥连”. “刚性” 曾

被定义为“柔性”的受限的反面:参见 D.H. Busch, 《化学评论》(1993), 93,847~860, 收作参考。更具体地说, 本文所使用的术语“刚性”是指, 该 MRL, 与其他均相同(具有相同环尺寸及类型以及主环中的原子数)但缺乏 MRL 中具备的超结构(连接部分, 或优选地, 横越桥连部分)的大环(“前体大环”)相比, 必须可测定地更为僵硬。在测定具有或不具有超结构的大环之间的对比刚性时, 业内人士将采用自由形式(不是金属键合的形式)的大环。众所周知, 刚性, 在比较不同大环时是有用的参数; 适合确定、测量或比较刚性的工具包括计算法(例如参见, Zimmer, 《化学评论》(1995),95(38),2629~2648 或 Hancock 等人, 《无机化学学报(Inorganica Chimica Acta)》(1989),164, 73~84。

本发明优选的 MRL 是特定类型的横越桥连、超刚性配位体。“横越桥连”在下面的 1.11 中给出了非限制性例子。在 1.11 中, 该横越桥连是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 部分。它将示意性结构中的 N^1 和 N^8 彼此桥连。相比之下, 譬如“同侧”桥, 倘若被引入到 1.11 中的 N^1 与 N^{12} 之间, 将不足以构成一种“横越桥连”, 并因此将不可取。

刚性配位体配合物中的合适金属包括 Mn(II)、Mn(III)、Mn(IV)、Mn(V)、Fe(II)、Fe(III)、Fe(IV)、Co(I)、Co(II)、Co(III)、Ni(I)、Ni(II)、Ni(III)、Cu(I)、Cu(II)、Cu(III)、Cr(II)、Cr(III)、Cr(IV)、Cr(V)、Cr(VI)、V(III)、V(IV)、V(V)、Mo(IV)、Mo(V)、Mo(VI)、W(IV)、W(V)、W(VI)、Pd(II)、Ru(II)、Ru(III)及 Ru(IV)。优选的本发明过渡金属漂白催化剂中的过渡金属包括锰、铁和铬。

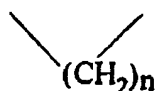
较一般地, 该 MRL(及其对应的过渡金属催化剂)宜于包含:

- (a) 至少 1 种含 4 或更多个杂原子的大环主环; 以及
- (b) 能提高该大环刚性的共价连接非金属超结构, 优选地选自
 - (i) 桥连超结构, 例如连接部分;
 - (ii) 横越桥连超结构, 如横越桥连连连接部分; 以及
 - (iii) 二者的组合。

本文所使用的术语“超结构”符合 Busch 等人的文献的定义, 例如参见 Busch 在《化学评论》中的文章。

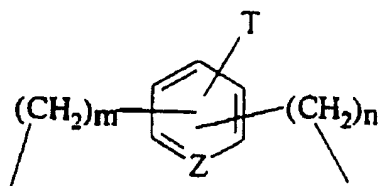
这里优选的超结构不仅将增强前体大环的刚性, 而且有利于大

环的折叠,以便于它配位到裂口中的金属上。合适的超结构可相当简单地简单,譬如,诸如下面式1和式2所画出的任何一种连接部分,均可使用。



式 1

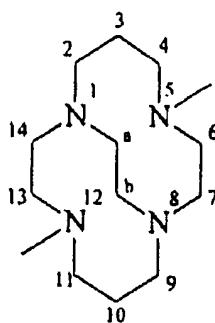
其中, n 是整数,例如介于 2~8, 优选小于 6, 典型值 2~4, 或者



式 2

其中 m 是约 1~8 的整数,更优选 1~3; Z 是 N 或 CH; T 是相容的取代基,例如 H、烷基、三烷基铵、卤素、硝基、磺基(磺酸根)或诸如此类的。在 1.10 中的芳环可换成饱和环,其中连接到环中的 Z 原子可包含 N、O、S 或 C。

下面再举出另一种合适的 MRL 非限制性化合物例子:



式 3

这是一种本发明高度优选的、横越桥连、甲基取代的(全部在叔氮原子上)的环状内酰胺(cyclam)衍生物。正规地说,该配位体

叫做 5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷,按扩展的 von Baeyer 系统(命名法)。参见,《IUPAC 有机化合物命名法指南:建议意见 1993》,R. Panico, W.H. Powell 及 J-C Richer(主编),Blackwell 科学出版社,波士顿,1993;尤其参见 R-2.4.2.1 节。

适用于本发明组合物的大环刚性配位体的过渡金属漂白催化剂,一般地可包括符合上述定义的已知化合物,乃至更优选地,专门为本发明洗衣或清洁用途明确设计的大量新型化合物中的任何一种,其非限制性例子可举出下列化合物中任何一种:

二氯-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷(合)锰(II)

六氟磷酸二水合-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

六氟磷酸水合-羟基-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(III)

四氟硼酸(根)二水合-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

六氟磷酸二氯-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(III)

二氯-5,12-二正丁基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

二氯-5,12-二苄基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

二氯-5-二正丁基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

二氯-5-二正辛基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)

二氯-5-二正丁基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰(II)。

在实际使用中且不具限制性地,可对本发明组合物和清洁方法进行调节以在洗涤水介质中提供约每一亿份中有1份活性漂白催化剂种。优选在洗涤水中提供从约 0.01 ppm~约 25 ppm。更优选

约 0.05 ppm~10 ppm, 最优选约 0.1 ppm~约 5 ppm 漂白催化剂种。为了在自动洗涤过程的洗涤液中提供这样水平的含量, 典型的本发明组合物将包含以漂白组合物重量为基准, 约 0.0005%~约 0.2%, 更优选约 0.004%~约 0.08%漂白催化剂, 尤其是锰或钴催化剂。

(d) 其他漂白催化剂-本发明组合物可包含 1 种或多种其他漂白催化剂。优选的漂白催化剂是两性离子漂白催化剂, 它们描述于美国专利 5,576,282 中(尤其是丙烷磺酸 3-(3,4-二氢异喹啉鎓)。其他漂白催化剂包括阳离子漂白催化剂, 它们描述于美国专利 5,360,569、5,442,066、5,478,357、5,370,826、5,482,515、5,550,256 及 W095/13351、W095/13352 及 W095/13353 中。

适合用作漂白剂的还有预生成的过氧酸, 例如邻苯二甲酰亚胺-过氧-乙酸(“PAP”)。参见美国专利 5,487,818、5,310,934、5,246,620、5,279,757 及 5,132,431 中。

任选的洗涤酶-本发明洗涤剂及清洗组合物还可任选地包含 1 种或多种类型的洗涤剂酶。这些酶可包括其他蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶及脂酶。这些物质在技术上是已知的且以各种商品名在市场上销售。它们掺入到本发明非水液体洗涤剂组合物中的形式可以是悬浮体、“圆球”或“小球”。另一种适宜类型的酶包含以酶在非离子表面活性剂中的淤浆形式的那些, 例如由 Novo Nordisk 按商品名“SL”销售的酶或者由 Novo Nordisk 按商品名“LDP”销售的微胶囊化的酶。合适的酶及其用量描述于美国专利 5,576,282、5,705,464 及 5,710,115 中。

本发明尤其优选以传统酶小球形式加入到这里的组合物中的酶。合适的小球粒度一般在约 100~1,000 μm , 更优选约 200~800 μm , 并被悬浮在组合物的整个非水液相中。本发明组合物中的小球, 据发现, 与其他酶形式相比, 表现出尤其可人的酶活性随时间保持恒定的酶稳定性。因此, 采用酶小球的组合物不需要包含诸如当将酶掺入到含水液体洗涤剂中时常常必须采用的传统酶稳定剂。

然而, 加入到本发明组合物中的酶也可呈粒状, 优选 T 字形颗粒。

“洗涤酶”，在这里是指在洗衣、硬表面清洁或个人洗漱洗涤剂组合物中具有清洁、除渍或其他有益效果的任何酶。优选的洗涤酶可以是水解酶，如蛋白酶、淀粉酶和脂酶。洗衣目的优选的酶包括但不限于，蛋白酶、纤维素酶、脂酶和过氧化物酶。自动餐具洗涤高度优选的是淀粉酶和/或蛋白酶，既包括目前市售的类型，也包括各种改进类型，后者，尽管通过不断的努力已变得越来越与漂白剂相容，但依然具有残余程度的易使漂白而失活的特性。

合适酶的例子包括但不限于，半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、脂酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、角蛋白酶、还原酶、氧化物酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木素酶、支链淀粉酶、单宁酶、戊聚糖酶、马兰酶 (malanases)、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶及各种已知的淀粉酶，或其混合物。

此种适宜酶的例子公开在美国专利 5,705,464、5,710,115、5,576,282、5,728,671 及 5,707,950 中。

可用于本发明的纤维素酶既包括细菌源的也包括真菌源的纤维素酶。优选的是，它们具有的 pH 最佳值介于 5~12 且“比活性”大于 50 CEVU/mg (纤维素粘度单位)。合适的纤维素酶公开在美国专利 4,435,307、J61078384 及 W096/02653 中，后者公开了分别由 *Humicola insolens*、木霉菌属 (*Trichoderma*)、梭孢菌属 (*Thielavia*) 及 S-侧孢霉属 (*Sporotrichum*) 制备的真菌纤维素酶。EP 739 982 描述了由新型芽胞杆菌中分离出的纤维素酶。合适的纤维素酶还公开在 GB-A-2.075.028、GB-A-2.095.275、DE-OS-2.247.832 及 W095/26398 中。

这类纤维素酶的例子是由菌株 *Humicola insolens* (*Humicola grisea* var. *thermoidea*)，尤其是由腐殖霉属菌株 DSM 1800 所生产的纤维素酶。其他合适的纤维素酶是由分子量约 50KDa、等电点 5.5 并包含 415 个氨基酸的 *Humicola insolens* 产生的纤维素酶；以及由 *Humicola insolens*，DSM 1800 产生、表现出纤维素活性的内切葡聚糖酶；优选的内切葡聚糖酶成分具有 W0 91/17243 所公开的氨基酸序列。合适的纤维素酶还有 EGIII 纤维素酶：由授予 Genencor 的 W094/21801 所描述的长臂木霉菌属 (*Trichoderma*

longibrachiatum) 产生。尤其合适的纤维素酶是具有颜色护理效用的纤维素酶。此类纤维素酶的例子是欧洲专利申请号 91202879.2 所描述的纤维素酶, 1991-11-06 提交(Novo)。Carezyme 和 Celluzyme(Novo Nordisk A/S) 尤其有用。还可参见 W091/17244 及 W091/21801。其他适合织物护理和/或有清洁性能的纤维素酶描述在 W096/24092、W096/17994 及 W095/24471 中。

当存在时, 纤维素酶在清洗组合物中的加入量为清洗组合物重量的 0.0001%~2% 纯酶。

过氧化物酶应与氧源配合使用, 例如与过碳酸盐、过硼酸盐、过硫酸盐、过氧化氢等并与酚底物配合使用, 后者作为漂白增强分子。它们用于“溶液漂白”, 即, 防止染料在洗涤操作期间由一种底物转移到洗涤溶液中其他底物上。过氧化物酶在技术上是已知的, 例如包括辣根过氧化物酶、木素酶及卤代过氧化物酶如氯-及溴-过氧化物酶。合适的过氧化物及含过氧化物酶组合物, 例如公开在美国专利 5,705,464、5,710,115、5,576,282、5,728,671 及 5,707,950、PCT 国际申请 WO 89/099813、W089/09813 及欧洲专利申请 EP 号 91202882.6, 1991-11-06 提交, 以及 EP 号 96870013.8, 1996-02-20 提交。适合的还有漆酶。

增效剂的加入量为整个组合物重量的 0.1%~5%。优选的增效剂是取代的吩噻嗪和吩口恶嗪 10-吩噻嗪丙酸(PPT)、10-乙基吩噻嗪-4-羧酸(EPC)、10-吩口恶嗪丙酸(POP)及 10-甲基吩口恶嗪(描述于 W094/12621)以及取代的丁香酸酯(C3~C5 取代的丁香酸烷基酯)及酚类。过碳酸钠或过硼酸钠是优选的过氧化氢源。所述过氧化物酶在清洗组合物中的加入量一般介于: 清洗组合物重量的 0.0001%~2% 纯酶的范围。

酶体系可用作漂白剂。过氧化氢的存在, 也可通过在洗涤和/或清洗的开始或过程中加入能产生过氧化氢的酶体系(即, 酶与其底物)来实现。此种酶体系公开在 EP 专利申请 91202655.6 中, 1991-10-09 提交。

其他可包括在本发明清洗组合物中的优选酶包括脂酶。合适的洗涤剂用脂酶包括由假单胞菌类微生物, 如英国专利 1,372,034 中所公开的施氏假单胞菌 ATCC 19,154 产生的脂酶。合适的脂酶包

括对脂酶抗体表现出阳性免疫交叉反应的那些,可通过微生物荧光假单胞菌 IAM 1057 产生.该脂酶由 Amano 制药公司(Nagoya, 日本)按商品名脂酶 P “Amano”供应,在下文中称之为“Amano-P”.其他合适的商品脂酶包括 Amano-CES、源于粘稠色杆菌(*Chromabacter viscosum*)的脂酶,例如粘稠色杆菌解脂变种(*Chromabacter viscosum* var. *Lipolyticum*) NRRLB 3673,由美国生物化学公司和荷兰 Disoynth 公司供应,以及源于唐菖蒲假单胞菌的脂酶.尤其合适的脂酶是下列脂酶,诸如 M1 Lipase[®]及 Lipomax[®](Gist-Brocades) 及 Lipolase[®] 及 Lipolase Ultra[®](Novo), 据发现,它们与本发明组合物配合使用时非常有效.合适的还有脂解酶,描述于 BP 258 068、W092/05249 及 W095/22615,由 Novo Nordisk 公开,以及 W0 94/03578、W0 95/35381 及 W0 96/00292,由 Unilever 公开.

合适的还有角质酶[EC 3.1.1.50],可视为一种特殊脂酶,即,不要求界面活性的脂酶.角质酶在清洗组合物重量中的添加,公开在例如 W0-A-88/09367(Genencor)、W0 90/09446(植物基因系统公司)及 W0 94/14963 及 W0 94/14964(Unilever)中.

脂酶和/或角质酶,当存在时,在清洗组合物重量中的加入量一般为,清洗组合物重量的 0.0001%~2%纯酶.

除了以上援引的脂酶之外,磷脂酶也可被加入到本发明清洗组合物中.合适的磷脂酶的非限制性实施例包括:EC 3.1.1.32 磷脂酶 A1、EC 3.1.1.4 磷脂酶 A2、EC 3.1.1.5 溶血磷脂酶、EC 3.1.4.3 磷脂酶 C、EC 3.1.4.4 磷脂酶 D.市售的磷脂酶包括 LECITASE[®],由丹麦的 Novo Nordisk 公司供应;以及磷脂酶 A2,由 Sigma 公司供应.当在本发明组合物中加入磷脂酶时,优选的是,还加入淀粉酶.不拟囿于理论,但据信,磷脂酶与淀粉酶的联合作用可提供显著改善的污渍去除效果,尤其是对油脂类、淀粉类以及高度着色色斑及污垢.优选的是,磷脂酶与淀粉酶,当存在时,在本发明组合物中的加入量按纯酶重量比计,介于 4500:1~1:5,更优选介于 50:1~1:1.

合适的蛋白酶是由特殊枯草芽胞杆菌和地衣芽胞杆菌菌株获得的枯草杆菌蛋白酶(枯草杆菌蛋白酶 BPN 及 BPN[®]).一种合适的蛋白

酶是由在 8~14 整个 pH 范围内具有最大活性的芽胞杆菌菌株获得, 由丹麦 Novo 工业公司(以下称“Novo”)以商品名 ESPERASE[®]研制并销售。此种酶及其类似酶的制备方法描述在授予 Novo 的 GB 1,243,784 中。蛋白水解酶还涵盖改性细菌丝氨酸蛋白酶, 例如描述在欧洲专利申请序列号 87 303761.8 中, 1987-04-28 提交(尤其是 pp. 17、24 及 98), 在本文中称其为“蛋白酶 B”, 以及欧洲专利申请 199,404, Venegas, 1986-10-29 发表, 它涉及在本文中称作“蛋白酶 A”的改性细菌丝氨酸蛋白水解酶。合适的是叫做“蛋白酶 C”的, 它是来自芽胞杆菌的碱性丝氨酸蛋白酶的变体, 其中赖氨酸取代了位点 27 的精氨酸; 酪氨酸取代了位点 104 的缬氨酸; 丝氨酸取代了位点 123 的天冬酰胺; 丙氨酸取代了位点 274 的苏氨酸。蛋白酶 C 描述在 EP90915958:4, 对应于 WO 91/06637, 1991-05-16 发表。各种遗传改性变体, 特别是蛋白酶 C 的, 也包括在内。

被称为“蛋白酶 D”的优选蛋白酶是如美国专利 5,677,272 及 W095/10591 中所描述的羧基水解酶。合适的还有 W095/10591 中所描述的羧基水解酶变种, 它们具有通过对前体酶中多个氨基酸残基的取代而衍生的氨基酸序列, 这些位点对应于+210 以及配合着 1 个或多个下列位点:

+33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218, 及 +222.

其中数字代号位点对应于来自解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的天然存在枯草杆菌蛋白酶以及其他羧基水解酶或枯草杆菌蛋白酶, 例如迟缓芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶(共同未决美国专利申请序列号 60/048,550, 1997-06-04 提交; 以及 PCT 国际申请序列号 PCT/IB98/00853)。

适合本发明的还有 EP251 4446 和 WO 91/06637 中所描述的蛋白酶、E091/02792 中所描述的蛋白酶 BLAP[®]以及 WO 95/23221 中所描述的其变种。

还可参见授予 Novo 的 WO 93/18140 所描述的来自芽胞杆菌 NCIMB 40338 的高 pH 蛋白酶。一种包含蛋白酶、1 种或多种其他酶及可逆蛋白酶抑制剂的加酶洗涤剂, 公开在授予 Novo 的 WO 92/03529 A 中。需要的话, 具有降低吸附和提高水解能力的蛋白酶也已研制出来, 如公开在授予 Procter & Gamble 的 W095/07791 中。适合本发明洗涤剂使用的重组类胰蛋白酶的蛋白酶公开在授

予 Novo 的 WO 94/25583 中。其他合适的蛋白酶描述于授予 Unilever 的 EP 516 200 中。

尤其有用的蛋白酶描述在下列 PCT 出版物中: WO 95/30010、WO 95/30011 及 WO 95/29979。合适的蛋白酶可按下列商品名购得: ESPERASE[®]、ALCALASE[®]、DURAZYM[®]、SAVINASE[®]、EVERLASE[®] 及 KANNASE[®]，均由 Novo Nordisk 公司(丹麦)供应，以及 MAXATASE[®]、MAXACAL[®]、PROPERASE[®] 及 MAXAPEM[®]，均由 Genencor 国际公司(原来的 Gist-Brocades(荷兰)供应。

这些蛋白水解酶，当在本发明清洗组合物中存在时，其加入量为组合物重量的 0.0001%~2%，优选 0.001%~0.2%，更优选 0.005%~0.1% 纯酶。

可加入淀粉酶(α -或 β -)，以去除碳水化合物为主的污渍。WO94/02597 描述了包含突变体淀粉酶的清洗组合物。还可参见 WO95/10603。其他已知用于清洗组合物的淀粉酶包括 α -及 β -淀粉酶。 α -淀粉酶在技术上是已知的，包括下列文献中公开的: 美国专利 5,003,257、EP252,666、WO 91/00353、FR 2.676.456、EP 285,123、EP525,610、EP 368,341 及英国专利说明书号 1,296,839(Novo)。另一类合适的淀粉酶是稳定性增强的淀粉酶，描述在 WO 94/18314 及 WO 96/05295，Genencor，以及在直接前体上进行附加改性的淀粉酶变体，由 Novo Nordisk 公司公开在 WO 95/10603 中。合适的还有 EP 277216 中所描述的淀粉酶。

市售 α -淀粉酶产品的例子是 Purafect Ox Am[®]，由 Genencor 供应，以及 Termamyl[®]、Ban[®]、Fungamyl[®] 及 Duramyl[®]，由丹麦 Novo Nordisk 公司供应。WO95/26397 描述了另一类合适的淀粉酶: 一种 α -淀粉酶，特征是，在 25℃~55℃ 的温度和 pH 值 8~10 范围的比活性比 Termamyl[®] 的比活性至少高出 25%，该数值是按 Phadebas[®] α -淀粉酶活性试验测定的。上面 WO96/23873(Novo Nordisk) 中所述酶的各种变体是合适的。在活性水平及热稳定性与较高活性的综合方面改善的另一些淀粉水解酶公开在 WO95/35382 中。

此种淀粉水解酶，当存在时，在本发明清洗组合物中的加入量为组合物重量的 0.0001%~2%，优选 0.00018%~0.06%，更优选 0.00024%~0.048% 纯酶。

上述酶可取自任何一种合适来源，例如植物、动物、细菌、真菌及酵母源。来源还可是嗜温或嗜极端(extremophilic)(嗜冷、嗜寒(psychrotrophic)、嗜热、嗜压、嗜碱、嗜酸、嗜盐等)的。可使用这些酶的提纯及非提纯形式。如今，野生类型酶改性的通行做法是采用蛋白/基因工程技术以优化它们在本发明衣物洗涤剂 and / 或织物护理组合物中的性能效力。譬如，可通过对各种变体的设计，来提高酶与此类组合物中经常遇到的成分之间的相容性。或者，可通过变体设计来调节酶变体的最佳 pH、漂白或螯合剂稳定性、催化活性之类，使之适合特定的清洁用途。

重点尤其应集中在：在追求漂白剂稳定性的情况下，对氧化敏感的氨基酸上；而为达到表面活性剂相容性--则在表面电荷上。此种酶的等电点可通过对某些带电氨基酸的取代来改变，例如提高等电点有助于改善与阴离子表面活性剂的相容性。酶的稳定性还可通过例如附加盐桥及强钙结合位点的生成以提高螯合剂稳定性，从而进一步提高。

这些任选的酶，当存在时，在清洗组合物重量中的加入量一般在清洗组合物重量的 0.0001%~2% 纯酶。这些酶可以分开的单一成分形式(含 1 种酶的小球、粒状、稳定化液体等)，或者以 2 种或更多种酶的混合物形式(例如复合粒料)加入。

另一种适合加入的洗涤剂成分是酶氧化(剂)清除剂。此种酶氧化清除剂的例子是乙氧基化四亚乙基多胺。

一系列酶物质及其加入到合成洗涤剂组合物中的方式还公开在授予 Genencor 国际公司的 WO 9307263 及 WO 9307260、美国专利 3,553,139 中，1971-01-05 授予 McCarty 等人。进一步的酶公开在美国专利 4,101,457 和美国专利 4,507,219 中。用于液体洗涤剂组合物中的酶物质及其加入到此种制剂中的方法公开在美国专利 4,261,868 中。

酶稳定剂-用于洗涤剂中的酶可通过各种技术获得稳定。酶稳定技术公开在例如美国专利 3,600,319、EP 199,405 及 EP 200,586 中。酶稳定体系还描述于，例如美国专利 3,519,570 中。一种产生蛋白酶、木聚糖酶及纤维素酶的有用芽胞杆菌 AC13，公开在 WO 9401532 中。这里使用的酶可通过某种水溶性钙离子和/镁离子源

在成品组合物中的存在并从而向其中的酶提供这些离子而获得稳定。合适的酶稳定剂及其使用方法公开在美国专利 5,705,464、5,710,115 及 5,576,282 中。

助洗剂-本文所描述的洗涤剂及清洗组合物优选包含 1 种或多种洗涤助洗剂或助洗剂体系。当存在时，组合物将通常包含至少约 1%助洗剂，优选至少约 5%，更优选至少约 10%，至约 80%，优选至约 50%，更优选至约 30 wt%洗涤助洗剂。然而，更低或更高的助洗剂用量也不拟排除在外。

优选用于洗涤剂和清洗组合物，尤其是本文所描述的餐具洗涤组合物中的优选助洗剂包括但不限于，如公开在美国专利 5,695,679、5,705,464 及 5,710,115 中的水溶性助洗剂化合物(例如，多羧化物)。其他合适的多羧化物公开在美国专利 4,144,226、3,308,067 及 3,723,322 中。优选的多羧化物是每分子含最多 3 个羧基--更具体地说，被滴定液中的--多羧化物。

无机或含磷洗涤助洗剂包括但不限于，聚磷酸酯(例如三聚磷酸酯、焦磷酸酯及玻璃态聚合物偏磷酸酯)磷酸酯的碱金属、铵及醇胺的盐(例如参见美国专利 3,159,581、3,213,030、3,422,021、3,400,148 及 3,422,137)、肌醇六磷酸、硅酸盐、碳酸盐(包括碳酸氢盐、倍半碳酸盐)、硫酸盐及硅铝酸盐。

然而，某些情况要求非磷酸盐助洗剂。重要的是，本发明组合物即便在所谓“弱”助洗剂(与磷酸盐相比)如柠檬酸盐，或者在所谓“低级助洗剂”的情况下，即，采用沸石或层状硅酸盐助洗剂时，依然令人惊奇地发挥很好的功能。

合适的硅酸盐包括水溶性硅酸钠，其 $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ 比例介于约 1.0~2.8，优选该比例在约 1.6~2.4，最优选约 2.0 的比例。硅酸盐可以是无水盐或者是水合盐的形式。 $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ 比例等于 2.0 的硅酸钠是最优选的。硅酸盐，当存在时，优选在本文所描述的洗涤剂及清洗组合物中的用量为组合物重量的约 5%~约 50 wt%，更优选约 10%~约 40 wt%。

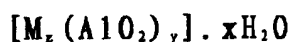
适合用于该洗涤剂及清洗组合物，尤其是粒状洗涤剂组合物中的部分溶解或不溶的助洗剂化合物，包括但不限于结晶、层状硅酸盐。优选结晶层状硅酸钠(部分地溶解于水)，如公开在美国专利

4,664,839 中, 以及硅铝酸钠(不溶于水)。当存在于洗涤剂及清洗组合物中时, 这些助洗剂的典型含量为组合物重量的约 1%~80 wt%, 优选约 10%~70 wt%, 最优选约 20~60 wt%。

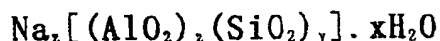
可在本文所描述的组合物中使用具有通式 $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$ 的结晶层状硅酸钠, 其中 M 是钠或氢, x 是约 1.9~约 4, 优选约 2~约 4, 最优选 2 的数值, y 是约 0~约 20, 优选是 0 的数值。此种类型结晶层状硅酸钠公开在 EP-A-0164514 中, 其制备方法公开在 DE-A-3417649 及 DE-A-3742043 中。最优选的材料是 $\delta\text{-Na}_2\text{SiO}_3$, 由 Hoechst 公司按商品名 NaSKS-6 供应(通常在本文中简称“SKS-6”)。与沸石助洗剂不同, NaSKS-6 硅酸盐助洗剂不包含铝。NaSKS-6 具有层状硅酸盐的 $\delta\text{-Na}_2\text{SiO}_3$ 的形态。SKS-6 是高度优选用于本文所描述的组合物中的层状硅酸盐, 然而其他此类层状硅酸盐如具有通式 $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$ 的, 其中 M 是钠或氢, x 是约 1.9~约 4, 优选 2, y 是 0~20, 优选是数值 0 的, 均可用于本文所描述的组合物中。由 Hoechst 供应的各种各样其他层状硅酸盐包括 NaSKS-5、NaSKS-7 及 NaSKS-11, 呈 α 、 β -及 γ 形式者。如上所述, $\delta\text{-Na}_2\text{SiO}_3$ (NaSKS-6 型) 是这里最优选的。其他硅酸盐也是有用的, 例如硅酸镁, 可在粒状制剂中作为酥脆剂、作为氧漂白的稳定剂以及作为泡沫控制体系的成分。

结晶层状硅酸钠材料优选以与固体、水溶性可电离材料的紧密混合物的颗粒形式存在于粒状洗涤剂组合物中。固体、水溶性可电离材料优选地选自有机酸、有机及无机酸盐及其混合物。

硅铝酸盐助洗剂乃是目前市场上供应的重垢型粒状洗涤剂组合物中非常重要的成分, 且还可作为液体洗涤剂制剂中的重要助洗剂成分。硅铝酸盐助洗剂具有经验式:



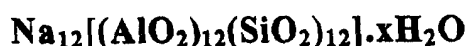
其中 z 和 y 是至少 6 的整数, z/y 摩尔比介于 1.0~约 0.5, x 为约 15~约 264 的整数。优选的是, 硅铝酸盐助洗剂是单元晶格如下式所示的硅铝酸盐沸石:



其中 z 和 y 至少是 6; z/y 摩尔比介于 1.0~约 0.5, x 至少是 5, 优选 7.5~276, 最优选 10~264。硅铝酸盐助洗剂优选为水合形式

且优选是结晶的,含有约 10%~约 28%,更优选约 18%~约 22% 结合水。

这些硅铝酸盐离子交换材料的结构可以是结晶或无定形的且可以是天然存在的硅铝酸盐或合成的。一种生产硅铝酸盐离子交换材料的方法公开在美国专利 3,985,669 中。这里优选的合成结晶硅铝酸盐离子交换材料在市场上以商品名沸石 A、沸石 B、沸石 P、沸石 X、沸石 MAP 和沸石 HS 及其混合物供应。在尤其优选的实施方案中,结晶硅铝酸盐离子交换材料具有通式:



其中 x 为约 20~约 30,尤其约 27。该材料叫做沸石 A。脱水沸石 (x=0~10)也可在此使用。优选的是,该硅铝酸盐的粒度(直径)介于约 0.1~10 μm 。沸石 X 具有通式:



柠檬酸助洗剂,例如柠檬酸及其可溶性盐(尤其是钠盐),是高效液体洗涤剂制剂用的特别重要的多羧酸类助洗剂,因为它们易从可再生资源获得且具有可生物降解性。

柠檬酸类也可用于粒状组合物中,尤其是与沸石和/或层状硅酸盐助洗剂配合使用。氧联二琥珀酸类也是特别适用于此类组合物及其组合中的。

适合本文所描述的洗涤剂组合物中的还有 3,3-二羧基-4-氧杂-1,6-己二酸酯及其相关化合物,公开在美国专利 4,566,984 中。有用的琥珀酸助洗剂包括 $\text{C}_5\sim\text{C}_{20}$ 烷基及链烯基琥珀酸及其盐。特别优选的此类化合物是十二碳烯基琥珀酸。琥珀酸助洗剂的具体例子包括:月桂基琥珀酸、肉豆蔻基琥珀酸、棕榈基琥珀酸、2-十二碳烯基琥珀酸(优选的)、2-十五碳烯基琥珀酸等。月桂基琥珀酸是这类型中优选的助洗剂,公开在欧洲专利申请 86200690.5/0.200.263 中,1986-11-05 发表。

脂肪酸,如 $\text{C}_{12}\sim\text{C}_{18}$ 单羧酸也可单独或与上述助洗剂,尤其是柠檬酸和/或琥珀酸助洗剂组合起来加入到组合物中,以提供附加的助洗剂活性。脂肪酸的此种用法一般将导致减少起泡,配制者应考虑这一点。

分散剂-1 种或多种合适的聚亚烷基亚胺分散剂可加入到本发明

的清洗组合物中。此类合适分散剂的例子可参见欧洲专利申请号 111,965、111,984 及 112,592；美国专利 4,597,898、4,548,744 及 5,565,145。然而，任何适当的粘土/污垢分散剂或抗再沉积剂均可用于本发明洗衣组合物中。

另外，包括聚合物多羧化物和聚乙二醇的聚合物分散剂也适用于本发明。可聚合生成合适的聚合物多羧化物的不饱和单体酸包括丙烯酸、马来酸(或马来酐)、富马酸、衣康酸、阿康酸、中康酸、柠康酸及亚甲基丙二酸。特别合适的聚合物多羧酸(多羧化物)可由丙烯酸衍生而来。这里有用的此类以丙烯酸为基础的聚合物是聚合丙烯酸的水溶性盐。酸性形式的此种聚合物的平均分子量优选在约 2,000 ~ 10,000，更优选约 4,000 ~ 7,000，最优选约 4,000 ~ 5,000。此种丙烯酸聚合物的水溶性盐例如可包括碱金属、铵及取代的铵盐。此类型可溶性聚合物是已知材料。此类型丙烯酸盐在洗涤剂组合物中的应用已公开在例如美国专利 3,308,067 中。

以丙烯酸/马来酸为基础的共聚物也可用作优选的分散/抗再沉积剂的成分。此类材料包括丙烯酸与马来酸共聚物的水溶性盐。此种丙烯酸-马来酸共聚物的平均分子量，以酸性形式计，优选约 2,000 ~ 100,000，更优选约 5,000 ~ 75,000，最优选约 7,000 ~ 65,000。丙烯酸对马来酸链段在此种共聚物中的比例一般为约 30:1 ~ 约 1:1，更优选约 10:1 ~ 2:1。此种丙烯酸/马来酸共聚物的水溶性盐可包括，例如碱金属、铵及取代的铵盐。此种丙烯酸/马来酸共聚物的水溶性盐是已知材料，公开在欧洲专利申请 66915 中，1982-12-15 发表，以及 EP 193,360,1986-09-03 发表，其中还描述了包含丙烯酸羟丙基酯的此类聚合物。另一些有用的其他分散剂包括马来酸/丙烯酸/乙烯醇三元共聚物。此种材料也公开在 EP193,360 中，包括，例如马来酸/丙烯酸/乙烯醇按 45/45/10 比例的三元共聚物。

可包括在内的另一种聚合物材料是聚乙二醇(PEG)。PEG 可表现出分散剂性能，以及作为粘土污垢脱除-抗再沉积剂。为此目的的典型分子量介于约 500 ~ 约 100,000，优选约 1,000 ~ 约 50,000，更优选约 1,500 ~ 约 10,000。

聚天冬氨酸和聚谷氨酸分散剂也可使用，尤其与沸石助洗剂联合使用。诸如聚天冬氨酸之类的分散剂优选具有约 10,000 的分子量

(平均).

去污剂-本发明组合物可任选地包含1种或多种去污剂.使用的话,去污剂一般将占到组合物重量的约0.01%,优选约0.1%,更优选约0.2~约10%,优选约5%,更优选约3% wt%.适宜去污的聚合物的非限制性例子公开在:美国专利5,728,671、5,691,298、5,599,782、5,415,807、5,182,043、4,956,447、4,976,879、4,968,451、4,925,577、4,861,512、4,877,896、4,771,730、4,711,730、4,721,580、4,000,093、3,959,230及3,893,929;以及欧洲专利申请0 219 048中.

另一些合适的去污剂公开在美国专利4,201,824、4,240,918、4,525,524、4,579,681、4,220,018及4,787,989; EP 279,134 A、EP 457,205 A,以及DE 2,335,044中.

螯合剂-本发明组合物还可任选地包含螯合剂,它起到螯合金属离子及金属杂质的作用,否则这些金属往往导致漂白剂失活.有用的螯合剂可包括氨基酸、磷酸、氨基磷酸、多官能取代的芳族螯合剂及其混合物.另一些螯合剂的例子及其用量描述在美国专利5,705,464、5,710,115、5,728,671及5,576,282中.

本发明组合物还可包含水溶性甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)盐(或酸形式)作为螯合剂,或者与例如不溶性助洗剂如沸石、层状硅酸盐之类一起使用作为共助洗剂.

使用的话,这些螯合剂一般将占到该洗涤剂组合物重量的约0.1%~约15%,更优选约0.1%~约3.0 wt%.

抑泡剂-另一种任选的成分是抑泡剂,例如硅氧烷以及二氧化硅-硅氧烷混合物.合适的抑泡剂的例子公开在美国专利5,707,950及5,728,671中.这些抑泡剂的用量一般为组合物重量的0.001~2 wt%,优选0.01%~1 wt%.

柔软剂-织物柔软剂也可加入到本发明衣物洗涤剂组合物中.无机柔软剂的例子是公开在GB-A-1 400 898及美国专利5,019,292中的绿土(粘土).有机柔软剂包括如公开在GB-A-1 514 276及EP-B-0 11 340中的水不可溶叔胺,及其与单C12~C14季铵盐的组合,如公开在GB-B-026 527及EP-B-026 528中,以及二长链酰胺,如公开在EP-B-0 242 919中.另一些用于织物柔软剂体系的有机成分包括高分子量聚环氧乙烷材料:如公开在EP-A-0 299 575及0 313 146

中。

特别合适的织物柔软剂公开在美国专利 5,707,950 及 5,728,673 中。

绿土的用量一般介于 2%~20%，更优选 5%~15 wt%，该材料以干混合成分加入到配制物的其余成分中。诸如不溶于水的叔胺或二长链酰胺材料之类的有机织物柔软剂的加入量，介于 0.5~5 wt%，通常在 1%~3 wt% 之间，而高分子量聚环氧乙烷材料及水性阳离子材料则按 0.1~2%，一般在 0.15%~1.5 wt% 的水平加入。这些材料一般加入到组合物的喷雾干燥部分中，虽然某些情况下它也可更方便地以干混合粒料形式加入，或者将它们以熔融液体形式喷涂到组合物的其他固体成分上。

可生物降解季铵化合物，如 EP-A-040 562 及 EP-A-239 910 中所描述的，已被提出作为传统上使用的氯化及甲基硫酸二长链烷基铵的替代物。

用于季铵盐化合物及胺前体的柔软剂-相容阴离子的非限制性例子包括氯根及甲基硫酸根。

染料转移抑制-本发明洗涤剂组合物还可包含用于在涉及有色织物的织物洗涤及调理操作期间抑制被增溶和悬浮的染料从一种织物转移到另一种织物上的化合物。

聚合物染料转移抑制剂

本发明洗涤剂组合物还可包含 0.001%~10%，优选 0.01%~2%，更优选 0.05%~1 wt% 聚合物染料转移抑制剂。将所述聚合物染料转移抑制剂加入到洗涤剂组合物中的目的通常是为了抑制染料从有色织物转移到一起洗涤的织物上。这种聚合物能够将将从染色织物上洗脱下来变为游离的这些染料在尚未来得及附着到洗涤中其他物品上之前络合或吸收。

尤其合适的聚合物染料转移抑制剂是 N-氧化多胺聚合物、N-乙烯基吡咯烷酮与 N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚噁唑烷酮及聚乙烯基咪唑，或其混合物。此类染料转移抑制剂的例子公开在美国专利 5,707,950 及 5,707,951 中。

另一类合适的染料转移抑制剂包括但不限于交联的聚合物。交联聚合物是其主链间一定程度上互连的聚合物：这些连接的性质可

以是化学的或者是物理的，可能与主链上或者支链上的活性基团连接；交联聚合物描述于《聚合物科学杂志》卷 22, pp. 1035 ~ 1039 中。

在一种实施方案中，交联聚合物被制成具有三维刚性结构的，可将染料俘获在该三维结构所形成的孔中。在另一种实施方案中，交联聚合物借助溶胀来俘获染料。此类交联聚合物描述于共同未决欧洲专利申请 94870213.9 中。

此种聚合物的加入还可增强本发明酶的效果。

pH 及缓冲范围-许多本文所描述的洗涤剂及清洗组合物是采取了缓冲措施的，即，它们对在酸性污垢存在下的 pH 降低具有相对的承受能力。然而，本文中另一些组合物则可能具有异常低的缓冲能力，或者可能是基本上没有加缓冲措施的。将 pH 值控制或改变到建议使用水平的技术，较一般地说不仅包括使用缓冲剂，而且还可加入附加碱、酸、pH-突变体系、双室容器等，这些乃是本领域技术人员熟知的。

本发明优选的 ADD 组合物包含 pH-调节成分，选自水溶性碱性无机盐及水溶性有机或无机助洗剂，如美国专利 5,705,464 和 5,710,115 中所述。

材料护理剂-优选的 ADD 组合物可包含 1 种或多种可有效地起到缓蚀剂和/或防霉暗酸之类作用的材料护理剂，如美国专利 5,705,464、5,710,115 及 5,646,101 中所描述的。

当存在时，此种保护材料优选少量地加入，例如为 ADD 组合物的约 0.01% ~ 约 5%。

其他材料-本发明组合物中任选包括的洗涤成分或添加剂可包括 1 种或多种用于辅助或强化清洁能力、被清洁底物的清洁处理效果或者旨在改善组合物外观的材料。可按传统技术的习惯用量(一般地，添加剂材料总共占到组合物重量的约 30% ~ 约 99.9%，优选约 70 ~ 约 95% wt%)加入到本发明组合物中的添加剂，还包括其他活性成分，如非磷酸(盐)助洗剂、彩色斑点、银器清洁剂、防霉暗剂和/或防腐蚀剂、染料、填料、灭菌剂、碱性源、水溶助长剂、抗氧剂、香料、增溶剂、载体、加工助剂、颜料及 pH 控制剂，正如美国专利 5,705,464、5,710,115、5,698,504、5,695,679、5,686,014 和 5,646,101

中所描述的。

清洁方法-除了本文已描述过的清洁织物、餐具及其他硬表面以及清洁个人身体某些位点等方法之外，本发明还涵盖对已沾污或染斑织物的洗涤“预处理”方法，包括让所述色斑和/或污垢直接与高度浓缩形式的以上所描述清洗组合物进行接触，然后再采用传统水洗溶液洗涤该织物。优选的是，清洗组合物与污垢/色斑保持接触达约 30 s - 24 h，然后再按传统方式洗涤经预处理的沾污/染斑底物。更优选的是，预处理的时间介于约 1 - 180 min。

下面的实施例旨在举例说明本发明组合物，不一定要限制或以其他方式界定本发明的范围。

在下面的实施例中，蛋白酶¹是指一种蛋白酶变体，它包含在对应于解淀粉芽胞杆菌枯草杆菌蛋白酶的位点 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K 上，以另一种天然存在的氨基酸残基取代其氨基酸残基。蛋白酶¹还可被替换为任何其他本发明蛋白酶变体，其结果与下面的实施例相当接近。

在本发明的清洗组合物实施例中，蛋白酶¹的用量以纯酶对整个组合物重量关系表示；其他酶的用量以原料对整个组合物重量表示；除非另行规定，其他成分一律以整个组合物重量为基准表示。

再有，在下面的实施例中，使用了某些与本文公开内容相一致并为本领域技术人员已知的某些缩写。

硬表面、餐具及织物清洗组合物实施例

1.硬表面清洗组合物

本文所使用的术语“硬表面清洗组合物”是指用于清洁诸如地板、墙壁、浴室砖之类硬表面的液体或粒状洗涤剂组合物。本发明硬表面清洗组合物包含有效数量 1 种或多种蛋白酶，优选占组合物的约 0.0001% - 约 10%，更优选约 0.001% - 约 5%，进一步优选约 0.001% - 约 1 wt% 活性蛋白酶。除了包含 1 种或多种蛋白酶之外，此种硬表面清洗组合物一般还包含表面活性剂及水溶性螯合助洗剂。然而在某些专用产品中，例如玻璃窗喷雾清洁剂，有时不使用表面活性剂，因为它们将在玻璃表面形成膜状/条纹状残余物。(参见美国专利 5,679,630 实施例)。

表面活性剂成分：当存在时 可占到至少组合物的 0.1% 但在

典型情况下，组合物将包含约 0.25%~约 10%，更优选约 1%~约 5%表面活性剂。

就典型而言，组合物将包含约 0.5%~约 50%洗涤助剂，优选约 1%~约 10%。优选的是，pH 应介于约 8~12 的范围。若需要调节 pH 值的话，可使用传统 pH 调节剂，如氢氧化钠、碳酸钠或盐酸。

组合物中可包含溶剂。有用的溶剂包括但不限于，二醇醚，如二甘醇一己基醚、二甘醇一丁基醚、乙二醇一丁基醚，以及二醇一己基醚、聚乙二醇一丁基醚、二丙二醇一丁基醚，以及二醇类，如 2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇及 2-乙基-1,3-己二醇。当使用时，这些溶剂的典型用量为约 0.5%~约 15%，优选约 3%~约 11%。

另外，当在表面上施涂“全效”组合物之后不清洗表面时，本发明组合物也可使用高度挥发性溶剂如异丙醇或乙醇，以加速组合物从表面上的蒸发。当使用时，挥发性溶剂的典型含量为组合物的约 2%~约 12%。

本发明硬表面清洗组合物的实施方案体现在下列非限制性实施例上。

实施例 1~7

液体硬表面清洗组合物

成分	实施例号						
	1	2	3	4	5	6	7
蛋白酶 ¹	0.05	0.05	0.20	0.02	0.03	0.10	0.03
蛋白酶 ²	-	-	-	-	-	0.20	0.1
螯合剂**	-	-	-	2.90	2.90	-	-
柠檬酸	-	-	-	-	-	2.90	2.90
LAS	-	1.95	-	1.95	-	1.95	-
AS	2.00	-	2.20	-	2.20	-	2.20
AES	2.00	-	2.20	-	2.20	-	2.20
氧化胺	0.40	-	0.50	-	0.50	-	0.50
水溶助长剂	-	1.30	-	1.30	-	1.30	-
溶剂***	-	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30
水及微量成分	凑足 100%						

²蛋白酶，除蛋白酶¹以外的，包括但不限于本文所述可用于本发明的附加蛋白酶。

**Na₄ 乙二胺二乙酸

***二甘醇一己基醚

****全部配制物调节到 pH7

在实施例 6 和 7 中，尤其要指出，本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶²，并获得类似的结果。

实施例 8-13

清洁硬表面及家庭除霉用喷雾组合物

实施例号						
成分	8	9	10	11	12	13
蛋白酶 ¹	0.20	0.05	0.10	0.30	0.20	0.30
蛋白酶 ²	-	-	-	-	0.30	0.10
C8AS	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
C12AS	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
碱	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
硅酸盐	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
香料	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
水及微量成分	凑足 100%					

²蛋白酶，除蛋白酶¹以外的，包括但不限于本文所述可用于本发明的附加蛋白酶。

****产品 pH 为约 7

在实施例 12 和 13 中，尤其要指出，本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶²，并获得类似的结果。

2. 餐具洗涤组合物

实施例 14-19

餐具洗涤组合物

成分	实施例号					
	14	15	16	17	18	19
蛋白酶 ¹	0.05	0.50	0.02	0.40	0.10	0.03
蛋白酶 ²	-	-	-	-	0.40	0.1
TFAA I	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
AES	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
2-甲基十二烷酸	4.50	4.50	-	4.50	4.50	-
C ₁₂ 醇的乙氧基化物(4)	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
氧化胺	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
水溶助长剂	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
乙醇	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Mg ⁺⁺ (按氯化镁计)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Ca ⁺⁺ (按氯化钙计)	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
水及微量成分****	凑足 100%					

²蛋白酶, 除蛋白酶¹以外的, 包括但不限于本文所述可用于本发明的附加蛋白酶。

****产物 pH 值调节至 7.

在实施例 18 和 19 中, 尤其要指出, 本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶², 并获得类似的结果。

实施例 20 餐具洗涤组合物

成分	A(ADW)	B(ADW)	C(LDL)
STPP	17.5	-	-
柠檬酸		15.0	-
聚丙烯酸钠(MW4500)	0.80	-	-
Acusol 480N	-	5.10	-
碳酸钾	8.30	-	-
碳酸钠	-	8.50	-
2.1 比例硅酸钾	3.99	-	-
2.0 比例硅酸铈	2.00	-	-

3.2 比例硅酸钠	5.18	-	-
三硬脂酸铝	0.10	-	-
非离子表面活性剂	-	2.50	-
NaAE0.6S	-	-	24.70
葡萄糖酰胺	-	-	3.09
C10E8	-	-	4.11
甜菜碱	-	-	2.06
氧化胺	-	-	2.06
镁(按氧化物计)	-	-	0.49
水溶助长剂	-	-	4.47
次氯酸钠, 按活性氯计	1.15	-	-
蛋白酶 ¹	0.01	0.43	0.05
其余凑足 100%			

实施例 21

液体餐具洗涤组合物(尤其适合日本条件下使用)

成分	A	B
AE1.4S	24.69	24.69
N-椰子基-N-甲基葡萄糖胺	3.09	3.09
氧化胺	2.06	2.06
甜菜碱	2.06	2.06
非离子表面活性剂	4.11	4.11
水溶助长剂	4.47	4.47
镁	0.49	0.49
乙醇	7.2	7.2
LemonEase	0.45	0.45
Geraniol/BHT	-	0.60/0.02
淀粉酶	0.03	0.005
蛋白酶 ¹	0.01	0.43
其余凑足 100%		

实施例 22

粒状自动餐具洗涤组合物

成分	A	B	C
柠檬酸	15.0	-	-
柠檬酸盐	4.0	29.0	15.0

丙烯酸酯/甲基丙烯酸酯共聚物	6.0	-	6.0
丙烯酸/马来酸共聚物	-	3.7	-
干添加碳酸盐	9.0	-	20.0
碱金属硅酸盐	8.5	17.0	9.0
石蜡	-	0.5	-
苯并三唑	-	0.3	-
Termamyl60T	1.6	1.6	1.6
蛋白酶 ¹	0.2	0.1	0.06
过碳酸盐(活性氧)	1.5	-	-
过硼酸一水合物	-	0.3	1.5
过硼酸四水合物	-	0.9	-
四乙酰乙二胺	3.8	4.4	-
二亚乙基三胺五甲基膦酸(镁盐)	0.13	0.13	0.13
烷基乙氧基硫酸酯-3 倍乙氧基化物	3.0	-	-
烷基乙氧基丙氧基非离子表面活性剂	-	1.5	-
抑泡剂	2.0	-	-
Olin SLF18 非离子表面活性剂	-	-	2.0
硫酸盐		凑足 100%	

实施例 23

坚实高密度 (0.96 kg/l) 本发明餐具洗涤剂组合物 A~F:

成分	A	B	C	D	E	F
STPP	—	51.4	51.4	—	—	44.3
柠檬酸盐	17.05	—	—	49.6	40.2	—
碳酸盐	17.50	14.0	20.0		8.0	33.6
碳酸氢盐	—	—	—	26.0	—	—
硅酸盐	14.81	15.0	8.0	—	25.0	3.6
偏硅酸盐	2.50	4.5	4.5	—	—	—
PB1	9.74	7.79	7.79	—	—	—
PB4	—	—	—	9.6	—	—
过碳酸盐	—	—	—	—	11.8	4.8
非离子	2.00	1.50	1.50	2.6	1.9	5.9
TAED	2.39	—	—	3.8	—	1.4
HEDP	1.00	—	—	—	—	—
DETPMP	0.65	—	—	—	—	—
Mn TACN	—	—	—	—	0.008	—
PAAC	—	0.008	0.008	—	—	—
石蜡	0.50	0.38	0.38	0.6	—	—
蛋白酶 ¹	0.1	0.06	0.05	0.03	0.07	0.01
淀粉酶	1.5	1.5	1.5	2.6	2.1	0.8
BTA	0.30	0.22	0.22	0.3	0.3	0.3
多羧化物	6.0	—	—	—	4.2	0.9
香料	0.2	0.12	0.12	0.2	0.2	0.2
硫酸盐/水	20.57	1.97	2.97	3.6	4.5	3.9
pH(1%溶液)	11.0	11.0	11.3	9.6	10.8	10.9

实施例 24

堆积密度 1.02 kg/l 的本发明粒状餐具洗涤剂组合物例 A~F:

成分	A	B	C	D	E	F
STPP	30.00	33.5	27.9	29.62	33.8	22.0
碳酸盐	30.50	30.50	30.5	23.00	34.5	45.0
硅酸盐	7.40	7.50	12.6	13.3	3.2	6.2
偏硅酸盐	—	4.5				
过碳酸盐	—	—		—	4.0	
PB1	4.4	4.5	4.3	—	—	
NaDCC	—	—		2.00	—	0.9
非离子	1.0	0.75	1.0	1.90	0.7	0.5
TAED	1.00	—		—	0.9	
PAAC	—	0.004		—	—	
石蜡	0.25	0.25		—	—	
蛋白酶 ¹	0.05	0.06	0.025	0.1	0.02	0.7
淀粉酶	0.38	0.64	0.46	—	0.6	
BTA	0.15	0.15		—	0.2	
香料	0.2	0.2	0.05	0.1	0.2	
硫酸盐/水	23.45	16.87	22.26	30.08	21.7	25.4
PH(1%溶液)	10.80	11.3	11.0	10.70	11.5	10.9

实施例 25

制备了本发明片剂洗涤剂组合物例 A~H, 它是通过利用标准 12 头旋转压机在 13 KN/cm² 压力下由粒状餐具洗涤剂组合物压制而成的:

成分	A	B	C	D	E	F	G	H
STPP	-	48.8	54.7	38.2	-	52.4	56.1	36.0
柠檬酸盐	20.0	-	-	-	35.9	-	-	-
碳酸盐	20.0	5.0	14.0	15.4	8.0	23.0	20.0	28.0
硅酸盐	15.0	14.8	15.0	12.6	23.4	2.9	4.3	4.2
蛋白酶 ¹	0.05	0.09	0.05	0.03	0.06	0.03	0.03	0.1
淀粉酶	1.5	1.5	1.5	0.85	1.9	0.4	2.1	0.3
PB1	14.3	7.8	11.7	12.2	-	-	6.7	8.5
PB4	-	-	-	-	22.8	-	3.4	-
过碳酸盐	-	-	-	-	-	10.4	-	-
非离子	1.5	2.0	2.0	2.2	1.0	4.2	4.0	6.5
PAAC	-	-	0.016	0.009	-	-	-	-
Mn TACN	-	-	-	-	0.007	-	-	-
TAED	2.7	2.4	-	-	-	2.1	0.7	1.6
HEDP	1.0	-	-	0.93	-	0.4	0.2	-
DETPMP	0.7	-	-	-	-	-	-	-
石蜡	0.4	0.5	0.5	0.55	-	-	0.5	-
BTA	0.2	0.3	0.3	0.33	0.3	0.3	0.3	-
多羧化物	4.0	-	-	-	4.9	0.6	0.8	-
PEG	-	-	-	-	-	2.0	-	2.0
甘油	-	-	-	-	-	0.4	-	0.5
香料	-	-	-	0.05	0.20	0.2	0.2	0.2
硫酸盐/水	17.4	14.7	-	15.74	-	-	-	11.3
片剂重量	20g	25g	20g	30g	18g	20g	25g	24.0
pH(1%溶液)	10.7	10.6	10.7	10.7	10.9	11.2	11.0	10.8

实施例 26
酒窝状片型自动餐具洗涤组合物

<u>成分</u>	<u>A (% R. M.)</u>	<u>B (gR. M.)</u>	<u>C (gR. M.)</u>
片剂本体			
碳酸钠	15.348	3.500	5.25
STPP (12%水)	46.482	10.600	9.93
粒状 HEDP	0.789	0.180	0.28
SKS 6	6.578	1.500	2.25
2 倍硅酸盐	7.016	1.600	1.65
PB1	10.743	2.450	3.68
Termamyl 2 x PCA	0.491	0.112	0.17
Savinase	0.526	0.120	0.18
Plurafac	3.508	0.800	0.9
BTA	0.263	0.060	0.09
PEG	1.140	0.260	-
PEG 4000	-	-	0.39
Winog	0.439	0.100	0.15
香料	0.101	0.023	0.01
酒窝充填物			
柠檬酸	0.987	0.225	0.23
碳酸氢盐	2.600	0.593	0.59
Sandolan EHRL 染料	0.007	0.0017	0.0017
PEG 400/4000	0.395	0.090	
PEG 400	-	-	0.02
PEG 4000	-	-	0.08
淀粉酶	1.412	0.322	0.32
蛋白酶 ¹	0.05	0.268	0.27

3. 织物清洗组合物

粒状织物清洗组合物

本发明粒状织物清洗组合物包含有效数量 1 种或多种蛋白酶，优选用量为组合物的约 0.001 ~ 约 10%，更优选约 0.005% ~ 约 5%，更优选 0.01% ~ 约 1 wt% 活性蛋白酶。（参见美国专利 5,679,630 实施例）。

实施例 27
粒状织物清洗组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.10	0.20	0.03	0.05
蛋白酶 ²	—	—	0.2	0.15
C ₁₃ 线型烷基苯磺酸酯	22.00	22.00	22.00	22.00
磷酸盐(三聚磷酸钠形式)	23.00	23.00	23.00	23.00
碳酸钠	23.00	23.00	23.00	23.00
硅酸钠	14.00	14.00	14.00	14.00
沸石	8.20	8.20	8.20	8.20
螯合剂(二亚乙基三胺-五乙酸)	0.40	0.40	0.40	0.40
硫酸钠	5.50	5.50	5.50	5.50
水	凑足 100%			

²蛋白酶, 除蛋白酶¹以外的, 包括(但不限于)本文所述用于本发明的附加蛋白酶。

在实施例 27C 和 D 中, 尤其要指出, 本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶², 并获得类似的结果。

实施例 28
粒状织物清洗组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.10	0.20	0.03	0.05
蛋白酶 ²	—	—	0.2	0.1
C ₁₂ 烷基苯磺酸酯	12.00	12.00	12.00	12.00
沸石 A(1-10 μm)	26.00	26.00	26.00	26.00
C ₁₂ -C ₁₄ 仲(2, 3)烷基硫酸酯, 钠盐	5.00	5.00	5.00	5.00
柠檬酸钠	5.00	5.00	5.00	5.00
荧光增白剂	0.10	0.10	0.10	0.10
硫酸钠	17.00	17.00	17.00	17.00
填料、水、微量成分	凑足 100%			

²蛋白酶，除蛋白酶¹以外的，包括(但不限于)本文所述用于本发明的附加蛋白酶。

在实施例 28C 和 D 中，尤其要指出，本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶²，并获得类似的结果。

实施例 29

粒状织物清洗组合物

成分	实施例号	
	A	B
线型烷基苯磺酸酯	11.4	10.70
牛脂烷基硫酸酯	1.80	2.40
C ₁₄₋₁₅ 烷基硫酸酯	3.00	3.10
C ₁₄₋₁₅ 醇-7 倍乙氧基化物	4.00	4.00
牛脂醇 11 倍乙氧基化物	1.80	1.80
分散剂	0.07	0.1
硅氧烷流体	0.80	0.80
柠檬酸三钠	14.00	15.00
柠檬酸	3.00	2.50
沸石	32.50	32.10
马来酸丙烯酸共聚物	5.00	5.00
二亚乙基三胺五亚甲基膦酸	1.00	0.20
膦酸		
蛋白酶 ¹	0.1	0.01
脂酶	0.36	0.40
淀粉酶	0.30	0.30
硅酸钠	2.00	2.50
硫酸钠	3.50	5.20
聚乙烯基吡咯烷酮	0.30	0.50
过硼酸盐	0.5	1
苯酚磺酸酯	0.1	0.2
过氧化物酶	0.1	0.1
微量成分	凑足 100%	凑足 100%

实施例 30
粒状织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>实施例号</u>	
	<u>A</u>	<u>B</u>
线型 C12 烷基苯磺酸钠	6.5	8.0
硫酸钠	15.0	18.0
沸石 A	26.0	22.0
次氨基三乙酸钠	5.0	5.0
聚乙烯基吡咯烷酮	0.5	0.7
四乙酰乙二胺	3.0	3.0
硼酸	4.0	-
过硼酸盐	0.5	1
苯酚磺酸酯	0.1	0.2
蛋白酶 ¹	0.2	0.05
填料(如, 硅酸盐、碳酸盐、香料、水)	凑足 100%	凑足 100%

实施例 31
紧凑粒状织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>wt%</u>
烷基硫酸酯	8.0
烷基乙氧基硫酸酯	2.0
C25 与 C45 醇的 3 和 7 倍乙氧基化物的混合物	6.0
多羟基脂肪酸酰胺	2.5
沸石	17.0
层状硅酸盐/柠檬酸盐	16.0
碳酸盐	7.0
马来酸丙烯酸共聚物	5.0
去污聚合物	0.4
羧甲基纤维素	0.4
N-氧化聚(4-乙烯基吡啶)	0.1
乙烯基咪唑与乙烯基吡咯烷酮共聚物	0.1
PEG 2000	0.2

蛋白酶 ¹	0.03
脂酶	0.2
纤维素酶	0.2
四乙酰乙二胺	6.0
过碳酸盐	22.0
乙二胺二琥珀酸	0.3
抑泡剂	3.5
4,4'-双(2-马啉基-4-苯胺基-s-三嗪-6-基-氨基)均二苯代乙烯-2,2'-二磺酸二钠	0.25
二钠-4,4'-双(2-磺基苯乙烯基)联苯	0.05
水、香料及微量成分	凑足 100%

实施例 32

粒状织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>wt%</u>
线型烷基苯磺酸酯	7.6
C16~C18 烷基硫酸酯	1.3
C14~15 醇的 7 倍乙氧基化物	4.0
椰子-烷基-二甲基羟乙基氯化铵	1.4
分散剂	0.07
硅氧烷流体	0.8
柠檬酸三钠	5.0
沸石 4A	15.0
马来酸丙烯酸共聚物	4.0
二亚乙基三胺五亚甲基磺酸	0.4
过硼酸盐	15.0
四乙酰乙二胺	5.0
绿土	10.0
聚(氧乙烯)(MW 300,000)	0.3
蛋白酶 ¹	0.02
脂酶	0.2
淀粉酶	0.3
纤维素酶	0.2

硅酸钠	3.0
碳酸钠	10.0
羧甲基纤维素	0.2
增白剂	0.2
水、香料及微量成分	凑足 100%

实施例 33

粒状织物清洗组合物

成分	Wt%
线型烷基苯磺酸酯	6.92
牛脂烷基硫酸酯	2.05
C14~15 醇的 7 倍乙氧基化物	4.4
C12~15 烷基乙氧基硫酸酯-3 倍乙氧基化物	0.16
沸石	20.2
柠檬酸盐	5.5
碳酸盐	15.4
硅酸盐	3.0
马来酸丙烯酸共聚物	4.0
羧甲基纤维素	0.31
去污聚合物	0.30
蛋白酶 ¹	0.1
脂酶	0.36
纤维素酶	0.13
过硼酸盐四水合物	11.64
过硼酸盐一水合物	8.7
四乙酰乙二胺	5.0
二亚乙基三胺五甲基膦酸	0.38
硫酸镁	0.40
增白剂	0.19
香料、硅氧烷、抑泡剂	0.85
微量成分	凑足 100%

实施例 34
粒状织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
基础颗粒成分			
LAS/AS/AES (65/35)	9.95	—	—
LAS/AS/AES (70/30)	—	12.05	7.70
硅铝酸盐	14.06	15.74	17.10
碳酸钠	11.86	12.74	13.07
硅酸钠	0.58	0.58	0.58
NaPAA 固体	2.26	2.26	1.47
PEG 固体	1.01	1.12	0.66
增白剂	0.17	0.17	0.11
DTPA	—	—	0.70
硫酸盐	5.46	6.64	4.25
DC-1400 脱气剂	0.02	0.02	0.02
水份	3.73	3.98	4.33
微量成分	0.31	0.49	0.31
B. O. T. 喷涂物			
非离子表面活性剂	0.50	0.50	0.50
附聚物成分			
LAS/AS (25/75)	11.70	9.60	10.47
硅铝酸盐	13.73	11.26	12.28
碳酸盐	8.11	6.66	7.26
PEG 4000	0.59	0.48	0.52
水份/微量成分	4.88	4.00	4.36
功能添加剂			
碳酸钠	7.37	6.98	7.45
过硼酸盐	1.03	1.03	2.56
AC 基础涂层	—	1.00	—
NOBS	—	—	2.40
去污聚合物	0.41	0.41	0.31
纤维素酶	0.33	0.33	0.24

蛋白酶 ¹	0.1	0.05	0.15
AE-碎片	0.40	0.40	0.29
液体喷涂物			
香料	0.42	0.42	0.42
非离子喷涂物	1.00	1.00	0.50
微量成分		凑足 100%	

实施例 35粒状织物清洗组合物

	A	B
表面活性剂		
-Na LAS	6.40	-
-KLAS	-	9.90
-AS/AE3S	6.40	4.39
-TAS	0.08	0.11
-C24AE5	3.48	-
-Genagen	-	1.88
-N-椰子基 N-甲基葡糖胺(线型)	1.14	2.82
-C ₈₋₁₀ 二甲基羟乙基氯化铵	1.00	1.40
助洗剂		
-沸石	20.59	13.39
-SKS-6	10.84	10.78
-柠檬酸	2.00	-
缓冲剂		
-碳酸盐	9.60	12.07
-碳酸氢盐	2.00	2.00
-硫酸盐	2.64	-
-硅酸盐	0.61	0.16
聚合物		
-丙烯酸/马来酸共聚物(Na)	1.17	1.12
-羧甲基纤维素	0.45	0.24
-聚合物	0.34	0.18

-六亚甲基二胺四-E24 乙氧基化物, 以氯代甲烷进行季铵化的产物	1.00	1.00
酶		
-蛋白酶 ¹ (纯酶百分含量)	0.03	0.03
-纤维素酶	0.26	0.26
-淀粉酶	0.65	0.73
-脂酶	0.27	0.15
漂白剂		
-TAED(100%)	3.85	3.50
-N-壬酰-6-氨基己酸的苯酚磷酸酯	-	2.75
-过碳酸盐	16.20	18.30
-HEDP	0.48	0.48
-EDDS	0.30	0.30
其余		
-苹果酸颗粒		2.20+bicarb
-增白剂 15/49	0.077/0.014	0.07/0.014
-酞菁磷酸锌	0.0026	0.0026
-聚二甲基硅氧烷, 带有三甲基甲硅 烷封端单元	0.25	0.24
-皂类	-	1.00
-香料	0.45	0.55
合计	100	100

实施例 36

粒状织物清洗组合物

	A	B
表面活性剂		
NaLAS	6.8	0.4
KLAS	-	10.9
FAS	0.9	0.1
AS	0.6	1.5
C25AE3S	0.1	-
AE5	4.2	-

N-椰子基-N-甲基葡糖胺	-	1.8
Genagen	-	1.2
C8-10 二甲基羟乙基氯化铵	-	1.0
助洗剂		
SKS-6	3.3	9.0
沸石	17.2	18.9
柠檬酸	1.5	-
缓冲剂		
碳酸盐	21.1	15.0
碳酸氢钠	-	2.6
硫酸盐	15.2	5.5
苹果酸	-	2.9
硅酸盐	0.1	-
聚合物		
丙烯酸/马来酸共聚物 (Na)	2.2	0.9
六亚甲基二胺四-E24 乙氧基化物, 以氯代甲烷进行二季铵化的产物	0.5	0.7
聚合物	0.1	0.1
CMC	0.2	0.1
酶		
蛋白酶 ¹ (纯酶百分含量)	0.02	0.05
脂酶	0.18	0.14
淀粉酶	0.64	0.73
纤维素酶	0.13	0.26
漂白剂		
TAED	2.2	2.5
N-壬酰-6-氨基己酸的苯酚磺酸酯	-	1.96
过碳酸钠	-	13.1
PB4	15.6	-
EDDS	0.17	0.21
MgSO ₄	0.35	0.47
HEDP	0.15	0.34

其余		
增白剂	0.06	0.04
-酞菁磺酸锌	0.0015	0.0020
-聚二甲基硅氧烷, 带有三甲基甲硅烷封端单元	0.04	0.14
皂类	0.5	0.7
香料	0.35	0.45
彩斑剂	0.5	0.6

实施例 37

下面的粒状衣物洗涤剂组合物 37A~C 是本发明专门为适合欧洲机器洗涤条件制备的:

成分	A	B	C
LAS	7.0	5.61	4.76
TAS	-	-	1.57
C45AS	6.0	2.24	3.89
C25E3S	1.0	0.76	1.18
C45E7		-	2.0
C25E3	4.0	5.5	-
QAS	0.8	2.0	2.0
STPP		-	-
沸石 A	25.0	19.5	19.5
柠檬酸	2.0	2.0	2.0
NaSKS-6	8.0	10.6	10.6
碳酸盐 I	8.0	10.0	8.6
MA/AA	1.0	2.6	1.6
CMC	0.5	0.4	0.4
PB4	-	12.7	-
过碳酸盐	-	-	19.7
TAED		3.1	5.0
柠檬酸盐	7.0	-	-
DTPMP	0.25	0.2	0.2
HEDP	0.3	0.3	0.3
QEA 1	0.9	1.2	1.0
蛋白酶 ¹	0.02	0.05	0.035
脂酶	0.15	0.25	0.15
纤维素酶	0.28	0.28	0.28
淀粉酶	0.4	0.7	0.3
PVPI/PVNO	0.4	-	0.1
光活化漂白剂 (ppm)	15 ppm	27 ppm	27 ppm
增白剂 1	0.08	0.19	0.19
增白剂 2	-	0.04	0.04
香料	0.3	0.3	0.3
泡腾颗粒 (苹果酸 40%、碳酸氢钠 40%、碳酸钠 20%)	15	15	5
硅氧烷消泡剂	0.5	2.4	2.4
微量/惰性物质凑足 100%			

实施例 38

下列配方是本发明组合物的一个实施例，它可以是颗粒形式或者是片剂形式。

成分	38
C 45 AS/TAS	3.0
LAS	8.0
C25AE3S	1.0
NaSKS-6	9.0
C25AE5/AE3	5.0
沸石 A	10.0
SKS - (I) (干添加)	2.0
MA/AA	2.0
柠檬酸	1.5
EDDS	0.5
HEDP	0.2
PBI	10.0
NACA OBS	2.0
TAED	2.0
碳酸盐	8.0
硫酸盐	2.0
淀粉酶	0.3
脂酶	0.2
酶	0.02
微量成分(增白剂/SRP1/CMC/光漂白剂/硫酸镁/PVPVI/抑泡剂/PEG)	0.5
香料	0.5

实施例 39

粒状衣物洗 0.5 洗涤剂组合物 39A~E 尤其适合日本机器洗涤条件，是按照本发明制备的：

成分	A	B	C	D	E
LAS	23.57	23.57	21.67	21.68	21.68
FAS	4.16	4.16	3.83	3.83	3.83
非离子表面活性剂	3.30	3.30	2.94	3.27	3.27
双(羟乙基)甲基烷基氯化铵	0.47	0.47	1.20	1.20	1.20
SKS-6	7.50	7.50	5.17	5.76	5.06
聚丙烯酸酯共聚物 (MW11000)(马来酸/丙烯酸酯 比例 4:6)	7.03	7.03	14.36	14.36	14.36
沸石	11.90	11.40	10.69	11.34	11.34
碳酸盐	14.90	14.82	11.71	11.18	11.18
硅酸盐	12.00	12.00	12.37	12.38	12.38
蛋白酶 ¹	0.016	0.016	0.046	0.046	0.046
脂酶	-	-	0.28	-	-
淀粉酶	-	-	0.62	-	-
纤维素酶	-	-	0.48	-	0.70
NOBS	3.75	3.75	2.70	2.70	2.70
PB1	3.53	-	2.60	-	-
过碳酸钠	-	4.21	-	3.16	3.16
SRP	0.52	0.52	0.70	0.70	0.70
增白剂	0.31	0.31	0.28	0.28	0.50
AE-复合碎片	0.17	0.20	0.17	0.17	0.17
聚二甲基硅氧烷	-	-	0.68	0.68	0.68
香料	0.06	0.06	0.08	-	-
香料	-	-	-	0.23	0.23
疏水、沉积二氧化硅	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
PEG4000	0.19	0.19	0.17	0.17	0.17
微量成分/惰性成分凑足 100%					

液态织物清洗组合物

本发明液态织物清洗组合物优选包含有效数量 1 种或多种蛋白酶，优选为组合物重量的约 0.0001%~约 10，更优选约 0.001%~约 1%，最优选约 0.001%~约 0.1 wt%活性蛋白酶。（参见美国专利 5,679,630 实施例）。

实施例 40**液态织物清洗组合物**

成分	实施例号				
	A	B	C	D	E
蛋白酶 ¹	0.05	0.03	0.03	0.03	0.10
蛋白酶 ²	-	-	-	0.1	0.20
C12~C14 烷基硫酸酯，钠	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
2-丁基辛酸	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
柠檬酸钠	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C10 醇乙氧基化物(3)	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
一乙醇胺	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
水/丙二醇/乙醇(100:1:1)	凑足 100%				

²蛋白酶，除蛋白酶¹以外的，包括但不限于本文所述可用于本发明的附加蛋白酶。

在实施例 40D 和 E 中，尤其要指出，本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶²，并获得类似的结果。

实施例 41**液态织物清洗组合物**

成分	实施例号	
	A	B
C ₁₂ ~C ₁₄ 链烯基琥珀酸	3.0	8.0
柠檬酸一水合物	10.0	15.0
C ₁₂ ~C ₁₅ 烷基硫酸钠	8.0	8.0
C ₁₂ ~C ₁₅ 醇 2 倍乙氧基化物的硫酸钠	-	3.0
C ₁₂ ~C ₁₅ 醇 7 倍乙氧基化物	-	8.0
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)	0.2	-

油酸	1.8	-
乙醇	4.0	4.0
丙二醇	2.0	2.0
蛋白酶 ¹	0.01	0.02
聚乙烯基吡咯烷酮	1.0	2.0
抑泡剂	0.15	0.15
氢氧化钠	up to pH 7.5	
过硼酸盐	0.5	1
苯酚磺酸酯	0.1	0.2
过氧化物酶	0.4	0.1
水及微量成分	凑足 100%	

实施例 42
液态织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>实施例号</u>
	40
NaLAS (100%am)	16
Neodol	21.5
柠檬酸盐	6.8
EDDS	1.2
分散剂	1.3
过硼酸盐	12
N-壬酰-6-氨基己酸的苯酚磺酸酯	6
蛋白酶 ¹ (%纯酶)	0.03
淀粉酶	0.40
纤维素酶	0.03
溶剂 (BPP)	18.5
聚合物	0.1
碳酸盐	10
FWA 15	0.2
二氧化钛	0.5
PEG 8000	0.4
香料	1.0-1.2

抑泡剂

0.06

水及微量成分

凑足 100%

实施例 43液态织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>实施例号</u>	
	<u>A</u>	<u>B</u>
DI H ₂ O	38.63	-
MEA	0.48	9.0
氢氧化钠	4.40	1.0
聚二醇 (pdio1)	4.00	10.0
柠檬酸	2.50	2.0
硫酸钠	1.75	-
DTPA	0.50	1.0
FWA 预混合物 (Br 15/MEA/NI 13-9)	0.15	0.15
Na C25AE1.80S	23.50	-
AE3S (H)	-	4.0
C11.8HLAS	3.00	14.0
Neodol	2.00	6.0
乙醇	0.50	2.0
甲酸钙*	0.10	0.1
Borax 预混合物 (Borax/MEA/聚二醇/柠檬酸)	2.50	-
硼酸	-	1.0
C10 APA	1.50	-
TEPA 105	1.20	-
FA C12-18	5.00	-
Neptune LC	0.50	-
染料	0.0040	0.0015
纤维素酶	0.053	0.2
淀粉酶	0.15	0.2
蛋白酶 ¹	0.1	0.1
DC 2-3597	0.12	0.2

油菜籽 FA	6.50	4.0
水及微量成分	凑足 100%	

实施例 44液态织物清洗组合物

<u>成分</u>	<u>44</u>
氢氧化钠	5.50
聚二醇 (pdio1)	6.90
柠檬酸	1.50
DTPA	1.50
FWA 预混合物 (Br15/MEA/NI 23-9)	0.15
AE3S (H)	2.50
LAS (H)	13.0
Neodol	2.00
乙醇	3.50
甲酸钙*	0.10
硼酸	1.00
粘土	4.00
淀粉酶	0.15
蛋白酶 ¹	0.02
脂肪酸	16.50
水及微量成分	凑足 100%

实施例 45液态织物清洗组合物

按本发明制备了下列特别适用于日本机洗洗涤条件的液态织物清洗组合物：

成分	45
AE2.5S	15.00
AS	5.50
N-椰子基 N-甲基葡糖胺	5.00
非离子表面活性剂	4.50
柠檬酸	3.00
脂肪酸	5.00
碱	0.97
一乙醇胺	5.10
1,2-丙二醇	7.44
乙醇	5.50
HXS	1.90
硼酸	3.50
乙氧基化四亚乙基五胺	3.00
SRP	0.30
蛋白酶 ¹	0.069
淀粉酶	0.06
纤维素酶	0.08
脂酶	0.18
增白剂	0.10
微量成分/惰性成分凑足 100%	

实施例 46**液态织物清洗组合物**

按本发明制备了下列特别适用于日本机洗洗涤条件和纺织物的液态织物清洗组合物:

成分	46
AE2.5S	2.16
AS	3.30
N-椰子基 N-甲基葡糖胺	1.10
非离子表面活性剂	10.00
柠檬酸	0.40
脂肪酸	0.70
碱	0.85
一乙醇胺	1.01
1,2-丙二醇	1.92
乙醇	0.24
HXS	2.09
蛋白酶 ¹	0.01
淀粉酶	0.06
微量成分/惰性成分凑足 100%	

条块状织物清洁剂组合物

适合手洗脏织物的本发明条块状织物清洁剂组合物典型地包含有效数量 1 种或多种蛋白酶, 优选为组合物的约 0.001~约 10%, 更优选约 0.01~约 1 wt%活性蛋白酶。(参见美国专利 5,679,630).

实施例 47**条块状织物清洁剂组合物**

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.3	-	0.1	0.02
蛋白酶 ²	-	-	0.4	0.1
C12~C16 烷基硫酸钠	20.0	20.0	20.0	20.00
C12~C14N-甲基葡糖酰胺	5.0	5.0	5.0	5.00
C11~C13 烷基苯磺酸钠	10.0	10.0	10.0	10.00
焦磷酸钠	7.0	7.0	7.0	7.00
三聚磷酸钠	7.0	7.0	7.0	7.00
沸石 A(0.1~.10 μm)	5.0	5.0	5.0	5.00

羧甲基纤维素	0.2	0.2	0.2	0.20
聚丙烯酸酯(MW 1400)	0.2	0.2	0.2	0.20
椰子基-乙醇酰胺	5.0	5.0	5.0	5.00
增白剂、香料	0.2	0.2	0.2	0.20
硫酸钙	1.0	1.0	1.0	1.00
硫酸镁	1.0	1.0	1.0	1.00
水	4.0	4.0	4.0	4.00
填料*	凑足 100%			

*可选自传统材料如碳酸钙、滑石粉、粘土、硅酸盐等。

²蛋白酶，除蛋白酶¹以外的，包括但不限于本文所述可用于本发明的附加蛋白酶。

在实施例 47C 和 D 中，尤其要指出，本文所引可用于本发明的蛋白酶的任意组合均可用来替代蛋白酶¹和蛋白酶²，并获得类似的结果。

4. 口腔清洗组合物

口腔清洗组合物(牙粉、牙膏、牙用凝胶、牙粉、漱口水、口腔喷雾剂、口腔凝胶、口香糖、锭剂、香囊、片剂、生物凝胶、预防膏、牙科处理液等)典型地包含药理学可接受数量 1 种或多种蛋白酶，优选约 0.0001%~约 20%，更优选约 0.001%~约 10%，最优选约 0.01%~约 5 wt%用于从牙齿或牙托上清除蛋白类龋斑的活性蛋白酶。(参见美国专利 5,679,630 实施例)。

实施例 48

牙粉组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.4	0.35	0.15	0.2
山梨醇(70%水溶液)	35.000	35.000	35.000	35.000
PEG-6*	1.000	1.000	1.000	1.000
二氧化硅牙科磨料**	20.000	20.000	20.000	20.000
氯化钠	0.243	0.243	0.243	0.243
二氧化钛	0.500	0.500	0.500	0.500
糖精钠	0.286	0.286	0.286	0.286

烷基硫酸钠 (27.9%水溶液)	4.000	4.000	4.000	4.000
香料	1.040	1.040	1.040	1.040
羧乙烯基聚合物***	0.300	0.300	0.300	0.300
角叉菜胶****	0.800	0.800	0.800	0.800
水	凑足 100%			

*PEG-6=分子量 600 的聚乙二醇。

**沉淀法二氧化硅，商品名 Zeodent 119，由 J.M. Huber 供应。

***Carbopol，由 B.F. Goodrich 化学公司供应。

****Iota 角叉菜胶由 Hercules 化学公司供应。

实施例 49

漱口组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.3	0.75	0.5	1.00
SDA 40 醇	8.00	8.00	8.00	8.00
香料	0.08	0.08	0.08	0.08
氯化钠	0.05	0.05	0.05	0.05
甘油	10.00	10.00	10.00	10.00
甜味剂	0.02	0.02	0.02	0.02
苯甲酸	0.05	0.05	0.05	0.05
氢氧化钠	0.20	0.20	0.20	0.20
染料	0.04	0.04	0.04	0.04
水	凑足 100%			

实施例 50

锭剂组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.01	0.03	0.10	0.02
山梨醇	17.50	17.50	17.50	17.50
甘露糖醇	17.50	17.50	17.50	17.50
淀粉	13.60	13.60	13.60	13.60
甜味剂	1.20	1.20	1.20	1.20

香料	11.70	11.70	11.70	11.70
着色剂	0.10	0.10	0.10	0.10
玉米糖浆	凑足 100%			

实施例 51
口香糖组合物

成分	实施例号			
	A	B	C	D
蛋白酶 ¹	0.03	0.02	0.10	0.05
山梨醇晶体	38.44	38.40	38.40	38.40
Paloja-T 树脂基质*	20.00	20.00	20.00	20.00
山梨醇(70%水溶液)	22.00	22.00	22.00	22.00
甘露糖醇	10.00	10.00	10.00	10.00
甘油	7.56	7.56	7.56	7.56
香料	1.00	1.00	1.00	1.00

*由 L. A. Dreyfus 公司提供。

5. 牙托清洗组合物

牙托清洗组合物典型地包含有效数量 1 种或多种蛋白酶，优选为组合物与牙托清洁载体的约 0.0001%~约 50%，更优选约 0.001~约 35%，最优选约 0.01%~约 20 wt% 活性蛋白酶。（参见美国专利 5,679,630 实施例）。

实施例 52
双层泡腾牙托清洁片剂

成分	实施例号			
	A	B	C	D
酸性层				
蛋白酶 ¹	1.0	1.5	0.01	0.05
酒石酸	24.0	24.0	24.00	24.00
碳酸钠	4.0	4.0	4.00	4.00
氨基磺酸	10.0	10.0	10.00	10.00
PEG 20,000	4.0	4.0	4.00	4.00
碳酸氢钠	24.5	24.5	24.50	24.50
过硫酸钾	15.0	15.0	15.00	15.00

酸性焦磷酸钠	7.0	7.0	7.00	7.00
高温法二氧化硅	2.0	2.0	2.00	2.00
四乙酰乙二胺	7.0	7.0	7.00	7.00
蓖麻油酰磺基琥珀酸酯	0.5	0.5	0.50	0.50
香料	1.0	1.0	1.00	1.00
碱性层				
过硼酸钠一水合物	32.0	32.0	32.00	32.00
碳酸氢钠	19.0	19.0	19.00	19.00
EDTA	3.0	3.0	3.00	3.00
三聚磷酸钠	12.0	12.0	12.00	12.00
PEG 20,000	2.0	2.0	2.00	2.00
过硫酸钾	26.0	26.0	26.00	26.00
碳酸钠	2.0	2.0	2.00	2.00
高温法二氧化硅	2.0	2.0	2.00	2.00
染料/香料	2.0	2.0	2.00	2.00

虽然已就本发明具体实施方案做了描述,但本领域技术人员十分清楚,在不偏离本发明精神和范围的条件下还可针对本发明做出各种各样改变和修改。本发明人认为,所有此类属于本发明范围内的修改均涵盖在所附权利要求范围内。

本发明组合物适于采用配制人选择的任何方法来制备,其非限制性实施例载于美国专利 5,691,297,1997-11-11 授予 Nassano 等人;美国专利 5,574,005,1996-11-12 授予 Welch 等人;美国专利 5,569,645,1996-10-29 授予 Dinniwell 等人;美国专利 5,565,422,1996-10-15 授予 Del Greco 等人;美国专利 5,516,448,1996-05-14 授予 Capeci 等人;美国专利 5,489,392,1996-02-06 授予 Capeci 等人;美国专利 5,486,303,1996-01-23 授予 Capeci 等人,在此全部并入本文作为参考。

除了以上的实施例之外,本发明清洗组合物还可被配制到任何适当的洗衣洗涤剂组合物中,其非限制性实施例载于美国专利 5,679,630, 1997-10-21 授予 Baeck 等人;美国专利 5,565,145,1996-10-15 授予 Watson 等人;美国专利

5,478,489, 1995-12-26 授予 Fredj 等人；美国专利
5,470,507, 1995-11-28 授予 Fredj 等人；美国专利
5,466,802, 1995-11-14 授予 Panandiker 等人；美国专利
5,460,752, 1995-10-24 授予 Fredj 等人；美国专利
5,458,810, 1995-10-17 授予 Fredj 等人；美国专利
5,458,809, 1995-10-17 授予 Fredj 等人；美国专利
5,288,431, 1994-02-22 授予 Huber 等人，全部收作本文的参考。

在结合优选实施方案及实施例详细描述了本发明之后，本领域技术人员将十分清楚，在不偏离本发明范围的条件下还可做出各种各样的修改和改变，因此本发明不应视为仅局限于本说明书中所描述的内容。

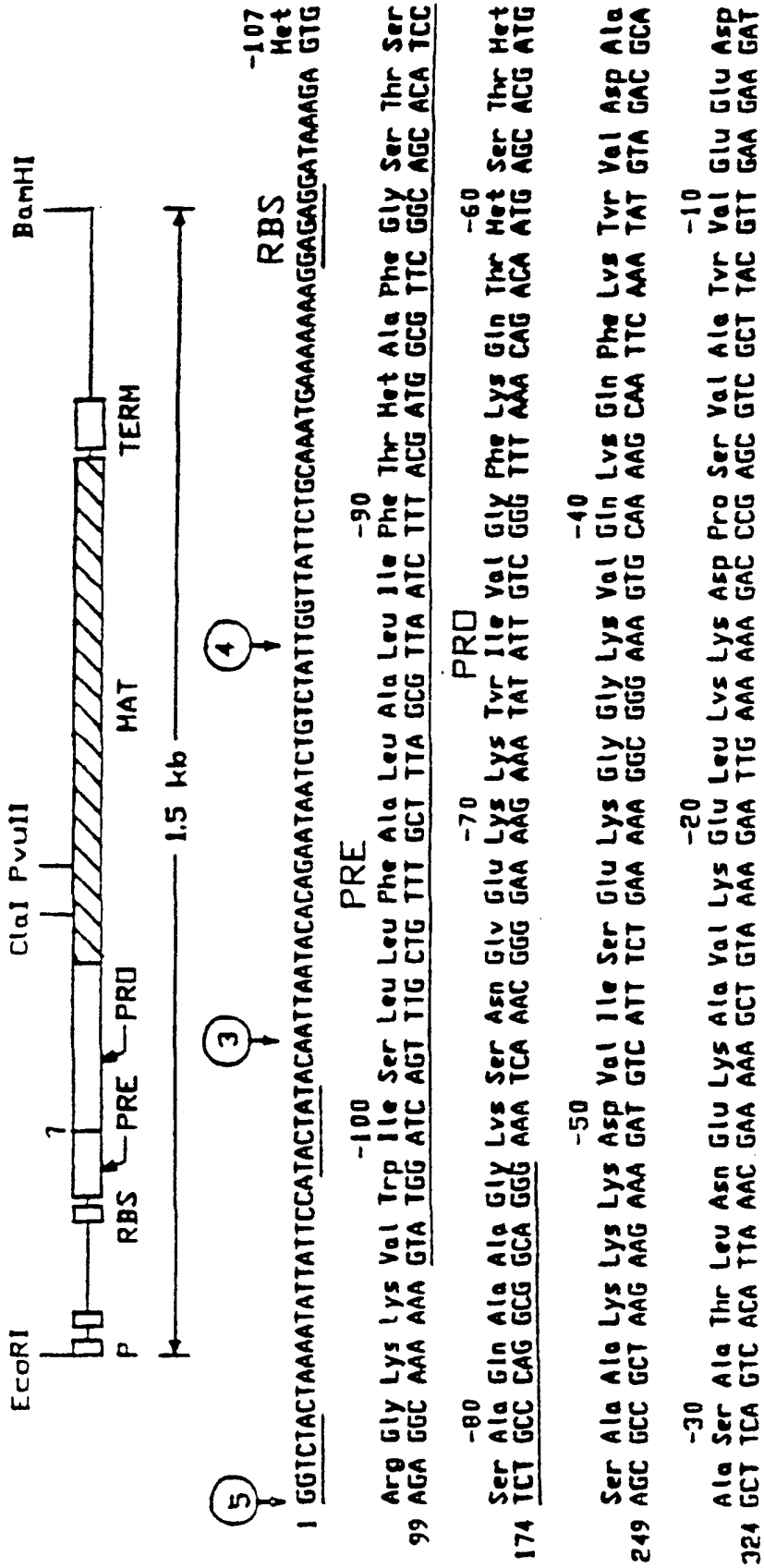


图 1A



```

His Bal Ala His Ala Tyr Ala Gln Ser Val Pro Tyr Gly Val Ser Gln Ile Lys Ala Pro Ala LEu His Ser Gln
399 CAC GTA GCA CAT GCG TAC GCG CAG TCC GCG CCT TAC GGC GTA TCA CAA ATT AAA GCC CCT GCT CTG CAC TCT CAA

20
Gly Tyr Thr GLY Ser Asn Val Lys Val Ala Val Ile Asp Ser Gly Ile Asp Ser Ser His Pro Asn Leu Lys Val
474 GGC TAC ACT GGA TCA AAT GTT AAA GTA GCG GTT ATC GAC AGC GGT ATC GAT TCT TCT CAT CCT GAT TTA AAG GTA

30
Ala Gly Gly Ala Ser Met Val Pro Ser Glu Thr Asn Pro Phe Gln Asp Asn Ser His Gly Thr His Val Ala
549 GCA AGC GGA GCC AGC ATG ATT CCT TCT GAA ACA AAT CCT TTC CAA GAC AAC AAC TCT CAC GGA ACT CAC GTT GCC

50
Gly Thr Val Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu Gly Val Ala Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Ala Val Lys
624 GGC ACA GTT GCG GCT CTT AAT AAC TCA ATC GGT GTA TTA GGC GTT GCG CCA AGC GCA TCA CTT TAC GCT GTA AAA

80
Val Leu Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met
699 GTT CTC GGT GCT GAC GGT TCC GGC CAA TAC AGC TGG ATC ATT AAC GGA ATC GAG TGG GCG ATC GCA AAC AAT ATG

110
Asp Ala 100
Val Leu Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met
774 GAC GTT ATT AAC ATG AGC CTC GGC GGA CCT TCT GGT TCT GCT GCT TTA AAA GCG GCA GTT GAT AAA GCC GTT GCA

130
Asp Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Gly Pro Ser Gly Ser Ala Ala Leu Lys Ala Ala Val Asp Lys Ala Val Ala
849 TCC GGC GTC GTA GTC GTT GCG GCA GCC GGT AAC GAA GGC ACT TCC GGC AGC TCA AGC ACA GTG GGC TAC CCT GGT

150
Ser Gly Val Val Val Val Ala Ala Ala Gly Asn Glu Gly Thr Ser Gly Ser Ser Ser Thr Val Gly Tyr Pro Gly

```

图 1B

```

170          180          190
Lys Tyr Pro Ser Val Ile Ala Val Gly Ala Val Asp Ser Ser Asn Gln Arg Ala Ser Phe Ser Ser Val Gly Pro
924 AAA TAC CCT TCT GTC ATT GCA GTA GGC GCT GTT GAC AGC AGC AAC CAA AGA GCA TCT TTC TCA AGC GTA GGA CCT

          200          210
Glu Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr Leu Pro Gly Asn Lys Tyr Gly Ala Tyr Asn Glv
999 GAG CTT GAT GTC ATG GCA CCT GGC GTA TCT ATC CAA AGC AGC CTT CCT GGA AAC AAA TAC GGG GCG TAC AAC GGT

          220          230          240
Thr Ser Met Ala Ser Pro His Val Ala Gly Val Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lys His Pro Asn Trp Thr Asn Thr
1074 ACG TCA ATG GCA TCT CCG CAC GGT GCC GGA GCG GCT GCT TTG ATT CTT TCT AAG CAC CCG AAC TGG ACA AAC ACT

          250 Gln          260
Gln Val Arg Ser Ser Leu Glu Glu Asn Thr Thr Thr Lys Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Gly Lys Gly Leu Ile Asn
1149 CAA GTC CGC AGC AGT TTA GAA AAC ACC ACT ACA AAA CTT GGT GAT TCT TTG TAC TAT GGA AAA GGG CTG ATC AAC

          270
Val Gln Ala Ala Ala Gln DC
1224 GTA CAA GCG GCA GCT CAG TAA  AACATAAAAAACGGCCCTTGCCCCCGCGGTTTTTTTATTATTTTCTCTCCGCATGTTCAATCCGCTCC

          TERM
1316 ATAATCGACGGATGGCTCCCTCTGAAAATTTTAACGAGAAACGGCGGTTGACCCCGGCTCAGTCCCGTAACGGCCAACTCCTGAAACGCTCAATCGCCG

1416 CTTCCCGGTTTCGGGTGAGCTCAATGCCATAACGGTCGGCGCGTTTTCCTGATACCGGGGAGACGGGCATTCGTAATCGGATC

```

图 1C

源于解淀粉芽胞杆菌的枯草杆菌蛋白酶
中的保守残基

```

1          10          20
A Q S V P . G . . . . . A P A . H . . G

21          30          40
. T G S . V K V A V . D . G . . . . H P

41          50          60
D L . . . G G A S . V P . . . . . Q D

61          70          80
. N . H G T H V A G T . A A L N N S I G

81          90          100
V L G V A P S A . L Y A V K V L G A . G

101         110         120
S G . . S . L . . G . E W A . N . . . .

121         130         140
V . N . S L G . P S . S . . . . . A . .

141         150         160
. . . . . G V . V V A A . G N . G . . .

161         170         180
. . . . . Y P . . Y . . . . A V G A .

181         190         200
D . . N . . A S F S . . G . . L D . . A

201         210         220
P G V . . Q S T . P G . . Y . . . N G T

221         230         240
S M A . P H V A G A A A L . . . K . . .

241         250         260
W . . . Q . R . . L . N T . . . L G . .

261         270
. . Y G . G L . N . . A A . .

```

图 2

源于下列各菌的枯草杆菌蛋白酶序列比较:

B. 解淀粉芽胞杆菌
B. 枯草芽胞杆菌
B. 地衣芽胞杆菌
B. 迟缓芽胞杆菌

01	10	20	30	
A Q S V P Y G V S Q I K A P A L H S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P				
A Q S V P Y G I S Q I K A P A L H S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P				
A Q T V P Y G I P L I K A D K V Q A Q G F K G A N V K V A V L D T G I Q A S H P				
A Q S V P P W G I S R V Q A P A A H N R G L T G S S G V K V A V L D T G I S T * H P				
41	50	60	70	
D L K V A G G A S H V P S E T N P P F Q D N N S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N V R G G A S F V P S E T N P P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N V V G G A S F V P S E T N P P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
D L N I R G G A S F V P S E T N P P Y Q D G S S H G T H V A G T V A A L N N S I G				
81	90	100	110	
V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S S W I I N G I E W A I A N N M D				
V L G V S P S A S L Y A V K V L D S T G S G Q Y S S W I I N G I E W A I S N N M D				
V L G V A P S A S L Y A V K V L N S S G S G Q Y S S W I I N G I E W A T T N G M D				
V L G V A P S A S L Y A V K V L G A S S G S G Q Y S S W I I N G I E W A G N N G M H				
121	130	140	150	
V I N M S L G G P S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V A A A A G N E G T S S G				
V I N M S L G G P T G S S T A L K K T V V D K A V S S G I V V A A A A A G N E G S S G				
V I N M S L G G P A S G S S T A M K Q A V A R G V V V V A A A A A G N S G N S S G				
V A N L S L G S P S A T L E Q A V N S A T S R G V L V V A A A A A S G N S G A G S				

图 3/A

