

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0707209-0 A2**

(22) Data de Depósito: 22/01/2007
(43) Data da Publicação: 26/04/2011
(RPI 2103)



(51) *Int.Cl.:*
C11D 3/386
C12N 9/20
C11D 3/40

(54) Título: **COMPOSIÇÕES DETERGENTES**

(30) Prioridade Unionista: 23/01/2006 US 60/761,188,
28/04/2006 US 60/796,267, 21/10/2006 US 60/854,787, 21/10/2006
US 60/854,787, 21/10/2006 US 60/854,787

(73) Titular(es): THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

(72) Inventor(es): Jonh Allen Burdis, Neil Joseph Lant , Philip
Frank Souter

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007001594 de 22/01/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/087243de 02/08/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES DETERGENTES. A presente invenção refere-se a composições compreendendo determinadas variantes de lipase e um agente de matiz para tecidos, bem como processos para a produção e o uso de tais composições. Isso inclui o uso dessas composições para limpar e/ou tratar um local.



PI0707209-0

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÕES DETERGENTES**".

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a composições compreendendo lipases e agentes de matiz para tecidos, bem como a processos para a produção e o uso desses produtos.

Antecedentes da Invenção

O aparecimento das enzimas lipase adequadas a aplicações detergentes ofereceu ao formulador uma nova abordagem para otimizar a remoção de graxas. Essas enzimas catalisam a hidrólise de triglicerídeos, que consistem em um componente principal de muitas sujeiras gordurosas comumente encontradas, como sebo, gorduras de origem animal (por exemplo banha, manteiga líquida, manteiga) e óleos vegetais (por exemplo óleo de oliva, óleo de girassol, óleo de amendoim). No entanto, essas enzimas tipicamente demonstravam um desempenho fraco no primeiro ciclo de lavagem e, tipicamente, traziam consigo um odor desagradável oriundo, acredita-se, da hidrólise de gorduras presentes em sujeiras lácteas como leite, creme, manteiga e iogurte. Sem se ater à teoria, acredita-se que essas sujeiras sejam propensas à geração de odor desagradável induzida por lipase, já que contêm triglicerídeos funcionalizados com unidades acila graxa de cadeia curta (por exemplo C₄), que liberam ácidos graxos voláteis malcheirosos após a lipólise. Mesmo quando o desempenho dessas enzimas foi aprimorado, o problema de odor desagradável permaneceu. Portanto, o uso dessa tecnologia estava gravemente limitado.

Descobriu-se que a combinação de um agente de matiz para tecidos com determinadas variantes de lipase dá origem a benefício de desempenho de limpeza otimizado, ao mesmo tempo em que minimiza o odor desagradável inaceitável. Sem se ater à teoria, acredita-se que os seguintes mecanismos dêem origem a tais benefícios: as variantes de lipase selecionadas aumentam o nível de remoção de graxas, causando assim uma melhor acessibilidade do agente de matiz para tecidos à superfície do tecido e, conseqüentemente, uma deposição otimizada. A combinação resultante da

remoção otimizada de sujeiras oleosas e da deposição de um colorante tonalizante leva a um aprimoramento na aparência do tecido e, mesmo nos casos em que a sujeira oleosa não é adequadamente removida, a hidrólise das gorduras em ácidos graxos, mono e diglicerídeos, que são mais hidrofílicos, leva a uma deposição otimizada do colorante tonalizante e, conseqüentemente, a uma percepção de limpeza, sendo que a presença das moléculas de corante depositadas na sujeira oleosa presente nos tecidos pode inibir a atividade enzimática que dá origem a odores desagradáveis.

10 Sumário da Invenção

A presente invenção refere-se a composições compreendendo um agente de matiz para tecidos e uma variante de lipase com potencial reduzido para geração de odores e um bom desempenho relativo, sem a ligação de uma extensão C-terminal. A variante de lipase é obtida mediante a introdução de mutações em uma ou mais regiões identificadas na lipase original. A variante assim obtida precisa ter uma atividade de lipase que não seja menor que 80% da atividade da lipase original, expressa como Desempenho Relativo.

LISTAGEM DE SEQÜÊNCIAS

20 (Alinhamento das seqüências de lipase).

A SEQ. ID nº 1 mostra a seqüência de DNA codificando lipase a partir de *Thermomyces lanoginosus*.

A SEQ. ID nº 2 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Thermomyces lanoginosus*.

25 A SEQ. ID nº 3 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Absidia reflexa*.

A SEQ. ID nº 4 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Absidia corymbifera*.

30 A SEQ. ID nº 5 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Rhizomucor miehei*.

A SEQ. ID nº 6 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Rhizopus oryzae*.

A SEQ. ID nº 7 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus niger*.

A SEQ. ID nº 8 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus tubingensis*.

5 A SEQ. ID nº 9 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Fusarium oxysporum*.

A SEQ. ID nº 10 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Fusarium heterosporum*.

10 A SEQ. ID nº 11 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus oryzae*.

A SEQ. ID nº 12 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Penicillium camemberti*.

A SEQ. ID nº 13 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus foetidus*.

15 A SEQ. ID nº 14 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus niger*.

A SEQ. ID nº 15 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Aspergillus oryzae*.

20 A SEQ. ID nº 16 mostra a seqüência de aminoácidos de uma lipase obtida de *Landerina penisapora*.

Descrição Detalhada da Invenção

Definições

Para uso na presente invenção, o termo "composição de limpeza" inclui, exceto onde indicado de outro modo: agentes de lavagem para múltiplas finalidades ou para "tarefas pesadas", sob a forma de grânulos ou pó, especialmente detergentes para lavagem de roupas, agentes de lavagem para múltiplas finalidades, sob a forma de líquido, gel ou pasta, especialmente aqueles do tipo líquido para tarefas pesadas, detergentes líquidos para tecidos finos, agentes para lavagem de pratos à mão ou agentes para lavagem de pratos do tipo para tarefas leves, especialmente aqueles do tipo com alta formação de espuma, agentes para lavagem de pratos à máquina, inclusive os diversos tipos sob a forma de tabletes, grânulos, líquidos e de

25

30

auxílio ao enxágüe, para uso doméstico e institucional, agentes líquidos para limpeza e desinfecção, inclusive dos tipos como bactericida para lavagem das mãos, sabão em barra para lavanderia, enxaguatórios bucais, limpadores de dentadura, xampus para limpeza de carros ou tapetes, limpadores para banheiros, xampus e condicionadores para cabelo, géis de banho e banhos de espuma, e limpadores para metal, bem como produtos auxiliares de limpeza como aditivos para alvejamento e produtos do tipo "bastão removedor de manchas" ou produtos de pré-tratamento.

Para uso na presente invenção, o termo 'agente de matiz para tecidos' significa corantes ou pigmentos que, quando formulados em composições detergentes, podem depositar-se sobre um tecido quando o mesmo é colocado em contato com um líquido de lavagem compreendendo as ditas composições detergentes, alterando assim o tom do dito tecido. Para os propósitos do presente pedido de patente, os clareadores ópticos fluorescentes não são considerados agentes de matiz para tecidos.

Para uso na presente invenção, a expressão "é independentemente selecionado do grupo consistindo em..." significa que as porções ou elementos que são selecionados do grupo de Markush mencionado podem ser iguais, podem ser diferentes, ou podem consistir em qualquer mistura de elementos.

Os métodos de teste apresentados na seção de Métodos de Teste do presente pedido de patente precisam ser usados para determinar os valores respectivos dos parâmetros das invenções das requerentes.

Exceto onde especificado de outro modo, todos os teores de componentes ou da composição referem-se ao teor ativo do componente ou da composição, e excluem impurezas como, por exemplo, solventes residuais ou subprodutos que possam estar presentes nas fontes disponíveis comercialmente.

Todas as porcentagens e razões são calculadas em peso, exceto onde indicado de outro modo. Todas as porcentagens e razões são calculadas com base no total da composição, exceto onde indicado de outro modo.

Deve-se compreender que cada limite numérico máximo men-

cionado neste relatório descritivo inclui todos os limites numéricos inferiores, como se tais limites numéricos inferiores estivessem expressamente registrados no presente documento. Cada limite numérico mínimo mencionado neste relatório descritivo inclui cada um dos limites numéricos superiores, como se tais limites numéricos superiores estivessem expressamente registrados no presente documento. Cada intervalo numérico mencionado neste relatório descritivo inclui cada intervalo numérico mais restrito que esteja situado dentro desse intervalo numérico mais amplo, como se tais intervalos numéricos mais restritos estivessem expressamente registrados no presente documento.

Todos os documentos citados são, em suas partes relevantes, aqui incorporados por referência, sendo que a menção a qualquer documento não deve ser interpretada como admissão de que este represente técnica anterior com relação à presente invenção.

Composições

As composições da presente invenção podem conter de cerca de 0,00003% a cerca de 0,1%, de cerca de 0,00008% a cerca de 0,05%, ou mesmo de cerca de 0,0001% a cerca de 0,04% de agente de matiz para tecidos, e de cerca de 0,0005% a cerca de 0,1%, de cerca de 0,001% a cerca de 0,05%, ou mesmo de cerca de 0,002% a cerca de 0,03% de lipase.

Essas composições pode assumir qualquer forma, por exemplo, a forma de uma composição para limpeza e/ou de uma composição de tratamento.

O equilíbrio restante de quaisquer aspectos das composições de limpeza anteriormente mencionadas é formado por um ou mais materiais auxiliares.

Variantes de Lipase Adequadas

A lipase da composição da presente invenção consiste em uma variante de lipase sem extensão C-terminal, porém com mutações introduzidas em determinadas regiões de uma lipase original, de modo que a tendência a gerar odores fica reduzida.

Lipase Original

A lipase original pode ser uma lipase fúngica com uma seqüên-

cia de aminoácidos tendo pelo menos 50% de homologia, conforme definido na seção "Homologia e alinhamento", com a seqüência da lipase de *T. lanuginosus* mostrada na SEQ. ID nº 2.

A lipase original pode ser um polipeptídeo de levedura como um polipeptídeo de *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* ou *Yarrowia* ou, com mais preferência, um polipeptídeo de fungo filamentoso, como um polipeptídeo de *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Filobasidium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Piromyces*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Toly-*
 10 *pocladium* ou *Polipeptídeo Trichoderma*.

Em um aspecto preferencial, a lipase original é um polipeptídeo com atividade de lipase, proveniente de *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces*
 15 *douglasii*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces norbensis* ou *Saccharomyces oviformis*.

Em um outro aspecto preferencial, a lipase original é um polipeptídeo de *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus turbigenis*, *Fusarium bactridioides*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium*
 20 *graminearum*, *Fusarium graminum*, *Fusarium heterosporum*, *Fusarium negundi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium reticulatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium sarcochroum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sulphureum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium*
 25 *venenatum*, *Humicola insolens*, *Thermomyces lanuginosus* (sinônimo: *Humicola lanuginosa*), *Mucor miehei*, *Myceliophthora thermophila*, *Neurospora crassa*, *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* ou *Polipeptídeo*
 30 *Trichoderma viride*.

Em um outro aspecto preferencial, a lipase original é uma lipase de *Thermomyces*.

Em um aspecto mais preferencial, a lipase original é uma lipase de *Thermomyces lanuginosus*. Em uma modalidade ainda mais preferencial, a lipase original é a lipase de SEQ. ID nº 2.

Identificação de Regiões e Substituições.

- 5 As posições mencionadas nas Regiões de I a IV, abaixo, são posições dos resíduos de aminoácido na SEQ. ID nº 2. Para encontrar as posições correspondentes (ou homólogas) em uma lipase diferente, é usado o procedimento descrito em "Homologia e alinhamento".

Substituições na Região I

- 10 A Região I consiste em resíduos de aminoácido circundando o resíduo N-terminal E1. Nessa região, é preferencial substituir um aminoácido da lipase original com um aminoácido mais positivo. Os resíduos de aminoácido correspondentes às seguintes posições são compreendidos pela Região I: de 1 a 11 e de 223 a 239. As seguintes posições são de particular interesse:
- 15 1, 2, 4, 8, 11, 223, 227, 229, 231, 233, 234 e 236. Em particular, foram identificadas as seguintes substituições: X1N/*, X4V, X227G, X231R e X233R.

- Em uma modalidade preferencial, a lipase original tem pelo menos 80%, como 85% ou 90%, como pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade com SEQ. ID nº 2. Em uma modalidade da máxima preferência, a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2.
- 20

Substituições na Região II

- A Região II consiste em resíduos de aminoácido em contato com o substrato em um lado da cadeia de acila e um lado da parte de álcool. Nessa região, é preferencial substituir um aminoácido da lipase original com um aminoácido mais positivo ou com um aminoácido menos hidrofóbico. Os resíduos de aminoácido correspondentes às seguintes posições são compreendidos pela Região II: de 202 a 211 e de 249 a 269. As seguintes posições são de particular interesse: 202, 210, 211, 253, 254, 255, 256 e 259. Em particular, foram identificadas as seguintes substituições:
- 25
- 30 X202G, X210K/W/A, X255Y/V/A, X256K/R e X259G/M/Q/V.

Em uma modalidade preferencial, a lipase original tem pelo menos 80%, como 85% ou 90%, como pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou

99% de identidade com SEQ. ID nº2. Em uma modalidade da máxima preferência, a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2.

Substituições na Região III

A Região III consiste em resíduos de aminoácido que formam uma estrutura flexível permitindo, assim, que o substrato entre no sítio ativo. Nessa região, é preferencial substituir um aminoácido da lipase original com um aminoácido mais positivo ou com um aminoácido menos hidrofóbico. Os resíduos de aminoácido correspondentes às seguintes posições são compreendidos pela Região III: de 82 a 102. As seguintes posições são de particular interesse: 83, 86, 87, 90, 91, 95, 96 e 99. Em particular, foram identificadas as seguintes substituições: X83T, X86V e X90A/R.

Em uma modalidade preferencial, a lipase original tem pelo menos 80%, como 85% ou 90%, como pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade com SEQ. ID nº2. Em uma modalidade da máxima preferência, a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2.

Substituições na Região IV

A Região IV consiste em resíduos de aminoácido que se ligam eletrostaticamente a uma superfície. Nessa região, é preferencial substituir um aminoácido da lipase original com um aminoácido mais positivo. Os resíduos de aminoácido correspondentes às seguintes posições são compreendidos pela Região IV: 27 e 54 a 62. As seguintes posições são de particular interesse: 27, 56, 57, 58 e 60. Em particular, foram identificadas as seguintes substituições: X27R, X58N/AG/T/P e X60V/S/G/N/R/K/A/L.

Em uma modalidade preferencial, a lipase original tem pelo menos 80%, como 85% ou 90%, como pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade com SEQ. ID nº2. Em uma modalidade da máxima preferência, a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2.

Aminoácidos em outras posições

A lipase original pode, opcionalmente, compreender substituições de outros aminoácidos, especificamente menos que 10 ou menos que 5 dessas substituições. Os exemplos são substituições correspondentes a uma ou mais das posições 24, 37, 38, 46, 74, 81, 83, 115, 127, 131, 137, 143, 147,

150, 199, 200, 203, 206, 211, 263, 264, 265, 267 e 269 da lipase original. Em uma modalidade específica, há uma substituição em pelo menos uma das posições correspondentes a 81, 143, 147, 150 e 249. Em uma modalidade preferencial, pelo menos uma substituição é selecionada do grupo consistindo em X81Q/E, X143S/C/N/D/A, X147M/Y, X150G/K e X249R/I/L.

A variante pode compreender substituições fora das Regiões de I a IV definidas, sendo que o número dessas substituições é, de preferência, menor que seis, ou menor que cinco, ou menor que quatro, ou menor que três, ou menor que duas, como cinco, ou quatro, ou três, ou duas ou uma. Alternativamente, a variante não compreende qualquer substituição fora das Regiões de I a IV definidas.

Além disso as substituições podem, por exemplo, ser feitas de acordo com os princípios conhecidos na técnica, por exemplo substituições descritas em WO 92/05249, WO 94/25577, WO 95/22615, WO 97/04079 e WO 97/07202.

Variantes da Lipase Original

Em um aspecto a dita variante, quando comparada à dita lipase original, compreende um total de pelo menos três substituições, as quais são selecionadas de um ou mais dos seguintes grupos de substituições:

a) pelo menos duas, ou pelo menos três, ou pelo menos quatro, ou pelo menos cinco, ou pelo menos seis, como duas, três, quatro, cinco ou seis substituições na Região I,

b) pelo menos uma, pelo menos duas, ou pelo menos três, ou pelo menos quatro, ou pelo menos cinco, ou pelo menos seis, como uma, duas, três, quatro, cinco ou seis substituições na Região II,

c) pelo menos uma, pelo menos duas, ou pelo menos três, ou pelo menos quatro, ou pelo menos cinco, ou pelo menos seis, como uma, duas, três, quatro, cinco ou seis substituições na Região III,

d) e/ou pelo menos uma, pelo menos duas, ou pelo menos três, ou pelo menos quatro, ou pelo menos cinco, ou pelo menos seis, como uma, duas, três, quatro, cinco ou seis substituições na Região IV,

A variante pode compreender substituições, em comparação à

lipase original da variante, correspondentes àquelas listadas abaixo na Tabela 1.

| Região I | Região II | Região III | Região IV | Regiões externas |
|-----------------------------|---------------|-------------|-------------|------------------|
| X4V + X227G + X231R + X233R | X210K + X256K | X83T + X86V | X58A + X60S | X150G |
| X227G + X231R + X233R | X256K | X86V | X58N + X60S | X150G |
| X231R + X233R | X255Y | | | |
| X231R + X233R | X202G | | | |
| X227G + X231R + X233R | X256K | X86V | | |
| X4V + X231R + X233R | | | X58N + X60S | |
| X231R + X233R | | X90R | X58N + X60S | |
| X231R + X233R | X255V | X90A | | |
| X227G + X231R + X233R | X256K | X86V | X58N + X60S | X150G |
| X231R + X233R | X211L | | X58N + X60S | X147M |
| X231R + X233R | | | | X150K |

Tabela 1: algumas variantes específicas.

Em uma outra modalidade específica, a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2, e as variantes da Tabela 1 serão, portanto:

5 ca à SEQ. ID nº 2, e as variantes da Tabela 1 serão, portanto:

| Região I | Região II | Região III | Região IV | Regiões externas |
|-----------------------------|---------------|-------------|-------------|------------------|
| Q4V + L227G + T231R + N233R | E210K + P256K | S83T + I86V | S58A + V60S | A150G |
| L227G + T231R + N233R | P256K | I86V | S58N + V60S | A150G |
| T231R + N233R | I255Y | | | |
| T231R + N233R | I202G | | | |
| L227G + T231R + N233R | P256K | I86V | | |
| Q4V + T231R + N233R | | | S58N + V60S | |
| T231R + N233R | | I90R | S58N + V60S | |
| T231R + N233R | I255V | I90A | | |
| L227G + T231R + N233R | P256K | I86V | S58N + V60S | A150G |
| T231R + N233R | F211L | | S58N + V60S | L147M |
| X231R + X233R | | | | X150K |

Tabela 2: algumas variantes específicas de SEQ. ID nº 2

Nomenclatura para modificações de aminoácido

Na descrição das variantes de lipase de acordo com a presente invenção, é usada a seguinte nomenclatura, para facilidade de referência:

5 aminoácidos originais: posições: aminoácidos substituídos

De acordo com essa nomenclatura, por exemplo, a substituição do ácido glutâmico por glicina na posição 195 é mostrada como G195E. A deleção da glicina na mesma posição é mostrada como G195*, e a inserção de um resíduo de aminoácido adicional, como lisina, é mostrada como
 10 G195GK. Nos casos em que uma lipase específica contém uma "deleção" em comparação com outras lipases e uma inserção é feita nessa posição, isso é indicado como *36D para a inserção de um ácido aspártico na posição 36. Mutações múltiplas são separadas por sinais de soma, isto é, R170Y+G195E, representando mutações nas posições 170 e 195, substituindo
 15 tirosina e ácido glutâmico por arginina e glicina, respectivamente.

X231 indica o aminoácido em um polipeptídeo original correspondente à posição 231, quando se aplica o procedimento de alinhamento descrito. X231R indica que o aminoácido é substituído por R. Para SEQ. ID nº 2, X é T, e X231R indica, portanto, uma substituição de T na posição 231
 20 por R. Nos casos em que o aminoácido em uma posição (por exemplo 231) pode ser substituído por outro aminoácido selecionado de um grupo de aminoácidos, por exemplo o grupo consistindo em R, P e Y, isso será indicado por X231R/P/Y.

Em todos os casos, é empregada a abreviação IUPAC para aminoácidos, de letra única ou tripla, comumente aceita.
 25

Agrupamento de aminoácidos

Neste relatório descritivo, os aminoácidos são classificados como negativamente carregados, positivamente carregados ou eletricamente neutros, de acordo com sua carga elétrica em pH 10. Portanto, os aminoácidos negativos são E, D, C (cisteína) e Y, particularmente E e D. Os aminoácidos positivos são R, K e H, particularmente R e K. Os aminoácidos neutros são G, A, V, L, P, F, W, S, T, M, N, Q e C, quando formando parte de uma
 30

ponte dissulfeto. A substituição por outro aminoácido no mesmo grupo (negativo, positivo ou neutro) é chamada de substituição conservativa.

Os aminoácidos neutros podem ser divididos em hidrofóbicos ou não-polares (G, A, V, L, I, P, F, W e C como parte de uma ponte de dissulfeto) e hidrofílicos ou polares (S, T M, N, Q).

Neste relatório descritivo, os aminoácidos são classificados como negativamente carregados, positivamente carregados ou eletricamente neutros, de acordo com sua carga elétrica em pH 10. Portanto, os aminoácidos negativos são E, D, C (cisteína) e Y, particularmente E e D. Os aminoácidos positivos são R, K e H, particularmente R e K. Os aminoácidos neutros são G, A, V, L, P, F, W, S, T M, N, Q e C, quando formando parte de uma ponte dissulfeto. A substituição por outro aminoácido no mesmo grupo (negativo, positivo ou neutro) é chamada de substituição conservativa.

Os aminoácidos neutros podem ser divididos em hidrofóbicos ou não-polares (G, A, V, L, I, P, F, W e C como parte de uma ponte de dissulfeto) e hidrofílicos ou polares (S, T M, N, Q).

Identidade de aminoácidos

O nível de relacionamento entre duas seqüências de aminoácido ou entre duas seqüências de nucleotídeo é descrito pelo parâmetro "identidade".

Para os propósitos da presente invenção, o alinhamento de duas seqüências de aminoácido é determinado mediante o uso do programa Needle, do pacote de software EMBOSS (<http://emboss.org>), Versão 2.8.0. O programa Needle implementa o algoritmo de alinhamento global descrito em Needleman, S. B. e Wunsch, C. D. (1970) J. Mol. Biol. 48, 443-453. A matriz de substituição usada é BLOSUM62, a penalidade por abertura de intervalo é de 10, e a penalidade por ampliação de intervalo é de 0,5.

O grau de identidade entre uma seqüência de aminoácidos da presente invenção ("seqüência da invenção", por exemplo aminoácidos de 1 a 269 da SEQ. ID nº 2) e uma seqüência de aminoácidos diferente ("seqüência estranha") é calculado como o número de igualdades exatas em um alinhamento das duas seqüências, dividido pelo comprimento da "seqüência

da invenção" ou o comprimento da "seqüência estranha", aquela que for mais curta. O resultado é expresso em porcentagem de identidade.

Uma igualdade exata ocorre quando a "seqüência da invenção" e a "seqüência estranha" têm resíduos de aminoácido idênticos nas mesmas posições da sobreposição. O comprimento de uma seqüência é o número de resíduos de aminoácido presentes na mesma (por exemplo, o comprimento da SEQ. ID nº 2 é 269).

A lipase original tem uma identidade de aminoácidos de pelo menos 50% com a lipase de *T. lanuginosus* (SEQ. ID nº 2), particularmente pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 75%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, mais de 95% ou mais de 98%. Em uma modalidade específica, a lipase original é idêntica à lipase de *T. lanuginosus* (SEQ. ID nº 2).

O procedimento acima pode ser usado para cálculo de identidade, bem como para homologia e alinhamento. No contexto da presente invenção, a homologia e o alinhamento foram calculados conforme descrito mais adiante neste documento.

Homologia e alinhamento

Para os propósitos da presente invenção, o grau de homologia pode ser adequadamente determinado por meio de programas de computador conhecidos na técnica, como o GAP, fornecido no pacote de programas GGC (Program Manual for the Wisconsin Package, Versão 8, agosto de 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711) (Needleman, S.B. e Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-45), usando-se o dito GAP com as seguintes configurações para comparação de seqüências de polipeptídeos: penalidade de 3,0 para abertura de intervalo e penalidade de 0,1 para ampliação de intervalo.

Na presente invenção, as posições correspondentes (ou homólogas) nas seqüências de lipase de *Absidia reflexa*, *Absidia corymbifera*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus delemar*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus tubigenensis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium heterosporum*, *Aspergillus oryzea*, *Penicillium camembertii*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus niger*, *Thermomyces lanuginosus* (sinônimo: *Humicola lanuginosa*) e *Landerina penisapora* são de-

finidas pelo alinhamento mostrado na Figura 1.

Para encontrar as posições homólogas nas seqüências de lipase não mostradas no alinhamento, a seqüência de interesse é alinhada às seqüências mostradas na Figura 1. A nova seqüência é alinhada ao presente
5 alinhamento na Figura 1, mediante o uso de alinhamento GAP com a seqüência mais homóloga encontrada pelo programa GAP. O programa GAP é fornecido no pacote de programas GGC (Program Manual for the Wisconsin
Package, Versão 8, agosto 1994, Genetics Computer Group, 575 Science
Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711) (Needleman, S.B. e Wunsch, C.D.,
10 (1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-45). São usadas as seguintes configurações para a comparação de seqüências de polipeptídeos: penalidade de 3,0 para abertura de intervalo e penalidade de 0,1 para ampliação de intervalo.

A lipase original tem uma homologia de pelo menos 50% com a
15 lipase de *T. lanuginosus* (SEQ. ID nº 2), particularmente pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 75%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, mais de 95% ou mais de 98%. Em uma modalidade específica, a lipase original é idêntica à lipase de *T. lanuginosus* (SEQ. ID nº 2).

Hibridização

20 A presente invenção refere-se, também, a polipeptídeos isolados com atividade de lipase, os quais são codificados por polinucleotídeos que se hibridizam sob condições de muito baixa estringência, de preferência sob condições de baixa estringência, com mais preferência sob condições de média estringência, com mais preferência sob condições de média-alta
25 estringência, com mais preferência ainda sob condições de alta estringência e, com a máxima preferência, sob condições de muito alta estringência com (i) nucleotídeos de 178 a 660 da SEQ. ID nº 1, (ii) a seqüência de cDNA contida em nucleotídeos de 178 a 660 da SEQ. ID nº 1, (iii) uma subseqüência de (i) ou (ii), ou (iv) um filamento complementar de (i), (ii) ou (iii) (J. Sambrook, E.F. Fritsch, e T. Maniatus, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2a. Edição, Cold Spring Harbor, New York, USA). Uma subseqüência da
30 SEQ. ID nº 1 contém pelo menos 100 nucleotídeos contíguos ou, de prefe-

rência, pelo menos 200 nucleotídeos contíguos. Além disso, a subsequência pode codificar um fragmento de polipeptídeo que tem atividade de lipase.

Para pontas longas de pelo menos 100 nucleotídeos em comprimento, as condições de estringência de muito baixas a muito altas são
5 definidas como pré-hibridização e hibridização a 42°C em 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 µg/mL de DNA de esperma de salmão submetido ao cisalhamento e desnaturado, e ou 25% de formamida para estringências muito baixas e baixas, 35% de formamida para estringências médias e médias-altas, ou
10 50% de formamida para estringências altas e muito altas, seguindo os padrões de procedimentos para blotting Southern para 12 a 24 horas, otimamente.

Para pontas longas de pelo menos 100 nucleotídeos de comprimento, o material carreador é finalmente lavado três vezes cada um durante 15 minutos, mediante o uso de 2X SSC, 0,2% SDS, de preferência pelo
15 menos a 45°C (muito baixa estringência), com mais preferência pelo menos a 50°C (baixa estringência), com mais preferência pelo menos a 55°C (média estringência), com mais preferência pelo menos a 60°C (média-alta estringência), com mais preferência ainda pelo menos a 65°C (alta estringência) e, com a máxima preferência, pelo menos a 70°C (muito alta estrin-
20 gência).

Seqüência de DNA, vetor de expressão, célula hospedeira, produção de lipase

A invenção apresenta uma seqüência de DNA que codifica a lipase da invenção, um vetor de expressão que abriga a seqüência de DNA, e
25 uma célula hospedeira transformada que contém a seqüência de DNA ou o vetor de expressão. Esses itens podem ser obtidos por métodos conhecidos na técnica.

A invenção apresenta, também, um método para produção de lipase mediante a cultura da célula hospedeira transformada sob condições
30 apropriadas à produção da lipase, seguida da recuperação da dita lipase a partir do caldo resultante. O método pode ser praticado de acordo com os princípios conhecidos na técnica.

Atividade de lipase

- Atividade de lipase em tributirina sob pH neutro (LU)

Um substrato para a lipase é preparado mediante a emulsificação de tributirina (tributirato de glicerina), usando-se goma arábica como emulsificante. A hidrólise de tributirina a 30°C e a um pH de 7 ou 9 é seguida em um experimento de titulação pH-stat. Uma unidade de atividade de lipase (1 LU) é igual à quantidade de enzima capaz de liberar 1 micro mol de ácido butírico/min sob pH 7.

- Relação risco/benefício

O fator risco/benefício descrevendo o desempenho em comparação ao risco reduzido para ocorrência de odores é definido como: $BR = RP_{avg} / R$. As variantes de lipase aqui descritas podem ter RBs maiores que 1, maiores que 1,1, ou mesmo maiores que 1 até cerca de 1.000.

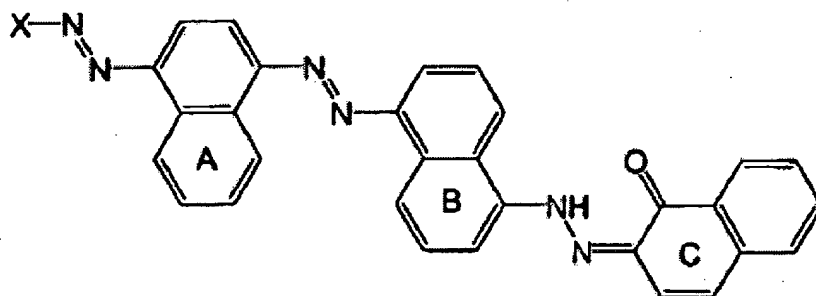
- Desempenho relativo médio

O procedimento para cálculo do desempenho relativo médio (RP_{avg}) é encontrado no Exemplo 5 do presente relatório descritivo. As variantes de lipase aqui descritas podem ter um (RP_{avg}) de pelo menos 0,8, pelo menos 1,1, pelo menos 1,5, ou mesmo de pelo menos 2 a cerca de 1.000.

20 Agentes de matiz para tecido adequados

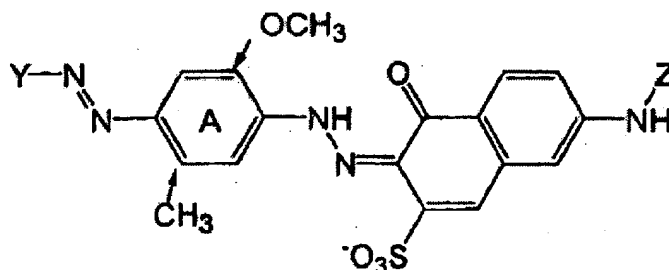
Os clareadores ópticos fluorescentes emitem pelo menos alguma luz visível. Em contraste, os agentes de matiz para tecidos podem alterar o tom de uma superfície, já que absorvem pelo menos uma porção do espectro de luz visível. Os agentes de matiz para tecidos adequados incluem corantes, conjugados corante-argila e pigmentos que satisfazem os requisitos do Método de teste 1, na seção "Método de teste" do presente relatório descritivo. Os corantes adequados incluem corantes de moléculas pequenas e corantes poliméricos. Os corantes de moléculas pequenas adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em:

30 (1) Corantes azuis diretos à base de trisazo, com a fórmula:



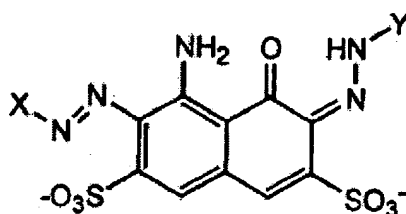
- em que pelo menos dois dos anéis A, B e C de naftila são substituídos por um grupo sulfonato, o anel C pode ser substituído na posição 5 por um grupo NH_2 ou NHPh , X é um anel de benzila ou naftila substituído com até 2 grupos sulfonato e pode ser substituído na posição 2 com um grupo OH podendo, também, ser substituído com um grupo NH_2 ou NHPh .

(2) Corantes violeta diretos à base de bisazo, com a fórmula:



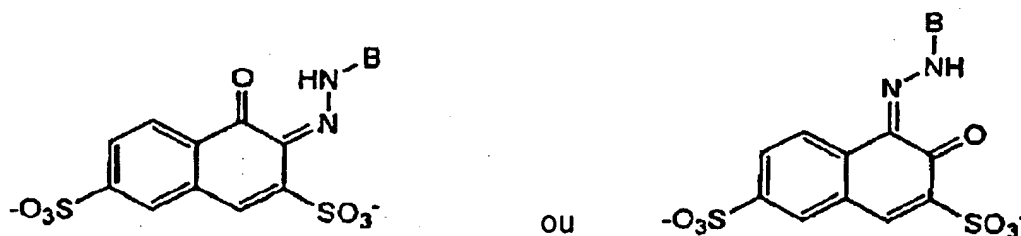
- em que Z é H ou fenila, o anel A é, de preferência, substituído com um grupo metila e metóxi nas posições indicadas pelas setas, sendo que o anel A pode, também, ser um anel de naftila, e o grupo Y é um anel de benzila ou naftila que é substituído por um grupo sulfato, podendo ser mono ou dissustituído por grupos metila.

(3) Corantes ácidos azuis ou vermelhos, com a fórmula:



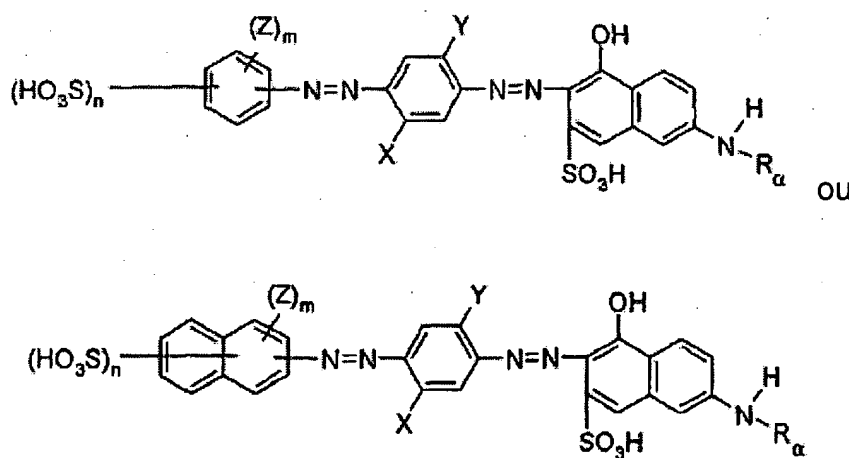
- em que pelo menos um dentre X e Y precisa ser um grupo aromático. Em um aspecto, ambos os grupos aromáticos podem ser um grupo benzila ou naftila substituído, o qual pode ser substituído por grupos não-solubilizantes em água, como grupos alquila, alquilóxi ou arilóxi, e X e Y podem não ser substituídos com grupos solubilizantes em água, como sulfonatos ou carboxilatos. Em outro aspecto, X é um grupo benzila nitrossubstituído, e Y é um grupo benzila

(4) Corantes ácidos vermelhos com a estrutura:



- 10 em que B é um grupo naftila ou benzila que pode ser substituído por grupos não-solubilizantes em água, como grupos alquila, alquilóxi ou arilóxi, e B pode não ser substituído com grupos solubilizantes em água, como sulfonatos ou carboxilatos.

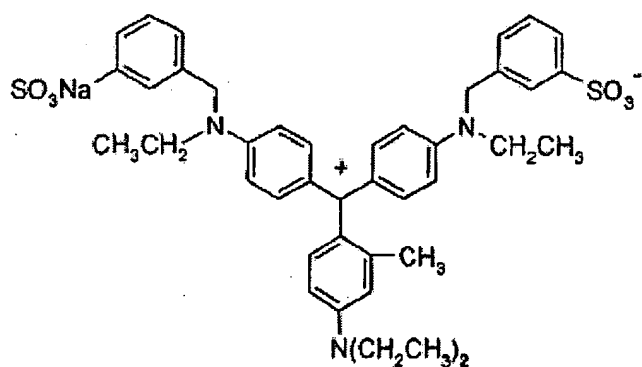
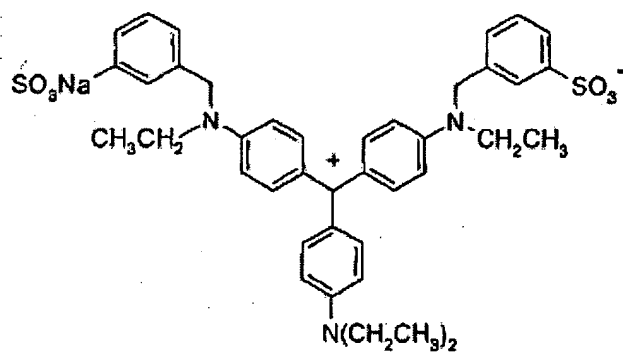
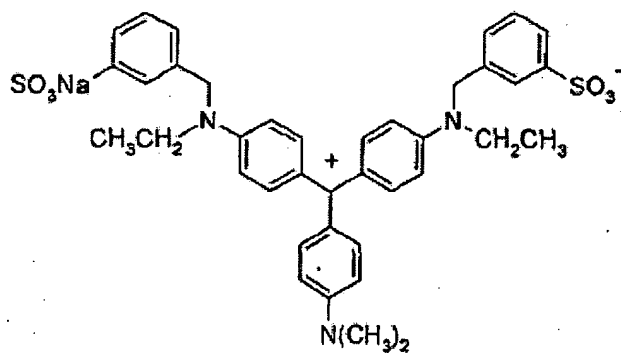
(5) Corantes disazo com a estrutura:

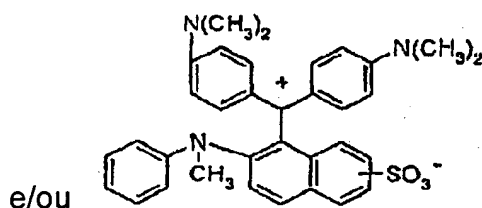
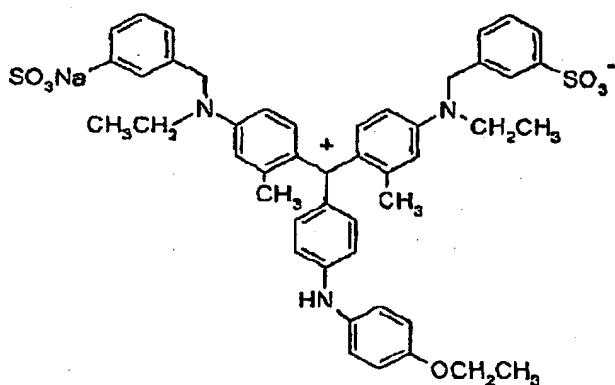
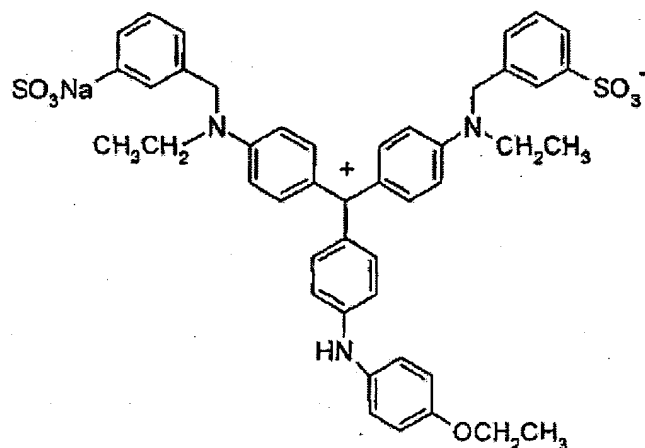


- 15 em que X e Y, são, independentemente um do outro, hidrogênio, alquila C₁-C₄ ou alcóxi C₁-C₄, R_α é hidrogênio ou arila, Z é alquila C₁-C₄, alcóxi C₁-C₄, halogênio, hidroxila ou carboxila, n é 1 ou 2, e m é 0, 1 ou 2, bem como sais

correspondentes e misturas dos mesmos.

(6) Corantes à base de trifenilmetano com as seguintes estruturas:





e misturas dos mesmos. Em outro aspecto, os corantes de moléculas pequenas adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo nos números I.C. (índice de cor da Society of Dyers and Colourists, de Bradford, Reino Unido) Violeta Direto 9, Violeta Direto 35, Violeta Direto 48, Violeta Direto 51, Violeta Direto 66, Azul Direto 1, Azul Direto 71, Azul Direto 80, Azul Direto 279, Vermelho Ácido 17, Vermelho Ácido 88, Vermelho Ácido 150, Violeta Ácido 15, Violeta Ácido 17, Violeta Ácido 24, Violeta Ácido 49, Azul Ácido 15, Azul Ácido 17, Azul Ácido 29, Azul Ácido 40, Azul Ácido 75, Azul Ácido 80, Azul Ácido 83, Azul Ácido 90 e Azul Ácido 113, Violeta Básico 1, Violeta Básico 3, Violeta Básico 4, Violeta Básico 10, Violeta Básico 35, Azul Básico 3, Azul Básico 16, Azul Básico 22, Azul Básico 47, Azul Básico 66, Azul Básico 75, Azul Básico 159 e misturas dos mesmos.

Os corantes poliméricos adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em polímeros contendo cromogênios conjugados (conjugados corante-polímero) e polímeros com cromogênios copolimerizados na cadeia principal do polímero, bem como misturas dos mesmos.

Em outro aspecto, os corantes poliméricos adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em colorantes aderentes a tecido disponíveis comercialmente sob o nome de Liquitint® (Milliken, Spartanburg, South Carolina, USA), conjugados corante-polímero formados a partir de pelo menos um corante reativo e um polímero selecionado do grupo consistindo em polímeros compreendendo uma porção selecionada do grupo consistindo em uma porção hidroxila, uma porção amina primária, uma porção amina secundária, uma porção tiol e misturas dos mesmos. Em mais um outro aspecto, os corantes poliméricos adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em Liquitint® (Milliken, Spartanburg, South Carolina, USA) Violeta CT, carbóxi metil celulose (CMC) conjugada com um corante azul reativo, violeta reativo ou vermelho reativo, como CMC conjugado com I.C. Azul Reativo 19, disponível comercialmente junto à Megazyme, de Wicklow, Irlanda, sob o nome de produto AZO-CM-CELLULOSE, código S-ACMC, e misturas dos mesmos.

Os conjugados corante-argila adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em pelo menos um corante catiônico/básico e uma argila esmectita, bem como misturas dos mesmos. Em outro aspecto, os conjugados corante-argila adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em um corante catiônico/básico selecionado do grupo consistindo em I.C. Amarelo Básico de 1 a 108, I.C. Laranja Básico de 1 a 69, I.C. Vermelho Básico de 1 a 118, I.C. Violeta Básico de 1 a 51, I.C. Azul Básico de 1 a 164, I.C. Verde Básico de 1 a 14, I.C. Marrom Básico de 1 a 23, I.C. Preto Básico de 1 a 11, e uma argila selecionada do grupo consistindo em argila montmorilonita, argila hectorita, e argila saponita, bem como misturas dos mesmos. Em mais um outro aspecto, os conjugados corante-argila adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo nos conjugados montmorilonita e Azul Básico B7 I.C. 42595, montmorilonita e Azul Básico B9 I.C. 52015, montmorilonita e Violeta Básico V3 I.C. 42555, montmorilonita e Verde Básico G1 I.C. 42040, montmorilonita e Vermelho Básico R1 I.C. 45160, montmorilonita e I.C. Preto Básico 2, hectorita e Azul Básico B7 I.C. 42595, hectorita e Azul Básico B9 I.C. 52015, hectorita e Vio-

leta Básico V3 I.C. 42555, hectorita e Verde Básico G1 I.C. 42040, hectorita e Vermelho Básico R1 I.C. 45160, hectorita e I.C. Preto Básico 2, saponita e Azul Básico B7 I.C. 42595, saponita e Azul Básico B9 I.C. 52015, saponita e Violeta Básico V3 I.C. 42555, saponita e Verde Básico G1 I.C. 42040, saponita e Vermelho Básico R1 I.C. 45160, saponita e I.C. Preto Básico 2, e misturas dos mesmos.

Os pigmentos adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em flavantrona, indantrona, indantrona clorada contendo de 1 a 4 átomos de cloro, pirantrona, dicloropirantrona, monobromodicloropirantrona, dibromodicloropirantrona, tetrabromopirantrona, diimida de ácido perileno-3,4,9,10-tetracarboxílico, sendo que os grupos imida podem ser não-substituídos ou substituídos com alquila C1-C3 ou uma fenila ou radical heterocíclico, e sendo que a fenila e os radicais heterocíclicos podem, adicionalmente, transportar substituintes que não conferem solubilidade em água, amidas de ácido antrapirimidino carboxílico, violantrona, isoviolantrona, pigmentos à base de dioxazina, ftalocianina de cobre que pode conter até 2 átomos de cloro por molécula, ftalocianina de policloro-cobre ou ftalocianina de polibromocloro-cobre contendo até 14 átomos de bromo por molécula, bem como misturas dos mesmos.

Em outro aspecto, os pigmentos adequados incluem aqueles selecionados do grupo consistindo em Azul Ultramarino (I.C. Pigmento Azul 29), Violeta Ultramarino (I.C. Pigmento Violeta 15) e misturas dos mesmos.

Os agentes de matiz para tecidos anteriormente mencionados podem ser usados em combinação (qualquer mistura de agentes de matiz para tecidos pode ser usada). Os agentes de matiz para tecidos adequados podem ser obtidos junto a Aldrich de Milwaukee, Wisconsin, USA, Ciba Specialty Chemicals de Basel, Suíça, BASF de Ludwigshafen, Alemanha, Dayglo Color Corporation de Mumbai, Índia, Organic Dyestuffs Corp. de East Providence, Rhode Island, USA, Dystar de Frankfurt, Alemanha, Lanxess de Leverkusen, Alemanha, Megazyme de Wicklow, Irlanda, Clariant de Muttenz, Suíça, e Avecia de Manchester, Reino Unido, e/ou produzidos de acordo com os exemplos aqui contidos.

Materiais auxiliares

Embora não essencial para os propósitos da presente invenção, a lista não-limitadora de compostos auxiliares mostrada mais adiante neste documento é adequada ao uso nas composições instantâneas e pode ser desejavelmente incorporada em certas modalidades da invenção, por exemplo para auxiliar ou melhorar o desempenho da limpeza, para tratamento do substrato a ser limpo ou para modificar a estética da composição de limpeza, como no caso de perfumes, corantes ou similares. A natureza exata desses componentes adicionais, bem como seus níveis de incorporação, dependerá da forma física da composição e da natureza da operação de limpeza em que será utilizada. Os materiais auxiliares adequados incluem, mas não se limitam a, tensoativos, builders, agentes quelantes, agentes inibidores de transferência de corantes, dispersantes, enzimas adicionais e estabilizantes de enzimas, materiais catalíticos, ativadores de alvejamento, peróxido de hidrogênio, fontes de peróxido de hidrogênio, perácido pré-formado, agentes poliméricos dispersantes, remoção de sujeira à base de argila/agentes anti-redeposição, alvejantes, supressores de espuma, corantes, perfumes, agentes elastificantes de estrutura, amaciantes de tecidos, veículos, hidrótropos, elementos auxiliares ao processamento, solventes e/ou pigmentos. Além da descrição abaixo, exemplos adequados desses outros compostos auxiliares, bem como seus níveis de uso, são encontrados nas patentes U.S. N° 5.576.282, N° 6.306.812 B1 e N° 6.326.348 B1, que estão aqui incorporadas, por referência.

Conforme consta, os ingredientes auxiliares não são essenciais às composições das requerentes. Portanto, determinadas modalidades das composições das requerentes não contêm um ou mais dos seguintes materiais auxiliares: tensoativos, builders, agentes quelantes, agentes inibidores de transferência de pigmentos, dispersantes, enzimas adicionais e estabilizantes de enzimas, materiais catalíticos, ativadores de alvejamento, peróxido de hidrogênio, fontes de peróxido de hidrogênio, perácidos pré-formados, agentes poliméricos dispersantes, agentes de remoção de sujeira/anti-redeposição à base de argila, clareadores, supressores de espuma, coran-

tes, perfumes, agentes elasticizantes de estrutura, amaciantes de tecido, veículos, hidrótropos, elementos auxiliares ao processamento, solventes e/ou pigmentos. No entanto, quando estão presentes um ou mais compostos auxiliares, estes podem estar presentes conforme detalhado abaixo:

5 Agentes de alvejamento – As composições de limpeza da presente invenção podem compreender um ou mais agentes de alvejamento. Os agentes de alvejamento adequados, outros que não os catalisadores de alvejamento, incluem alvejantes fotoativados, ativadores de alvejamento, peróxido de hidrogênio, fontes de peróxido de hidrogênio, perácidos pré-
10 formados e combinações dos mesmos. Em geral, quando é usado um agente de alvejamento, as composições da presente invenção podem compreender de cerca de 0,1% a cerca de 50%, ou mesmo de cerca de 0,1% a cerca de 25% de agente de alvejamento, em peso da presente composição para limpeza. Exemplos de agentes de alvejamento adequados incluem:

15 (1) alvejantes fotoativados, por exemplo ftalocianina de zinco sulfonatada;

 (2) perácidos pré-formados: Os perácidos pré-formados adequados incluem, mas não se limitam a, compostos selecionados do grupo consistindo em ácidos e sais percarboxílicos, ácidos e sais percarbônicos,
20 ácidos e sais perimídicos, ácidos e sais peroximonossulfúricos, por exemplo Oxzone ®, e combinações dos mesmos. Os ácidos percarboxílicos adequados incluem perácidos hidrofóbicos e hidrofílicos tendo a fórmula $R-(C=O)O-O-M$, em que R é um grupo alquila, opcionalmente ramificado tendo, quando o perácido é hidrofóbico, de 6 a 14 átomos de carbono, ou de 8 a 12 átomos
25 de carbono e, quando o perácido é hidrofílico, menos de 6 átomos de carbono, ou mesmo menos de 4 átomos de carbono, sendo que M é um contraíon, por exemplo sódio, potássio ou hidrogênio;

 (3) fontes de peróxido de hidrogênio, por exemplo, sais de peridrato inorgânicos, inclusive sais de metais alcalinos como sais sódicos de
30 perborato (geralmente mono ou tetraidrato), sais de percarbonato, persulfato, perfosfato e persilicato, e combinações dos mesmos. Em um aspecto da invenção, os sais de peridrato inorgânicos são selecionados a partir do gru-

po consistindo em sais sódicos de perborato, de percarbonato, e combinações dos mesmos. Quando utilizados, os sais de peridrato inorgânicos estão, tipicamente, presentes em quantidades de 0,05% a 40%, ou de 1% a 30%, em peso do total da composição, e são, tipicamente, incorporados nessas composições sob a forma de um sólido cristalino que pode ser revestido. Os revestimentos adequados incluem sais inorgânicos como metal alcalino silicato, carbonato ou sais de borato ou misturas dos mesmos, ou materiais orgânicos como água-solúvel ou polímeros dispersíveis, ceras, óleos ou sabões graxos; e

5
10 (4) ativadores de alveamento tendo $R-(C=O)-L$ em que R é um grupo alquila, opcionalmente ramificado tendo, quando o ativador de alveamento é hidrofóbico, de 6 a 14 átomos de carbono, ou de 8 a 12 átomos de carbono e, quando o ativador de alveamento é hidrofílico, menos de 6 átomos de carbono ou mesmo menos de 4 átomos de carbono, sendo que L é um grupo de saída. Exemplos de grupos de saída adequados são ácido benzóico e derivados do mesmo, especialmente benzenossulfonato. Os ativadores de alveamento adequados incluem oxibenzenossulfonato de dodecanoíla, oxibenzenossulfonato de decanoíla, ácido decanoil oxibenzóico ou seus sais, 3,5,5-trimetil oxibenzenossulfonato de hexanoíla, tetraacetil etileno diamina (TAED) e oxibenzenossulfonato de nonanoíla (NOBS). Os ativadores de alveamento adequados são, também, apresentados em WO 98/17767. Embora qualquer ativador de alveamento adequado possa ser utilizado, em um aspecto da invenção a presente composição para limpeza pode compreender NOBS, TAED ou misturas dos mesmos.

15
20
25
30 Quando presente, o perácido e/ou ativador de alveamento está geralmente presente na composição em uma quantidade de cerca de 0,1% a cerca de 60%, de cerca de 0,5% a cerca de 40%, ou mesmo de cerca de 0,6% a cerca de 10%, em peso, com base na composição. Um ou mais perácidos hidrofóbicos ou precursores dos mesmos podem ser usados em combinação com um ou mais perácidos hidrofílicos ou precursores dos mesmos.

As quantidades da fonte de peróxido de hidrogênio e de perá-

cido ou ativador de alvejamento podem ser selecionadas de modo que a razão molar entre o oxigênio disponível (da fonte de peróxido) e o perácido seja de 1:1 a 35:1 ou mesmo 2:1 a 10:1.

5 Tensoativos - As composições de limpeza de acordo com a presente invenção podem compreender um tensoativo ou um sisAMSA tensoativo no qual o tensoativo pode ser selecionado de tensoativos não-iônicos, tensoativos aniônicos, tensoativos catiônicos, tensoativos anfólicos, tensoativos zwitteriônicos, tensoativos não-iônicos semipolares e combinações dos mesmos. Quando utilizado, o tensoativo está tipicamente presente
10 a um teor de cerca de 0,1% a cerca de 60%, de cerca de 1% a cerca de 50%, ou mesmo de cerca de 5% a cerca de 40%, em peso da presente composição.

Builders - As composições de limpeza da presente invenção podem compreender um ou mais builders detergentes ou sisAMSAs de builder. Quando um builder for usado, a presente composição compreenderá,
15 tipicamente, ao menos cerca de 1%, de cerca de 5% a cerca de 60%, ou mesmo de cerca de 10% a cerca de 40% de builder, em peso da presente composição. Os builders incluem, mas não se limitam a, sais de polifosfatos de metal alcalino, amônio e alcanol amônio, silicatos de metal alcalino, alcalino-terroso e carbonatos de metal alcalino, builders de aluminossilicato,
20 compostos de policarboxilato, éter hidróxi policarboxilatos, copolímeros de anidrido maléico com etileno ou vinil metil éter, ácido 1, 3, 5-triidróxi benzeno-2, 4, 6-trissulfônico e ácido carbóxi metil óxi succínico, os diversos sais de metal alcalino, amônio e amônio substituído de ácidos poliacéticos como
25 ácido etilenodiamino tetraacético e ácido nitrilotriacético, bem como policarboxilatos como ácido melítico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido oxidissuccínico, ácido polimaléico, ácido benzeno 1,3,5-tricarboxílico, ácido carbóxi metil óxi succínico, e seus sais solúveis.

Agentes quelantes - As composições de limpeza da presente
30 invenção podem conter um agente quelante. Os agentes quelantes adequados incluem agentes quelantes de cobre, ferro e/ou manganês, e combinações dos mesmos. Quando um agente quelante é usado, a presente compo-

sição pode compreender de cerca de 0,005% a cerca de 15%, ou mesmo de cerca de 3,0% a cerca de 10% de agente quelante, em peso da presente composição.

5 Agentes inibidores de transferência de pigmentos - As composições de limpeza da presente invenção podem conter também um ou mais agentes inibidores de transferência de pigmentos. Agentes poliméricos inibidores de transferência de corantes adequados incluem, mas não se limitam a, polímeros de polivinil pirrolidona, polímeros de poliamina N-óxido, copolímeros de N-vinil pirrolidona e N-vinil imidazol, polivinil oxazolidonas e polivinil imidazóis, ou misturas desses itens. Quando presentes em uma composição da presente invenção, os agentes inibidores de transferência de pigmentos podem estar presentes em teores na faixa de cerca de 0,0001% a cerca de 10%, de cerca de 0,01% a cerca de 5%, ou mesmo de cerca de 0,1% a cerca de 3%, em peso da composição.

15 Clareadores - As composições de limpeza da presente invenção podem, também, conter componentes adicionais que podem tonalizar os artigos sendo limpos, como clareadores fluorescentes. Os teores adequados de clareador fluorescente incluem desde teores mais baixos, de cerca de 0,01, de cerca de 0,05, de cerca de 0,1 ou mesmo de cerca de 0,2%, em peso, até teores mais altos de 0,5 ou mesmo 0,75%, em peso.

20 Dispersantes - As composições da presente invenção podem, também, conter dispersantes. Os materiais orgânicos solúveis em água adequados incluem os ácidos homo ou copoliméricos, ou seus sais, em que o ácido policarboxílico contenha ao menos dois radicais carboxila separados um do outro por não mais de dois átomos de carbono.

25 Enzimas adicionais - As composições de limpeza podem conter uma ou mais enzimas, as quais proporcionam desempenho da limpeza e/ou benefícios de tratamento de tecidos. Exemplos de enzimas adequadas incluem, mas não se limitam a, hemicelulases, peroxidases, proteases, celulasas, xilanases, lipases, fosfolipases, esterases, cutinases, pectinases, mananases, pectato liases, queratinases, redutases, oxidases, fenoloxidasas, lipoxigenases, ligninases, pululanases, tanases, pentosanases, malanases,

30

β -glucanases, arabinosidases, hialuronidase, condroitinase, lacase e amilases, ou misturas dos mesmos. Uma combinação típica é um coquetel de enzimas que pode compreender, por exemplo, uma protease e uma lipase em conjunto com amilase. Quando presentes em uma composição para limpeza, as enzimas adicionais anteriormente mencionadas podem estar presentes em teores na faixa de cerca de 0,00001% a cerca de 2%, de cerca de 0,0001% a cerca de 1% ou mesmo de cerca de 0,001% a cerca de 0,5%, em peso da composição, de proteína de enzima.

Estabilizantes de enzimas - As enzimas para uso em detergentes podem ser estabilizadas por meio de várias técnicas. As enzimas empregadas neste caso podem ser estabilizadas pela presença de fontes solúveis de água de íons de cálcio e/ou magnésio nas composições finais que fornecem tais íons às enzimas. No caso de composições aquosas compreendendo protease, um inibidor reversível de protease, como um composto de boro, pode ser adicionado para otimizar ainda mais a estabilidade.

Complexos de metal catalíticos - As composições de limpeza das requerentes podem incluir complexos de metal catalíticos. Um tipo de catalisador de alvejante contendo metal é um sisAMSA catalisador que contém um cátion de metal de transição com atividade catalítica definida para alvejante, como cátions de cobre, ferro, titânio, rutênio, tungstênio, molibdênio ou manganês, um cátion de metal auxiliar com pouca ou nenhuma atividade catalítica para alvejante, como cátions de zinco ou alumínio, e um seqüestrado que tem constantes de estabilidade definidas para os cátions de metal catalíticos e auxiliares, particularmente ácido etilenodiamino tetraacético, etileno diamino tetra(ácido metileno fosfônico), e sais solúveis em água dessas substâncias. Esses catalisadores são apresentados em U.S. 4.430.243.

Se for desejado, as composições da presente invenção podem ser catalisadas por meio de um composto de manganês. Esses compostos e teores de uso são bem-conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, os catalisadores baseados em manganês apresentados em U.S. 5.576.282.

Os catalisadores alvejantes de cobalto aqui utilizáveis são conhecidos e são descritos, por exemplo, nas patentes US 5.597.936 e US

5.595.967. Esses catalisadores baseados em cobalto são prontamente preparados por meio de procedimentos conhecidos, como ensinado, por exemplo, em U.S. N° 5.597.936 e U.S. N° 5.595.967.

As composições da presente invenção podem, também, adequadamente incluir um complexo de metais de transição de ligandos, como bispidonas (WO 05/042532 A1) e/ou ligandos macropolicíclicos rígidos, abreviados como "LMRs". Por uma questão de prática, mas sem que isto constitua uma limitação, as composições e processos da presente invenção podem ser ajustadas para fornecer da ordem de ao menos uma parte por cem milhões da espécie ativa de LMR no meio aquoso para lavagem, e tipicamente fornece de cerca de 0,005 ppm a cerca de 25 ppm, de cerca de 0,05 ppm a cerca de 10 ppm, ou mesmo de cerca de 0,1 ppm a cerca de 5 ppm de LMR no líquido de lavagem.

Os metais de transição adequados no presente catalisador branqueador à base de metal de transição incluem, por exemplo, manganês, ferro e cromo. Os LMRs adequados incluem 5,12-dietil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano.

Os LMRs de metal de transição adequados são prontamente preparados por meio de procedimentos conhecidos, como ensinado, por exemplo, em WO 00/32601 e em U.S. N° 6.225.464.

Solventes – Os solventes adequados incluem água e outros solventes, como fluidos lipofílicos. Exemplos de fluidos lipofílicos adequados incluem siloxanos, outros silicones, hidrocarbonetos, éteres de glicol, derivados de glicerina como éteres de glicerina, aminas perfluoradas, solventes perfluorados e à base de éter hidrofluorado, solventes orgânicos não-fluorados de baixa volatilidade, solventes à base de diol, outros solventes ambientalmente compatíveis e misturas desses itens.

Processos para produção de composições

As composições da presente invenção podem ser formuladas em qualquer forma adequada, e preparadas por meio de qualquer processo escolhido pelo formulador, sendo alguns exemplos não-limitadores das mesmas descritos nos exemplos das requerentes e em U.S. 4.990.280, U.S.

20030087791A1, U.S. 20030087790A1, U.S. 20050003983A1, U.S. 20040048764A1, U.S. 4.762.636, U.S. 6.291.412, U.S. 20050227891A1, EP 1070115A2, U.S. 5.879.584, U.S. 5.691.297, U.S. 5.574.005, U.S. 5.569.645, U.S. 5.565.422, U.S. 5.516.448, U.S. 5.489.392 e U.S. 5.486.303, estando todos esses documentos aqui incorporados, a título de referência.

Método de Uso

A presente invenção inclui um método para limpeza e/ou tratamento de um local entre outros uma superfície ou um tecido. Esse método inclui as etapas de colocar uma modalidade da composição de limpeza das requerentes, em sua forma pura ou diluída em um líquido de lavagem, em contato com pelo menos uma porção de uma superfície ou tecido e então, opcionalmente, enxaguar essa superfície ou esse tecido. Pode-se submeter a superfície ou o tecido a uma etapa de lavagem antes da etapa de enxágüe mencionada acima. Para as finalidades da presente invenção, a lavagem inclui, porém não se limita a, esfregamento e agitação mecânica. Como será apreciado por um elemento versado na técnica, as composições de limpeza da presente invenção são idealmente adequadas para uso em aplicações de lavagem de roupas. Conseqüentemente, a presente invenção inclui um método de lavagem de um tecido. O método inclui as etapas de colocar um tecido a ser lavado em contato com a dita solução de limpeza para lavanderia contendo ao menos uma modalidade das requerentes para composição de limpeza, aditivo de limpeza ou uma mistura desses itens. O tecido pode conter praticamente qualquer tecido que possa ser lavado em condições de uso normais pelo consumidor. A solução tem, de preferência, um pH na faixa de cerca de 8 a cerca de 10,5. As composições podem ser usadas em concentrações de cerca de 500 ppm a cerca de 15.000 ppm em solução. As temperaturas da água situam-se, tipicamente, na faixa de cerca de 5°C a cerca de 90°C. A razão entre a água e o tecido é, tipicamente, de cerca de 1:1 a cerca de 30:1.

Método de teste 1

É fornecido aqui um protocolo para definir se um material corante ou pigmento é um agente de matiz para tecidos, para o propósito da invenção:

- 1) Preencher dois potes de tergotômetro com 800 mL de água da rede pública de Newcastle upon Tyne, Reino Unido (dureza total de ~0,21 g/L (12 grãos por US galão), disponível junto à Northumbrian Water, Pity Me, Durham, Co. Durham, Reino Unido).
- 5 2) Inserir os potes no tergotômetro, com temperatura da água controlada a 30°C e agitação ajustada para 40 rpm por toda a duração do experimento.
- 3) Adicionar a cada pote 4,8 g de detergente IEC-B (IEC 60456 Washing Machine Reference Base Detergent Type B), disponível junto à wfk,
10 Brüggen-Bracht, Alemanha.
- 4) Após dois minutos, adicionar 2,0 mg de ativo colorante ao primeiro pote.
- 5) Após um minuto, adicionar a cada pote 50 g de tecido simples de algodão (disponível junto à Warwick Equest, Consett, County Durham, Reino Unido), recortado em amostras de 5 cm x 5 cm.
15
- 6) Após 10 minutos, drenar os potes e reabastecer com água fria da rede pública de Newcastle upon Tyne (16°C).
- 7) Após 2 minutos de enxágüe, remover os tecidos.
- 8) Repetir as etapas de 3 a 7 durante outros três ciclos, usando
20 os mesmos tratamentos.
- 9) Coletar os tecidos e secá-los em varal, em ambiente interno, durante 12 horas
- 10) Analisar as amostras mediante o uso de um espectrômetro Hunter Miniscan equipado com iluminante D65 e filtro de corte de UVA, para
25 obter os valores Hunter a (eixo vermelho-verde) e Hunter b (eixo amarelo-azul).
- 11) Calcular a média dos valores Hunter a e Hunter b para cada conjunto de tecidos. Se os tecidos tratados com o colorante sob avaliação apresentarem uma diferença média de matiz superior a 0,2 unidades no eixo geométrico a ou no eixo geométrico b, o dito colorante é considerado um
30 agente de matiz para tecidos, para o propósito da invenção.

Exemplos

Exemplos de variantes de lipase

Os produtos químicos usados como tampões e substratos são produtos comercialmente disponíveis pelo menos com grau de reagente.

- 5 - Meios e soluções: LAS (Surfac PS[®]) e Zeolite A (Wessalith P[®]). Outros ingredientes usados são reagentes para laboratório convencionais.

- Materiais: EMPA221, disponível junto à EMPA St. Gallen, Lerchfeldstrasse 5, CH-9014 St. Gallen, Suíça

10 Exemplo 1: Produção de enzima

Um plasmídeo contendo o gene que codifica a lipase é construído e transformado em uma célula hospedeira adequada, mediante o uso de métodos-padrão da técnica.

- 15 A fermentação é realizada sob a forma de fermentação por lote alimentado, mediante o uso de um meio com temperatura constante de 34°C, e um volume inicial de 1,2 litros. O pH inicial do meio é ajustado para 6,5. Uma vez que o pH tenha aumentado para 7,0, esse valor é mantido mediante a adição de H₃PO₄ a 10%. O nível de oxigênio dissolvido no meio é controlado mediante à variação da taxa de agitação, usando-se uma taxa de
- 20 aeração fixa de 1,0 litro de ar por litro de meio, por minuto. A taxa de adição de alimento é mantida a um teor constante durante toda a fase de lote alimentado. O meio do lote continha xarope de maltose como fonte de carbono, uréia e extrato de levedura como fonte de nitrogênio, e uma mistura de oligoelementos metálicos e sais. O alimento adicionado de maneira contínua
- 25 durante a fase de lote alimentado contém xarope de maltose como fonte de carbono, enquanto extrato de levedura e uréia são adicionados para assegurar um suprimento suficiente de nitrogênio.

- 30 A purificação da lipase pode ser feita mediante o uso de métodos-padrão conhecidos na técnica, por exemplo mediante à filtração do sobrenadante da fermentação, e a subsequente cromatografia hidrofóbica e troca de ânions, por exemplo conforme descrito em EP 0 851 913, Exemplo 3.

Exemplo 2: AMSA (Teste de Esforço Mecânico Automatizado) para cálculo do Desempenho Relativo (RP).

As variantes de enzima do presente pedido são testadas mediante o uso de Teste de Esforço Mecânico Automatizado (AMSA). Com o teste AMSA, pode-se examinar o desempenho de lavagem de uma grande quantidade de soluções enzimáticas detergentes em pequenos volumes. A placa de AMSA tem um certo número de fendas para soluções de teste, e uma tampa que comprime firmemente a amostra de produto têxtil a ser lavada contra as aberturas em fenda. Durante o tempo de lavagem, a placa, as soluções de teste, o produto têxtil e a tampa são vigorosamente agitados para colocar a solução de teste em contato com o produto têxtil, e para aplicar esforço mecânico. Para uma descrição mais detalhada, vide WO 02/42740, especialmente o parágrafo "Special method embodiments", nas páginas 23 a 24. Os recipientes, que contêm a solução de teste do detergente, consistem em orifícios cilíndricos (6 mm de diâmetro, 10 mm de profundidade) em uma placa de metal. O tecido manchado (material de teste) fica no topo da placa de metal e é usado como tampa e lacre nos recipientes. Uma outra placa de metal fica no topo do tecido manchado para evitar qualquer derramamento de cada um dos recipientes. As duas placas de metal, juntas com o tecido manchado, são vibradas para cima e para baixo a uma frequência de 30 Hz, com uma amplitude de 2 mm.

O ensaio é conduzido sob as condições experimentais abaixo especificadas:

| | |
|---|--|
| Solução de teste | 0,5 g/L de LAS 0,52 g/L de Na ₂ CO ₃ 1,07 g/L de zeólito A 0,52 g/L de citrato trissódico |
| Volume da solução de teste | 160 micro/l |
| pH | tal como é (≈9,9) |
| Tempo de lavagem | 20 minutos |
| Temperature | 30°C |
| Dureza da água | 15°dH Razão de Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /NaHCO ₃ :4:1:7,5 |
| Concentração de enzimas na solução de teste | 0,125, 0,25, 0,50, 1,0 mg proteína de enzima/litro (mg ep/l) |
| Secagem | Desempenho: após a lavagem, as peças de produto têxtil são imediatamente enxaguadas em água da rede pública e secas em ar a 85°C durante 5 minutos. Odor: após a lavagem, as peças de produto têxtil são imediatamente enxaguadas em água da rede pública e secas à temperatura ambiente (20°C) durante duas horas. |
| Material de teste | Amostra com creme e turmérico, conforme descrito mais adiante neste documento (EMPA221, usada como produto têxtil de algodão) |

Tabela 3

Amostras com creme turmérico são preparadas mediante a mistura de 5 g de turmérico (Santa Maria, Dinamarca) com 100 g de creme (38% de gordura, Arla, Dinamarca) a 50°C, sendo que a mistura é deixada a essa temperatura durante cerca de 20 minutos e filtrada (50°C) para remover quaisquer partículas não-dissolvidas. A mistura é resfriada até

20°C, e amostras de tecido de algodão, EMPA221, são imersas na mistura de creme turmérico, sendo então deixadas secar à temperatura ambiente de um dia para outro e congeladas até o uso. A preparação das amostras de creme turmérico são apresentadas no Pedido de Patente PA 2005 00775, depositado em 27 de maio de 2005.

O desempenho da variante de enzima é medido como o brilho da cor das amostras de produto têxtil lavadas com aquela variante de enzima específica. O brilho pode, também, ser expresso como a intensidade de luz refletida a partir da amostra de produto têxtil quando iluminada com luz branca. Quando o produto têxtil está manchado, a intensidade da luz refletida é mais baixa que aquela de um produto têxtil limpo. Portanto, a intensidade da luz refletida pode ser usada para medir o desempenho de lavagem de uma variante de enzima.

As medições de cor são feitas em uma scanner de base plana de uso profissional (PFU DLpro), a qual é usada para capturar uma imagem das amostras de produto têxtil lavadas. As digitalizações são feitas com uma resolução de 200 dpi e com uma profundidade de cor na saída de 24 bits. Para a obtenção de resultados acurados, a scanner é calibrada frequentemente com um alvo reflexivo Kodak IT8.

Para extrair um valor da intensidade de luz das imagens digitalizadas, é usado um aplicativo de software especialmente projetado (Novozymes Color Vector Analyzer). O programa recupera os valores de pixel em 24 bits da imagem, e os converte em valores para vermelho, verde e azul (RGB, ou Red, Green, Blue). O valor da intensidade (Int) é calculado mediante a adição dos valores RGB como vetores e, então, tomando-se o comprimento do vetor resultante:

$$Int = \sqrt{r^2 + g^2 + b^2}$$

O desempenho de lavagem (P) das variantes é calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$P = \text{Int}(v) - \text{Int}(r) \text{ em que}$$

Int(v) é o valor de intensidade de luz da superfície do produto têxtil lavada com a enzima testada, enquanto Int(r) é o valor de intensidade de luz da superfície do produto têxtil lavada sem a enzima testada.

É dada uma pontuação de desempenho relativo como resultado da lavagem AMSA, de acordo com a definição: as pontuações de Desempenho Relativo (RP) são o somatório dos desempenhos (P) das variantes de enzima testadas contra a enzima de referência: $RP = P(\text{enzima de teste}) / P(\text{enzima de referência})$.

O RPavg indica o desempenho relativo médio em comparação ao da enzima de referência em todas as quatro concentrações de enzimas (0,125, 0,25, 0,5, 1,0 mg ep/l)

$$RP_{\text{avg}} = \text{média}(RP(0,125), RP(0,25), RP(0,5), RP(1,0))$$

Considera-se que a variante exibe desempenho de lavagem otimizado se tiver um desempenho melhor que o da referência. No contexto da presente invenção, a enzima de referência é a lipase da SEQ. ID nº 2, com as substituições T231R + N233R.

Exemplo 3: GC (cromatografia gasosa) para cálculo do fator de risco.

A liberação de ácido butírico a partir das amostras lavadas com lipase é medida por meio de cromatografia a gás por microextração em fase sólida (SPME-GC), utilizando-se o método exposto a seguir. Quatro peças de produto têxtil (com 5 mm de diâmetro), lavadas na solução especificada na Tabela 3, contendo 1 mg/ L de lipase, são transferidas para um frasco de cromatografia gasosa (GC). As amostras são analisadas em um cromatógrafo gasoso Varian 3800 GC equipado com uma coluna de proteção Stabilwax-DA w/Integra (30 m, 0,32 mm ID e 0,25 micro-m df) e uma fibra Carboxen PDMS para MEFS (75 micro-m). Cada amostra é pré-incubada durante 10 min a 40°C, seguido de 20 min de amostragem com a fibra para MEFS no espaço livre sobre as peças de produto têxtil. A amostra é, subsequente-

mente, injetada na coluna (temperatura do injetor = 250°C). Fluxo da coluna = 2 mL de hélio/min. Gradiente de temperatura do forno de coluna: 0 min = 40°C, 2 min = 40°C, 22 min = 240°C, 32 min = 240°C. O ácido butírico é detectado por meio de detecção FID, e a quantidade de ácido butírico é calculada com base em uma curva-padrão para ácido butírico.

O desempenho de risco para odor, R, de uma variante de lipase é a razão entre a quantidade de ácido butírico liberado pela amostra lavada com a variante de lipase e a quantidade de ácido butírico liberado por uma amostra lavada com a lipase da SEQ. ID nº 2 com as substituições T231R + N233R (enzima de referência), depois de ambos os valores terem sido corrigidos para a quantidade de ácido butírico liberado por uma amostra lavada sem lipase. O risco (R) das variantes é calculado de acordo com a fórmula abaixo:

Odor = medido em micro g de ácido butírico desenvolvido a 1 mg de proteína de enzima / l corrigido para a amostra de controle

$$\alpha_{\text{enzima de teste}} = \text{Odor}_{\text{enzima de teste}} - \text{amostra de controle}$$

$$\alpha_{\text{enzima de referência}} = \text{Odor}_{\text{enzima de referência}} - \text{amostra de controle}$$

$$R = \alpha_{\text{enzima de teste}} / \alpha_{\text{enzima de referência}}$$

Considera-se que a variante exibe odor reduzido, em comparação à referência, se o fator R for menor que 1.

Exemplo 4: atividade (LU) em relação à absorbância a 280 nm

A atividade de uma lipase em relação à absorbância a 280 nm é determinada por meio do ensaio LU/A280, apresentado a seguir:

A atividade da lipase é determinada conforme descrito acima na seção "Atividade da lipase". A absorbância da lipase a 280 nm é medida (A280), e a razão LU/A280 é calculada. A LU/A280 relativa é calculada como a LU/A280 da variante dividida pela LU/A280 de uma enzima de referência.

No contexto da presente invenção, a enzima de referência é a lipase da SEQ. ID nº 2, com as substituições T231R + N233R.

Exemplo 5: BR – relação risco/benefício

O fator risco/benefício descrevendo o desempenho em comparação ao risco reduzido para ocorrência de odores é, portanto, definido como: $BR = RP_{avg} / R$

Considera-se que a variante exibe desempenho de lavagem otimizado e odor reduzido, se o fator BR for mais alto que 1.

Mediante à aplicação dos métodos acima descritos, são obtidos os seguintes resultados:

| Variante | Mutações na SEQ. ID nº 2 | Média RP (RPavg) | BR | LU/A280 |
|------------|--|------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | I202G + T231R + N233R | 0,84 | 1,41 | não-determinado |
| 2 | I86V + L227G + T231R + N233R + P256K | 1,08 | 1,52 | 1.700 |
| 3 | Q4V + S58N + V60S + T231R + N233R | 0,87 | 1,73 | 1.950 |
| 4 | S58N + V60S + I90R + T231R + N233R | 1,06 | 1,27 | 2.250 |
| 5 | I255Y + T231R + N233R | 1,19 | 1,17 | 3.600 |
| 6 | I90A + T231R + N233R + I255V | 1,13 | 1,14 | 2.700 |
| Referência | T231R + N233R | 1,00 | 1,00 | 3.650 |
| 7 | G91A + E99K + T231R+N233R + Q249R + 270H + 271T + 272P + 273S + 274S + 275G + 276R + 277G + 278G + 279H + 280R | 0,43 | não-determinado | 850 |
| 8 | G91A + E99K + T231R, N233R + Q249R + 270H + 271T + 272P + 273S + 274S + 275G + 276R + 277G + 278G | 0,13 | não-determinado | 500 |
| | | | | |

Tabela 4

A lipase de referência e as variantes 7 e 8 na Tabela 4 são descritas em WO 2000/060063.

Exemplo 6BR – Relação risco/benefício

- A relação risco/benefício foi medida para as variantes relacionadas na Tabela 5. O fator risco/benefício foi medido da mesma forma descrita no Exemplo 5, e descobriu-se que o mesmo estava acima de 1 para todas as variantes relacionadas.

| Variante | Mutações na SEQ. ID nº 2 |
|------------|--|
| Referência | T231R + N233R |
| 9 | L97V+ T231R+N233R |
| 10 | A150G+T231R+N233R |
| 11 | I90R+T231R+N233R |
| 12 | I202V+T231R+N233R |
| 13 | L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 14 | I90A+ T231R+ N233R |
| 15 | T231R+N233R+ I255P |
| 16 | I90V+I255V+T231R+N233R |
| 17 | F211L+ L227G+ T231R+ N233R+ I255L+ P256K |
| 18 | S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L |
| 19 | S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249I |
| 20 | A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 21 | K46L+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L+ D254I |
| 22 | Q4L+ E43T+ K46I+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L+ D254I |
| 23 | Q4L+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L+ D254I |
| 24 | K46I+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L+ D254L |
| 25 | K46L+ S58N+ V60S+ K223I+ T231R+ N233R+ D254I |
| 26 | E43T+ K46I+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ Q249L+ D254I |
| 27 | S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 28 | K24R+ K46R+ K74R+ I86V+ K98R+ K127R+ D137K+ A150G+ K223R+ T231R+ N233R |
| 29 | S58A+V60A+ I86V+T231R+N233R |
| 30 | K24R+ K46R+ S58N+ V60S+ K74R+ I86V+ K98R+ K127R+ D137K+ K223R+ T231R+ N233R |

| Variante | Mutações na SEQ. ID nº 2 |
|----------|--|
| 31 | S58A+ V60A+ I86V+ A150G+ T231R+ N233R |
| 32 | S58N+ V60V+ D62G+ T231R+ N233R |
| 33 | Q4V+ S58N+ V60S+ I86V+ T231R+ N233R+ Q249L |
| 34 | Q4V+ S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ T231R+ N233R+ I255V |
| 35 | Q4V+ S58N+ V60S+ I90A+ A150G+ T231R+ N233R+ I255V |
| 36 | Y53A+ S58N+ V60S+ T231R+ N233R+ P256L |
| 37 | I202L+ T231R+ N233R+ I255A |
| 38 | S58A+ V60S+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 39 | D27R+ S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 40 | V60K+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 41 | Q4V+ S58A+ V60S+ S83T+ I86V+ A150G+ E210K+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 42 | Q4V+ V60K+ S83T+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 43 | D27R+ V60K+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 44 | Q4N+ L6S+ S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 45 | E1N+ V60K+ I86V+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 46 | V60K+ I86V+ A150G+ K223N+ G225S+ T231R+ N233R+ P256K |
| 47 | E210V+ T231R+ N233R+ Q249R |
| 48 | S58N+ V60S+ E210V+ T231R+ N233R+ Q249R |
| 49 | Q4V+ V60K+ I90R+ T231R+ N233R+ I255V |
| 50 | Q4V+ V60K+ A150G+ T231R+ N233R |
| 51 | V60K+ S83T+ T231R+ N233R |
| 52 | V60K+ A150G+ T231R+ N233R+ I255V |
| 53 | T231R+ N233G+ D234G |
| 54 | S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ E210K+ L227G+ T231R+ N233R+ Q249R+ P256K |
| 55 | S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ E210K+ L227G+ T231R+ N233R+ I255A+ P256K |
| 56 | S58N+ V60S+ I86V+ A150G+ G156R+ E210K+ L227G+ T231R+ N233R+ I255A+ P256K |
| 57 | S58T+ V60K+ I86V+ N94K+ A150G+ E210V+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 58 | S58T+ V60K+ I86V+ D102A+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |

| Variante | Mutações na SEQ. ID nº 2 |
|----------|--|
| 59 | S58T+ V60K+ I86V+ D102A+ A150G+ E210V+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 60 | S58T+ V60K+ S83T+ I86V+ N94K+ A150G+ E210V+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 61 | S58A+ V60S+ I86V+ T143S+ A150G+ L227G+ T231R+ N233R+ P256K |
| 62 | G91S+ D96V+ D254R |
| 63 | V60L+ G91M+ T231W+ Q249L |
| 64 | T37A+ D96A+ T231R+ N233R+ Q249G |
| 65 | E56G+E87D+T231R+N233R+D254A |
| 66 | E210K+T231R+N233R |
| 67 | D27H+E87Q+D96N+T231R+N233R+D254V |
| 68 | F181L+E210V+T231R+N233R |
| 69 | D27N+ D96G+ T231R+ N233R |
| 70 | D96N+ T231R+ N233R |
| 71 | T231R+ N233I+ D234G |
| 72 | S58K+ V60L+ E210V+ Q249R |
| 73 | S58H+ V60L+ E210V+ Q249R |
| 74 | Q4V+ F55V+ I86V+ T231R+ N233R+ I255V |
| 75 | Q4V+ S58T+ V60K+ T199L+ N200A+ E210K+ T231R+ N233R+ I255A+ P256K |
| 76 | Q4V+ D27N+ V60K+ T231R+ N233R |
| 77 | I90F+ I202P+ T231R+ N233R+ I255L |
| 78 | S58N+ V60S+ D158N+ T231R+ N233R |
| 79 | S58N+ V60S+ S115K+ T231R+ N233R |
| 80 | S58N+ V60S+ L147M+ A150G+ F211L+ T231R+ N233R |
| 81 | V60K+ A150G+ T231R+ N233R |
| 82 | I90V+L227G+T231R+N233R+ P256K |
| 83 | T231R+N233R+ I255S |
| 84 | I86G+ T231R+ N233R |
| 85 | V60K+ I202V+ E210K+ T231R+ N233R+ I255A+ P256K |
| 86 | I90G+ I202L+ T231R+ N233R+ I255S |
| 87 | S58G+ V60G+ T231R+ N233R |

Qualquer das composições acima é usada para a lavagem de tecidos a uma concentração na faixa de 600 ppm a 10.000 ppm, em água, com condições médias típicas de 2.500 ppm, 25°C e uma razão água:pano de 25:1.

5 Exemplos de 7 a 10

Composições detergentes granulares para lavagem de roupas, criado para máquinas de lavar automáticas com carregamento frontal.

| | 7 (% em peso) | 8 (% em peso) | 9 (% em peso) | 10 (% em peso) |
|--|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Sulfonato de alquilbenzeno linear | 8 | 7,1 | 7 | 6,5 |
| AE3S | 0 | 4,8 | 0 | 5,2 |
| Sulfato de alquila | 1 | 0 | 1 | 0 |
| AE7 | 2,2 | 0 | 3,2 | 0 |
| Cloreto de dimetil hidróxi etilamônio C ₁₀₋₁₂ | 0,75 | 0,94 | 0,98 | 0,98 |
| Silicato cristalino lamelar (δ -Na ₂ Si ₂ O ₅) | 4,1 | 0 | 4,8 | 0 |
| Zeólito A | 20 | 0 | 17 | 0 |
| Ácido cítrico | 3 | 5 | 3 | 4 |
| Carbonato de sódio | 15 | 20 | 14 | 20 |
| Silicato 2R (SiO ₂ :Na ₂ O a uma razão de 2:1) | 0,08 | 0 | 0,11 | 0 |
| agente de liberação de sujeira | 0,75 | 0,72 | 0,71 | 0,72 |
| Copolímero de ácido acrílico/ácido maléico | 1,1 | 3,7 | 1,0 | 3,7 |
| carbóxi metil celulose | 0,15 | 1,4 | 0,2 | 1,4 |
| Protease (56,00 mg de ativo/g) | 0,37 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Termamyl® (21,55 mg de ativo/g) | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Lipase† (18,00 mg de ativo/g) | 0,05 | 0,15 | 0,1 | 0,5 |
| Natalase® (8,65 mg de ativo/g) | 0,1 | 0,14 | 0,14 | 0,3 |
| TAED | 3,6 | 4,0 | 3,6 | 4,0 |
| Percarbonato | 13 | 13,2 | 13 | 13,2 |
| Sal sódico de ácido etilenodiamino-N,N'-dissuccínico, (S,S) isômero (EDDS) | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Difosfonato de hidróxi etano (HEDP) | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| MgSO ₄ | 0,42 | 0,42 | 0,42 | 0,42 |

| | 7 (% em peso) | 8 (% em peso) | 9 (% em peso) | 10 (% em peso) |
|---|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Perfume | 0,5 | 0,6 | 0,5 | 0,6 |
| Aglomerado de supressor de espuma | 0,05 | 0,1 | 0,05 | 0,1 |
| Sabão | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 |
| sulfato de sódio | 22 | 33 | 24 | 30 |
| Ftalocianina de zinco sulfonada (ativo) | 0,0007 | 0,0012 | 0,0007 | - |
| S-ACMC | 0,01 | 0,01 | - | 0,01 |
| Violeta Direto 9 (ativo) | - | - | 0,0001 | 0,0001 |
| Água e diversos | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% |

Qualquer das composições acima é usada para lavagem de tecidos a uma concentração de 10.000 ppm em água, a uma temperatura de 20 a 90°C e a uma razão água:tecido de 5:1. O pH típico é de cerca de 10.

Exemplos de 11 a 16

5 Composições detergentes líquidas para lavagem de roupas para tarefas pesadas

| | 11 (% em peso) | 12 (% em peso) | 13 (% em peso) | 14 (% em peso) | 15 (% em peso) | 16 (% em peso) |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| AES sulfato de alquila C ₁₂₋₁₅ etoxilado (1,8) | 11 | 10 | 4 | 6,32 | 6,0 | 8,2 |
| Sulfonato de alquilbenzeno linear | 4 | 0 | 8 | 3,3 | 4,0 | 3,0 |
| HSAS | 0 | 5,1 | 3 | 0 | 2 | 0 |
| Formiato de sódio | 1,6 | 0,09 | 1,2 | 0,04 | 1,6 | 1,2 |
| hidróxido de sódio | 2,3 | 3,8 | 1,7 | 1,9 | 2,3 | 1,7 |
| Monoetanolamina | 1,4 | 1,490 | 1,0 | 0,7 | 1,35 | 1,0 |
| Dietileno glicol | 5,5 | 0,0 | 4,1 | 0,0 | 5,500 | 4,1 |
| não-iônico | 0,4 | 0,6 | 0,3 | 0,3 | 2 | 0,3 |
| Quelante | 0,15 | 0,15 | 0,11 | 0,07 | 0,15 | 0,11 |
| Ácido cítrico | 2,5 | 3,96 | 1,88 | 1,98 | 2,5 | 1,88 |
| óxido de dimetilamina C ₁₂₋₁₄ | 0,3 | 0,73 | 0,23 | 0,37 | 0,3 | 0,225 |

| | 11 (%) em peso) | 12 (%) em peso) | 13 (%) em peso) | 14 (%) em pe- so) | 15 (%) em peso) | 16 (%) em pe- so) |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| Ácido graxo C ₁₂₋₁₈ | 0,8 | 1,9 | 0,6 | 0,99 | 0,8 | 0,6 |
| Bórax | 1,43 | 1,5 | 1,1 | 0,75 | 1,43 | 1,07 |
| Etanol | 1,54 | 1,77 | 1,15 | 0,89 | 1,54 | 1,15 |
| Tetraetileno pentaimina etoxilada (EO ₁₅) ¹ | 0,3 | 0,33 | 0,23 | 0,17 | 0,0 | 0,0 |
| Hexametileno diamina etoxilada ² | 0,8 | 0,81 | 0,6 | 0,4 | 0,0 | 0,0 |
| 1,2 Propanodiol | 0,0 | 6,6 | 0,0 | 3,3 | 0,0 | 0,0 |
| Protease* | 36,4 | 36,4 | 27,3 | 18,2 | 36,4 | 27,3 |
| Mannaway® * | 1,1 | 1,1 | 0,8 | 0,6 | 1,1 | 0,8 |
| Natalase®* | 7,3 | 7,3 | 5,5 | 3,7 | 7,3 | 5,5 |
| Lipaset* | 10 | 3,2 | 0,5 | 3,2 | 2,4 | 3,2 |
| Liquitint® Violet CT (ativo) | 0,006 | 0,002 | - | - | - | 0,002 |
| S-ACMC | - | - | 0,01 | 0,05 | 0,01 | 0,02 |
| Água, perfume, corantes e outros componentes | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% | qsp 100% |

Matérias-primas e observações para os exemplos de composição de 1 a 16

Sulfonato de alquilbenzeno linear com uma média de comprimento de cadeia de carbono alifático C₁₁-C₁₂, disponível junto à Stepan, de Northfield, Illinois, USA

- 5 Cloreto de dimetil hidróxi etilamônio C₁₂₋₁₄, disponível junto à Clariant GmbH, Sulzbach, Alemanha

AE3S é sulfato de alquila C₁₂₋₁₅ etoxilado (3), disponível junto à Stepan, Northfield, Illinois, USA

- 10 AE7 é álcool C₁₂₋₁₅ etoxilato, com um grau médio de etoxilação de 7, disponível junto à Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA

Tripolifosfato de sódio, disponível junto à Rhodia, Paris, França

Zeólito A, disponível junto à Industrial Zeolite (Reino Unido) Ltd, Grays, Essex, Reino Unido

- 15 1.6R Silicato, disponível junto à Koma, Nestemica, República Checa

Carbonato de sódio, disponível junto à Solvay, Houston, Texas, USA

Poliacrilato com PM 4.500, disponível junto à BASF, Ludwigshafen, Alemanha

5 A carbóxi metil celulose é Finifix[®] BDA, disponível junto à CP-Kelco, Arnhem, Holanda

Savinase[®], Natalase[®], Termamyl[®] e Mannaway[®], disponíveis junto à Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca

10 Variantes de lipase de 1 a 5, descritas no Exemplo 5, Tabela 4, e combinações das mesmas.

O clareador fluorescente 1 é Tinopal[®] AMS, o clareador fluorescente 2 é Tinopal[®] CBS-X, ftalocianina de zinco sulfonada e Violeta Direto 9 é Pergasol[®] Violet BN-Z, todos disponíveis junto à Ciba Specialty Chemicals de Basel, Suíça

15 Ácido dietileno triamina pentacético, disponível junto à Dow Chemical, Midland, Michigan, USA

Percarbonato de sódio, disponível junto à Solvay, Houston, Texas, USA

20 Perborato de sódio, disponível junto à Degussa, Hanau, Alemanha

NOBS é de nonanoil oxibenzenossulfonato de sódio, disponível junto à Eastman, Batesville, Arkansas, USA

TAED é tetra acetil etileno diamina, disponível sob o nome comercial Peractive[®] junto à Clariant GmbH, Sulzbach, Alemanha

25 S-ACMC é carbóxi metil celulose conjugado with I.C. Azul Reativo 19, disponível comercialmente junto à Megazyme de Wicklow, Irlanda, sob o nome de produto AZO-CM-CELLULOSE, código S-ACMC.

O Azul Ultramarino está disponível junto à Holliday Pigments de Kingston upon Hull, Reino Unido

30 O agente de liberação de sujeira é Repel-o-tex[®] PF, disponível junto à Rhodia, Paris, França

O copolímero de ácido acrílico/ácido maléico tem peso molecu-

lar 70.000 e uma razão acrilato: maleato de 70:30, e está disponível junto à BASF, Ludwigshafen, Alemanha

A protease é FN3, disponível junto à Genencor International, Palo Alto, Califórnia, USA

5 Sal sódico de ácido etilenodiamino-N,N'-dissuccínico, (S,S) isômero (EDDS), disponível junto à Octel, Ellesmere Port, Reino Unido

Difosfonato de hidróxi etano (HEDP), disponível junto à Dow Chemical, Midland, Michigan, USA

10 Aglomerado de supressor de espuma, disponível junto à Dow Corning, Midland, Michigan, USA

HSAS é um sulfato de alquila com ramificação média, conforme apresentado em US 6.020.303 e US 6.060.443

Óxido de dimetilamina C₁₂₋₁₄, disponível junto à Procter & Gamble Chemicals, Cincinnati, Ohio, USA

15 O não-iônico é, de preferência, um etoxilato C₁₂-C₁₃, de preferência com um grau médio de etoxilação de 9.

A protease está disponível junto à Genencor International, Palo Alto, Califórnia, USA

20 Liquitint[®] Violet CT está disponível junto à Milliken, Spartanburg, South Carolina, USA

* Números dados em mg de enzima/100 g

¹ conforme descrito em US 4.597.898.

² disponível sob o nome comercial LUTENSIT[®] junto à BASF, e conforme aqueles descritos em WO 01/05874

25 † Lipase descrita no presente relatório descritivo.

Embora modalidades particulares da presente invenção tenham sido ilustradas e descritas, deve ficar evidente aos versados na técnica que várias outras alterações e modificações podem ser feitas sem que se desvie do espírito e âmbito da invenção. Portanto, pretende-se cobrir nas reivindicações anexas todas essas alterações e modificações que se enquadram no escopo da presente invenção.

30

Listagem de Seqüência

<110> Procter & Gamble Company
 <120> Composições detergentes
 <130> 10281M
 <160> 16
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 807
 <212> DNA
 <213> Thermomyces lanuginosus

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(807)

 <220>
 <221> mat_peptideo
 <222> (1)..()

<400> 1
 gag gtc tcg cag gat ctg ttt aac cag ttc aat ctc ttt gca cag tat 48
 Glu Val Ser Gln Asp Leu Phe Asn Gln Phe Asn Leu Phe Ala Gln Tyr
 1 5 10 15

 tct gca gcc gca tac tgc gga aaa aac aat gat gcc cca gct ggt aca 96
 Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Gly Lys Asn Asp Ala Pro Ala Gly Thr
 20 25 30

 aac att acg tgc acg gga aat gcc tgc ccc gag gta gag aag gcg gat 144
 Asn Ile Thr Cys Thr Gly Asn Ala Cys Pro Glu Val Glu Lys Ala Asp
 35 40 45

 gca acg ttt ctc tac tcg ttt gaa gac tct gga gtg ggc gat gtc acc 192
 Ala Thr Phe Leu Tyr Ser Phe Glu Asp Ser Gly Val Gly Asp Val Thr
 50 55 60

 ggc ttc ctt gct ctc gac aac acg aac aaa ttg atc gtc ctc tct ttc 240
 Gly Phe Leu Ala Leu Asp Asn Thr Asn Lys Leu Ile Val Leu Ser Phe
 65 70 75 80

 cgt ggc tct cgt tcc ata gag aac tgg atc ggg aat ctt aac ttc gac 288
 Arg Gly Ser Arg Ser Ile Glu Asn Trp Ile Gly Asn Leu Asn Phe Asp
 85 90 95

 ttg aaa gaa ata aat gac att tgc tcc ggc tgc agg gga cat gac ggc 336
 Leu Lys Glu Ile Asn Asp Ile Cys Ser Gly Cys Arg Gly His Asp Gly
 100 105 110

 ttc act tcg tcc tgg agg tct gta gcc gat acg tta agg cag aag gtg 384
 Phe Thr Ser Ser Trp Arg Ser Val Ala Asp Thr Leu Arg Gln Lys Val
 115 120 125

 gag gat gct gtg agg gag cat ccc gac tat cgc gtg gtg ttt acc gga 432
 Glu Asp Ala Val Arg Glu His Pro Asp Tyr Arg Val Val Phe Thr Gly
 130 135 140

 cat agc ttg ggt ggt gca ttg gca act gtt gcc gga gca gac ctg cgt 480
 His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Val Ala Gly Ala Asp Leu Arg
 145 150 155 160

 gga aat ggg tat gat atc gac gtg ttt tca tat ggc gcc ccc cga gtc 528

Gly Asn Gly Tyr Asp Ile Asp Val Phe Ser Tyr Gly Ala Pro Arg Val
165 170 175

gga aac agg gct ttt gca gaa ttc ctg acc gta cag acc ggc gga aca 576
Gly Asn Arg Ala Phe Ala Glu Phe Leu Thr Val Gln Thr Gly Gly Thr
180 185 190

ctc tac cgc att acc cac acc aat gat att gtc cct aga ctc ccg ccg 624
Leu Tyr Arg Ile Thr His Thr Asn Asp Ile Val Pro Arg Leu Pro Pro
195 200 205

cgc gaa ttc ggt tac agc cat tct agc cca gag tac tgg atc aaa tct 672
Arg Glu Phe Gly Tyr Ser His Ser Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Lys Ser
210 215 220

gga acc ctt gtc ccc gtc acc cga aac gat atc gtg aag ata gaa ggc 720
Gly Thr Leu Val Pro Val Thr Arg Asn Asp Ile Val Lys Ile Glu Gly
225 230 240

atc gat gcc acc ggc ggc aat aac cag cct aac att ccg gat atc cct 768
Ile Asp Ala Thr Gly Gly Asn Asn Gln Pro Asn Ile Pro Asp Ile Pro
245 250 255

gcg cac cta tgg tac ttc ggg tta att ggg aca tgt ctt 807
Ala His Leu Trp Tyr Phe Gly Leu Ile Gly Thr Cys Leu
260 265

<210> 2
<211> 269
<212> PRT
<213> Thermomyces lanuginosus

<400> 2

Glu Val Ser Gln Asp Leu Phe Asn Gln Phe Asn Leu Phe Ala Gln Tyr
1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Gly Lys Asn Asn Asp Ala Pro Ala Gly Thr
20 25 30

Asn Ile Thr Cys Thr Gly Asn Ala Cys Pro Glu Val Glu Lys Ala Asp
35 40 45

Ala Thr Phe Leu Tyr Ser Phe Glu Asp Ser Gly Val Gly Asp Val Thr
50 55 60

Gly Phe Leu Ala Leu Asp Asn Thr Asn Lys Leu Ile Val Leu Ser Phe
65 70 75 80

Arg Gly Ser Arg Ser Ile Glu Asn Trp Ile Gly Asn Leu Asn Phe Asp
85 90 95

Leu Lys Glu Ile Asn Asp Ile Cys Ser Gly Cys Arg Gly His Asp Gly
100 105 110

Phe Thr Ser Ser Trp Arg Ser Val Ala Asp Thr Leu Arg Gln Lys Val
115 120 125

Glu Asp Ala Val Arg Glu His Pro Asp Tyr Arg Val Val Phe Thr Gly
130 135 140

His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Val Ala Gly Ala Asp Leu Arg
145 150 155 160

Gly Asn Gly Tyr Asp Ile Asp Val Phe Ser Tyr Gly Ala Pro Arg Val
165 170 175

Gly Asn Arg Ala Phe Ala Glu Phe Leu Thr Val Gln Thr Gly Gly Thr
180 185 190

Leu Tyr Arg Ile Thr His Thr Asn Asp Ile Val Pro Arg Leu Pro Pro
195 200 205

Arg Glu Phe Gly Tyr Ser His Ser Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Lys Ser
210 215 220

Gly Thr Leu Val Pro Val Thr Arg Asn Asp Ile Val Lys Ile Glu Gly
225 230 235 240

Ile Asp Ala Thr Gly Gly Asn Asn Gln Pro Asn Ile Pro Asp Ile Pro
245 250 255

Ala His Leu Trp Tyr Phe Gly Leu Ile Gly Thr Cys Leu
260 265

<210> 3
<211> 265
<212> PRT
<213> Absidia reflexa

<400> 3

Ser Ser Ser Ser Thr Gln Asp Tyr Arg Ile Ala Ser Glu Ala Glu Ile
1 5 10 15

Lys Ala His Thr Phe Tyr Thr Ala Leu Ser Ala Asn Ala Tyr Cys Arg
20 25 30

Thr Val Ile Pro Gly Gly Arg Trp Ser Cys Pro His Cys Gly Val Ala
35 40 45

Ser Asn Leu Gln Ile Thr Lys Thr Phe Ser Thr Leu Ile Thr Asp Thr
50 55 60

Asn Val Leu Val Ala Val Gly Glu Lys Glu Lys Thr Ile Tyr Val Val
65 70 75 80

Phe Arg Gly Thr Ser Ser Ile Arg Asn Ala Ile Ala Asp Ile Val Phe
85 90 95

Val Pro Val Asn Tyr Pro Pro Val Asn Gly Ala Lys Val His Lys Gly
100 105 110

Phe Leu Asp Ser Tyr Asn Glu Val Gln Asp Lys Leu Val Ala Glu Val
 115 120 125

Lys Ala Gln Leu Asp Arg His Pro Gly Tyr Lys Ile Val Val Thr Gly
 130 135 140

His Ser Leu Gly Gly Ala Thr Ala Val Leu Ser Ala Leu Asp Leu Tyr
 145 150 155 160

His His Gly His Ala Asn Ile Glu Ile Tyr Thr Gln Gly Gln Pro Arg
 165 170 175

Ile Gly Thr Pro Ala Phe Ala Asn Tyr Val Ile Gly Thr Lys Ile Pro
 180 185 190

Tyr Gln Arg Leu Val His Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu Pro Pro
 195 200 205

Gly Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Phe Trp Ile Met Lys
 210 215 220

Asp Ser Ser Leu Arg Val Cys Pro Asn Gly Ile Glu Thr Asp Asn Cys
 225 230 235 240

Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Ile Asp His Leu Ser Tyr
 245 250 255

Leu Asp Met Asn Thr Gly Leu Cys Leu
 260 265

<210> 4
 <211> 264
 <212> PRT
 <213> Absidia corymbifera

<400> 4

Ser Ser Ser Thr Gln Asp Tyr Arg Ile Ala Ser Glu Ala Glu Ile Lys
 1 5 10 15

Ala His Thr Phe Tyr Thr Ala Leu Ser Ala Asn Ala Tyr Cys Arg Thr
 20 25 30

Val Ile Pro Gly Gly Gln Trp Ser Cys Pro His Cys Asp Val Ala Pro
 35 40 45

Asn Leu Asn Ile Thr Lys Thr Phe Thr Thr Leu Ile Thr Asp Thr Asn
 50 55 60

Val Leu Val Ala Val Gly Glu Asn Glu Lys Thr Ile Tyr Val Val Phe
 65 70 75 80

Arg Gly Thr Ser Ser Ile Arg Asn Ala Ile Ala Asp Ile Val Phe Val
85 90 95

Pro Val Asn Tyr Pro Pro Val Asn Gly Ala Lys Val His Lys Gly Phe
100 105 110

Leu Asp Ser Tyr Asn Glu Val Gln Asp Lys Leu Val Ala Glu Val Lys
115 120 125

Ala Gln Leu Asp Arg His Pro Gly Tyr Lys Ile Val Val Thr Gly His
130 135 140

Ser Leu Gly Gly Ala Thr Ala Val Leu Ser Ala Leu Asp Leu Tyr His
145 150 155 160

His Gly His Asp Asn Ile Glu Ile Tyr Thr Gln Gly Gln Pro Arg Ile
165 170 175

Gly Thr Pro Glu Phe Ala Asn Tyr Val Ile Gly Thr Lys Ile Pro Tyr
180 185 190

Gln Arg Leu Val Asn Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu Pro Pro Gly
195 200 205

Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Phe Trp Ile Met Lys Asp
210 215 220

Ser Ser Leu Arg Val Cys Pro Asn Gly Ile Glu Thr Asp Asn Cys Ser
225 230 235 240

Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Ile Asp His Leu Ser Tyr Leu
245 250 255

Asp Met Asn Thr Gly Leu Cys Leu
260

<210> 5
<211> 269
<212> PRT
<213> Rhizomucor miehei

<400> 5

Ser Ile Asp Gly Gly Ile Arg Ala Ala Thr Ser Gln Glu Ile Asn Glu
1 5 10 15

Leu Thr Tyr Tyr Thr Thr Leu Ser Ala Asn Ser Tyr Cys Arg Thr Val
20 25 30

Ile Pro Gly Ala Thr Trp Asp Cys Ile His Cys Asp Ala Thr Glu Asp
35 40 45

Leu Lys Ile Ile Lys Thr Trp Ser Thr Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Ala
50 55 60

Met Val Ala Arg Gly Asp Ser Glu Lys Thr Ile Tyr Ile Val Phe Arg
65 70 75 80

Gly Ser Ser Ser Ile Arg Asn Trp Ile Ala Asp Leu Thr Phe Val Pro
85 90 95

Val Ser Tyr Pro Pro Val Ser Gly Thr Lys Val His Lys Gly Phe Leu
100 105 110

Asp Ser Tyr Gly Glu Val Gln Asn Glu Leu Val Ala Thr Val Leu Asp
115 120 125

Gln Phe Lys Gln Tyr Pro Ser Tyr Lys Val Ala Val Thr Gly His Ser
130 135 140

Leu Gly Gly Ala Thr Ala Leu Leu Cys Ala Leu Asp Leu Tyr Gln Arg
145 150 155 160

Glu Glu Gly Leu Ser Ser Ser Asn Leu Phe Leu Tyr Thr Gln Gly Gln
165 170 175

Pro Arg Val Gly Asp Pro Ala Phe Ala Asn Tyr Val Val Ser Thr Gly
180 185 190

Ile Pro Tyr Arg Arg Thr Val Asn Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu
195 200 205

Pro Pro Ala Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Tyr Trp Ile
210 215 220

Thr Asp Asn Ser Pro Glu Thr Val Gln Val Cys Thr Ser Asp Leu Glu
225 230 235 240

Thr Ser Asp Cys Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Leu Asp
245 250 255

His Leu Ser Tyr Phe Gly Ile Asn Thr Gly Leu Cys Thr
260 265

<210> 6
<211> 271
<212> PRT
<213> Rhizopus oryzae

<400> 6

Ser Ala Ser Asp Gly Gly Lys Val Val Ala Ala Thr Thr Ala Gln Ile
1 5 10 15

Gln Glu Phe Thr Lys Tyr Ala Gly Ile Ala Ala Thr Ala Tyr Cys Arg

20

25

30

Ser Val Val Pro Gly Asn Lys Trp Asp Cys Val Gln Cys Gln Lys Trp
 35 40 45
 Val Pro Asp Gly Lys Ile Ile Thr Thr Phe Thr Ser Leu Leu Ser Asp
 50 55 60
 Thr Asn Gly Tyr Val Leu Arg Ser Asp Lys Gln Lys Thr Ile Tyr Leu
 65 70 75 80
 Val Phe Arg Gly Thr Asn Ser Phe Arg Ser Ala Ile Thr Asp Ile Val
 85 90
 Phe Asn Phe Ser Asp Tyr Lys Pro Val Lys Gly Ala Lys Val His Ala
 100 105 110
 Gly Phe Leu Ser Ser Tyr Glu Gln Val Val Asn Asp Tyr Phe Pro Val
 115 120 125
 Val Gln Glu Gln Leu Thr Ala His Pro Thr Tyr Lys Val Ile Val Thr
 130 135 140
 Gly His Ser Leu Gly Gly Ala Gln Ala Leu Leu Ala Gly Met Asp Leu
 145 150 155 160
 Tyr Gln Arg Glu Pro Arg Leu Ser Pro Lys Asn Leu Ser Ile Phe Thr
 165 170 175
 Val Gly Gly Pro Arg Val Gly Asn Pro Thr Phe Ala Tyr Tyr Val Glu
 180 185 190
 Ser Thr Gly Ile Pro Phe Gln Arg Thr Val His Lys Arg Asp Ile Val
 195 200 205
 Pro His Val Pro Pro Gln Ser Phe Gly Phe Leu His Pro Gly Val Glu
 210 215 220
 Ser Trp Ile Lys Ser Gly Thr Ser Asn Val Gln Ile Cys Thr Ser Glu
 225 230 235 240
 Ile Glu Thr Lys Asp Cys Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Ile
 245 250 255
 Leu Asp His Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Asn Glu Gly Ser Cys Leu
 260 265 270

<210> 7
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus niger*

<400> 7

Thr Ala Gly His Ala Leu Ala Ala Ser Thr Gln Gly Ile Ser Glu Asp
1 5 10 15

Leu Tyr Ser Arg Leu Val Glu Met Ala Thr Ile Ser Gln Ala Ala Tyr
20 25 30

Ala Asp Leu Cys Asn Ile Pro Ser Thr Ile Ile Lys Gly Glu Lys Ile
35 40 45

Tyr Asn Ser Gln Thr Asp Ile Asn Gly Trp Ile Leu Arg Asp Asp Ser
50 55 60

Ser Lys Glu Ile Ile Thr Val Phe Arg Gly Thr Gly Ser Asp Thr Asn
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asp Thr Asn Tyr Thr Leu Thr Pro Phe Asp Thr Leu Pro
85 90 95

Gln Cys Asn Gly Cys Glu Val His Gly Gly Tyr Tyr Ile Gly Trp Val
100 105 110

Ser Val Gln Asp Gln Val Glu Ser Leu Val Lys Gln Gln Val Ser Gln
115 120 125

Tyr Pro Asp Tyr Ala Leu Thr Val Thr Gly His Ser Leu Gly Ala Ser
130 135 140

Leu Ala Ala Leu Thr Ala Ala Gln Leu Ser Ala Thr Tyr Asp Asn Ile
145 150 155 160

Arg Leu Tyr Thr Phe Gly Glu Pro Arg Ser Gly Asn Gln Ala Phe Ala
165 170 175

Ser Tyr Met Asn Asp Ala Phe Gln Ala Ser Ser Pro Asp Thr Thr Gln
180 185 190

Tyr Phe Arg Val Thr His Ala Asn Asp Gly Ile Pro Asn Leu Pro Pro
195 200 205

Val Glu Gln Gly Tyr Ala His Gly Gly Val Glu Tyr Trp Ser Val Asp
210 215 220

Pro Tyr Ser Ala Gln Asn Thr Phe Val Cys Thr Gly Asp Glu Val Gln
225 230 235 240

Cys Cys Glu Ala Gln Gly Gly Gln Gly Val Asn Asn Ala His Thr Thr
245 250 255

Tyr Phe Gly Met Thr Ser Gly Ala Cys Thr Trp
260 265

<210> 8
 <211> 266
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus tubingensis*

<400> 8

Thr Ala Gly His Ala Leu Ala Ala Ser Thr Gln Gly Ile Ser Glu Asp
 1 5 10 15

Leu Tyr Ser Arg Leu Val Glu Met Ala Thr Ile Ser Gln Ala Ala Tyr
 20 25 30

Ala Asp Leu Cys Asn Ile Pro Ser Thr Ile Ile Lys Gly Glu Lys Ile
 35 40 45

Tyr Asn Ser Gln Thr Asp Ile Asn Gly Trp Ile Leu Arg Asp Asp Ser
 50 55 60

Ser Lys Glu Ile Ile Thr Val Phe Arg Gly Thr Gly Ser Asp Thr Asn
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Asp Thr Asn Tyr Thr Leu Thr Pro Phe Asp Thr Leu Pro
 85 90 95

Gln Cys Asn Ser Cys Glu Val His Gly Gly Tyr Tyr Ile Gly Trp Ile
 100 105 110

Ser Val Gln Asp Gln Val Glu Ser Leu Val Gln Gln Gln Val Ser Gln
 115 120 125

Phe Pro Asp Tyr Ala Leu Thr Val Thr Gly His Ser Leu Gly Ala Ser
 130 135 140

Leu Ala Ala Leu Thr Ala Ala Gln Leu Ser Ala Thr Tyr Asp Asn Ile
 145 150 155 160

Arg Leu Tyr Thr Phe Gly Glu Pro Arg Ser Asn Gln Ala Phe Ala Ser
 165 170 175

Tyr Met Asn Asp Ala Phe Gln Ala Ser Ser Pro Asp Thr Thr Gln Tyr
 180 185 190

Phe Arg Val Thr His Ala Asn Asp Gly Ile Pro Asn Leu Pro Pro Ala
 195 200 205

Asp Glu Gly Tyr Ala His Gly Val Val Glu Tyr Trp Ser Val Asp Pro
 210 215 220

Tyr Ser Ala Gln Asn Thr Phe Val Cys Thr Gly Asp Glu Val Gln Cys
 225 230 235 240

Cys Glu Ala Gln Gly Gly Gln Gly Val Asn Asn Ala His Thr Thr Tyr
 245 250 255

Phe Gly Met Thr Ser Gly His Cys Thr Trp
 260 265

<210> 9
 <211> 276
 <212> PRT
 <213> Fusarium oxysporum

<400> 9

Ala Val Gly Val Thr Thr Thr Asp Phe Ser Asn Phe Lys Phe Tyr Ile
 1 5 10 15

Gln His Gly Ala Ala Ala Tyr Cys Asn Ser Glu Ala Ala Ala Gly Ser
 20 25 30

Lys Ile Thr Cys Ser Asn Asn Gly Cys Pro Thr Val Gln Gly Asn Gly
 35 40 45

Ala Thr Ile Val Thr Ser Phe Val Gly Ser Lys Thr Gly Ile Gly Gly
 50 55 60

Tyr Val Ala Thr Asp Ser Ala Arg Lys Glu Ile Val Val Ser Phe Arg
 65 70 75 80

Gly Ser Ile Asn Ile Arg Asn Trp Leu Thr Asn Leu Asp Phe Gly Gln
 85 90 95

Glu Asp Cys Ser Leu Val Ser Gly Cys Gly Val His Ser Gly Phe Gln
 100 105 110

Arg Ala Trp Asn Glu Ile Ser Ser Gln Ala Thr Ala Ala Val Ala Ser
 115 120 125

Ala Arg Lys Ala Asn Pro Ser Phe Asn Val Ile Ser Thr Gly His Ser
 130 135 140

Leu Gly Gly Ala Val Ala Val Leu Ala Ala Ala Asn Leu Arg Val Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Pro Val Asp Ile Tyr Thr Tyr Gly Ser Pro Arg Val Gly Asn
 165 170 175

Ala Gln Leu Ser Ala Phe Val Ser Asn Gln Ala Gly Gly Glu Tyr Arg
 180 185 190

Val Thr His Ala Asp Asp Pro Val Pro Arg Leu Pro Pro Leu Ile Phe
 195 200 205

Gly Tyr Arg His Thr Thr Pro Glu Phe Trp Leu Ser Gly Gly Gly Gly
 210 215 220

Asp Lys Val Asp Tyr Thr Ile Ser Asp Val Lys Val Cys Glu Gly Ala
 225 230 235 240

Ala Asn Leu Gly Cys Asn Gly Gly Thr Leu Gly Leu Asp Ile Ala Ala
 245 250 255

His Leu His Tyr Phe Gln Ala Thr Asp Ala Cys Asn Ala Gly Gly Phe
 260 265 270

Ser Trp Arg Arg
 275

<210> 10
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Fusarium heterosporum

<400> 10

Thr Val Thr Thr Gln Asp Leu Ser Asn Phe Arg Phe Tyr Leu Gln His
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Ala Tyr Cys Asn Phe Asn Thr Ala Val Gly Lys Pro Val
 20 25 30

His Cys Ser Ala Gly Asn Cys Pro Asp Ile Glu Lys Asp Ala Ala Ile
 35 40 45

Val Val Gly Ser Val Val Gly Thr Lys Thr Gly Ile Gly Ala Tyr Val
 50 55 60

Ala Thr Asp Asn Ala Arg Lys Glu Ile Val Val Ser Val Arg Gly Ser
 65 70 75 80

Ile Asn Val Arg Asn Trp Ile Thr Asn Phe Asn Phe Gly Gln Lys Thr
 85 90 95

Cys Asp Leu Val Ala Gly Cys Gly Val His Thr Gly Phe Leu Asp Ala
 100 105 110

Trp Glu Glu Val Ala Ala Asn Val Lys Ala Ala Val Ser Ala Ala Lys
 115 120 125

Thr Ala Asn Pro Thr Phe Lys Phe Val Val Thr Gly His Ser Leu Gly
 130 135 140

Gly Ala Val Ala Thr Ile Ala Ala Ala Tyr Leu Arg Lys Asp Gly Phe
 145 150 155 160

Pro Phe Asp Leu Tyr Thr Tyr Gly Ser Pro Arg Val Gly Asn Asp Phe

165

170

175

Phe Ala Asn Phe Val Thr Gln Gln Thr Gly Ala Glu Tyr Arg Val Thr
 180 185 190
 His Gly Asp Asp Pro Val Pro Arg Leu Pro Pro Ile Val Phe Gly Tyr
 195 200 205
 Arg His Thr Ser Pro Glu Tyr Trp Leu Asn Gly Gly Pro Leu Asp Lys
 210 215 220
 Asp Tyr Thr Val Thr Glu Ile Lys Val Cys Glu Gly Ile Ala Asn Val
 225 230 235 240
 Met Cys Asn Gly Gly Thr Ile Gly Leu Asp Ile Leu Ala His Ile Thr
 245 250 255
 Tyr Phe Gln Ser Met Ala Thr Cys Ala Pro Ile Ala Ile Pro Trp Lys
 260 265 270

Arg

<210> 11
 <211> 278
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus oryzae*

<400> 11

Asp Ile Pro Thr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Lys Phe Trp Val Gln Tyr
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Thr Tyr Cys Pro Asn Asn Tyr Val Ala Lys Asp Gly Glu
 20 25 30
 Lys Leu Asn Cys Ser Val Gly Asn Cys Pro Asp Val Glu Ala Ala Gly
 35 40 45
 Ser Thr Val Lys Leu Ser Phe Ser Asp Asp Thr Ile Thr Asp Thr Ala
 50 55 60
 Gly Phe Val Ala Val Asp Asn Thr Asn Lys Ala Ile Val Val Ala Phe
 65 70 75 80
 Arg Gly Ser Tyr Ser Ile Arg Asn Trp Val Thr Asp Ala Thr Phe Pro
 85 90 95
 Gln Thr Asp Pro Gly Leu Cys Asp Gly Cys Lys Ala Glu Leu Gly Phe
 100 105 110
 Trp Thr Ala Trp Lys Val Val Arg Asp Arg Ile Ile Lys Thr Leu Asp
 115 120 125

Glu Leu Lys Pro Glu His Ser Asp Tyr Lys Ile Val Val Val Gly His
 130 135 140
 Ser Leu Gly Ala Ala Ile Ala Ser Leu Ala Ala Ala Asp Leu Arg Thr
 145 150 155
 Lys Asn Tyr Asp Ala Ile Leu Tyr Ala Tyr Ala Ala Pro Arg Val Ala
 165 170 175
 Asn Lys Pro Leu Ala Glu Phe Ile Thr Asn Gln Gly Asn Asn Tyr Arg
 180 185 190
 Phe Thr His Asn Asp Asp Pro Val Pro Lys Leu Pro Leu Leu Thr Met
 195 200 205
 Gly Tyr Val His Ile Ser Pro Glu Tyr Tyr Ile Thr Ala Pro Asp Asn
 210 215 220
 Thr Thr Val Thr Asp Asn Gln Val Thr Val Leu Asp Gly Tyr Val Asn
 225 230 235 240
 Phe Lys Gly Asn Thr Gly Thr Ser Gly Gly Leu Pro Asp Leu Leu Ala
 245 250 255
 Phe His Ser His Val Trp Tyr Phe Ile His Ala Asp Ala Cys Lys Gly
 260 265 270
 Pro Gly Leu Pro Leu Arg
 275

<210> 12
 <211> 278
 <212> PRT
 <213> Penicillium camemberti

<400> 12

Asp Val Ser Thr Ser Glu Leu Asp Gln Phe Glu Phe Trp Val Gln Tyr
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Ser Tyr Tyr Glu Ala Asp Tyr Thr Ala Gln Val Gly Asp
 20 25 30
 Lys Leu Ser Cys Ser Lys Gly Asn Cys Pro Glu Val Glu Ala Thr Gly
 35 40 45
 Ala Thr Val Ser Tyr Asp Phe Ser Asp Ser Thr Ile Thr Asp Thr Ala
 50 55 60
 Gly Tyr Ile Ala Val Asp His Thr Asn Ser Ala Val Val Leu Ala Phe
 65 70 75 80

Arg Gly Ser Tyr Ser Val Arg Asn Trp Val Ala Asp Ala Thr Phe Val
85 90 95

His Thr Asn Pro Gly Leu Cys Asp Gly Cys Leu Ala Glu Leu Gly Phe
100 105 110

Trp Ser Ser Trp Lys Leu Val Arg Asp Asp Ile Ile Lys Glu Leu Lys
115 120 125

Glu Val Val Ala Gln Asn Pro Asn Tyr Glu Leu Val Val Val Gly His
130 135 140

Ser Leu Gly Ala Ala Val Ala Thr Leu Ala Ala Thr Asp Leu Arg Gly
145 150 155 160

Lys Gly Tyr Pro Ser Ala Lys Leu Tyr Ala Tyr Ala Ser Pro Arg Val
165 170 175

Gly Asn Ala Ala Leu Ala Lys Tyr Ile Thr Ala Gln Gly Asn Asn Phe
180 185 190

Arg Phe Thr His Thr Asn Asp Pro Val Pro Lys Leu Pro Leu Leu Ser
195 200 205

Met Gly Tyr Val His Val Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Thr Ser Pro Asn
210 215 220

Asn Ala Thr Val Ser Thr Ser Asp Ile Lys Val Ile Asp Gly Asp Val
225 230 235 240

ser Phe Asp Gly Asn Thr Gly Thr Gly Leu Pro Leu Leu Thr Asp Phe
245 250 255

Glu Ala His Ile Trp Tyr Phe Val Gln Val Asp Ala Gly Lys Gly Pro
260 265 270

Gly Leu Pro Phe Lys Arg
275

<210> 13
<211> 270
<212> PRT
<213> *Aspergillus foetidus*

<400> 13

Ser Val Ser Thr Ser Thr Leu Asp Glu Leu Gln Leu Phe Ala Gln Trp
1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Ser Asn Asn Ile Asp Ser Lys Asp Ser Asn
20 25 30

Leu Thr Cys Thr Ala Asn Ala Cys Pro Ser Val Glu Glu Ala Ser Thr
 35 40 45
 Thr Met Leu Leu Glu Phe Asp Leu Thr Asn Asp Phe Gly Gly Thr Ala
 50 55 60
 Gly Phe Leu Ala Ala Asp Asn Thr Asn Lys Arg Leu Val Val Ala Phe
 65 70 75 80
 Arg Gly Ser Ser Thr Ile Glu Asn Trp Ile Ala Asn Leu Asp Phe Ile
 85 90 95
 Leu Glu Asp Asn Asp Asp Leu Cys Thr Gly Cys Lys Val His Thr Gly
 100 105 110
 Phe Trp Lys Ala Trp Glu Ser Ala Ala Asp Glu Leu Thr Ser Lys Ile
 115 120 125
 Lys Ser Ala Met Ser Thr Tyr Ser Gly Tyr Thr Leu Tyr Phe Thr Gly
 130 135 140
 His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Leu Gly Ala Thr Val Leu Arg
 145 150 155 160
 Asn Asp Gly Tyr Ser Val Glu Leu Tyr Thr Tyr Gly Cys Pro Arg Ile
 165 170 175
 Gly Asn Tyr Ala Leu Ala Glu His Ile Thr Ser Gln Gly Ser Gly Ala
 180 185 190
 Asn Phe Arg Val Thr His Leu Asn Asp Ile Val Pro Arg Val Pro Pro
 195 200 205
 Met Asp Phe Gly Phe Ser Gln Pro Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Thr Ser
 210 215 220
 Gly Asn Gly Ala Ser Val Thr Ala Ser Asp Ile Glu Val Ile Glu Gly
 225 230 235 240
 Ile Asn Ser Thr Ala Gly Asn Ala Gly Glu Ala Thr Val Ser Val Leu
 245 250 255
 Ala His Leu Trp Tyr Phe Phe Ala Ile Ser Glu Cys Leu Leu
 260 265 270

<210> 14
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Aspergillus niger

<400> 14

Ser Val Ser Thr Ser Thr Leu Asp Glu Leu Gln Leu Phe Ser Gln Trp

1

5

10

15

Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Ser Asn Asn Ile Asp Ser Asp Asp Ser Asn
 20 25 30
 Val Thr Cys Thr Ala Asp Ala Cys Pro Ser Val Glu Glu Ala Ser Thr
 35 40 45
 Lys Met Leu Leu Glu Phe Asp Leu Thr Asn Asn Phe Gly Gly Thr Ala
 50 55 60
 Gly Phe Leu Ala Ala Asp Asn Thr Asn Lys Arg Leu Val Val Ala Phe
 65 70 75 80
 Arg Gly Ser Ser Thr Ile Lys Asn Trp Ile Ala Asp Leu Asp Phe Ile
 85 90 95
 Leu Gln Asp Asn Asp Asp Leu Cys Thr Gly Cys Lys Val His Thr Gly
 100 105 110
 Phe Trp Lys Ala Trp Glu Ala Ala Ala Asp Asn Leu Thr Ser Lys Ile
 115 120 125
 Lys Ser Ala Met Ser Thr Tyr Ser Gly Tyr Thr Leu Tyr Phe Thr Gly
 130 135 140
 His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Leu Gly Ala Thr Val Leu Arg
 145 150 155 160
 Asn Asp Gly Tyr Ser Val Glu Leu Tyr Thr Tyr Gly Cys Pro Arg Val
 165 170 175
 Gly Asn Tyr Ala Leu Ala Glu His Ile Thr Ser Gln Gly Ser Gly Ala
 180 185 190
 Asn Phe Pro Val Thr His Leu Asn Asp Ile Val Pro Arg Val Pro Pro
 195 200 205
 Met Asp Phe Gly Phe Ser Gln Pro Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Thr Ser
 210 215 220
 Gly Thr Gly Ala Ser Val Thr Ala Ser Asp Ile Glu Leu Ile Glu Gly
 225 230 235 240
 Ile Asn Ser Thr Ala Gly Asn Ala Gly Glu Ala Thr Val Asp Val Leu
 245 250 255
 Ala His Leu Trp Tyr Phe Phe Ala Ile Ser Glu Cys Leu Leu
 260 265 270

<210> 15

<211> 269
 <212> PRT
 <213> Aspergillus oryzae

<400> 15

Asp Val Ser Ser Ser Leu Leu Asn Asn Leu Asp Leu Phe Ala Gln Tyr
 1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Asp Glu Asn Leu Asn Ser Thr Gly Thr Lys
 20 25 30

Leu Thr Cys Ser Val Gly Asn Cys Pro Leu Val Glu Ala Ala Ser Thr
 35 40 45

Gln Ser Leu Asp Glu Phe Asn Glu Ser Ser Ser Tyr Gly Asn Pro Ala
 50 55 60

Gly Tyr Leu Ala Ala Asp Glu Thr Asn Lys Leu Leu Val Leu Ser Phe
 65 70 75 80

Arg Gly Ser Ala Asp Leu Ala Asn Trp Val Ala Asn Leu Asn Phe Gly
 85 90 95

Leu Glu Asp Ala Ser Asp Leu Cys Ser Gly Cys Glu Val His Ser Gly
 100 105 110

Phe Trp Lys Ala Trp Ser Glu Ile Ala Asp Thr Ile Thr Ser Lys Val
 115 120 125

Glu Ser Ala Leu Ser Asp His Ser Asp Tyr Ser Leu Val Leu Thr Gly
 130 135 140

His Ser Tyr Gly Ala Ala Leu Ala Ala Leu Ala Ala Thr Ala Leu Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Gly His Ser Val Glu Leu Tyr Asn Tyr Gly Gln Pro Arg Leu
 165 170 175

Gly Asn Glu Ala Leu Ala Thr Tyr Ile Thr Asp Gln Asn Lys Gly Gly
 180 185 190

Asn Tyr Arg Val Thr His Thr Asn Asp Ile Val Pro Lys Leu Pro Pro
 195 200 205

Thr Leu Leu Gly Tyr His His Phe Ser Pro Glu Tyr Tyr Ile Ser Ser
 210 215 220

Ala Asp Glu Ala Thr Val Thr Thr Thr Asp Val Thr Glu Val Thr Gly
 225 230 235 240

Ile Asp Ala Thr Gly Gly Asn Asp Gly Thr Asp Gly Thr Ser Ile Asp
 245 250 255

Ala His Arg Trp Tyr Phe Ile Tyr Ile Ser Glu Cys Ser
 260 265

<210> 16
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Landerina penisapora

<400> 16

Pro Gln Asp Ala Tyr Thr Ala Ser His Ala Asp Leu Val Lys Tyr Ala
 1 5 10 15

Thr Tyr Ala Gly Leu Ala Tyr Gln Thr Thr Asp Ala Trp Pro Ala Ser
 20 25 30

Arg Thr Val Pro Lys Asp Thr Thr Leu Ile Ser Ser Phe Asp His Thr
 35 40 45

Leu Lys Gly Ser Ser Gly Tyr Ile Ala Phe Asn Glu Pro Cys Lys Glu
 50 55 60

Ile Ile Val Ala Tyr Arg Gly Thr Asp Ser Leu Ile Asp Trp Leu Thr
 65 70 75 80

Asn Leu Asn Phe Asp Lys Thr Ala Trp Pro Ala Asn Ile Ser Asn Ser
 85 90 95

Leu Val His Glu Gly Phe Leu Asn Ala Tyr Leu Val Ser Met Gln Gln
 100 105 110

Val Gln Glu Ala Val Asp Ser Leu Leu Ala Lys Cys Pro Asp Ala Thr
 115 120 125

Ile Ser Phe Thr Gly His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Cys Ile Ser
 130 135 140

Met Val Asp Thr Ala Gln Arg His Arg Gly Ile Lys Met Gln Met Phe
 145 150 155 160

Thr Tyr Gly Gln Pro Arg Thr Gly Asn Gln Ala Phe Ala Glu Tyr Val
 165 170 175

Glu Asn Leu Gly His Pro Val Phe Arg Val Val Tyr Arg His Asp Ile
 180 185 190

Val Pro Arg Met Pro Pro Met Asp Leu Gly Phe Gln His His Gly Gln
 195 200 205

Glu Val Trp Tyr Glu Gly Asp Glu Asn Ile Lys Phe Cys Lys Gly Glu
 210 215 220

Gly Glu Asn Leu Thr Cys Glu Leu Gly Val Pro Phe Ser Glu Leu Asn
 225 230 235 240

Ala Lys Asp His Ser Glu Tyr Pro Gly Met His
 245 250

Alinhamento das Seqüências de Lipase

```

ID NO 1: SSSSTQDYRIASEAEIKAHTFYTALSANA
ID NO 2: SSSTQDYRIASEAEIKAHTFYTALSANA
ID NO 3: SIDGGIRAATSQEINELTYTTLANS
ID NO 4: SASDGGKVVAAATPAIQEFTKYAGIAATA
ID NO 5: TAGHALAASTQ GISEDLYSRL VEMATISQAA
ID NO 6: TAGHALAASTQ GISEDLYSRL VEMATISQAA
ID NO 7: AVGVTTTDFSNFKFYIQHGAAA
ID NO 8: TVTTQQLSNFRFYLOHADAA
ID NO 9: DIPTTQLEDKFWVQYAAAT
ID NO 10: DVSTSELDQFEFVWQYAAAS
ID NO 11: SVSTSTLDELQLFAQWSAAA
ID NO 12: SVSTSTLDELQLFSQWSAAA
ID NO 13: DVSSLLNMLDLFAQYSAAA
ID NO 14: EVSQDLENQFNLFAQYSAAA
ID NO 15: PQDAYTASHADLVKYATYAGLA

```

```

ID NO 1: YCRTVIPG      GRWSCPFCGVAS  NLQITKTFST  LITDTNVLVAV
ID NO 2: YCRTVIPG      GQWSCPFCDVAP  NLNITKTFST  LITDTNVLVAV
ID NO 3: YCRTVIPG      ATWDCIHCDATE  DLKIIKTWST  LIYDTNAMVAR
ID NO 4: YCRSVVPG      NKWDCVQCQKWVP  DGKIITTFST  LLSDTNGYVLR
ID NO 5: YADLCNIPST      IIKGEKIYNSQTDINGWILR
ID NO 6: YADLCNIPST      IIKGEKIYNSQTDINGWILR
ID NO 7: YC  NSEAAA      GSKITCSNNGCPTVQNGATIVTSF  VGSKTGIGGYVAT
ID NO 8: YC  NFNTAV      GKPVHCSAGNCPDIEKDAIVVGSV  VGTKTGIGAYVAT
ID NO 9: YCPNNYVAKD      GEKLNCSVGNCPDVEAAGSTVKLSFS  DDTITDTAGFVAV
ID NO 10: YYEADYTAQV      GDKLSCSKGNCPVEATGATVSYDFS  DSTITDTAGYIAV
ID NO 11: YCSNNID SK      DSNLTCTANACPSVEASTTMLLEFDLTNDFGGTAGFLAA
ID NO 12: YCSNNID SD      DSNVTCTADACPSVZEASTKMLLEFDLTNDFGGTAGFLAA
ID NO 13: YCDENLN ST      GTKLTCSVGNCPVVEAASTQSLDEFNESSSYGNPAGYLA
ID NO 14: YCGKNNDAPA      GTNITCTGNACPEVEKADATFLYSFE  DSGVGDVTGFLAL
ID NO 15: YQTTDAWPAS      RTVPKDTTLISSFD  HTLKGSSGYIAF

```

```

ID NO 1: GEKEKTIYVV  FRGTSSIRNA  IADIVFVPVN  YPFV  NGA  KVHKGFLDSY
ID NO 2: GENEKTIYVV  FRGTSSIRNA  IADIVFVPVN  YPFV  NGA  KVHKGFLDSY
ID NO 3: GDSEKTIYIV  FRGSSSIRNW  IADLTFVPVS  YPFV  SGT  KVHKGFLDSY
ID NO 4: SDKQKTIYLV  FRGTNSFRSA  ITDIVNFSD  YKPV  KGA  KVHAGFLSSY
ID NO 5: DDSSKEIITV  FRGTGSDTNL  QLDTNYTLTP  FDTLPQCNC  EVHGGYYIGW
ID NO 6: DDSSKEIITV  FRGTGSDTNL  QLDTNYTLTP  FDTLPQCNSC  EVHGGYYIGW
ID NO 7: DSARKEIVVS  FRGSINIRNW  LTNLDFG  QE  DCSL  VSGC  GVHSGFORAW
ID NO 8: DNARKEIVVS  VRGSINVRNW  ITNDFNG  QK  TCDL  VAGC  GVHTGFLDW
ID NO 9: DNTNKAIVVA  FRGSYSIRNW  VTDATFP  QT  DPGL  CDGC  KALGFWTAW
ID NO 10: DHTNSAVVLA  FRGSYSVRNW  VADATFV  HT  NPGL  CDGC  LAELGFWSSW
ID NO 11: DNTNKRLVVA  FRGSSTIENW  IANLDFILED  NDDL  CTGC  KVHTGFWKAW
ID NO 12: DNTNKRLVVA  FRGSSTIKNW  IADLDFILOD  NDDL  CTGC  KVHTGFWKAW
ID NO 13: DETNKLLVLS  FRGSADLANW  VANLNFGLED  ASDL  CSGC  EVHSGFWKAW
ID NO 14: DNTNKLIVLS  FRGSRSIENW  IGNLNFDLKE  INDI  CSGC  RGHDFGTSSW
ID NO 15: NEPCKEIIVA  YRGTDSLIDW  LTNLNFDKTA  WPAN  ISNS  LVHEGFLNAY

```

```

ID NO 1: NEVQDKLVAE  VKAQLDRHPG  YKIVVTGHSL  GGATAVLSALDLYHHGHA
ID NO 2: NEVQDKLVAE  VKAQLDRHPG  YKIVVTGHSL  GGATAVLSALDLYHHGHD
ID NO 3: GEVQNELVAT  VLDQFKQYPS  YKVAVTGHSL  GGATALLCALDLYQREEGLS
ID NO 4: EQVVNDYFPV  VQEQLTAHPT  YKIVVTGHSL  GGAQALLAGMDLYQREPLS
ID NO 5: VSVQDQVESL  VKQQVSQYPD  YALTVTGHSL  GASLAALTAACL SATYD
ID NO 6: ISVQDQVESL  VQQQVSQFPD  YALTVTGHSL  GASLAALTAACL SATYD
ID NO 7: NEISSQATAA  VASARKANPS  FNVI STGHSL  GGAVAVLAAANLVRVGGT
ID NO 8: EEVAANVAAA  VSAAKTANPT  FKFVVTGHSL  GGAVATIAAAYLRKDDF
ID NO 9: KVVDRRIKT  LDELKPEHSD  YKIVVVGHSL  GAAIASLAAADLRTKNY
ID NO 10: KLVRRDIKE  LKEVVAQNPN  YELVVVGHSL  GAAVATLAATDLRGKGY
ID NO 11: ESAADELTSK  IKSAMSTYSG  YTLTYFTGHSL  GGALATLGATVLRNDGY
ID NO 12: EAAADNLTSK  IKSAMSTYSG  YTLTYFTGHSL  GGALATLGATVLRNDGY
ID NO 13: SEIADTITSK  VESALSDHSD  YSLVLTGHSL  GAALALAAATALRNSGH

```

ID NO 14: RSVADTLRQK VEDAVREHPD YRVVFTGHSL GGALATVAGADLRNGY
 ID NO 15: LVSMQQVQEA VDSELLAKCPD ATISFTGHSL GGALACISMVDTAQRHGI

ID NO 1: NIEIYTQG QPRIGTPAFA NYVIGT KIPYQRLVHERDIVPHL
 ID NO 2: NIEIYTQG QPRIGTPEFA NYVIGT KIPYQRLVNERDIVPHL
 ID NO 3: SSNLFLYTQG QPRVGDPAFA NYVST GIPYRRTVNERDIVPHL
 ID NO 4: PKNLSIFTVG GPRVGNPTFA YVEST GIPFORTVHKRDIVPHV
 ID NO 5: NIRLYTFG EPRSGNQAFA SYMNDAFQASSPDTTQYFRVTHANDGIPNL
 ID NO 6: NIRLYTFG EPRS NQFAFA SYMNDAFQASSPDTTQYFRVTHANDGIPNL
 ID NO 7: PVDIYTYG SPRVGNAQLS AFVSNQ AGGEYRVTHADDPVPRL
 ID NO 8: PFDLYTYG SPRVGNDFFA NFVTQQ TGAEYRVTHGDDPVPRL
 ID NO 9: DAILYAYA APRVANKPLA EFITNQ GNNYRFTHNDDPVPKL
 ID NO 10: SAKLYAYA SPRVGNAALA KYITAQ GNNRFTHTNDPVPKL
 ID NO 11: SVELYTYG CPRIGNYALA EHITSQ GSGANFVTHLNDIVPRV
 ID NO 12: SVELYTYG CPRVGNYALA EHITSQ GSGANFVTHLNDIVPRV
 ID NO 13: SVELYNYG QPRLGNEALA TYITDQ NKGGNRYRVTHTNDIVPKL
 ID NO 14: DIDVFSYG APRVGNRAFA EFLTVO TCGTLYRITHTNDIVPRL
 ID NO 15: KMQMFTYG QPRTGNQFAFA EYVENL GHEVFRVYRHDIIVPRM

ID NO 1: PPGAFGFLHA GEEFWIMK DSSLRVCPNGIETDNCNSIV
 ID NO 2: PPGAFGFLHA GEEFWIMK DSSLRVCPNGIETDNCNSIV
 ID NO 3: PPAAFGFLHA GBEXWITD NSPETVQVCTSDLETSDCSNSIV
 ID NO 4: PPQSFGLHP GVESWIKS GTSNVQICTSEIETKDCNSIV
 ID NO 5: PFVEQGYAHG GVEYWSV DPYSAQNTFVCTGDEVQCC E AQGGQG
 ID NO 6: PPADEGYAHG VVEYWSV DPYSAQNTFVCTGDEVQCC E AQGGQG
 ID NO 7: PPLIFGYRHT TPEFWLGGGGDKVDYTI SDVKVCEGANL G CNGGTL
 ID NO 8: PPIVFGYRHT SPEYWLNG GPLDKDYTVTEIKVCEGIANVM CNGGTI
 ID NO 9: PLLTMGYVHI SPEYYITA PDNTTVTDNQVTVLDGYVNFK GNTGTS
 ID NO 10: PLLSMGYVHV SPEYWITS PNNATVSTSDIKVIDGDVSPD GNTGTG
 ID NO 11: PPMDFGFSQP SPEYWITS GNGASVTASDIEVIEGINSTA GNAGEA
 ID NO 12: PPMDFGFSQP SPEYWITS GTGASVTASDIEIEGINSTA GNAGEA
 ID NO 13: PPTLLGYHHE SPEYYISS ADEATVTTTVDVTEVTGIDATG GNDGTD
 ID NO 14: PPREFGYSHS SPEYWIKS GTLVFVTRNDIVKIEGIDATG GNNQPN
 ID NO 15: PPMDLGFQHH GOEVWYEG DENIKFCKGEGENLTCELGVP

ID NO 1: PFT SVIDHLSYLDMMNTGL CL
 ID NO 2: PFT SVIDHLSYLDMMNTGL CL
 ID NO 3: PFT SVIDHLSYFGINTGL CT
 ID NO 4: PFT SILDHLSYFDINEGS CL
 ID NO 5: VN NAHTTYF GMTSGACTW
 ID NO 6: VN NAHTTYF GMTSGHCTW
 ID NO 7: GL DIAHLHYF QATDA CNAGGFSWR R
 ID NO 8: GL DILAHITYF QSMAT CAPIAIPWK R
 ID NO 9: GGLPDLLAFHSHVWYFIHADACKGPGPLR
 ID NO 10: LPLLTDFEAHIWYF VQVDA GKGPGLPFK R
 ID NO 11: TV SVLAHLWYF FAISE CLL
 ID NO 12: TV DVLHLWYF FAISE CLL
 ID NO 13: GT SIDAHRWYF IYISE CS
 ID NO 14: IP DIPAHLWYF GLIGT CL
 ID NO 15: FSEL NAKDHSEYP GMH

| ID Nº: | Microorganismo | SEQ ID Nº: |
|--------|----------------------------------|------------|
| 1. | <i>Absidia reflexa</i> | 3 |
| 2. | <i>Absidia corymbifera</i> | 4 |
| 3. | <i>Rhizomucor miehei</i> | 5 |
| 4. | <i>Rhizopus delemar (oryzea)</i> | 6 |
| 5. | <i>Aspergillus niger</i> | 7 |
| 6. | <i>Aspergillus tubingensis</i> | 8 |
| 7. | <i>Fusarium oxysporum</i> | 9 |
| 8. | <i>Fusarium heterosporum</i> | 10 |
| 9. | <i>Aspergillus oryzae</i> | 11 |
| 10. | <i>Penicillium camembertii</i> | 12 |
| 11. | <i>Aspergillus foetidus</i> | 13 |
| 12. | <i>Aspergillus niger</i> | 14 |
| 13. | <i>Aspergillus oryzae</i> | 15 |
| 14. | <i>Thermomyces lanuginosus</i> | 2 |
| 15. | <i>Landerina penisapora</i> | 16 |

REIVINDICAÇÕES

1. Composição, compreendendo um agente de matiz para tecidos e uma variante de uma lipase original, a dita variante, quando comparada à dita lipase original, compreende um total de pelo menos três substituições, as quais são selecionadas de um ou mais dos seguintes grupos de substituições:
- 5
- a) pelo menos duas substituições na Região I,
 - b) pelo menos uma substituição na Região II,
 - c) pelo menos uma substituição na Região III, e/ou
 - 10 d) pelo menos uma substituição na Região IV.
2. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos duas substituições na Região I da lipase original compreendem substituições nas posições correspondentes a 231 e 233.
3. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 2, em que os aminoácidos da lipase original nas posições correspondentes a 231 e 233 são substituídos por um R.
- 15
4. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 2, em que a dita variante compreende uma substituição na posição correspondente a 4 da SEQ. ID nº 2.
- 20
5. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 4, em que a dita substituição na posição correspondente a 4 da SEQ. ID nº 2 é V.
6. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 2, em que a dita variante compreende uma substituição na posição correspondente a 227 da SEQ. ID nº 2.
- 25
7. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 6, em que a dita substituição na posição correspondente a 227 da SEQ. ID nº 2 é G.
8. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos uma substituição na Região II da lipase original compreende substituições selecionadas do grupo consistindo em substituições nas posições correspondentes a 202, 211, 255 e 256.
- 30

9. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 8, em que pelo menos uma substituição na lipase original é selecionada do grupo consistindo em X202G, X211L, X255Y/V e X256K.

5 10. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a dita pelo menos uma substituição na Região II compreende uma substituição na posição correspondente a 210.

11. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 10, em que a posição correspondente a 210 compreende X210K.

10 12. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos uma substituição na Região III da lipase original compreende substituições selecionadas do grupo consistindo em substituições nas posições correspondentes a 86 e 90.

15 13. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 12, em que pelo menos uma substituição na lipase original é selecionada do grupo consistindo em X86V e X90A/R.

14. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a dita pelo menos uma substituição na Região III compreende uma substituição da posição correspondente a 83.

20 15. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 14, em que a posição correspondente a 83 compreende X83T.

16. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos uma substituição na Região IV da lipase original compreende substituições selecionadas do grupo consistindo em substituições nas posições correspondentes a 27, 58 e 60.

25 17. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 16, em que pelo menos uma substituição na lipase original é selecionada do grupo consistindo em X27R, X58N/A/G/P/T e X60S/V/G/N/R/K/A/L.

30 18. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a lipase original compreende, ainda, pelo menos uma substituição fora das Regiões de I a IV definidas.

19. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 18, em que pelo menos uma substituição na lipase original é selecionada do

grupo consistindo em substituições nas posições correspondentes a 81, 147, 150 e 249.

20. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 18, em que pelo menos uma substituição na lipase original é selecionada do grupo consistindo em X81Q/E, X147M/Y, X150G e X249R/I/L.

21. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 2, em que a lipase original é pelo menos 90% idêntica à SEQ. ID nº 2.

22. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2, sendo que a dita variante compreende um dos seguintes grupos de substituições:

a) T231R + N233R + I255Y

b) I202G + T231R + N233R

c) I86V + L227G + T231R + N233R + P256K

d) Q4V + S58N + V60S + T231R + N233R

e) S58N + V60S + I90R + T231R + N233R

f) I90A + T231R + N233R + I255V

g) S58N + V60S + I86V + A150G + L227G + T231R + N233R + P256K

h) S58N + V60S + L147M + F211L + T231R + N233R

i) Q4V + S58A + V60S + S83T + I86V + A150G + E210K + L227G + T231R + N233R + P256K

j) S58N + V60S + I86V + A150G + L227G + T231R + N233R + P256K.

23. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a lipase original é idêntica à SEQ. ID nº 2, em que a dita variante compreende um dos seguintes grupos de substituições:

a) Q4V + S58A + V60S + S83T + I86V + A150G + E210K + L227G + T231R + N233R + P256K

b) S58N + V60S + I86V + A150G + L227G + T231R + N233R + P256K.

24. Composição detergente, de acordo com a reivindicação 1, em que a variante de lipase apresenta uma relação risco/benefício, quando

medida conforme apresentado no relatório descritivo, maior que 1.

25. Composição detergente, que compreende um agente de matiz para tecidos e um polipeptídeo com atividade de lipase, tendo ainda um desempenho relativo médio de pelo menos 0,8 e uma relação risco/benefício de pelo menos 1,1 sob as condições de teste apresentadas no
5 relatório descritivo.

26. Composição, de acordo com a reivindicação 1, que compreende de 0,1 a 40% de tensoativo aniônico.

27. Composição, de acordo com a reivindicação 26, em que a
10 dita composição é uma composição de limpeza e/ou tratamento.

28. Processo para limpeza e/ou tratamento de uma superfície ou tecido, que compreende as etapas de, opcionalmente, lavar e/ou enxaguar a dita superfície ou o dito tecido, colocar a dita superfície ou o dito tecido em contato com a composição como definida na reivindicação 1 e, então,
15 opcionalmente lavar e/ou enxaguar a dita superfície ou o dito tecido.

29. Composição, de acordo com a reivindicação 1, em que a dita variante de lipase é uma variante da SEQ. ID nº 2 compreendendo pelo menos uma das mutações Q4V, S58N/A/G/P/T, I90R ou Q249I/L.

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÕES DETERGENTES"**.

5 A presente invenção refere-se a composições compreendendo determinadas variantes de lipase e um agente de matiz para tecidos, bem como processos para a produção e o uso de tais composições. Isso inclui o uso dessas composições para limpar e/ou tratar um local.