



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108410585 A

(43)申请公布日 2018.08.17

(21)申请号 201810171223.2

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

(22)申请日 2011.05.05

代理人 罗文锋

(30)优先权数据

61/332151 2010.05.06 US

61/332006 2010.05.06 US

61/392364 2010.10.12 US

61/392188 2010.10.12 US

(62)分案原申请数据

201180022738.2 2011.05.05

(71)申请人 宝洁公司

地址 美国俄亥俄州

申请人 丹尼斯科美国公司

(72)发明人 P.F.索特 G.S.瓦德 A.J.普罗斯

D.A.埃斯特尔 J.T.小克利斯

K.D.科利耶 L.G.卡斯曹-佩雷拉

V.Y.阿列克塞耶夫 N.S.阿明

J.姚 K.奥古斯泰恩

(51)Int.Cl.

C11D 1/72(2006.01)

C11D 3/06(2006.01)

C11D 3/08(2006.01)

C11D 3/12(2006.01)

C11D 3/22(2006.01)

C11D 3/37(2006.01)

C11D 3/386(2006.01)

C11D 3/39(2006.01)

C11D 3/395(2006.01)

C11D 3/50(2006.01)

C11D 3/60(2006.01)

C12N 9/54(2006.01)

权利要求书3页 说明书183页

序列表22页 附图2页

(54)发明名称

具有蛋白酶变体的消费品

(57)摘要

本发明涉及具有蛋白酶变体的消费品。本发明涉及包含蛋白酶,尤其是冷水蛋白酶的消费品,以及制备和使用此类产品的方法。此类消费品提供改善的清洁、洁白和/或焕新。此类蛋白酶通过所述亲本酶的氨基酸中的一个或多个的取代、插入和/或缺失衍生自亲本酶,例如迟缓芽孢杆菌。

BN' : AQSVPYGVSQ IKAPALHSQG YGSHVKVAV IDSGDSSEP DLKVGAGSM VFSEINFPQD
GG36 : AQSVPYGVQISR VQAPAAHNRG LQSGVKVAV LDTGDS-TEP DLKVGAGSM VFGEFSTI-QD

BN' 6: NNSHGCHVAG TVRAIINNSIG VLGVAFSASL YAVKVLGADG SGQISNINIG ISNAIAXNMD
GG36 59 GNGHCHVAG TIAALINNSIG VLGVAFSASL YAVKVLGASG SGVSSTIAQG LSNAGNNGMH

BN' 12: VINMLGSGPS GSAALKAQVD KAVAGGVVVV AAGNEGTGG GSGTVGYZPK YPSVIAVGAV
GG36 119 VANLCLGSGPS PGATLEGAVN SATSGVLLVY AAGNGGAGG ----GGYFAR VANAMAVGAT

BN' 18: DSGNORASES QYGFELDAMA PGVSTQSTLF GNYGAYNGT SMASPHVAGA AALILSKHPN
GG36 175 DQNNHASES QYGAGLDIVA PGVNVQSIYP GSTYASLNGI SMATPHVAGA AALVKGKMPN

BN' 24: WNTIQVRSSL ENITTKIGDS FYYGKGLINV QAAAG
GG36 235 WSNVQIRNHL KNTATSLGST NLYGGLVNA EAATR

成熟参考蛋白酶解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BN'(SEQ ID NO: 2)
和迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶(SEQ ID NO: 1)的比对。

1. 一种组合物, 包含助剂材料和蛋白酶变体, 所述组合物为消费品, 其中所述蛋白酶变体为亲本蛋白酶的变体, 所述亲本蛋白酶的序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列有100%同一性, 其中通过蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定的, 所述蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号, 其中与亲本蛋白酶相比, 所述蛋白酶变体具有下列突变之一:

T022R-S024R、G020R-T022R-N043R、G020R-T022R-W241R、G020R-T022R-S242R、G020R-T022R-E271L、S009A-T022R-N043R-S078R、S009A-T022R-S078R-S212F、S009A-T022R-S212F-W241R、G020R-T022R-S024R-S242R、G020R-T022R-N043R-S212F、G020R-T022R-N043R-W241R、G020R-T022R-S078R-W241R、G020R-T022R-S078R-S242R、G020R-T022R-S212F-W241R、S009A-T022R-S078R-S212F-W241R、N018R-T022R-S024R-N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N043D-N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N043R-N076D-H249R、N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R、N018R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R、T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、T022R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、T022R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R、T022R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R和T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R。

2. 一种洗涤液体, 包含如权利要求1所述的组合物, 所述洗涤液体具有0.1mS/cm至3mS/cm、0.3mS/cm至2.5mS/cm、或0.5mS/cm至2mS/cm的电导率。

3. 一种洗涤液体, 包含如任一项前述权利要求所述的组合物, 所述洗涤液体具有>3mS/cm但≤30mS/cm、3.5mS/cm至20mS/cm、或4mS/cm至10mS/cm的电导率。

4. 如前述权利要求中的任一项所述的组合物或洗涤液体, 其中所述助剂材料包含选自以下中的一种或多种:

- a. 包含香料的包封物;
- b. 调色剂;
- c. 去污表面活性剂;
- d. 助洗剂;
- e. 硅酸盐;
- f. 增白剂, 所述增白剂包含选自下列的材料: 冷水可溶的增白剂以及它们的混合物;
- g. 羧酸盐聚合物;
- h. 去垢性聚合物;
- i. 纤维素聚合物;
- j. 漂白催化剂;
- k. 漂白活化剂;
- l. 过氧化氢源;
- m. 螯合剂;
- n. 附加的酶, 所述附加的酶选自: (a) 第一洗涤脂肪酶; (b) 细菌清洁纤维素酶; (c) α -淀粉酶; 以及 (d) 它们的混合物; 以及
- o. 它们的混合物。

5. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体, 其中所述包封物包含香料微胶囊。

6. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述调色剂包含选自下列的材料:碱性的、酸性的、疏水性的、直接的和聚合的染料,和具有550nm至650nm峰值吸收波长的染料结合物以及它们的混合物。

7. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述去污表面活性剂包含选自下列的材料:阴离子去污表面活性剂、非离子去污表面活性剂、阳离子去污表面活性剂、两性离子去污表面活性剂和两性去污表面活性剂以及它们的混合物。

8. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述助洗剂包含选自下列的材料:沸石、磷酸盐以及它们的混合物。

9. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述硅酸盐包含选自下列的材料:硅酸钠、硅酸钾以及它们的混合物。

10. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述羧酸盐聚合物包含选自下列的材料:马来酸盐/丙烯酸盐无规共聚物或聚丙烯酸盐均聚物以及它们的混合物。

11. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述去垢性聚合物包含选自下列的材料:对苯二甲酸酯共聚物以及它们的混合物。

12. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述纤维素聚合物包含选自下列的材料:烷基纤维素、烷基烷氧基烷基纤维素、羧基烷基纤维素、烷基羧基烷基纤维素以及它们的混合物。

13. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述漂白催化剂包含选自下列的材料:亚胺 阳离子、亚胺 聚离子;亚胺 两性离子;改性的胺;改性的氧化胺;N-磺酰基亚胺;N-膦酰基亚胺;N-酰基亚胺;噻二唑二氧化物;全氟亚胺;环状糖酮和过渡金属催化剂或用于形成过渡金属催化剂的配体,或它们的混合物。

14. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述漂白活化剂包含选自下列的材料:十二烷酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯甲酸或其盐、3,5,5-三甲基己酰基氧基苯磺酸盐、四乙酰基乙二胺(TAED)、壬酰基氧基苯磺酸盐(NOBS)以及它们的混合物。

15. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述过氧化氢源包含选自下列的材料:无机过氧化氢合物盐,包括碱金属盐。

16. 如权利要求15所述的组合物或洗涤液体,其中碱金属盐选自过硼酸盐、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐、过硅酸盐的钠盐以及它们的混合物。

17. 如权利要求16所述的组合物或洗涤液体,其中过硼酸盐为一水合物或四水合物。

18. 如权利要求4所述的组合物或洗涤液体,其中所述螯合剂包含选自下列的材料:DTPA(二亚乙基三胺五乙酸)、HEDP(羟基乙烷二膦酸)、DTPMP(二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸))、乙二胺二琥珀酸(EDDS)、1,2-二羟基苯-3,5-二磺酸二钠盐水合物、所述螯合剂的衍生物。

19. 如权利要求1-3中的任一项所述的组合物或洗涤液体,包含基于总组合物或洗涤液体重量计:

(i) 0.0005重量%至0.1重量%、0.001重量%至0.05重量%、或0.002重量%至0.03重量%的所述蛋白酶变体;和

(ii) 下列中的一种或多种:

- a. 0.00003重量%至0.1重量%的织物调色剂;
 - b. 0.001重量%至5重量%的香料胶囊;
 - c. 0.001重量%至1重量%的冷水可溶的增白剂;
 - d. 0.00003重量%至0.1重量%的漂白催化剂;
 - e. 0.00003重量%至0.1重量%的第一洗涤脂肪酶;
 - f. 0.00003重量%至0.1重量%的细菌清洁纤维素酶;
 - g. 0.05重量%至20重量%的Guerbet非离子表面活性剂。
20. 如权利要求1所述的组合物,其中所述组合物为单或多隔室单位剂量。
21. 如权利要求20的组合物,其中所述组合物为多隔室单位剂量。
22. 如权利要求21的组合物,其中所述蛋白酶变体位于与任何过氧化氢源和/或螯合剂不同的隔室。
23. 一种处理和/或清洁表面的方法,包括以下步骤:(i)使所述表面与如权利要求1和/或5-20中的任一项所述的组合物在含水洗涤液体中接触;(ii)冲洗和/或干燥所述表面。
24. 权利要求23的方法,其中所述方法用于处理和/或清洁织物表面。
25. 权利要求23或24的方法,其中所述含水液体的温度为5-25℃。
26. 权利要求23或24的方法,其中所述含水液体包含0.1g/l至3g/l的表面活性剂。

具有蛋白酶变体的消费品

[0001] 本申请为分案申请,原申请的申请日为2011年5月5日,申请号为201180022738.2 (PCT/US2011/035319),发明名称为“具有蛋白酶变体的消费品”。

发明领域

[0002] 本发明涉及包含蛋白酶的消费品,以及制备和使用此类消费品的方法。

[0003] 发明背景

[0004] 洗涤剂制造商将蛋白酶掺入他们的产品中以提供对污渍(例如血迹)的良好清洁。然而,考虑到可持续性和消费者降低洗涤温度的趋势,要实现消费者可接受的有益效果被证明越来越困难,依然存在改进这些衣物洗涤剂组合物的清洁和焕新特征的需求。发明人已经发现,在消费品种额外掺入某些蛋白酶例如衣物洗涤剂组合物可以在一个方面包含调色剂、冷水可溶的增白剂、漂白催化剂、第一洗涤脂肪酶、细菌清洁纤维素酶、Guerbet非离子表面活性剂和/或香料胶囊,提升此类消费品的下列一个或多个特征:清洁、洁白、白色感、和/或焕新。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明涉及包含蛋白酶,尤其是冷水蛋白酶的消费品,以及制备与使用此类产品的方法。此类组合物提供改善的清洁和焕新。此类蛋白酶通过所述亲本酶的氨基酸中的一个或多个取代、插入和/或缺失衍生自亲本酶,枯草杆菌蛋白酶来源于迟缓芽孢杆菌。

[0007] 附图概述

[0008] 图1提供了成熟的参考蛋白酶的比对,其包括:解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN' (SEQ ID NO:2) 和迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶 (SEQ ID NO:1)。本文所述的每个蛋白酶变体的每个氨基酸位置,包括每个冷水蛋白酶变体,是根据对应的如图1所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中的氨基酸位置的编号而编号的,其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0009] 图2显示pHPLT-GG36表达质粒。

[0010] 图3显示pRA68表达质粒。

[0011] 图4显示pRA96表达质粒。

[0012] 发明详述

[0013] 定义

[0014] 如本文所用,“消费品”是指织物和家用护理产品。

[0015] 如本文所用,术语“织物和家用护理产品”是指织物和家用护理产品和/或一般来讲旨在以某种形式使用或消费,其中它们被出售并用于处理织物、硬表面和任何其他表面、和所有用于护理和清洁无生命表面的清洁系统,以及织物调理剂产品和其他特别设计用于护理和保养织物的产品、和空气护理产品,包括:空气护理产品,包括空气清新、香味递送体系、汽车护理、宠物护理、牲畜护理、个人护理、珠宝护理、盘碟洗涤、织物调理(包括软化和/或焕新)、衣物洗涤、衣物洗涤和漂洗添加剂和/或护理、预处理清洁组合物、硬表面清洗和/

或处理、包括地板和抽水马桶清洁剂、玻璃清洗剂和/或处理、瓷砖清洁剂和/或护理、陶瓷清洁剂和/或处理、以及消费者或单位使用的其他清洗。在一些实施方案中,织物及家居护理产品适用于伤口和/或皮肤。“织物和家用护理产品”包括消费者和单位的产品。该定义不包括产品(a)旨在用于清洁隐形眼镜,或超滤膜,或(b)用于愈合伤口或用于对皮肤病症进行医治。此类织物和家用护理产品一般来讲旨在以其出售的形式使用或消费。

[0016] 如本文所用,术语“清洁和/或处理组合物”为织物和家用护理产品的一个子集。此类产品包括但不限于用于处理织物、硬表面、以及织物和家用护理领域的任何其他表面,包括:空气护理品(包括空气清新剂和香味递送体系)、护车用品、盘碟洗涤剂、织物调理剂(包括软化和/或焕新)、衣物洗涤剂、衣物洗涤和漂洗添加剂和/或护理剂、硬质表面清洁和/或处理剂(包括地板和抽水马桶清洁剂)、颗粒或粉末形式的多功能或“重垢型”洗涤剂,尤其是清洁洗涤剂;液体、凝胶或糊剂形式的多功能洗涤剂,尤其是所谓的重垢型液体类型;液体精细织物洗涤剂;手洗餐具洗涤剂或轻垢型餐具洗涤剂,尤其是高起泡类型的那些;机洗盘碟洗涤剂,包括家庭和单位使用的各种片状、颗粒状、液状和漂洗助剂型;汽车或地毯香波、浴室清洁剂(包括抽水马桶清洁剂);以及清洁辅剂如漂白添加剂和“去污棒”或预处理型、具有基底的产品如烘干机添加纸。

[0017] 如本文所用,术语“织物和/或硬质表面清洁和/或处理组合物”为清洁和处理组合物的子集,其包括(除非另外指明)颗粒状的或粉末形式的多功能或“重垢型”洗涤剂,尤其是清洁洗涤剂;液体、凝胶或糊剂形式的多功能洗涤剂,尤其是所谓的重垢型液体类型;液体精细织物洗涤剂;手洗餐具洗涤剂或轻垢型餐具洗涤剂,尤其是高起泡类型的那些;机洗餐具洗涤剂,包括各种供家庭和机构使用的片剂、颗粒、液体和漂洗助剂类型;液体清洁和消毒剂、汽车或地毯香波、浴室清洁剂(包括抽水马桶清洁剂);织物调理产品包括柔顺和/或焕新,其可为液态、固态和/或烘干机纸形状;以及清洁辅剂如漂白添加剂和“去污棒”或预处理型、具有基底的产品如烘干机添加纸。可应用的所有此类产品可为标准品、浓缩的或甚至高度浓缩的形式,甚至到此类产品可在某个方面为非水性的程度。

[0018] 如本文所用,术语“冷水蛋白酶变体”是指亲本蛋白酶的变体,所述亲本蛋白酶的序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%、或100%的同源性,所述变体具有一个或多个下列特征:

[0019] a) 测试方法2性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2;1.1至约10、1.1至约8、或甚至1.1至约5;

[0020] b) 测试方法3性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2;1.1至约10、1.1至约8、或甚至1.1至约5;

[0021] c) 测试方法4性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2;1.0至约10、1.0至约8、或甚至1.0至约5;

[0022] d) 测试方法6性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2;1.1至约10、1.1至约8、或甚至1.1

[0023] 至约5,其中每个氨基酸位置根据在解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号。适用于本发明的优选的冷水蛋白酶具有按照上文d)中定义的测试方法6的特点。

[0024] 测试方法2、测试方法3、测试方法4和测试方法6在下文题目为“测试方法”一节中

明确描述。

[0025] 如本文所用,术语“蛋白酶变体”是指亲本蛋白酶的变体,所述亲本蛋白酶的序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%、或100%的同一性,其中每个氨基酸位置根据在解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号。

[0026] 如本文所用,当用于权利要求中时,冠词诸如“一个”和“一种”被理解为是指一种或多种受权利要求书保护的或所述的物质。

[0027] 如本文所用,术语“包括”和“包含”是非限制性的。

[0028] 如本文所用,术语“固体”包括颗粒、粉末、棒状和片剂产品形式。

[0029] 如本文所用,术语“流体”包括液体、凝胶、糊剂和气体产品形式。

[0030] 本文所用术语“部位”包括织物、衣服和/或硬质表面。

[0031] 除非另外指明,所有组分或组合物含量均是关于该组分或组合物的活性物质部分,不包括可能存在于这些组分或组合物的市售来源中的杂质,例如残余溶剂或副产物。

[0032] 除非另外指明,所有百分比和比率均按重量计算。除非另外指明,所有百分比和比率均基于总组合物计算。

[0033] 应当理解,在本说明书中给出的每一上限值包括每一个下限值,即如同上述下限值在本文中明确表示的。在本说明书全文中给出的每一最小数值限度将包括每一较高数值限度,如同该较高数值限度在本文中被明确表示。在本说明书全文中给出的每一数值范围将包括包含于该较宽数值范围内的每一较窄数值范围,如同该较窄数值范围在本文中被明确表示。

[0034] 消费品

[0035] 如本文所述,所述消费品(包含本文所公开的蛋白酶变体)在清洗行业中具有特定的用途,例如衣服洗涤和餐具洗涤剂。这些应用将酶置于各种环境胁迫条件下。在本发明中采用的所述蛋白酶变体提供了超过许多目前使用的酶的优势,这至少部分地是由于它们在各种条件下的稳定性。

[0036] 实际上,存在多种洗涤条件,包括不同的洗涤剂配方、洗涤水体积、洗涤水温度、以及洗涤时间长短,这也是洗涤中使用的蛋白酶所面临的条件。此外,在不同地理区域中使用的洗涤剂配方的相关组分在洗涤水中具有不同的浓度。例如,欧洲的洗涤剂在洗涤水中通常具有约4500-5000ppm的洗涤剂组分,而日本的洗涤剂在洗涤水中通常具有大约667ppm的洗涤剂组分。在北美,尤其是美国,洗涤剂在洗涤水中通常具有975ppm的洗涤剂组分。

[0037] 低洗涤剂浓度体系包括在洗涤水中存在小于约800ppm的洗涤剂组分的洗涤剂。日本洗涤剂通常被认为是低洗涤剂浓度体系,因为它们在洗涤水中具有大约667ppm的洗涤剂组分。

[0038] 中等洗涤剂浓度体系包括在洗涤水中存在800ppm至2000ppm的洗涤剂组分的洗涤剂。北美洗涤剂通常被认为是中等洗涤剂浓度体系,因为它们在洗涤水中具有大约975ppm的洗涤剂组分。巴西洗涤剂在洗涤水中通常具有大约1500ppm的洗涤剂组分。

[0039] 高洗涤剂浓度体系包括在洗涤水中存在大于约2000ppm的洗涤剂组分的洗涤剂。欧洲洗涤剂通常被认为是中洗涤剂浓度体系,因为它们在洗涤水中具有大约4500-5000ppm的洗涤剂组分。

[0040] 拉丁美洲洗涤剂通常是高泡沫的磷酸盐助剂洗涤剂,并且拉丁美洲中使用的洗涤剂的范围可以为中等洗涤剂浓度和高洗涤剂浓度,因为它们在洗涤水中的洗涤剂组分范围为1500ppm至6000ppm。如上述所提到的,巴西洗涤剂在洗涤水中通常具有大约1500ppm的洗涤剂组分。然而,其他高泡沫磷酸盐助剂洗涤剂地区,不限于其他拉丁美洲国家,可具有在洗涤水中存在最多约6000ppm的洗涤剂组分的高洗涤剂浓度体系。

[0041] 按照前述,显而易见的是,世界各地的典型洗涤溶液中洗涤剂组合物的浓度多种多样,小于约800ppm的洗涤剂组合物(“低洗涤剂浓度地区”),例如在日本约667ppm,至约800ppm到约2000ppm之间(“中等洗涤剂浓度地区”),例如在美国约975ppm和在巴西约1500ppm,至大于约2000ppm(“高洗涤剂浓度地区”),例如在欧洲约4500ppm至约5000ppm和在高泡沫磷酸盐助剂洗涤剂地区约6000ppm,。

[0042] 典型的洗涤溶液的浓度是由实验测定的。例如,在美国,典型的洗衣机容纳约64.4升体积的洗涤溶液。因此,为了在洗涤溶液中获得约975ppm的洗涤剂浓度,必须将约62.79克洗涤剂组合物加入到64.4升的洗涤溶液中。这个量是由消费者使用洗涤剂提供的量杯量取加入到洗涤水中的典型量。

[0043] 作为进一步的例子,不同的地理区域使用不同的洗涤温度。在日本,洗涤水的温度通常是低于在欧洲使用的洗涤水的温度。例如,在北美和日本洗涤水的温度通常介于约10℃和约30℃之间(例如,约20℃),而在欧洲的洗涤水的温度通常介于约30℃和约60℃之间(例如,约40℃)。然而,为了节约能源,很多消费者都切换到使用冷水洗涤。此外,在一些更远的地区,冷水是通常用于衣物洗涤以及餐具洗涤。在一些实施方案中,本发明所述的“冷水洗涤”采用的洗涤温度为约10℃至约40℃,或约20℃至约30℃,或约15℃至约25℃,以及在约15℃至约35℃范围内的所有其他组合,和在10℃至40℃内的所有范围。

[0044] 作为进一步的例子,不同地区通常具有不同的水硬度。水的硬度通常以术语格令/每加仑描述,混有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 。硬度是水中的钙(Ca^{2+})和镁(Mg^{2+})的量的量度。在美国大多数水是硬水,但硬度的程度不同。中硬(60-120ppm)至硬(121-181ppm)水含60ppm至181ppm(ppm换算为格令每美制加仑是 $\text{ppm}\div 17.1$ 等于格令/每加仑)的硬度矿物。

[0045]

水	格令/每加仑	ppm
软	小于1.0	小于17
微硬	1.0至3.5	17至60
中硬	3.5至7.0	60至120
硬	7.0至10.5	120至180
非常硬	大于10.5	大于180

[0046] 欧洲水的硬度通常大于约10.5(例如约10.5至约20.0)格令/每加仑,混有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ (例如约15格令/每加仑,混有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$)。北美水的硬度通常大于日本水的硬度,但小于欧洲水的硬度。例如,北美水的硬度可介于约3格令至约10格令、约3格令至约8格令或约6格令之间。日本水的硬度通常低于北美水的硬度,通常小于约4,例如约3格令/每加仑,混有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 。

[0047] 因此,在一些实施方案中,本发明提供了至少在一组洗涤条件下表现出令人惊讶的洗涤性能的消费品(例如,水温、水的硬度、和/或洗涤剂浓度)。

[0048] 具体地,本发明包括一种洗涤方法。

[0049] 在一些实施方案中,本发明所述的消费品在洗涤性能上与其他包含其他枯草杆菌蛋白酶的消费品是相当的。在一些实施方案中,与目前可商购获得的包含枯草杆菌蛋白酶的消费品相比,本发明所述的消费品显示出增强的洗涤性能。因此,在本发明的一些实施方案中,本文提供的所述包含变体蛋白酶的消费品表现出增强的清洁至少部分地是由于增强了氧化稳定性、提高了热稳定性、增强了在各种条件下的清洗能力、和/或增强了采用酶的螯合剂稳定性。

[0050] 消费品

[0051] 在所有它们的形式中,本文所公开的组合物为消费品。

[0052] 在一个方面,公开了一种组合物,所述组合物包含助剂材料和冷水蛋白酶变体,所述组合物为消费品。

[0053] 测试方法2、测试方法3、测试方法4和测试方法6在下文题目为“测试方法”一节中讨论。

[0054] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列突变中的一个或多个、或甚至两个或更多个、或优选三个或更多个:X1R,X2S,X2M,X2A,X2R,X2W,X3R,X4R,X4S,X4C,X8A,X9A,X9F,X9W,X10S,X10A,X10H,X10M,X12F,X12R,X14K,X14F,X14Q,X15R,X15F,X16S,X17R,X17M,X17F,X18R,X18K,X20F,X20K,X20R,X22A,X22R,X22Y,X22V,X22Q,X22L,X22W,X23A,X23S,X23F,X24R,X24F,X24W,X24Q,X24H,X24L,X25V,X25F,X25R,X26F,X27L,X27F,X27R,X27V,X28A,X28N,X28E,X29T,X30E,X31F,X33S,X33G,X33D,X34P,X35M,X36T,X36F,X36R,X38L,X38F,X38R,X40N,X40L,X40T,X40W,X40H,X40R,X42I,X43A,X43F,X43I,X43S,X43R,X43M,X43W,X43D,X45T,X46R,X48R,X50C,X51W,X51F,X51H,X52F,X52E,X52N,X55Y,X57R,X59A,X59F,X59R,X60P,X60Q,X60A,X62E,X62Q,X63V,X63M,X63T,X63I,X63A,X63S,X63H,X63Q,X63D,X63E,X63P,X64F,X64T,X68A,X68C,X69N,X69T,X69P,X69W,X71G,X72C,X74C,X75A,X75F,X75E,X75R,X76D,X78R,X78N,X78I,X79W,X79Q,X81R,X82F,X82T,X82V,X82R,X82M,X85M,X86W,X86L,X86I,X89P,X89T,X89G,X89H,X89L,X89V,X89W,X89F,X89I,X91N,X91F,X92F,X94N,X99F,X99T,X99P,X99G,X99M,X100S,X100N,X100Q,X100I,X101A,X101N,X101G,X101T,X101D,X101E,X101P,X101F,X102A,X102T,X102N,X102H,X102E,X103G,X103N,X103D,X103A,X104L,X104I,X104E,X104D,X105T,X105E,X105Q,X106G,X106T,X106E,X106D,X106A,X106V,X106F,X107M,X107F,X108I,X108G,X109M,X111V,X111I,X112V,X112L,X112Q,X114G,X115K,X115R,X116K,X116A,X116L,X117F,X118R,X118I,X119C,X120A,X120F,X120R,X121F,X121E,X123G,X123E,X124S,X128D,X128F,X128L,X128N,X128H,X128M,X128I,X128Q,X129E,X132A,X132E,X138G,X144R,X147L,X148I,X158E,X159D,X159E,X159C,X160D,X166D,X166E,X167W,X175V,X177C,X181A,X182R,X183I,X183D,X183M,X183F,X183R,X185E,X185V,X185I,X186H,X186K,X188E,X188D,X188R,X192H,X192W,X194E,X194V,X194F,X197F,X198L,X198F,X203E,X203C,X208S,X209S,X209N,X209F,X209T,X209E,X209H,X209G,X209L,X210R,X210V,X210L,X211Q,X211R,X212I,X212M,X212F,X213A,X214F,X215N,X215D,X215E,X215H,X215F,X216F,X216A,X217E,X217N,X217D,X218D,X218P,X218E,X224A,X224G,X227I,X230E,X231I,X231C,X232V,X233C,X234F,X235F,X236F,X236N,X236H,X238R,X238K,X238L,

X239K, X239G, X239R, X239H, X239T, X239N, X239S, X239F, X240R, X241R, X242L, X242R, X243F, X243R, X244R, X245R, X246S, X248D, X248V, X248I, X248R, X249R, X249T, X250I, X251R, X251S, X252I, X252F, X252R, X252K, X252H, X253I, X253R, X253F, X254C, X256N, X258R, X260V, X260I, X262D, X262H, X263F, X265F, X267V, X267N, X267M, X269I, X269R, X270C, X271I, X271V, X271H, X271M, X271L, X271P, X271A, X271F, X271T, X272F, X272F, X272R, X273F, X273I和X274G。

[0055] 在所述组合物的一个优选方面,所述蛋白酶变体包含下列突变中的一个或多个、优选两个、或优选三个或更多个:X1R, X2S, X4R, X4S, X9A, X10S, X14K, X16S, X17R, X18R, X20R, X22A, X22R, X24R, X24W, X25R, X25V, X26F, X42I, X43R, X43A, X46R, X52F, X52E, X52N, X57R, X59A, X62E, X62Q, X68A, X68C, X71G, X72C, X74C, X75A, X75F, X75R, X76D, X78R, X82R, X86W, X89P, X89T, X89G, X89H, X89I, X89V, X89W, X91N, X94N, X100S, X101A, X101N, X101G, X101D, X103G, X103N, X104L, X104I, X106V, X106G, X108I, X111V, X112V, X115K, X115R, X117F, X118I, X121F, X128D, X128F, X128L, X128N, X129E, X144R, X148I, X158E, X159E, X160D, X166D, X185E, X185I, X186H, X188E, X188D, X197F, X203E, X209S, X209N, X209F, X209T, X209E, X209H, X209G, X210R, X212I, X212F, X214F, X215N, X215D, X215E, X217E, X217N, X224A, X230E, X231I, X236F, X238R, X238K, X239K, X239G, X239R, X239S, X241R, X242R, X242L, X243R, X244R, X248I, X248V, X249R, X250I, X252R, X253R, X262D, X263F, X265F, X267V, X267N, X269I, X269R, X271F, X271I, X271H, X271P, X271T, X271V, X271L和X272F,以及任选地包含下列突变中的一个或多个:X103A, X159D, X236H, X245R, X248D和X252K。

[0056] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个:X022R-X024R, X009A-X271L, X018R-X241R, X018R-X115R, X043R-X249R, X020R-X249R, X004R-X249R, X020R-X024R, X018R-X249R, X009A-X020R, X020R-X241R, X009A-X078R, X020R-X115R, X018R-X024R, X024R-X242R, X022R-X115R, X018R-X043R, X020R-X043R, X018R-X242R, X242R-X269R, X018R-X244R, X024R-X269R, X020R-X271L, X024R-X271L, X004R-X009A, X020R-X269R, X001R-X024R, X244R-X271L, X009A-X018R, X241R-X271L, X004R-X024R, X009A-X249R, X009A-X022R, X062E-X129E, X062E-X159E, X016S-X148I, X158E-X249R, X016S-X062E, X111V-X188D, X022A-X062E, X062E-X148I, X022A-X129E, X062E-X271F, X062E-X158E, X016S-X159E, X062E-X186H, X128N-X159E, X062E-X188D, X062E-X128N, X148I-X159E, X103G-X158E, X111V-X159E, X158E-X271F, X016S-X188D, X022A-X111V, X128N-X158E, X016S-X158E, X104L-X158E, X128N-X186H, X159E-X209E, X062E-X101A, X111V-X209E, X148I-X188D, X101A-X209E, X022A-X188D, X016S-X022A, X128N-X129E, X016S-X209E, X016S-X128N, X022A-X089P, X128N-X209E, X089P-X158E, X062E-X103G, X186H-X271F, X016S-X129E, X089P-X159E, X111V-X249R, X101A-X129E, X148I-X209E, X022A-X159E, X129E-X249R, X129E-X209E, X104L-X129E, X128N-X188D, X111V-X158E, X022A-X158E, X062E-X209E, X062E-X249R, X101A-X186H, X089P-X129E, X129E-X271F, X22A-X111V-X159E, X101A-X103G-X104L-X209E, X101A-X103G-X104L-X159E, X101A-X103G-X104L-X188D, X101G-X103A-X104I-X159D, X22A-X103G-X159E, X22A-X128N-X271F-X209E, X22A-X209E-X271F, X22A-X101A-X209E, X101A-X209E-X271F, X22A-X111V-

X128N, X22A-X101A-X159E, X101A-X103G-X104L, X22A-X101A-X103G-X104L, X101A-X103G-X104L, X101G-X103A-X104I, X101A-X103G-X104L-X128N, X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D, X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R, X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X24R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X253R, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X249R, X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X249R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X238R, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X76D和X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X271F。

[0057] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含总计三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变,优选三个或四个、最优选三个突变,所述突变选自:X1R, X2S, X2M, X2A, X2R, X2W, X3R, X4R, X4S, X4C, X8A, X9A, X9F, X9W, X10S, X10A, X10H, X10M, X12F, X12R, X14K, X14F, X14Q, X15R, X15F, X16S, X17R, X17M, X17F, X18R, X18K, X20F, X20K, X20R, X22A, X22R, X22Y, X22V, X22Q, X22L, X22W, X23A, X23S, X23F, X24R, X24F, X24W, X24Q, X24H, X24L, X25V, X25F, X25R, X26F, X27L, X27F, X27R, X27V, X28A, X28N, X28E, X29T, X30E, X31F, X33S, X33G, X33D, X34P, X35M, X36T, X36F, X36R, X38L, X38F, X38R, X40N, X40L, X40T, X40W, X40H, X40R, X42I, X43A, X43F, X43I, X43S, X43R, X43M, X43W, X43D, X45T, X46R, X48R, X50C, X51W, X51F, X51H, X52F, X52E, X52N, X55Y, X57R, X59A, X59F, X59R, X60P, X60Q, X60A, X62E, X62Q, X63V, X63M, X63T, X63I, X63A, X63S, X63H, X63Q, X63D, X63E, X63P, X64F, X64T, X68A, X68C, X69N, X69T, X69P, X69W, X71G, X72C, X74C, X75A, X75F, X75E, X75R, X76D, X78R, X78N, X78I, X79W, X79Q, X81R, X82F, X82T, X82V, X82R, X82M, X85M, X86W, X86L, X86I, X89P, X89T, X89G, X89H, X89L, X89V, X89W, X89F, X89I, X91N, X91F, X92F, X94N, X99F, X99T, X99P, X99G, X99M, X100S, X100N, X100Q, X100I, X101A, X101N, X101G, X101T, X101D, X101E, X101P, X101F, X102A, X102T, X102N, X102H, X102E, X103G, X103N, X103D, X103A, X104L, X104I, X104E, X104D, X105T, X105E, X105Q, X106G, X106T, X106E, X106D, X106A, X106V, X106F, X107M, X107F, X108I, X108G, X109M, X111V, X111I, X112V, X112L, X112Q, X114G, X115K, X115R, X116K, X116A, X116L, X117F, X118R, X118I, X119C, X120A, X120F, X120R, X121F, X121E, X123G, X123E, X124S, X128D, X128F, X128L, X128N, X128H, X128M, X128I, X128Q, X129E, X132A, X132E, X138G, X144R, X147L, X148I, X158E, X159D, X159E, X159C, X160D, X166D, X166E, X167W, X175V, X177C, X181A, X182R,

X183I, X183D, X183M, X183F, X183R, X185E, X185V, X185I, X186H, X186K, X188E, X188D, X188R, X192H, X192W, X194E, X194V, X194F, X197F, X198L, X198F, X203E, X203C, X208S, X209S, X209N, X209F, X209T, X209E, X209H, X209G, X209L, X210R, X210V, X210L, X211Q, X211R, X212I, X212M, X212F, X213A, X214F, X215N, X215D, X215E, X215H, X215F, X216F, X216A, X217E, X217N, X217D, X218D, X218P, X218E, X224A, X224G, X227I, X230E, X231I, X231C, X232V, X233C, X234F, X235F, X236F, X236N, X236H, X238R, X238K, X238L, X239K, X239G, X239R, X239H, X239T, X239N, X239S, X239F, X240R, X241R, X242L, X242R, X243F, X243R, X244R, X245R, X246S, X248D, X248V, X248I, X248R, X249R, X249T, X250I, X251R, X251S, X252I, X252F, X252R, X252K, X252H, X253I, X253R, X253F, X254C, X256N, X258R, X260V, X260I, X262D, X262H, X263F, X265F, X267V, X267N, X267M, X269I, X269R, X270C, X271I, X271V, X271H, X271M, X271L, X271P, X271A, X271F, X271T, X272F, X272F, X272R, X273F, X273I和X274G。

[0058] 在所述组合物的一个优选方面,所述蛋白酶变体包含总计三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变,优选三个或四个、最优选三个突变,所述突变选自:X1R, X2S, V4R, V4S, X9A, X10S, X14K, X16S, H17R, X18R, X20R, X22A, X22R, X24R, X24W, X25R, X25V, X26F, X42I, X43R, X43A, G46R, X52F, X52E, X52N, T57R, Q59A, X62E, X62Q, X68A, X68C, X71G, X72C, X74C, X75A, X75F, X75R, X76D, X78R, L82R, P86W, X89P, X89T, X89G, X89H, X89I, X89V, X89W, X91N, X94N, X100S, X101A, X101N, X101G, X101D, X103G, X103N, X104L, X104I, X106V, X106G, X108I, X111V, X112V, X115K, X115R, X117F, X118I, X121F, X128D, X128F, X128L, X128N, X129E, X144R, X148I, X158E, X159E, X160D, X166D, X185E, X185I, X186H, X188E, X188D, D197F, X203E, X209S, X209N, X209F, X209T, X209E, X209H, X209G, X210R, X212I, X212F, X214F, X215N, X215D, X215E, X217E, X217N, X224A, X230E, X231I, X236F, X238R, X238K, X239K, X239G, X239R, X239S, X241R, X242R, X242L, X243R, X244R, X248I, X248V, X249R, X250I, X252R, X253R, X262D, X263F, X265F, X267V, X267N, X269I, X269R, X271F, X271I, X271H, X271P, X271T, X271V, X271L和X272F;以及任选地包含下列突变中的一个或多个:X103A, X159D, X236H, X245R, X248D和X252K。

[0059] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含:

[0060] a) 下列突变中的两个或更多个:X1R, X2S, V4R, V4S, X9A, X10S, X14K, X16S, X22A, X22R, X24R, X25V, X26F, X42I, X52F, X52E, X52N, X62E, X62Q, X68A, X68C, X71G, X72C, X74C, X75A, X75F, X78R, X89P, X89T, X89G, X89H, X89W, X91N, X94N, X100S, X101A, X101N, X101G, X101D, X103G, X103N, X104L, X104I, X108I, X111V, X112V, X115K, X117F, X121F, X128D, X128F, X128L, X128N, X129E, X148I, X158E, X159E, X160D, X166D, X185E, X186H, X188E, X188D, X203E, X209S, X209N, X209F, X209T, X209E, X209H, X209G, X210R, X212I, X212F, X214F, X215N, X215D, X215E, X217E, X217N, X224A, X230E, X231I, X236F, X238R, X238K, X239K, X239G, X239R, X248V, X249R, X250I, X262D, X263F, X265F, X267V, X267N, X269I, X269R, X271F, X271I, X271H和X272F;和/或

[0061] b) 下列各组突变中的一个或多个:X062E-X129E, X062E-X159E, X016S-X148I,

X158E-X249R, X016S-X062E, X111V-X188D, X022A-X062E, X062E-X148I, X022A-X129E, X062E-X271F, X062E-X158E, X016S-X159E, X062E-X186H, X128N-X159E, X062E-X188D, X062E-X128N, X148I-X159E, X103G-X158E, X111V-X159E, X158E-X271F, X016S-X188D, X022A-X111V, X128N-X158E, X016S-X158E, X104L-X158E, X128N-X186H, X159E-X209E, X062E-X101A, X111V-X209E, X148I-X188D, X101A-X209E, X022A-X188D, X016S-X022A, X128N-X129E, X016S-X209E, X016S-X128N, X022A-X089P, X128N-X209E, X089P-X158E, X062E-X103G, X186H-X271F, X016S-X129E, X089P-X159E, X111V-X249R, X101A-X129E, X148I-X209E, X022A-X159E, X129E-X249R, X129E-X209E, X104L-X129E, X128N-X188D, X111V-X158E, X022A-X158E, X062E-X209E, X062E-X249R, X101A-X186H, X089P-X129E, X129E-X271F, X22A-X111V-X159E, X101A-X103G-X104L-X209E, X101A-X103G-X104L-X159E, X101A-X103G-X104L-X188D, X101 G-X103A-X104I-X159D, X22A-X103G-X159E, X22A-X128N-X271F-X209E, X22A-X209E-X271F, X22A-X101A-X209E, X101A-X209E-X271F, X22A-X111V-X128N, X22A-X101A-X159E, X101A-X103G-X104L, X22A-X101A-X103G-X104L, X101A-X103G-X104L, X101G-X103A-X104I, X101A-X103G-X104L-X128N, X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X245R-X248D-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D, X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X62E-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R, X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X249R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X24R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X253R, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X249R, X22A-X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X249R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X238R, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X76D和X101G-X103A-X104I-X159E-X232V-X245R-X248D-X271F;相对于具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶,所述变体具有0、-1、-2、-3、-4或-5,优选0、-1、-2或-3的总净电荷。这些蛋白酶变体在低离子强度或低洗涤剂浓度的含水洗涤液体中可为尤其优选的。

[0062] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含:

[0063] a) 下列突变中的两个或更多个: X4R, X17R, X18R, X20R, X22R, X24R, X24W, X25R, X43R, X43A, X46R, X52F, X52N, X57R, X59A, X62Q, X71G, X75R, X76D, X78R, X82R, X86W, X89P, X89W, X89T, X89I, X89H, X89V, X104L, X106V, X106G, X115R, X118I, X121F, X144R, X185I, X197F, X209N, X209S, X217E, X231I, X239R, X239S, X241R, X242R, X242L, X243R, X244R, X248I, X249R, X252R, X253R, X271T, X271V, X271L, X271H, X271F, X271P, X1R, X9A, X212F和X269R;和/或

[0064] b) 下列各组突变中的一个或多个: X022R-X024R, X009A-X271L, X018R-X241R, X018R-X115R, X043R-X249R, X020R-X249R, X004R-X249R, X020R-X024R, X018R-X249R, X009A-X020R, X020R-X241R, X009A-X078R, X020R-X115R, X018R-X024R, X024R-X242R, X022R-X115R, X018R-X043R, X020R-X043R, X018R-X242R, X242R-X269R, X018R-X244R, X024R-X269R, X020R-X271L, X024R-X271L, X004R-X009A, X020R-X269R, X001R-X024R, X244R-X271L, X009A-X018R, X241R-X271L, X004R-X024R, X009A-X249R, X009A-X022R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X271F, X101G-X103A-X104I-X158E-X232V-X245R-X248D-X249R, X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248D-X24R, X101G-X103A-X104L-X159D-X232V-X236H-X245R-X252K, X101G-X103A-X104L-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K; 相对于具有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶 GG36 蛋白酶, 所述蛋白酶变体具有 0、-1、-2、-3、-4 或 -5 的总净电荷, 优选具有总正净电荷, 最优选 +1、+2 或 +3。这些蛋白酶变体在高离子强度或高洗涤剂浓度的含水洗涤液体中可为尤其优选的。

[0065] 在一个方面, 所述亲本蛋白酶能够为选自: 可商购获得的酶, 其产自 Novozymes A/S (Denmark) 商品名为 Savinase[®]、Polarzyme[®]、Kannase[®]、Liquanase[®]、Liquanase Ultra[®]、Savinase Ultra[®]、Ovozyme[®]、产自 Genencor International 以商品名 Maxacal[®]、Properase[®]、Purafect[®]、FN3[®]、FN4[®]、Excellase[®]、和 Purafect OXP[®] 销售的那些和购自 Henkel/Kemira, 名为 BLAP (序列如 US 5,352,604 的图 29 所示, 带有下列突变 S99D+S101R+S103A+V104I+G159S, 以下简称为 BLAP) 和 BLAP X (BLAP 带有 S3T+V4I+V205I) 的那些。

[0066] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含蛋白酶变体 (例如, 枯草杆菌蛋白酶变体), 其亲本具有蛋白分解的活性, 所述蛋白酶变体包含氨基酸序列其与如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列差异不超过 50 个、不超过 40 个、不超过 35 个、不超过 30 个、不超过 25 个、不超过 20 个、不超过 19 个、不超过 18 个、不超过 17 个、不超过 16 个、不超过 15 个、不超过 14 个、不超过 13 个、不超过 12 个、不超过 11 个、不超过 10 个、不超过 9 个、或不超过 8 个氨基酸残基, 其中氨基酸位置根据在 SEQ ID NO:2 中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶 BPN' 氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号, 其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶 BPN' 氨基酸序列的比对所确定, 其中所述枯草杆菌蛋白酶变体包含下列各组取代之一:

[0067] (a) X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X236H-X245R-X248D-X252K; 或

[0068] (b) X87N; 或

[0069] (c) X87N-S101G-V104N; 或

[0070] (d) X76D, X103A-X104I; 或

[0071] (e) Y167A-R170S-A194P; 或

[0072] (f) X87N-G118V-X129Q-X130A

[0073] 在所述组合物的一个方面, 所述助剂材料可包含选自下列的成分: 包含香料的包封物、调色剂、表面活性剂、助洗剂、螯合剂、染料转移抑制剂、分散剂、附加的酶、酶稳定剂、催化材料、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预制过酸、聚合物分散剂、粘土垢移除/抗再

沉积剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构增弹剂、织物软化剂、载体、水溶助长剂、加工助剂、溶剂、颜料以及它们的混合物。

[0074] 在所述组合物的一个方面,所述组合物可包含选自下列的助剂材料:

[0075] a) 香料包封物;

[0076] b) 织物调色剂;

[0077] c) 冷水可溶的增白剂;

[0078] d) 漂白催化剂,其可包含金属催化剂如过渡金属催化剂,或更优选,选自下列的材料:亚胺鎓阳离子、亚胺鎓聚离子;亚胺鎓两性离子;改性的胺;改性的氧化胺;N-磺酰基亚胺;N-膦酰基亚胺;N-酰基亚胺;噻二唑二氧化物;全氟亚胺;环状糖酮类以及它们的混合物;

[0079] e) 第一洗涤脂肪酶;

[0080] f) 细菌清洁纤维素酶;

[0081] g) Guerbet非离子表面活性剂;以及

[0082] h) 它们的混合物。

[0083] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列突变中的一个或多个、或甚至两个或更多个:A001R,Q002S,Q002M,Q002A,Q002R,Q002W,S003R,V004R,V004S,V004C,I008A,S009A,S009F,S009W,R010S,R010A,R010H,R010M,Q012F,Q012R,P014K,P014F,P014Q,A015R,A015F,A016S,H017R,H017M,H017F,N018R,N018K,G020F,G020K,G020R,T022A,T022R,T022Y,T022V,T022Q,T022L,T022W,G023A,G023S,G023F,S024R,S024F,S024W,S024Q,S024H,S024L,G025V,G025F,G025R,V026F,K027L,K027F,K027R,K027V,V028A,V028N,V028E,A029T,V030E,L031F,T033S,T033G,T033D,G034P,I035M,S036T,S036F,S036R,T038L,T038F,T038R,P040N,P040L,P040T,P040W,P040H,P040R,L042I,N043A,N043F,N043I,N043S,N043R,N043M,N043W,N043D,R045T,G046R,A048R,F050C,V051W,V051F,V051H,P052F,P052E,P052N,P055Y,T057R,Q059A,Q059F,Q059R,D060P,D060Q,D060A,N062E,N062Q,G063V,G063M,G063T,G063I,G063A,G063S,G063H,G063Q,G063D,G063E,G063P,H064F,H064T,V068A,V068C,A069N,A069T,A069P,A069W,T071G,I072C,A074C,L075A,L075F,L075E,L075R,N076D,S078R,S078N,S078I,I079W,I079Q,V081R,L082F,L082T,L082V,L082R,L082M,A085M,P086W,P086L,P086I,E089P,E089T,E089G,E089H,E089L,E089V,E089W,E089F,E089I,Y091N,Y091F,A092F,K094N,S099F,S099T,S099P,S099G,S099M,G100S,G100N,G100Q,G100I,S101A,S101N,S101G,S101T,S101D,S101E,S101P,S101F,G102A,G102T,G102N,G102H,G102E,S103G,S103N,S103D,S103A,V104L,V104I,V104E,V104D,S105T,S105E,S105Q,S106G,S106T,S106E,S106D,S106A,S106V,S106F,I107M,I107F,A108I,A108G,Q109M,L111V,L111I,E112V,E112L,E112Q,A114G,G115K,G115R,N116K,N116A,N116L,N117F,G118R,G118I,M119C,H120A,H120F,H120R,V121F,V121E,N123G,N123E,L124S,S128D,S128F,S128L,S128N,S128H,S128M,S128I,S128Q,P129E,S132A,S132E,A138G,S144R,V147L,L148I,A158E,G159D,G159E,G159C,S160D,S166D,S166E,Y167W,M175V,V177C,D181A,Q182R,N183I,N183D,N183M,N183F,N183R,N185E,N185V,N185I,R186H,R186K,S188E,S188D,S188R,Y192H,Y192W,A194E,A194V,A194F,D197F,I198L,I198F,V203E,V203C,T208S,Y209S,Y209N,

Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, Y209L, P210R, P210V, P210L, G211Q, G211R, S212I, S212M, S212F, T213A, Y214F, A215N, A215D, A215E, A215H, A215F, S216F, S216A, L217E, L217N, L217D, N218D, N218P, N218E, T224A, T224G, V227I, A230E, A231I, A231C, A232V, L233C, V234F, K235F, Q236F, Q236N, Q236H, N238R, N238K, N238L, P239K, P239G, P239R, P239H, P239T, P239N, P239S, P239F, S240R, W241R, S242L, S242R, N243F, N243R, V244R, Q245R, I246S, N248D, N248V, N248I, N248R, H249R, H249T, L250I, K251R, K251S, N252I, N252F, N252R, N252K, N252H, T253I, T253R, T253F, A254C, S256N, G258R, T260V, T260I, L262D, L262H, Y263F, S265F, L267V, L267N, L267M, N269I, N269R, A270C, E271I, E271V, E271H, E271M, E271L, E271P, E271A, E271F, E271T, A272F, A272F, A272R, A273F, A273I和 T274G。

[0084] 在所述组合物的一个优选的方面,所述蛋白酶变体包含下列突变中的一个或多个、或甚至两个或更多个:A1R, Q2S, V4R, V4S, S9A, R10S, P14K, A16S, H17R, N18R, G20R, T22A, T22R, S24R, S24W, G25R, G25V, V26F, L42I, N43R, N43A, G46R, P52F, P52E, P52N, T57R, Q59A, N62E, N62Q, V68A, V68C, T71G, I72C, A74C, L75A, L75F, L75R, N76D, S78R, L82R, P86W, E89P, E89T, E89G, E89H, E89I, E89V, E89W, Y91N, K94N, G100S, S101A, S101N, S101G, S101D, S103G, S103N, V104L, V104I, S106V, S106G, A108I, L111V, E112V, G115K, G115R, N117F, G118I, V121F, S128D, S128F, S128L, S128N, P129E, S144R, L148I, A158E, G159E, S160D, S166D, N185E, N185I, R186H, S188E, S188D, D197F, V203E, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, P210R, S212I, S212F, Y214F, A215N, A215D, A215E, L217E, L217N, T224A, A230E, A231I, Q236F, N238R, N238K, P239K, P239G, P239R, P239S, W241R, S242R, S242L, N243R, V244R, N248I, N248V, H249R, L250I, N252R, T253R, L262D, Y263F, S265F, L267V, L267N, N269I, N269R, E271F, E271I, E271H, E271P, E271T, E271V, E271L和A272F,以及任选地包含下列突变中的一个或多个:S103A, G159D, Q236H, Q245R, N248D和N252K。

[0085] 在所述发明的一个优选方面,提供了组合物,所述组合物包含助剂材料和蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个:G020R-N043R, N062E-A158E, S103G-A158E, S128N-A158E, A016S-A158E, V104L-A158E, E089P-A158E, L111V-A158E, T022A-A158E, S101A-A158E, L148I-A158E, P129E-A158E, T022A-E089P, A016S-E089P, N062E-E089P, N062E-E271F, A158E-E271F, R186H-E271F, P129E-E271F, L111V-E271F, Y209E-E271F, A016S-E271F, S188D-E271F, T022A-E271F, G159E-E271F, V104L-E271F, S101A-E271F, E089P-E271F, S128N-E271F, S103G-E271F, L148I-E271F, H249R-E271F, N062E-G159E, A016S-G159E, S128N-G159E, L148I-G159E, L111V-G159E, E089P-G159E, T022A-G159E, P129E-G159E, S103G-G159E, V104L-G159E, A158E-G159E, S101A-G159E, A158E-H249R, L111V-H249R, P129E-H249R, N062E-H249R, A016S-H249R, R186H-H249R, L148I-H249R, G159E-H249R, S101A-H249R, S188D-H249R, V104L-H249R, Y209E-H249R, T022A-H249R, S128N-H249R, S103G-H249R, E089P-H249R, T022A-L111V, S101A-L111V, A016S-L111V, V104L-L111V, N062E-L111V, S103G-L111V, E089P-L111V, A016S-L148I, N062E-L148I, T022A-L148I, P129E-L148I, V104L-L148I, S103G-L148I, S128N-L148I, S101A-L148I, E089P-L148I, L111V-L148I, A016S-N062E, T022A-N062E, N062E-P129E, T022A-P129E, S128N-P129E, A016S-P129E, S101A-P129E, V104L-P129E, E089P-

P129E, S103G-P129E, L111V-P129E, N062E-R186H, S128N-R186H, S101A-R186H, T022A-R186H, A016S-R186H, A158E-R186H, E089P-R186H, P129E-R186H, G159E-R186H, S103G-R186H, V104L-R186H, L111V-R186H, L148I-R186H, N062E-S101A, T022A-S101A, A016S-S101A, E089P-S101A, N062E-S103G, T022A-S103G, A016S-S103G, S101A-S103G, E089P-S103G, N062E-S128N, A016S-S128N, T022A-S128N, S101A-S128N, V104L-S128N, E089P-S128N, S103G-S128N, L111V-S128N, L111V-S188D, N062E-S188D, A016S-S188D, L148I-S188D, T022A-S188D, S128N-S188D, S101A-S188D, V104L-S188D, E089P-S188D, P129E-S188D, G159E-S188D, R186H-S188D, S103G-S188D, A158E-S188D, A016S-T022A, A016S-V104L, T022A-V104L, S101A-V104L, N062E-V104L, S103G-V104L, E089P-V104L, G159E-Y209E, L111V-Y209E, S101A-Y209E, A016S-Y209E, S128N-Y209E, L148I-Y209E, P129E-Y209E, N062E-Y209E, T022A-Y209E, S103G-Y209E, A158E-Y209E, S188D-Y209E, V104L-Y209E, E089P-Y209E, R186H-Y209E, N018R-W241R, G020R-W241R, S024R-W241R, S009A-W241R, G020R-W241R, V004R-W241R, N043R-W241R, S078R-W241R, T022R-W241R, G115R-W241R, A001R-W241R, S212F-W241R, L082R-W241R, N018R-V244R, S024R-V244R, S078R-V244R, G020R-V244R, S212F-V244R, S009A-V244R, L082R-V244R, A001R-V244R, N043R-V244R, T022R-V244R, V004R-V244R, G115R-V244R, W241R-V244R, S242R-V244R, A001R-V004R, S009A-T022R, N018R-T022R, G020R-T022R, V004R-T022R, A001R-T022R, S024R-S242R, N018R-S242R, V004R-S242R, G020R-S242R, S212F-S242R, L082R-S242R, S078R-S242R, A001R-S242R, S009A-S242R, T022R-S242R, G115R-S242R, N043R-S242R, W241R-S242R, N018R-S212F, T022R-S212F, V004R-S212F, S024R-S212F, A001R-S212F, G115R-S212F, G020R-S212F, S009A-S212F, N043R-S212F, S078R-S212F, L082R-S212F, S009A-S078R, G020R-S078R, S024R-S078R, T022R-S078R, N018R-S078R, V004R-S078R, A001R-S078R, N043R-S078R, T022R-S024R, G020R-S024R, N018R-S024R, A001R-S024R, V004R-S024R, S009A-S024R, V004R-S009A, A001R-S009A, S242R-N269R, S024R-N269R, G020R-N269R, T022R-N269R, H249R-N269R, S212F-N269R, N043R-N269R, V244R-N269R, A001R-N269R, N018R-N269R, S078R-N269R, S009A-N269R, G115R-N269R, W241R-N269R, V004R-N269R, L082R-N269R, N018R-N043R, G020R-N043R, V004R-N043R, T022R-N043R, S009A-N043R, A001R-N043R, S024R-N043R, S009A-N018R, V004R-N018R, A001R-N018R, S024R-L082R, S009A-L082R, N018R-L082R, A001R-L082R, S078R-L082R, G020R-L082R, T022R-L082R, V004R-L082R, N043R-L082R, N043R-H249R, G020R-H249R, V004R-H249R, N018R-H249R, S009A-H249R, S212F-H249R, T022R-H249R, S024R-H249R, G115R-H249R, A001R-H249R, L082R-H249R, S242R-H249R, W241R-H249R, V244R-H249R, S078R-H249R, N018R-G115R, G020R-G115R, T022R-G115R, S078R-G115R, S009A-G115R, V004R-G115R, A001R-G115R, L082R-G115R, N043R-G115R, S024R-G115R, S009A-G020R, N018R-G020R, V004R-G020R, A001R-G020R, S009A-E271L, G020R-E271L, S024R-E271L, V244R-E271L, W241R-E271L, N043R-E271L, T022R-E271L, H249R-E271L, S212F-E271L, G115R-E271L, S242R-E271L, S078R-E271L, V004R-E271L, N269R-E271L, A001R-E271L, N018R-E271L和L082R-E271L, G020K-N062E, S024F-N116L, G020K-S024F, S024R-A174T, S024R-G118R, S024R-K235F, S024R-P086R, S024R-P086W, S078R-G118R, T033S-G118R, T033S-K235F, Y209A-

W241R, G020R-N076D, N018R-Q245R, S024R-R045T, A232V-Q245R, G118R-A172V, G118R-A194T, I008T-S024R, K235F-N243F, N018R-S103A, N018R-V104I, P086W-G118R, P086W-N243F, P086W-Y209A, S024C-T033S, S024R-A232V, S024R-N243F, S024R-P239Q, S024R-S101G, S024R-S141G, S024R-T033S, S024R-T274I, S024R-Y209A, S078R-P086W, S101G-A232V, T033S-L148F, T033S-P086W, T033S-P201S, T033S-S078R, T033S-W241R, T033S-Y209A, A230E-H249R, A232V-H249R, G118R-K235F, N076D-Q245R, P086W-K235F, S024R-R247H, S024R-V104A, S078R-K235F, S101G-H249R, S103A-A232V, T033S-A048T, T033S-P239T, T033S-T253A, T143A-Y209A, Y209A-K235F, N018R-R045T, Y209A-N243F, S024R-A272P, S024R-R269C, S101G-V104I, V104I-A232V, N076D-H249R和S024R-N076D, G020R-N076D, S024R-R045T, A230E-H249R, N018R-R045T, N018R-Q245R, S101G-A232V, S024R-A232V, A232V-Q245R, S024R-S101G, N018R-V104I, N018R-S103A, S101G-H249R, A232V-H249R, S103A-A232V, N076D-Q245R, S101G-V104I, V104I-A232V, N076D-H249R, S024R-N076D, S024F-N116L, G020K-S024F, G020K-N062E, T033S-G118R, S024R-P086W, S024R-G118R, S024R-P086R, Y209A-W241R, S024R-W241R, S024R-K235F, G118R-Y209A, S078R-G118R, T033S-K235F, S024R-A174T, P086W-Y209A, I008T-S024R, P086W-G118R, T033S-W241R, S024R-N243F, S024R-Y209A, T033S-P086W, S024R-T033S, P086W-N243F, T033S-P201S, S024R-P239Q, S078R-P086W, K235F-N243F, G118R-A172V, T033S-L148F, T033S-S078R, T033S-N243F, S024C-T033S, G118R-A194T, T033S-Y209A, S024R-S141G, S024R-T274I, P086W-K235F, A015T-T033S, Y209A-K235F, S024R-R247H, S078R-K235F, S024R-V104A, T033S-A048T, G118R-K235F, T033S-T253A, T143A-Y209A, T033S-P239T, Y209A-N243F, S024R-A272P和S024R-R269C, 并且其中相对于迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶的总净电荷, 所述变体的总净电荷为0、-1、-2、-3、-4、或-5, 并且其中所述总净电荷任选地通过一个或多个取代获得, 所述取代选自: N43D, R45T, N62E, N76D, S101D, P129E, A158E, G159D, G159E, S166D, S188D, A230E, N18R, G20K, G20R, T22R, S24R, N43R, G118R, Q245R, H249R, N269R, E271F和E271L, 并且其中所述蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO: 2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号, 所述组合物为消费品。

[0086] 在一个优选的实施方案中, 所述组合物包含如上所述的蛋白酶变体, 其中除包含所述限定的各组突变中的一个或多个之外, 相对于通过一个或多个附加的取代的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶 (SEQ ID NO: 1), 所述变体的总净电荷调整为0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4、或-5的总净电荷, 所述取代选自: N43D, R45T, N62E, N76D, S101D, P129E, A158E, G159D, G159E, S166D, S188D, A230E, N18R, G20K, G20R, T22R, S24R, N43R, G118R, Q245R, H249R, N269R, E271F和E271L。在一个优选的实施方案中, 负电荷是通过一个或多个取代而增加的, 所述取代选自: N043D, R045T, N076D和A230E。在一个优选的实施方案中, 正电荷是通过一个或多个取代而增加的, 所述取代选自: G020K, S024R, G118R, Q245R, H249R, E271F和E271L。

[0087] 在优选的组合物中, 所述蛋白酶变体选自具有选自下列各组突变中的一个或多个的蛋白酶变体: G020R-N043R, N062E-A158E, S103G-A158E, S128N-A158E, A016S-A158E, V104L-A158E, E089P-A158E, L111V-A158E, T022A-A158E, S101A-A158E, L148I-A158E,

P129E-A158E,T022A-E089P,A016S-E089P,N062E-E089P,N062E-E271F,A158E-E271F,
R186H-E271F,P129E-E271F,L111V-E271F,Y209E-E271F,A016S-E271F,S188D-E271F,
T022A-E271F,G159E-E271F,V104L-E271F,S101A-E271F,E089P-E271F,S128N-E271F,
S103G-E271F,L148I-E271F,H249R-E271F,N062E-G159E,A016S-G159E,S128N-G159E,
L148I-G159E,L111V-G159E,E089P-G159E,T022A-G159E,P129E-G159E,S103G-G159E,
V104L-G159E,A158E-G159E,S101A-G159E,A158E-H249R,L111V-H249R,P129E-H249R,
N062E-H249R,A016S-H249R,R186H-H249R,L148I-H249R,G159E-H249R,S101A-H249R,
S188D-H249R,V104L-H249R,Y209E-H249R,T022A-H249R,S128N-H249R,S103G-H249R,
E089P-H249R,T022A-L111V,S101A-L111V,A016S-L111V,V104L-L111V,N062E-L111V,
S103G-L111V,E089P-L111V,A016S-L148I,N062E-L148I,T022A-L148I,P129E-L148I,
V104L-L148I,S103G-L148I,S128N-L148I,S101A-L148I,E089P-L148I,L111V-L148I,
A016S-N062E,T022A-N062E,N062E-P129E,T022A-P129E,S128N-P129E,A016S-P129E,
S101A-P129E,V104L-P129E,E089P-P129E,S103G-P129E,L111V-P129E,N062E-R186H,
S128N-R186H,S101A-R186H,T022A-R186H,A016S-R186H,A158E-R186H,E089P-R186H,
P129E-R186H,G159E-R186H,S103G-R186H,V104L-R186H,L111V-R186H,L148I-R186H,
N062E-S101A,T022A-S101A,A016S-S101A,E089P-S101A,N062E-S103G,T022A-S103G,
A016S-S103G,S101A-S103G,E089P-S103G,N062E-S128N,A016S-S128N,T022A-S128N,
S101A-S128N,V104L-S128N,E089P-S128N,S103G-S128N,L111V-S128N,L111V-S188D,
N062E-S188D,A016S-S188D,L148I-S188D,T022A-S188D,S128N-S188D,S101A-S188D,
V104L-S188D,E089P-S188D,P129E-S188D,G159E-S188D,R186H-S188D,S103G-S188D,
A158E-S188D,A016S-T022A,A016S-V104L,T022A-V104L,S101A-V104L,N062E-V104L,
S103G-V104L,E089P-V104L,G159E-Y209E,L111V-Y209E,S101A-Y209E,A016S-Y209E,
S128N-Y209E,L148I-Y209E,P129E-Y209E,N062E-Y209E,T022A-Y209E,S103G-Y209E,
A158E-Y209E,S188D-Y209E,V104L-Y209E,E089P-Y209E,R186H-Y209E,N018R-W241R,
G020R-W241R,S024R-W241R,S009A-W241R,G020R-W241R,V004R-W241R,N043R-W241R,
S078R-W241R,T022R-W241R,G115R-W241R,A001R-W241R,S212F-W241R,L082R-W241R,
N018R-V244R,S024R-V244R,S078R-V244R,G020R-V244R,S212F-V244R,S009A-V244R,
L082R-V244R,A001R-V244R,N043R-V244R,T022R-V244R,V004R-V244R,G115R-V244R,
W241R-V244R,S242R-V244R,A001R-V004R,S009A-T022R,N018R-T022R,G020R-T022R,
V004R-T022R,A001R-T022R,S024R-S242R,N018R-S242R,V004R-S242R,G020R-S242R,
S212F-S242R,L082R-S242R,S078R-S242R,A001R-S242R,S009A-S242R,T022R-S242R,
G115R-S242R,N043R-S242R,W241R-S242R,N018R-S212F,T022R-S212F,V004R-S212F,
S024R-S212F,A001R-S212F,G115R-S212F,G020R-S212F,S009A-S212F,N043R-S212F,
S078R-S212F,L082R-S212F,S009A-S078R,G020R-S078R,S024R-S078R,T022R-S078R,
N018R-S078R,V004R-S078R,A001R-S078R,N043R-S078R,T022R-S024R,G020R-S024R,
N018R-S024R,A001R-S024R,V004R-S024R,S009A-S024R,V004R-S009A,A001R-S009A,
S242R-N269R,S024R-N269R,G020R-N269R,T022R-N269R,H249R-N269R,S212F-N269R,
N043R-N269R,V244R-N269R,A001R-N269R,N018R-N269R,S078R-N269R,S009A-N269R,
G115R-N269R,W241R-N269R,V004R-N269R,L082R-N269R,N018R-N043R,G020R-N043R,

V004R-N043R, T022R-N043R, S009A-N043R, A001R-N043R, S024R-N043R, S009A-N018R, V004R-N018R, A001R-N018R, S024R-L082R, S009A-L082R, N018R-L082R, A001R-L082R, S078R-L082R, G020R-L082R, T022R-L082R, V004R-L082R, N043R-L082R, N043R-H249R, G020R-H249R, V004R-H249R, N018R-H249R, S009A-H249R, S212F-H249R, T022R-H249R, S024R-H249R, G115R-H249R, A001R-H249R, L082R-H249R, S242R-H249R, W241R-H249R, V244R-H249R, S078R-H249R, N018R-G115R, G020R-G115R, T022R-G115R, S078R-G115R, S009A-G115R, V004R-G115R, A001R-G115R, L082R-G115R, N043R-G115R, S024R-G115R, S009A-G020R, N018R-G020R, V004R-G020R, A001R-G020R, S009A-E271L, G020R-E271L, S024R-E271L, V244R-E271L, W241R-E271L, N043R-E271L, T022R-E271L, H249R-E271L, S212F-E271L, G115R-E271L, S242R-E271L, S078R-E271L, V004R-E271L, N269R-E271L, A001R-E271L, N018R-E271L和L082R-E271L。

[0088] 在另一方面,发明人发现优选的蛋白酶包含至少一个、或甚至两个或更多个选自下列的带电突变(charged mutation): N062E, S101D, P129E, A158E, G159D/E, S166D, 和/或 S188D。此类蛋白酶作为掺入洗涤剂组合物是尤其优选的,其适于加入水中制备洗涤液体,优选具有低离子强度或低洗涤剂浓度。因此,在本发明的一个优选方面,这些蛋白酶将形成洗涤剂组合物的一部分,其加入水中,对于手洗或者机洗方法,通常在洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm。

[0089] 在另一方面此类蛋白酶,其包含至少一个、或甚至两个或更多个选自N062E, S101D, P129E, A158E, G159D/E, S166D, 和/或S188D的带电突变,并且相对于SEQ ID NO:1的酶具有0、-1、-2、-3、-4或-5,优选0、-1、-2或-3,最优选-1或-2的电荷。达到所需净电荷的优选的突变包含一个、两个或更多个选自G20K, S024R, G118R, Q245R, H249R和E271F/L的突变。

[0090] 根据本发明,在本发明中使用的尤其优选的蛋白酶:

[0091] (a) 包含一个或多个选自N062E, S101D, P129E, A158E, G159D/E, S166D, 和/或S188D的带电突变;和/或

[0092] (b) 相对于SEQ ID NO:1的酶具有0、-1、-2、-3、-4或-5,优选0、-1、-2或-3,最优选-1或-2的电荷;和/或

[0093] (c) 包含一个、两个、三个或更多个突变以达到期望的净电荷,其选自包含G20K, S024R, G118R, Q245R, H249R, 和/或E271F/L的组。

[0094] 通过“突变以达到期望的净电荷”旨在表示当所述酶的变体和迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶相比时,相对于迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36,通过选择一个或多个进一步突变、优选选自己鉴定的突变,例如在以上(c)中所列出的,所述变体的总净电荷能调节到优选的范围内。

[0095] 优选,这些优选的蛋白酶形成洗涤剂组合物的一部分,其加入水中,对于手洗或者机洗方法,通常在洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm。

[0096] 不受理论的束缚,据信通过在低离子强度、或包含低洗涤剂浓度的洗涤液体条件下确保分子电荷优化,这些以达到期望净电荷的突变提供了增强的总体蛋白酶性能-只有通过特定突变的仔细组合,其中这些突变是优选的,才能获得此类优选的蛋白酶。

[0097] 在另一方面,发明人发现优选的蛋白酶包含至少一个或两个或更多个选自N018R,G020K/R,T022R,S024R,N043R,Q245R,H249R,和/或N269R的带电突变。此类蛋白酶对于掺入洗涤剂组合物是尤其优选的,所述组合物将加入水中以制备洗涤液体,优选具有高离子强度或高洗涤剂浓度。例如这些蛋白酶形成洗涤剂组合物的一部分,其加入水中,对于手洗或者机洗方法,通常在洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为高于约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm。

[0098] 在另一方面此类蛋白酶包含至少一个、或两个或甚至更多个选自N018R,G020K/R,T022R,S024R,N043R,Q245R,H249R,和/或N269R的带电突变,并且相对于SEQ ID NO:1的酶具有0、+1、+2、+3、+4或+5,优选+1、+2或+3,最优选+2的电荷。达到期望净电荷的优选的优选突变包含一个、两个或更多个选自下列的突变:N043D,R045T,N076D,和/或A230E。

[0099] 尤其优选的蛋白酶:

[0100] (a) 包含一个或两个或更多个选自N018R,G020K/R,T022R,S024R,N043R,Q245R,H249R,和/或N269R的带电突变;和/或

[0101] (b) 相对于SEQ ID NO:1的酶具有0、+1、+2、+3、+4或+5,优选+1、+2或+3,最优选+2的电荷;和/或

[0102] (c) 包含达到期望的净电荷的突变,其选自:N043D,R045T,N076D,和/或A230E。

[0103] 优选,这些蛋白酶形成洗涤剂组合物的一部分,其加入水中,对于手洗或者机洗方法,通常在洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为高于约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm。

[0104] 不受理论的束缚,据信在高离子强度、或高洗涤剂浓度条件下,这些以达到期望净电荷的突变提供了增强的总体蛋白酶性能;只有通过特定突变的仔细组合(其中这些突变是优选的)才能获得此类优选的蛋白酶。

[0105] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个、优选两个或更多个、或三个或更多个:T022R-S024R,S009A-E271L,N018R-W241R,N018R-G115R,N043R-H249R,G020R-H249R,V004R-H249R,G020R-S024R,N018R-H249R,S009A-G020R,G020R-W241R,S009A-S078R,G020R-G115R,N018R-S024R,S024R-S242R,T022R-G115R,N018R-N043R,G020R-N043R,N018R-S242R,S242R-N269R,N018R-V244R,S024R-N269R,G020R-E271L,S024R-E271L,V004R-S009A,G020R-N269R,A001R-S024R,V244R-E271L,S009A-N018R,W241R-E271L,V004R-S024R,S009A-H249R,S009A-T022R,N062E-P129E,N062E-G159E,A016S-L148I,A158E-H249R,A016S-N062E,L111V-S188D,T022A-N062E,N062E-L148I,T022A-P129E,N062E-E271F,N062E-A158E,A016S-G159E,N062E-R186H,S128N-G159E,N062E-S188D,N062E-S128N,L148I-G159E,S103G-A158E,L111V-G159E,A158E-E271F,A016S-S188D,T022A-L111V,S128N-A158E,A016S-A158E,V104L-A158E,S128N-R186H,G159E-Y209E,N062E-S101A,L111V-Y209E,L148I-S188D,S101A-Y209E,T022A-S188D,A016S-T022A,S128N-P129E,A016S-Y209E,A016S-S128N,T022A-E089P,S128N-Y209E,E089P-A158E,N062E-S103G,R186H-E271F,A016S-P129E,E089P-G159E,L111V-H249R,S101A-P129E,L148I-Y209E,T022A-G159E,P129E-H249R,P129E-Y209E,V104L-P129E,S128N-S188D,L111V-A158E,T022A-A158E,N062E-Y209E,N062E-H249R,S101A-R186H,E089P-P129E,P129E-E271F,T22A-L111V-G159E,S101A-S103G-V104L-

Y209E, S101A-S103G-V104L-G159E, S101A-S103G-V104L-S188D, S101G-S103A-V104I-G159D, T22A-S103G-G159E, T22A-S128N-E271F-Y209E, T22A-Y209E-E271F, T22A-S101A-Y209E, S101A-Y209E-E271F, T22A-L111V-S128N, T22A-S101A-G159E, S101A-S103G-V104L, T22A-S101A-S103G-V104L, S101A-S103G-V104L, S101G-S103A-V104I, S101A-S103G-V104L-S128N, S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D和S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F。

[0106] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: G020K-G023A-N043W-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D, G020K-G023A-N062E-N116L, G020K-G023A-N062E-N116L-S188D, G020K-G023A-N062E-N116L-S188D-T213A, G020K-G100S-N116L-A158E-S166D-N243F, G020K-N043W-N062E-N116L-S188D, G020K-N062E, G020K-N062E-N116L, G020K-N062E-N116L-S188D, G020K-N062E-N116L-T213A, G020K-N062E-S188D-T213A, G020K-S024F-N062E-N116L-G118R-S188D, G020K-S024F-N062E-N116L-S188D, G020K-S024F-N062E-S188D-T213A, G023A-N062E-N116L-S188D, G023A-S024F-N062E-N116L-T213A, N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, N043W-N062E-N116L, N043W-S101D-S212M-N243F, N062E-N116L-G118R-S188D, N062E-N116L-G118R-T213A, N062E-N116L-S188D-T213A, S024F-G118R-S128I-P129E-G159D, S024F-N062E-N116L-S188D, S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-

A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101D-S103N-N116L-S144R-A215D,S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F,T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F,T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D,T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D,T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F,T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F,T022L-T038F-A048R-N062E-G100S-R186K,T033S-N043W-N218D-P239G-N243F,V026F-A048R-S105T-T213A-N218D-T224A,V026F-L031F-S078N-G102A-S160D,V026F-V051W-V104L-S106E,V104L-S105T-T213A-L217E-S256N,A016S-N062E-A158E-H249R,A016S-N062E-A158E-R186H-E271F,A016S-N062E-A158E-R186H-H249R,A016S-N062E-V104L-A158E-R186H-E271F,A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,G020K-G023A-N062E-S188D,G020K-G023A-S024F-N062E-G118R-S188D-T213A,G020K-N043W-N062E-N116L-S188D-T213A-P239G,G020K-S024F-N062E-S188D-P239G,G023A-N062E-N116L-G118R,G023A-N062E-N116L-G118R-S188D-P239G,G023A-S024F-N062E-N116L-G118R,H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F,N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,N062E-A158E-G159E-H249R,N062E-A158E-H249R,N062E-A158E-R186H-E271F,N062E-A158E-R186H-H249R,N062E-A158E-R186H-H249R-E271F,N062E-A158E-S188D-H249R,N062E-A158E-S188D-H249R-E271F,N062E-G159E-H249R,N062E-G159E-H249R-E271F,N062E-G159E-R186H-H249R,N062E-G159E-S188D-H249R,N062E-R186H-S188D-H249R-E271F,N062E-S101A-A158E-H249R,N062E-S101A-A158E-R186H-E271F,N062E-S101A-A158E-R186H-H249R-E271F,N062E-S101A-G159E-H249R,N062E-S101A-R186H-H249R,N062E-S101A-S188D-H249R,N062E-S101A-S188D-H249R-E271F,N062E-S101A-V104L-A158E-R186H-E271F,N062E-S128N-A158E-G159E-E271F,N062E-V104L-A158E-S188D-H249R-E271F,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R,S024F-N062E-N116L-P239G,S024F-N062E-S188D-T213A,S024F-N116L,S024R-N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-

A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D, S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F-E271F, S101A-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101A-S128N-A158E-R186H-E271F, S101A-S128N-A158E-Y209E-H249R, S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222Q-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R, S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103G-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S128N-A158E-G159E-E271F, S128N-A158E-H249R, S128N-A158E-R186H-E271F, S128N-A158E-R186H-H249R, S128N-A158E-R186H-S188D-E271F, S128N-A158E-S188D-E271F, S128N-A158E-S188D-H249R, S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F, S128N-A158E-Y209E-, T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-N062E-A158E, T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F, T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-

P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D, T022A-S024R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F, T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S128N-A158E-H249R, V104L-S128N-A158E-H249R, V104L-S128N-A158E-R186H-E271F, V104L-S128N-A158E-R186H-H249R, 和/或V104L-S128N-A158E-S188D-H249R。这些蛋白酶变体对用于处理和/或清洁表面的方法是高度优选的,其中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;以及(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有低离子强度和/或低洗涤剂浓度。

[0107] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: A016S-N062E-A158E-H249R-E271F, A016S-N062E-S128N-R186H-E271F, A016S-N062E-V104L-R186H-S188D-E271F, A016S-S101A-S128N-R186H, A016S-S128N-A158E-R186H, A016S-V104L-A158E-R186H-E271F, A016S-V104L-S188D-H249R, A158E-R186H-H249R, A158E-R186H-S188D-H249R-E271F, G020K-G023A-N116L-S188D, G020K-G023A-S024F-N062E-N116L-S188D-T213A, G020K-N043W-N062E-N116L-P239G, G020K-S024F-N043W-N062E-N116L-T213A, G020K-S024F-N062E, G023A-N043W-N062E-N116L-G118R-T213A, G023A-T038F-S078N-G100S-S212M-A215D, G100S-N116L-A158E-T213A, G102A-S103N-S105T-A194E, H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, N043W-N062E-N116L-S188D, N062E-A158E-H249R-E271F, N062E-A158E-R186H-S188D-H249R, N062E-L148I-G159E, N062E-N116L-S188D, N062E-R186H-H249R, N062E-S078N-G102A-N116L-S144R-L250I, N062E-S101A-A158E-R186H-H249R, N062E-S101A-

A158E-S188D-H249R,N062E-S101A-R186H,N062E-S101A-R186H-E271F,N062E-S101A-R186H-H249R-E271F,N062E-S101A-R186H-S188D-E271F,N062E-S101A-R186H-S188D-H249R,N062E-S101A-V104L-R186H-S188D-E271F,N062E-S128N-A158E,N062E-S128N-G159E-H249R,N062E-S188D-P239G,N062E-V104L-G159E-H249R,N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,N076D-S101G-S103A-V104I-A114V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R,S024F-A048R-G118R-S166D-L217E,S024F-N062E-N116L,S024F-N062E-N116L-T213A-P239G,S024F-N062E-S188D-P239G,S024F-S101D-G118R-A215D-L250I-A272F,S024R-K027R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D,S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S078N-V104L-G118R-S128D,S101A-A158E-R186H-H249R,S101A-A158E-R186H-S188D-H249R,S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,S101A-S103G-A158E-R186H-H249R,S101A-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101A-S103S-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101A-S128N-A158E-H249R,S101A-S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F,S101A-S128N-A158E-Y209E,S101A-S128N-P129E-R186H-H249R,S101A-V104L-A158E-R186H-H249R,S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-E271F,S101A-V104L-S128N-A158E-R186H-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D,S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D,S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D,S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R,S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D,S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D,S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-

N238R-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-S128L-S130A-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103S-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-N043R-N062E-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-N043R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F, T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F, T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F, T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D, T022A-N043R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-S024R-N043R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F, T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-S128I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F, T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F, T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-S101A-A158E-R186H-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-

Q245R-N248D-H249R, T022A-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N248D, T022L-L031F-G102A-S128D-T224A-N243F, T022L-T038F-V121F-S160D-A272F, V026F-S078N-G159C-R186K-N243F, V104L-A158E-H249R, V104L-A158E-R186H-H249R, V104L-A158E-R186H-H249R-E271F, V104L-A158E-R186H-S188D-H249R, V104L-A158E-R186H-S188D-H249R-E271F, V104L-A158E-S188D-H249R-E271F, V104L-S128N-A158E-R186H-S188D-E271F, V104L-S128N-G159E-E271F, V104L-S128N-R186H-S188D-H249R, 和/或V121F-N185E-T224A-P239G。这些蛋白酶变体对于处理和/或清洁表面的方法是优选的变体,其中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;和(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有低离子强度和/或低洗涤剂浓度。

[0108] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: A016S-S128N-R186H-E271F, N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271G, S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, T022A-S101G-G102A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F, A016S-A158E-H249R, A016S-A158E-H249R-E271F, A016S-A158E-R186H-H249R, A016S-L111V-S188D-, A016S-T022A-A158E-R186H-E271F, A048R-S078N-N116L-N185E-L217E-P239G, A048R-S128D-N185E-P239G, A158E-R186H-H249R-E271F, E089P-S101A-P129E-R186H, G020K-G023A-N043W-N116L-S188D-T213A-P239G, G020K-G023A-N062E-N116L-G118R-T213A, G020K-G023A-S024F-N062E-S188D-T213A-P239G, G020K-K027R-P129E-S166D-P239G, G020K-S024F-N062E-P239G, G020K-S024F-T033S-P129E-A194E, G023A-G100S-A194E-S212M, G023A-N043W-N116L-G118R-S188D, G023A-S024F-G118R-S188D-P239G, G023A-S024F-K027R-N062E, G023A-S024F-N043W-N062E-N116L-G118R, G023A-S024F-N116L-G118R-S188D-T213A, G023A-S024F-N116L-S188D-P239G, K027R-G100S-G118R-S160D-S188D-N243F, K027R-S101D-S103N-S105T-A272F, N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, N062E-S078N-N116L-T224A, N062E-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R, N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, S024F-G102A-R186K-T213A-L217E-N243F, S024F-N043W-G118R-S188D, S024F-N043W-V104L-V121F-P129E, S024F-N116L-G118R-S188D-P239G, S024F-S103N-V104L-G118R-S188D, S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F, S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D, S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-

P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D, S101A-L111V-P129E, S101A-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101A-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101A-V104L-S128N-A158E-R186H, S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101S-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S128N-P129E-R186H, T022A-A158E-R186H-H249R-E271F, T022A-S024K-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T022A-S024R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-A232V-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-A232V-Q245R-N248D, T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D, T022A-S128N-A158E-R186H, T022A-S128N-R186H-S188D-, T022A-V104L-A158E-H249R, T022A-V104L-R186H-S188D-H249R, T022L-G023A-K027R-S101D-V104L-S216F, T022L-S078N-N116L-P129E-S256N, T022L-S078N-S128D-T213A, T033S-G118R-P129E-A194E-P239G, T033S-S105T-S188D-S216F, V026F-V104L-S256N-A272F, T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D, T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D, T022A-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F, T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F, 和/或T022A-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F。这些蛋白酶变体尤其可用于处理和/或清洁表面的方法中,其中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;和(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有低离子强度和/或低洗涤剂浓度。

[0109] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: G118R-Y209A, G118R-Y209A-N243F, L021M-S024R-T033S, P005S-S078R-G118R-W241R, P086W-G118R-A133V, P086W-G118R-N243F, P086W-G118R-Y209A, P086W-Y209A-N243F, S024R-A174T, S024R-G118R, S024R-G118R-Y209A, S024R-G118R-Y209A-K235F, S024R-G118R-Y209A-N243F, S024R-K235F, S024R-P086R, S024R-P086S-S141G, S024R-P086W, S024R-P086W-G118R, S024R-P086W-G118R-V203I, S024R-P086W-N243F, S024R-P086W-Y209A, S024R-S078R-P086W, S024R-S078R-P086W-G118R-A270T, S024R-S078R-P086W-N243F, S024R-T033S-A133V, S024R-T033S-G118R, S024R-T033S-P086S-S085N-K235F, S024R-T033S-P086S-S087N-Y209A, S024R-T033S-P086W, S024R-T033S-P086W-G118R, S024R-T033S-S078R-P086W, S024R-T033S-S078R-P086W-G118R, S024R-T033S-S078R-Y209A, S024R-T033S-W241R, S024R-T033S-Y209A-K235F, S024R-Y209A-W241R, S078R-G118R, S078R-P086W-K235F, S078R-P086W-N243F, S078R-P086W-Y209A, S078R-Y209A-K235F, T033S-A172V-Y209A, T033S-G118R, T033S-G118R-G159D-Y209A, T033S-G118R-N243F, T033S-G118R-W241R, T033S-G118R-Y209A-N243F, T033S-K235F, T033S-P086W-G118R, T033S-P086W-G118R-Y209A-N243F, T033S-P086W-N243F, T033S-S078R-P086W,

T033S-S078R-P086W-G118R-Y209A, T033S-S078R-Y209A, T033S-Y209A-N243F, Y209A-W241R, A001R-S009A-N043R, A001R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, A001T-N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R, A194F-G211Q-Q236N, E089I-N116A-N117F-T224A-H249R, G020R-G025R-N116A-Y167W, G020R-H249R-N269R, G020R-N043D-N076D-A230E-H249R, G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-N043R-A230E, G020R-N043R-A230E-S242R, G020R-N043R-E271L, G020R-N043R-H249R, G020R-N043R-H249R-E271L, G020R-N043R-N269R, G020R-N043R-R045T-A230E, G020R-N043R-R045T-S101A-N269R, G020R-N043R-R045T-S242R, G020R-N043R-S101A-N116A-T213A-A215F, G020R-N043R-S101A-N269R, G020R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-N043R-S212F, G020R-N043R-S212F-W241R, G020R-N043R-S242R, G020R-N043R-S242R-E271L, G020R-N043R-S242R-H249R, G020R-N043R-V244R, G020R-N043R-W241R, G020R-N062Q-E089I-R186K-S212M, G020R-N076D, G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-N116A-N269R, G020R-P052N-N062Q-Y091F-Y192W, G020R-Q059A-S144R-Y192W-T224A, G020R-S024R-K27E-N043R-N076D-A230E, G020R-S024R-N043D-H249R, G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-N043D-S242R, G020R-S024R-N043R-R045T, G020R-S024R-N043R-R045T-H249R, G020R-S024R-N043R-R045T-N116A, G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A, G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-N269R, G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-T213A, G020R-S024R-N043R-S242R, G020R-S024R-N076D-H249R, G020R-S024R-N116A, G020R-S024R-N116A-A215F, G020R-S024R-N116A-T213A, G020R-S024R-N116A-T213A-A215F, G020R-S024R-P052N-Q059A-S216F, G020R-S024R-R045T-A230E-S242R, G020R-S024R-R045T-N116A-N269R, G020R-S024R-R045T-N269R, G020R-S024R-S101A-A215F, G020R-S024R-S101A-N116A, G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-H249R, G020R-S024R-S242R-H249R, G020R-S024R-T213A, G020R-S024R-T213A-A215F, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R, G020R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S101A-N116A-N269R, G020R-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104I-G118R-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104V-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103S-V104I-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103S-V104V-A232V-Q245R, G020R-S101G-I198L-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101G-S103A-V104I-T213A-

A215F-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104V-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103G-V104I-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103S-V104I-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103S-V104L-A232V-Q245R,G020R-S101G-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103A-V104V-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103G-V104I-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103G-V104V-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103S-V104I-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103S-V104L-A232V-Q245R,G020R-S101S-S103S-V104V-A232V-Q245R,G020R-S103N-S216F-Q236N-N252R,G020R-S144R-N185I-L233C-Q236N,G020R-S212F-H249R,G020R-S242R-N269R,G020R-T022R-E271L,G020R-T022R-N043R,G020R-T022R-N043R-S212F,G020R-T022R-N043R-W241R,G020R-T022R-S024R-S242R,G020R-T022R-S078R-S242R,G020R-T022R-S078R-W241R,G020R-T022R-S212F-W241R,G020R-T022R-S242R,G020R-T022R-W241R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116S-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T038A-N043R-S101A,G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V,G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T22W-S103A-V104I-A232V-Q245R,G023A-P052N-S144R-Y192W-S216F,G023A-P052N-Y192W-I198L-N252R,G023A-S024R-N117F-S212M-S216F,G023A-S078R-S216F-Q236N-H249R,G023A-Y091F-S101A-I198L-N252R,G023A-Y091F-V121F-Y192W-Q236N,G025R-E089I-N116A-P239S-A270C,G025R-G046R-V121F,G025R-N043A-E089I-N117F,G025R-S103N-R186K-A194F-T224A,G046R-A194F-S212M,G046R-E089I-Y091F-S101A-N116A,G046R-E089I-Y192W-L233C-A270C,G046R-N183D-N238L,G046R-Q059A-S103N-G211Q-S212M,G046R-Q059A-S106G-L217E-H249R,L148I-T213A-N252R,N018R-G020R-N043D,N018R-G020R-N043D-A230E-S242R,N018R-G020R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043D-R045T-A230E,N018R-G020R-N043R-N076D-H249R,N018R-G020R-N043R-N076D-S242R-H249R,N018R-G020R-N043R-R045T-S242R,N018R-G020R-

N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-R045T,N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-L233I-S242R,N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-A230E,N018R-G020R-S024R-N076D-S087D-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-V150L-H249R,N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043R-N076D-A230E,N018R-N043R-R045T-H249R,N018R-N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043R-R045T-S242R-H249R,N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043R-S242R-H249R,N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N076D-S101G-V104I-A232V-Q245R,N018R-Q245R,N018R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S024R-N043D-A230E,N018R-S024R-N043D-N076D-H249R,N018R-S024R-N043D-N076D-H249R-N269R,N018R-S024R-N043D-N076D-S078R-H249R,N018R-S024R-N043D-R045T-H249R,N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-S024R-N043R-N076D-H249R,N018R-S024R-N043R-N076D-H249R-N269R,N018R-S024R-N043R-N076D-S087D-H249R,N018R-S024R-N043R-N076D-V150L-H249R,N018R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-H249R,N018R-S024R-N076D-H249R-N269R,N018R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S078R-H249R,N018R-S024R-N076D-S078R-S087D-H249R,N018R-S024R-N076D-S078R-V150L-H249R,N018R-S024R-N076D-S087D-H249R-N269R,N018R-S024R-N076D-S087D-S242R-H249R,N018R-S024R-N076D-S087D-V150L-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215V-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R,N018R-S024R-N076D-S242R-H249R,N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-V104I-H249R,N018R-S024R-N076D-V150L-H249R,N018R-S024R-R045T-S242R,N018R-S024R-S101G-V104I,N018R-S024R-S101G-V104I-A232V,N018R-S024R-S242R,N018R-S024R-V104I-H249R,N018R-S024R-V244R,N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S101G-Q245R,N018R-S101G-S103A-H249R,N018R-S101G-S103A-Q245R,N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S101G-S103A-

V104I-V150L-A232V-Q245R,N018R-S101G-V104I-A232V-H249R,N018R-S101G-V104I-A232V-Q245R,N018R-S101G-V104I-H249R,N018R-S103A-A232V-H249R,N018R-S103A-V104I-H249R,N018R-T022R-S024R-N043D-N076D-H249R,N018R-T022R-S024R-N043R-N076D-H249R,N018R-T022R-S024R-N076D-H249R,N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R,N018R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R,N018R-T22K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R,N018R-V104I-A232V-H249R,N043A-N062Q-A194F-G211Q,N043A-T057R-N117F-S144R-N183D,N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043D-R045T-N076D-H249R,N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-N076D-S242R-H249R,N043R-N116A-N269R,N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-S101A-N116A-A215F-N269R,N043R-S101A-N116A-N269R,N043R-S101A-N116A-T213A-A215F-N269R,N043R-S101A-N269R,N043R-S101A-T213A-N269R,N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L,N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R,N043R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R,N043R-S242R-H249R,N043R-T213A-A215F-N269R,N062Q-S103N-N117F-A194F,N062Q-S103N-V121F-S144R-H249R,N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N076D-S103A-V104I-Q109R,N076D-S103A-V104I-Q109R-Q245R,N076D-S103A-V104I-S212P-E271V,N076D-S103A-V104I-S212P-Q245L-E271V,N076D-S87R-S103A-V104I-S212P-E271V,N117F-A194F-T213A-A270C,N117F-T213A-A215F,P052N-S078R-S103N-L148I-T213A,P052N-S103N-N116A-L148I-Y192W,R019H-G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R,R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,S009A-G020R-N043R-S212F,S009A-G020R-N043R-W241R,S009A-G020R-S024R-N043R,S009A-N043R-S078R,S009A-N043R-S078R-S242R,S009A-N043R-S212F,S009A-N043R-W241R,S009A-T022R-N043R-S078R,S009A-T022R-S078R-S212F,S009A-T022R-S078R-S212F-W241R,S009A-T022R-S212F-W241R,S024R-A215F-N269R,S024R-A232V-Q245R,S024R-G025R-N183D-Y192W-P239S,S024R-

N043A-N117F-A194F-G211Q, S024R-N043D-H249R, S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S024R-N043R-A215F, S024R-N043R-A230E, S024R-N043R-A230E-S242R, S024R-N043R-H249R, S024R-N043R-N076D-H249R, S024R-N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N043R-N116A-A215F, S024R-N043R-N116A-A215F-N269R, S024R-N043R-N116A-N269R, S024R-N043R-N116A-T213A-N269R, S024R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R, S024R-N043R-R045T-N269R, S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-A215F-N269R, S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-T213A-N269R, S024R-N043R-R045T-S242R, S024R-N043R-R045T-T213A-A215F-N269R, S024R-N043R-S101A-A215F, S024R-N043R-S101A-A215F-N269R, S024R-N043R-S101A-N116A, S024R-N043R-S101A-N116A-A215F-N269R, S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N043R-S242R, S024R-N062Q-V104L-S106G-H249R, S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S024R-N076D-V104I-A232V-Q245R, S024R-N116A-T213A-N269R, S024R-R045T, S024R-R045T-N076D-A230E-S242R-H249R, S024R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S024R-S078R-S212F, S024R-S078R-V104L-N116A-N183D, S024R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-S101A-H120F-A194F-H249R, S024R-S101A-N269R, S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R, S024R-S101G-V104I-Q245R, S024R-S103A-Q245R, S024R-S103A-V104I-A232V-H249R, S024R-S103A-V104I-H249R, S024R-S103A-V104I-Q245R, S024R-Y167W-T224A-H249R, S078R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S078R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R, S078R-S103N-S106G-Y167W-Q236N, S078R-V104L-T213A-A215F-T224A, S078R-Y091F-V121F-L233C-N252R, S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S087R-S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V, S099F-S144R-Y167W-N252R, S101A-H120F-Y192W-A215F-T224A, S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R-N269R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R, S101G-S103A-V104I-A232V-V244R-Q245R, S101G-S103A-V104I-G115R-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A232V-Q245R-N269R, S101G-S103A-V104I-Q109R-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V, S101G-S103A-V104I-S212F-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-H249R, S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R, S105T-S128N-S144R-L148I-S212M, S106G-N117F-N238L, S144R-G211Q-N238L-P239S-H249R, T022R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, T022R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, T022R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, T022W-S078R-Y167W-S212M-A270C, T057R-E089I-I198L, T057R-S099F-S105T-

I198L-T213A, T057R-S099F-V121F-N185I-Y192W, T057R-Y167W-H249R, V004R-G020R-H249R, V004R-G020R-N043R, V004R-G020R-S024R, V004R-G020R-S024R-H249R, V004R-G020R-S024R-N043R, V004R-G020R-S024R-N043R-S242R, V004R-G020R-S024R-V244R, V004R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, V004R-S009A-G020R-N043R, V004R-S009A-G020R-N043R-S242R, V004R-S009A-G020R-S024R-S242R, V004R-S009A-G020R-S242R, V004R-S009A-N043R-W241R, V004R-S009A-S024R-N043R-W241R, V004R-S009A-S078R-W241R, V004R-S009A-W241R, V004R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, V104L-L217E-T224A-H249R-N252R, V104L-T213A-S216F, V121F-N252R-A270C, 和/或Y091F-S099F-S101A-S105T-Y167W。这些蛋白酶变体对用于处理和/或清洁表面的方法是高度优选的蛋白变体,其中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;和(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有高离子强度和/或高洗涤剂浓度。

[0110] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: S101G-S103A-V104I-A232V-Q236H-Q245R-N252K, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D, A232V-Q245R, E089I-N117F-N185I-A215F-L233C, G020R-E089I-L217E, G020R-G023A-V104L-Y192W-L233C, G020R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R, G020R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, G020R-N043R-N076D-A230E-H249R, G020R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-N116A-A215F-N269R, G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, G020R-R045T-N116A-N269R, G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-A215F, G020R-S024R-K27R-N043D-S242R-H249R, G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-S024R-N043R-N076D, G020R-S024R-N043R-R045T-A215F, G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R, G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A-A215F, G020R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-T38I-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A131V-N183D-T213A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R-E271G, G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-T180A-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-

Q245R,G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101A-S103G-V104V-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-A232V-Q245R-,G020R-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-S242R-H249R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-I198L-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-I198L-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A114T-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S103A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S103A-V104I-A232V-Q245R,G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R,G025R-N043A-Y091F-I198L-A270C,G025R-S105T-S128N-S144R-A270C,G046R-E089I-S099F-R186K-S212M,G118R-A172V,G118R-A194T,G118R-Y209A-K235F,H017Y-S024R-T033S-P086W,I008T-S024R,K027R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,K027R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,K235F-N243F,N018R-G020R-H249R,N018R-G020R-N043D-H249R,N018R-G020R-N043D-R045T-A230E-S242R,N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S242R,N018R-G020R-N043D-R045T-S240P,N018R-

G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043R,N018R-G020R-N043R-N076D,N018R-G020R-N043R-N076D-A230E-S242R,N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-H249R,N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S242R,N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-S242R,N018R-G020R-S024R-N043R-N076D-H249R,N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-L217E-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R,N018R-G020R-T22W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R,N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N043R-N076D-A230E-S242R-H249R,N018R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043R-N076D-S242R-H249R,N018R-N043R-R045T-N076D-A230E-S242R,N018R-N043R-R045T-N076D-S076T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A273T,N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043R-R045T-N076D-S242R,N018R-N043R-R045T-S242R,N018R-N076D-H249R,N018R-N076D-Q245R,N018R-N076D-S101G-A232V-Q245R,N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-H249R,N018R-N076D-S101G-V104I-H249R,N018R-N076D-S103A-V104I-H249R,N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S024R-N043D-A230E-H249R,N018R-S024R-N043D-A230E-S242R,N018R-S024R-N043D-H249R,N018R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R,N018R-S024R-N043D-N076D-V150L-H249R,N018R-S024R-N043D-S242R,N018R-S024R-N043D-S242R-H249R,N018R-S024R-N043R-N076D-L217E-H249R,N018R-S024R-N043R-N076D-S078R-H249R,N018R-S024R-N043R-R045T-A230E-H249R,N018R-S024R-N076D,N018R-S024R-N076D-A232V-H249R,N018R-S024R-N076D-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-

I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-I198M-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-L088I-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R-V268G,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-Y209H-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-M117I-N183D-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101G-A232V,N018R-S024R-N076D-S103A-A232V-Q245R,N018R-S024R-N076D-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-V104I,N018R-S024R-Q245R,N018R-S024R-R045T-A230E-S242R,N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-S024R-S242R,N018R-S024R-V104I,N018R-S024R-V30S-L31S-D32I-T33Q-G34V-I35F,N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-S101G-S103A-V104I,N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-S101G-V104I,N018R-S103A,N018R-S103A-V104I-A232V,N018R-T022K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-Q245R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-

N116A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R,N018R-V104I,N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-A272V,N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-R275S,N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-V234I-Q245R,N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-N218S-A232V-Q245R,N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N062Q-S101A-Q236N-N252R-A270C,N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R,P005S-S024R-T033S-N243F,P014L-G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-A215F,P052N-V104L-N183D-S216F-H249R,P086W-G118R,P086W-N243F,P086W-Y209A,Q012H-G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R,R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,R045T-S242R-H249R,S024C-T033S,S024R-A232V,S024R-G046R-Y091F-V121F,S024R-G118R-K235F,S024R-N043A-S105T-S106G-I198L,S024R-N043D-R045T-S242R-H249R,S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,S024R-N043D-S242R-H249R,S024R-N043R-N076D,S024R-N043R-N076D-A230E-S242R,S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,S024R-N043R-R045T-N076D-

S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N043R-R045T-S242R-H249R, S024R-N043R-S101A-T213A, S024R-N076D-Q245R, S024R-N076D-S101G-A232V-Q245R, S024R-N076D-S101G-M175L-A232V-Q245R, S024R-N076D-S101G-Q245R, S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S024R-N076D-S103A-V104I-Q245R, S024R-N076D-V104I-Q245R, S024R-N243F, S024R-P086R-G118R, S024R-P086W-Y209A-K235F, S024R-P239Q, S024R-Q245R-H249R, S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, S024R-S101G, S024R-S101G-Q245R, S024R-S101G-V104I-H249R, S024R-S103A-A232V, S024R-S103A-M175L-A232V-H249R, S024R-S141G, S024R-T033S, S024R-T033S-A194T, S024R-T033S-G118R-K235F, S024R-T033S-G118R-Y209A, S024R-T033S-K235F, S024R-T033S-S078R-G118R, S024R-T033S-S078R-N243F, S024R-T033S-Y209A, S024R-T033S-Y209A-N243F, S024R-T274I, S024R-V104I-H249R, S024R-V104I-Q245R, S024R-Y091F-I198L-A215F-P239S, S024R-Y209A, S024R-Y209A-K235F, S024R-Y209A-S242P, S078R-P086W, S078R-S099F-N116A-R186K-T224A, S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, S101G-A232V, S101G-S103A-V104I-A232V-H249R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R, S101G-S103A-V104I-Q245R, S105T-G211Q-S216F, S106G-N185I-S216F-Q236N, T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R, T033S-G118D-A138V-Y209A, T033S-G118R-Y209A-, T033S-L148F, T033S-N243F, T033S-P086W, T033S-P201S, T033S-S078R, T033S-W241R, T033S-Y209A, T033S-Y209A-K235F, V004M-N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R, V104I-A232V-H249R, 和/或V104L-H120F-R186K-S216F-N252R。这些蛋白酶变体对用于处理和/或清洁表面的方法是优选的蛋白酶变体,其中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;和(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有高离子强度和/或高洗涤剂浓度。

[0111] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含下列各组突变中的一个或多个: A015T-T033S, A016T-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, A230E-H249R, A232V-H249R, E089I-S105T-N116A-A215F-S216F, E089I-Y091F-N185I-G211Q-A270C, G020R-A090S-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R, G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, G020R-N043R-N076D, G020R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-P052N-S101A-I198L-L233C, G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R, G020R-S024R-N043D-N076D-H249R, G020R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R, G020R-S024R-N043D-R045T-A230E-S242R, G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, G020R-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R, G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S024R-R045T-S242R-H249R, G020R-S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G115E-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R, G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R, G020R-

S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R,G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-T274I,G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022R-N269R,G020R-T022R-S078R-S212F-W241R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-N269S,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-T274I,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-N263S,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R,G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A232V-Q245R,G025R-N062Q-S128N-S144R-N185I,G025R-N116A-H120F-T224A-A270C,G118R-K235F,K027R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018K-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-N269R,N018R-G020R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043D-N076D-S242R-H249R,N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-H249R,N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-G020R-N043R-R045T-H249R,N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R,N018R-G020R-N076D,N018R-G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-G020R-S024R-N043R-N076D,N018R-G020R-S024R-N076D-A131T-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-N243D-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-

S024R-N076D-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R-N269S,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-Q245R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-N204D-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R-N269D,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-

T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-T213A-H249R,N018R-N043D-A230E-H249R,N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N043D-N076D-S242R-H249R,N018R-N043D-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A272D,N018R-N043R-N076D-A230E-H249R,N018R-N043R-N076D-S242R,N018R-N043R-R045T-A230E-S242R,N018R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-N076D-A232V-H249R,N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N018R-N076D-S101G-I198T-A232V,N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R,N018R-N076D-S101G-V104I,N018R-N076D-S242R,N018R-N076D-S242R-H249R,N018R-N076D-V104I-Q245R-H249R,N018R-R045T-H249R,N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N018R-S024R-N043D-N076D-S087D-H249R,N018R-S024R-N043D-N076D-S242R,N018R-S024R-N076D-A086V-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-A232V,N018R-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-L217E-H249R-N269R,N018R-S024R-N076D-N116A-A150T-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-

H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-H249R-A248T,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S087D-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R-A270V,N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101A-V197A-T213A-A215F-H249R,N018R-S024R-N076D-S101G,N018R-S024R-N076D-S101G-Q245R,N018R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V,N018R-S024R-N076D-S103A-H249R,N018R-S024R-N076D-S103A-V104I-L135I-A232V,N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R-T260K,N018R-S024R-N076D-V150L-S242R-H249R,N018R-S024R-R045T-A230E-H249R,N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N018R-T022R-

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

A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R-L267I,
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116T-I198L-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-
N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-
G211Q-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R,
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-
N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-
I198L-T213A-H249R,N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-Y209H-H249R,
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-
G211Q-T213A-H249R,N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R,N018R-T22W-
S024R-N076D-S101A-I198L-H249R,N018R-V104I-A232V,N043A-Q059A-S101A-S216F-
T224A,N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043D-R045T-N076D-
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-
A232V-Q245R,N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R,N043D-
S242R-H249R,N043R-A230E-H249R,N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-
Q245R-H249R,N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N043R-
N076D-S101G-S103T-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R,N043R-R045T-H249R,N043R-
R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-
V104I-A232V-Q245R-N269R,N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-
Q245R,N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,N043R-S078R-S101G-
S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R,N043R-S101G-S103A-V104I-Q245R-H249R,N043R-
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R,N076D-A232V-Q245R,N076D-Q245R,
N076D-S101G-A232V-Q245R,N076D-S101G-S103A-Q245R,N076D-S101G-S103A-V104I-
A232V-H249R,N076D-S101G-S103A-V104I-H249R,N076D-S101G-S103A-V104I-V150L-
A232V-Q245R,N076D-S101G-V104I-H249R,N076D-S101G-V104I-Q245R,N076D-S103A-
V104I-A232V-Q245R,N076D-S103A-V104I-Q245R,N076D-V104I-A232V-Q245R,N076D-
V104I-Q245R,P005S-N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R,P086W-
K235F,P086W-Y209A-K235F,Q012H-V104A-G118R,R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-
V104I-A232V-Q245R-H249R,R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,S024R-G118R-
N243F-R269H,S024R-K235F-N243F,S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-
Q245R-N269R,S024R-N043R-N076D-A230E-H249R,S024R-N076D-A232V-H249R,S024R-
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R,S024R-N076D-S101G,S024R-
N076D-S101G-A232V-H249R,S024R-N076D-S101G-S103A-A232V,S024R-N076D-S101G-
S103A-V104I-M175L-H249R,S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R,S024R-N076D-
S101G-V104I-A232V-H249R,S024R-N076D-S103A-H249R,S024R-N076D-S103A-Q245R,
S024R-N076D-S103A-V104I-H249R,S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-
Q245R-H249R,S024R-R045T-S242R-A273V,S024R-R247H,S024R-S101G-S103A,S024R-
S101G-S103A-A232V,S024R-S101G-S103A-V104I,S024R-S103A-Q245R-H249R,S024R-
S103A-V104I,S024R-S106G-N116A-S212M-T224A,S024R-T033S-A151V,S024R-T033S-
A174V-K235F,S024R-T033S-A228T,S024R-T033S-K235F-W241R,S024R-T033S-N243F,

S024R-V104A, S024R-V104I-A232V, S024R-Y209A-N243F, S078R-K235F, S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R, S099F-S105T-S106G-A194F-S212M, S101G-H249R, S101G-S103A-V104I, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R, S103A-A232V, S103A-A232V-H249R, S103A-A232V-Q245R, S103A-V104I-Q245R, S103N-H120F-Y167W-I198L-L233C, T022W-A194F-T213A-L233C-N238L, T022W-E089I-S216F, T033S-A048T, T033S-P086W-S156L-Y209A, T033S-P239T, T033S-T253A, T057R-N183D-Q236N, T143A-Y209A, V004E-T033S-S078R, V004R-S009A-T022R-S078R-S212F, 和/或Y209A-K235F。这些蛋白酶变体是可用于处理和/或清洁表面的方法中的有用的蛋白酶变体,在所述方法中(i)使所述表面与包含助剂材料和蛋白酶变体的组合物在含水洗涤液体中接触;以及(ii)然后漂洗和/或干燥所述表面,其中含水洗涤液体优选具有高离子强度和/或高洗涤剂浓度。

[0112] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变在包含位置1、2、3、4、8、9、10、12、14、15、16、17、18、20、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、33、34、35、36、38、40、42、43、45、46、48、50、51、52、55、57、59、60、62、63、64、68、69、71、72、74、75、76、78、79、81、82、85、86、89、91、92、94、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、111、112、114、115、116、117、118、119、120、121、123、124、128、129、132、138、144、147、148、158、159、160、166、167、175、177、181、182、183、185、186、188、192、194、197、198、203、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、224、227、230、231、232、233、234、235、236、238、239、240、241、242、243、244、245、246、248、249、250、251、252、253、254、256、258、260、262、263、265、267、269、270、271、272、273和274的位置组内。

[0113] 在所述组合物的一个优选的方面,所述蛋白酶变体包含三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变在包含位置1、2、4、9、10、14、16、17、18、20、22、24、25、26、42、43、46、52、57、59、62、68、71、72、74、75、76、78、82、86、89、91、94、100、101、103、104、106、108、111、112、115、117、118、121、128、129、144、148、158、159、160、166、185、186、188、197、203、209、210、212、214、215、217、224、230、231、236、238、239、241、242、243、244、248、249、250、252、253、262、263、265、267、269、271和272的位置组内。

[0114] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含总计三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A001R, Q002S, Q002M, Q002A, Q002R, Q002W, S003R, V004R, V004S, V004C, I008A, S009A, S009F, S009W, R010S, R010A, R010H, R010M, Q012F, Q012R, P014K, P014F, P014Q, A015R, A015F, A016S, H017R, H017M, H017F, N018R, N018K, G020F, G020K, G020R, T022A, T022R, T022Y, T022V, T022Q, T022L, T022W, G023A, G023S, G023F, S024R, S024F, S024W, S024Q, S024H, S024L, G025V, G025F, G025R, V026F, K027L, K027F, K027R, K027V, V028A, V028N,

V028E, A029T, V030E, L031F, T033S, T033G, T033D, G034P, I035M, S036T, S036F, S036R, T038L, T038F, T038R, P040N, P040L, P040T, P040W, P040H, P040R, L042I, N043A, N043F, N043I, N043S, N043R, N043M, N043W, N043D, R045T, G046R, A048R, F050C, V051W, V051F, V051H, P052F, P052E, P052N, P055Y, T057R, Q059A, Q059F, Q059R, D060P, D060Q, D060A, N062E, N062Q, G063V, G063M, G063T, G063I, G063A, G063S, G063H, G063Q, G063D, G063E, G063P, H064F, H064T, V068A, V068C, A069N, A069T, A069P, A069W, T071G, I072C, A074C, L075A, L075F, L075E, L075R, N076D, S078R, S078N, S078I, I079W, I079Q, V081R, L082F, L082T, L082V, L082R, L082M, A085M, P086W, P086L, P086I, E089P, E089T, E089G, E089H, E089L, E089V, E089W, E089F, E089I, Y091N, Y091F, A092F, K094N, S099F, S099T, S099P, S099G, S099M, G100S, G100N, G100Q, G100I, S101A, S101N, S101G, S101T, S101D, S101E, S101P, S101F, G102A, G102T, G102N, G102H, G102E, S103G, S103N, S103D, S103A, V104L, V104I, V104E, V104D, S105T, S105E, S105Q, S106G, S106T, S106E, S106D, S106A, S106V, S106F, I107M, I107F, A108I, A108G, Q109M, L111V, L111I, E112V, E112L, E112Q, A114G, G115K, G115R, N116K, N116A, N116L, N117F, G118R, G118I, M119C, H120A, H120F, H120R, V121F, V121E, N123G, N123E, L124S, S128D, S128F, S128L, S128N, S128H, S128M, S128I, S128Q, P129E, S132A, S132E, A138G, S144R, V147L, L148I, A158E, G159D, G159E, G159C, S160D, S166D, S166E, Y167W, M175V, V177C, D181A, Q182R, N183I, N183D, N183M, N183F, N183R, N185E, N185V, N185I, R186H, R186K, S188E, S188D, S188R, Y192H, Y192W, A194E, A194V, A194F, D197F, I198L, I198F, V203E, V203C, T208S, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, Y209L, P210R, P210V, P210L, G211Q, G211R, S212I, S212M, S212F, T213A, Y214F, A215N, A215D, A215E, A215H, A215F, S216F, S216A, L217E, L217N, L217D, N218D, N218P, N218E, T224A, T224G, V227I, A230E, A231I, A231C, A232V, L233C, V234F, K235F, Q236F, Q236N, Q236H, N238R, N238K, N238L, P239K, P239G, P239R, P239H, P239T, P239N, P239S, P239F, S240R, W241R, S242L, S242R, N243F, N243R, V244R, Q245R, I246S, N248D, N248V, N248I, N248R, H249R, H249T, L250I, K251R, K251S, N252I, N252F, N252R, N252K, N252H, T253I, T253R, T253F, A254C, S256N, G258R, T260V, T260I, L262D, L262H, Y263F, S265F, L267V, L267N, L267M, N269I, N269R, A270C, E271I, E271V, E271H, E271M, E271L, E271P, E271A, E271F, E271T, A272F, A272F, A272R, A273F, A273I和T274G。

[0115] 在所述组合物的一个优选的方面,所述蛋白酶变体包含总计三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R, Q2S, V4R, V4S, S9A, R10S, P14K, A16S, H17R, N18R, G20R, T22A, T22R, S24R, S24W, G25R, G25V, V26F, L42I, N43R, N43A, G46R, P52F, P52E, P52N, T57R, Q59A, N62E, N62Q, V68A, V68C, T71G, I72C, A74C, L75A, L75F, L75R, N76D, S78R, L82R, P86W, E89P, E89T, E89G, E89H, E89I, E89V, E89W, Y91N, K94N, G100S, S101A, S101N, S101G, S101D, S103G, S103N, V104L, V104I, S106V, S106G, A108I, L111V, E112V, G115K, G115R, N117F, G118I, V121F, S128D, S128F, S128L, S128N, P129E, S144R, L148I, A158E, G159E, S160D, S166D, N185E, N185I, R186H, S188E, S188D, D197F, V203E, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, P210R, S212I, S212F, Y214F, A215N, A215D, A215E, L217E, L217N, T224A, A230E,

A231I, Q236F, N238R, N238K, P239K, P239G, P239R, P239S, W241R, S242R, S242L, N243R, V244R, N248I, N248V, H249R, L250I, N252R, T253R, L262D, Y263F, S265F, L267V, L267N, N269I, N269R, E271F, E271I, E271H, E271P, E271T, E271V, E271L和A272F; 以及任选地包含下列突变中的一个或多个: S103A, G159D, Q236H, Q245R, N248D和N252K。

[0116] 在所述组合物的一个方面, 尤其是对用于高洗涤剂浓度或离子强度, 所述蛋白酶变体包含:

[0117] a) 下列突变中的两个或更多个: A1R, Q2S, V4R, V4S, S9A, R10S, P14K, A16S, T22A, T22R, S24R, G25V, V26F, L42I, P52F, P52E, P52N, N62E, N62Q, V68A, V68C, T71G, I72C, A74C, L75A, L75F, S78R, E89P, E89T, E89G, E89H, E89W, Y91N, K94N, G100S, S101A, S101N, S101G, S101D, S103G, S103N, V104L, V104I, A108I, L111V, E112V, G115K, N117F, V121F, S128D, S128F, S128L, S128N, P129E, L148I, A158E, G159E, S160D, S166D, N185E, R186H, S188E, S188D, V203E, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, P210R, S212I, S212F, Y214F, A215N, A215D, A215E, L217E, L217N, T224A, A230E, A231I, Q236F, N238R, N238K, P239K, P239G, P239R, N248V, H249R, L250I, L262D, Y263F, S265F, L267V, L267N, N269I, N269R, E271F, E271I, E271H和A272F; 和/或

[0118] b) 下列各组突变中的一个或多个: N062E-P129E, N062E-G159E, A016S-L148I, A158E-H249R, A016S-N062E, L111V-S188D, T022A-N062E, N062E-L148I, T022A-P129E, N062E-E271F, N062E-A158E, A016S-G159E, N062E-R186H, S128N-G159E, N062E-S188D, N062E-S128N, L148I-G159E, S103G-A158E, L111V-G159E, A158E-E271F, A016S-S188D, T022A-L111V, S128N-A158E, A016S-A158E, V104L-A158E, S128N-R186H, G159E-Y209E, N062E-S101A, L111V-Y209E, L148I-S188D, S101A-Y209E, T022A-S188D, A016S-T022A, S128N-P129E, A016S-Y209E, A016S-S128N, T022A-E089P, S128N-Y209E, E089P-A158E, N062E-S103G, R186H-E271F, A016S-P129E, E089P-G159E, L111V-H249R, S101A-P129E, L148I-Y209E, T022A-G159E, P129E-H249R, P129E-Y209E, V104L-P129E, S128N-S188D, L111V-A158E, T022A-A158E, N062E-Y209E, N062E-H249R, S101A-R186H, E089P-P129E, P129E-E271F, T22A-L111V-G159E, S101A-S103G-V104L-Y209E, S101A-S103G-V104L-G159E, S101A-S103G-V104L-S188D, S101G-S103A-V104I-G159D, T22A-S103G-G159E, T22A-S128N-E271F-Y209E, T22A-Y209E-E271F, T22A-S101A-Y209E, S101A-Y209E-E271F, T22A-L111V-S128N, T22A-S101A-G159E, S101A-S103G-V104L, T22A-S101A-S103G-V104L, S101A-S103G-V104L, S101G-S103A-V104I, S101A-S103G-V104L-S128N, S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R, S101G-

S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D和S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F;

[0119] 相对于具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶,所述蛋白酶变体具有0、+1、+2、+3、+4或+5的总净电荷,优选具有总净正电荷,最优选为+1,+2或+3。

[0120] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:X1R,X230E,X271L,X115R,X20R,X249R,X235F,X27V/F/L,X75E,X82R,X18R,X269R,X43D,X43R,X76D,X45T,X212F,X242R,X24R,X78R,X9A,X22R,X121E,X244R,X28E,X30E,X4R和X241R,其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0121] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含蛋白酶变体,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R,A230E,E271L,G115R,G20R,H249R,K235F,K27V/F/L,L75E,L82R,N18R,N269R,N43D,N43R,N76D,R45T,S212F,S242R,S24R,S78R,S9A,T22R,V121E,V244R,V28E,V30E,V4R和W241R,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号,其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0122] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含蛋白酶变体,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R,A230E,E271L,G115R,G20R,H249R,K235F,K27V/F/L,L75E,L82R,N18R,N269R,N43D,N43R,N76D,R45T,S212F,S242R,S24R,S78R,S9A,T22R,V121E,V244R,V28E,V30E,V4R和W241R,以及任选地包含至少一个突变选自:S103A,G159D,Q236H,Q245R,N248D和N252K,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号,其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0123] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:X16S,X18R,X20R,X22A,X24R,X43R/D,X45T,X76D,X101A,X103G,X104L,X111V,X128N,X148I,X230E,X242R和X249R,其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0124] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:A16S,N18R,G20R,T22A,S24R,N43R,N43D,R45T,N76D,S101A,S103G,V104L,L111V,S128N,L148I,A230E,S242R和H249R,其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0125] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:X20R-X43R-X249R,X20R-X22R-X43R,X20R-X43R-X242R,X20R-X43R-X271L,X20R-X43R-X244R,X20R-X24R-X43R-X242R,X9A-X22R-X78R-X212F-X241R,X9A-X20R-X43R-X212F,X9A-X43R-X212F,X20R-X43R-X212F,X20R-X22R-X43R-X212F,X24R-X78R-X212F,X9A-X43R-X78R,X9A-X43R-X78R-X242R,X9A-X20R-X43R-X78R,X20R-X24R-X43R-X78R-X242R,X22R-X24R-X78R-X212F,X9A-X20R-X43R-X78R-X242R,X20R-X43R-X78R-X249R,X20R-X43R-X78R,X9A-X78R-X212F,X9A-X22R-X43R-X78R,X9A-X20R-X24R-X43R,X9A-X22R-X78R-X212F,X4R-X9A-X22R-X78R-X212F,X20R-X24R-X43R,X1R-X9A-X43R,X20R-X24R-X43R-X115R,X9A-X24R-X43R,X20R-X22R-X24R-X43R,X1R-X24R-X43R,X9A-X20R-X24R-X43R-X242R,X9A-X20R-X22R-X78R-X212F,X9A-X24R-X43R-X244R,X9A-X24R-X43R-X242R,X4R-X9A-X22R-X24R-X212F和X22R-X24R-X43R,其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0126] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:A1R,A230E,E271L,G115R,G20R,H249R,K235F,K27V/F/L,L75E,L82R,N18R,N269R,N43D,N43R,N76D,R45T,S212F,S242R,S24R,S78R,S9A,T22R,V121E,V244R,V28E,V30E,V4R,W241R,G20R-N43R-H249R,G20R-T22R-N43R,G20R-N43R-S242R,G20R-N43R-E271L,G20R-N43R-V244R,G20R-S24R-N43R-S242R,S9A-T22R-S78R-S212F-W241R,S9A-G20R-N43R-S212F,S9A-N43R-S212F,G20R-N43R-S212F,G20R-T22R-N43R-S212F,S24R-S78R-S212F,S9A-N43R-S78R,S9A-N43R-S78R-S242R,S9A-G20R-N43R-S78R,G20R-S24R-N43R-S78R-S242R,T22R-S24R-S78R-S212F,S9A-G20R-N43R-S78R-S242R,G20R-N43R-S78R-H249R,G20R-N43R-S78R,S9A-S78R-S212F,S9A-T22R-N43R-S78R,S9A-G20R-S24R-N43R,S9A-T22R-S78R-S212F,V4R-S9A-T22R-S78R-S212F,G20R-S24R-N43R,A1R-S9A-N43R,G20R-S24R-N43R-G115R,S9A-S24R-N43R,G20R-T22R-S24R-N43R,A1R-S24R-N43R,S9A-G20R-S24R-N43R-S242R,S9A-G20R-T22R-S78R-S212F,S9A-S24R-N43R-V244R,S9A-S24R-N43R-S242R,V4R-S9A-T22R-S24R-S212F和T22R-S24R-N43R,其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0127] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列,其中包含氨基酸取代的组合选自:X101G-X103A-X104I-X232V-X245R-X248D,X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R,X101G-X103A-X104I-X159R-X232V-X245R-X248D,X101G-X103A-X104I-X159D-X232V-X245R-X248R,X101G-X103A-X104I-X232V-X245R,X101G-X103A-X104I-X232V-X245R-

X248R, X101G-X103A-X104I-X159R-X232V-X245R-X248R和X101G, X103A, X104I, X232V, X236H, X245R和X252K, 其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0128] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列, 其中包含氨基酸取代的组合选自: S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248R, S101G, S103A, V104I, A232V, Q236H和Q245R, 其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0129] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列, 其中包含氨基酸取代的组合选自: X16S, X22A, X24R, X62E, X76D, X89P, X101A/G, X103G/A, X104L/I, X111V, X128N, X129E, X232V, X148I, X158E, X159D/E, X166D, X186H, X188D, X209E, X236H, X238R, X245R, X248D/R, X249R, X252K/R, X253R和X271F, 其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0130] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其中所述蛋白酶变体是具有蛋白分解活性的成熟形式并且其包含氨基酸序列, 其中包含氨基酸取代的组合选自: A16S, T22A, S24R, N62E, N76D, E89P, S101A/G, S103G/A, V104L/I, L111V, S128N, P129E, A232V, L148I, A158E, G159D/E, R186H, S188D, Y209E, Q236H, Q245R, N248D/R, H249R, N252K/R, T253R和E271F, 其中枯草杆菌蛋白酶变体的氨基酸位置通过对应于在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列进行编号。

[0131] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一个、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五突变, 所述突变选自: A16S, T22A, S24R, N62E, N76D, E89P, S101A/G, S103G/A, V104L/I, L111V, S128N, P129E, A232V, L148I, A158E, G159D/E, R186H, S188D, Y209E, Q236H, Q245R, N248D/R, H249R, N252K/R, T253R和E271F, 其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号, 其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0132] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列不同, 并且其中相对于迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶的总净电荷, 所述蛋白酶变体的总净电荷为0、+1、+2、+3、+4、+5、-1、-2、-3、-4, 或-5, 并且其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号, 其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0133] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含一种蛋白酶变体, 其包含氨基酸序列

与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一个、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R,Q2S,V4R,V4S,S9A,R10S,P14K,A16S,H17R,N18R,G20R,T22A,T22R,S24R,S24W,G25R,G25V,V26F,L42I,N43R,N43A,G46R,P52F,P52E,P52N,T57R,Q59A,N62E,N62Q,V68A,V68C,T71G,I72C,A74C,L75A,L75F,L75R,N76D,S78R,L82R,P86W,E89P,E89T,E89G,E89H,E89I,E89V,E89W,Y91N,K94N,G100S,S101A,S101N,S101G,S101D,S103G,S103N,V104L,V104I,S106V,S106G,A108I,L111V,E112V,G115K,G115R,N117F,G118I,V121F,S128D,S128F,S128L,S128N,P129E,S144R,L148I,A158E,G159E,S160D,S166D,N185E,N185I,R186H,S188E,S188D,D197F,V203E,Y209S,Y209N,Y209F,Y209T,Y209E,Y209H,Y209G,P210R,S212I,S212F,Y214F,A215N,A215D,A215E,L217E,L217N,T224A,A230E,A231I,Q236F,N238R,N238K,P239K,P239G,P239R,P239S,W241R,S242R,S242L,N243R,V244R,N248I,N248V,H249R,L250I,N252R,T253R,L262D,Y263F,S265F,L267V,L267N,N269I,N269R,E271F,E271I,E271H,E271P,E271T,E271V,E271L和A272F,以及任选地包含至少一个突变选自S103A,G159D,Q236H,Q245R,N248D和N252K,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置进行编号,其为通过比对所述蛋白酶变体氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列而测定的。

[0134] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一个、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A16S,T22A,S24R,N62E,N76D,E89P,S101A/G,S103G/A,V104L/I,L111V,S128N,P129E,A232V,L148I,A158E,G159D/E,R186H,S188D,Y209E,Q236H,Q245R,N248D/R,H249R,N252K/R,T253R和E271F,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置进行编号,其为通过比对所述蛋白酶变体氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列而测定的。

[0135] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含一种蛋白酶变体,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一个、二十二、二十三、二十四、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R,A230E,E271L,G115R,G20R,H249R,K235F,K27V/F/L,L75E,L82R,N18R,N269R,N43D,N43R,N76D,R45T,S212F,S242R,S24R,S78R,S9A,T22R,V121E,V244R,V28E,V30E,V4R和W241R,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置进行编号,其为通过比对所述蛋白酶变体氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列而测定的。

[0136] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含蛋白酶变体,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列不同,其包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异不超过两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二、十三、十四、十五

个、十六个、十七个、十八个、十九个、二十个、二十一个、二十二个、二十三个、二十四个、或甚至二十五个突变,所述突变选自:A1R,A230E,E271L,G115R,G20R,H249R,K235F,K27V/F/L,L75E,L82R,N18R,N269R,N43D,N43R,N76D,R45T,S212F,S242R,S24R,S78R,S9A,T22R,V121E,V244R,V28E,V30E,V4R和W241R,以及任选地包含至少一个突变选自:S103A,G159D,Q236H,Q245R,N248D和N252K,其中蛋白酶变体的氨基酸位置根据在SEQ ID NO:2中所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置进行编号,其为通过比对所述蛋白酶变体氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列而测定的。

[0137] 在所述组合物的一个方面,所述蛋白酶变体包含:

[0138] a) 下列突变中的两个或更多个:V4R,H17R,N18R,G20R,T22R,S24R,S24W,G25R,N43R,N43A,G46R,P52F,P52N,T57R,Q59A,N62Q,T71G,L75R,N76D,S78R,L82R,P86W,E89P,E89W,E89T,E89I,E89H,E89V,V104L,S106V,S106G,G115R,G118I,V121F,S144R,N185I,D197F,Y209N,Y209S,L217E,A231I,P239R,P239S,W241R,S242R,S242L,N243R,V244R,N248I,H249R,N252R,T253R,E271T,E271V,E271L,E271H,E271F,E271P,A1R,S9A,S212F和N269R;和/或

[0139] b) 下列各组突变中的一个或多个:T022R-S024R,S009A-E271L,N018R-W241R,N018R-G115R,N043R-H249R,G020R-H249R,V004R-H249R,G020R-S024R,N018R-H249R,S009A-G020R,G020R-W241R,S009A-S078R,G020R-G115R,N018R-S024R,S024R-S242R,T022R-G115R,N018R-N043R,G020R-N043R,N018R-S242R,S242R-N269R,N018R-V244R,S024R-N269R,G020R-E271L,S024R-E271L,V004R-S009A,G020R-N269R,A001R-S024R,V244R-E271L,S009A-N018R,W241R-E271L,V004R-S024R,S009A-H249R,S009A-T022R,S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R,S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K和S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K;

[0140] 相对于具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶,所述蛋白酶变体具有0、-1、-2、-3、-4或-5,优选0、-1、-2、-3的总净电荷。

[0141] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含第二非免疫等价蛋白酶,所述蛋白酶选自:

[0142] a) 枯草杆菌蛋白酶 (EC 3.4.21.62);

[0143] b) 胰蛋白酶样或胰凝乳蛋白酶样蛋白酶;

[0144] c) 金属蛋白酶;以及

[0145] d) 它们的混合物。

[0146] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含第二非免疫等价蛋白酶,所述蛋白酶选自:

[0147] a) 枯草杆菌蛋白酶 (EC 3.4.21.62) 来源于枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*), 解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*), 短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 和吉氏芽孢杆菌 (*Bacillus gibsonii*);

[0148] b) 胰蛋白酶和/或胰凝乳蛋白酶来源于纤维单胞菌属 (*Cellulomonas*);

- [0149] c) 金属蛋白酶来源于解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) ; 以及
- [0150] d) 它们的混合物。
- [0151] 在所述组合物的一个方面, 所述组合物包含选自下列的附加的酶: 半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、纤维乙糖脱氢酶、木葡聚糖酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶酸裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂肪氧化酶、木质素酶、支化淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、地衣多糖酶、葡聚糖酶、阿拉伯糖酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、淀粉酶以及它们的混合物。
- [0152] 在所述组合物的一个方面, 所述附加的酶选自:
- [0153] a) 第一洗涤脂肪酶;
- [0154] b) α -淀粉酶;
- [0155] c) 细菌清洁纤维素酶; 以及
- [0156] d) 它们的混合物。
- [0157] 在所述组合物的一个方面, 关于所述组合物中的所述助剂材料,
- [0158] a) 所述包含香料的包封物包含香料微胶囊;
- [0159] b) 所述调色剂包含选自下列的材料: 碱性的、酸性的、疏水性的、直接的和聚合物的染料, 和具有550nm至650nm峰值吸收波长的染料结合物以及它们的混合物;
- [0160] c) 所述去污表面活性包含选自下列的材料: 阴离子去污表面活性剂、非离子去污表面活性剂、阳离子去污表面活性剂、两性离子去污表面活性剂和两性去污表面活性剂以及它们的混合物;
- [0161] d) 所述助洗包含选自下列的材料: 沸石、磷酸盐以及它们的混合物;
- [0162] e) 所述硅酸盐包含选自下列的材料: 硅酸钠、硅酸钾以及它们的混合物;
- [0163] f) 所述增白剂优选包含选自下列的材料: 冷水可溶的增白剂以及它们的混合物;
- [0164] g) 所述羧酸盐聚合包含选自下列的材料: 马来酸酯/丙烯酸酯无规共聚物或聚丙烯酸盐均聚物以及它们的混合物;
- [0165] h) 所述去垢性聚合包含选自下列的材料: 对苯二甲酸酯共聚物以及它们的混合物;
- [0166] i) 所述纤维素聚合物包含选自下列的材料: 烷基纤维素、烷基烷氧基烷基纤维素、羧基烷基纤维素、烷基羧基烷基纤维素以及它们的混合物;
- [0167] j) 所述漂白催化剂包含过渡金属催化剂或用于形成过渡金属催化剂的配体, 或优选选自下列的材料: 亚胺鎓阳离子、亚胺鎓聚离子; 亚胺鎓两性离子; 改性的胺; 改性的氧化胺; N-磺酰基亚胺; N-膦酰基亚胺; N-酰基亚胺; 噻二唑二氧化物; 全氟亚胺; 环状糖酮以及它们的混合物;
- [0168] k) 所述漂白活化剂包含选自下列的材料: 十二烷酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯甲酸或其盐、3,5,5-三甲基己酰基氧基苯磺酸盐、四乙酰基乙二胺 (TAED)、壬酰基氧基苯磺酸盐 (NOBS) 以及它们的混合物;
- [0169] l) 所述过氧化氢源包含选自下列的材料: 无机过氧化氢合物盐, 包括碱金属盐如过硼酸盐 (通常为一水合物或四水合物)、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐、过硅酸盐的钠盐以及它们的混合物;
- [0170] m) 所述螯合剂包含选自下列的材料: DTPA (二亚乙基三胺五乙酸)、HEDP (羟基乙烷

二膦酸)、DTPMP(二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸))、乙二胺二琥珀酸(EDDS)、1,2-二羟基苯-3,5-二磺酸二钠盐水合物、所述螯合剂的衍生物;以及

[0171] n) 它们的混合物。

[0172] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含织物调色剂,所述织物调色剂选自:

[0173] a) 染料;

[0174] b) 染料-粘土缀合物,其包含至少一种阳离子碱性染料和绿土粘土;以及

[0175] c) 它们的混合物。

[0176] 在所述组合物的一个方面,所述组合物包含织物调色剂,所述织物调色剂选自:

[0177] a) 小分子染料;聚合物染料以及它们的混合物;

[0178] b) 染料-粘土缀合物,其包含至少一种阳离子碱性染料和绿土粘土;以及

[0179] c) 它们的混合物。

[0180] 在所述固体衣服洗涤剂组合物的一个方面,所述组合物包含基于总组合物重量计:

[0181] a) 约0.0005重量%至约0.1重量%、约0.001重量%至约0.05重量%,或甚至约0.002重量%至约0.03重量%的所述蛋白酶变体;以及

[0182] b) 下列中的一种或多种:

[0183] (i) 约0.00003重量%至约0.1重量%的织物调色剂;

[0184] (ii) 约0.001重量%至约5重量%的香料胶囊;

[0185] (iii) 约0.001重量%至约1重量%的冷水可溶的增白剂;

[0186] (iv) 约0.00003重量%至约0.1重量%的漂白催化剂;

[0187] (v) 约0.00003重量%至约0.1重量%的第一洗涤脂肪酶;

[0188] (vi) 约0.00003重量%至约0.1重量%的细菌清洁纤维素酶;

[0189] (vii) 约0.05重量%至约20重量%的Guerbet非离子表面活性剂。

[0190] 根据本文公开的任何所述消费品的组合物,公开了其中所述组合物为单或多隔室单位剂量。

[0191] 根据本文公开的任何所述消费品的组合物,其中所述组合物为多隔室单位剂量,其中所述蛋白酶变体位于与任何过氧化氢源和/或螯合剂不同的隔室。

[0192] 在一个方面,含水洗涤液体包含消费品,所述消费品包含助剂材料和蛋白酶变体,所述蛋白酶变体包含:

[0193] a) 下列突变中的两个或更多个:A1R,Q2S,V4R,V4S,S9A,R10S,P14K,A16S,T22A,T22R,S24R,G25V,V26F,L42I,P52F,P52E,P52N,N62E,N62Q,V68A,V68C,T71G,I72C,A74C,L75A,L75F,S78R,E89P,E89T,E89G,E89H,E89W,Y91N,K94N,G100S,S101A,S101N,S101G,S101D,S103G,S103N,V104L,V104I,A108I,L111V,E112V,G115K,N117F,V121F,S128D,S128F,S128L,S128N,P129E,L148I,A158E,G159E,S160D,S166D,N185E,R186H,S188E,S188D,V203E,Y209S,Y209N,Y209F,Y209T,Y209E,Y209H,Y209G,P210R,S212I,S212F,Y214F,A215N,A215D,A215E,L217E,L217N,T224A,A230E,A231I,Q236F,N238R,N238K,P239K,P239G,P239R,N248V,H249R,L250I,L262D,Y263F,S265F,L267V,L267N,N269I,N269R,E271F,E271I,E271H和A272F;和/或

[0194] b) 下列各组突变中的一个或多个:N062E-P129E,N062E-G159E,A016S-L148I,

A158E-H249R, A016S-N062E, L111V-S188D, T022A-N062E, N062E-L148I, T022A-P129E, N062E-E271F, N062E-A158E, A016S-G159E, N062E-R186H, S128N-G159E, N062E-S188D, N062E-S128N, L148I-G159E, S103G-A158E, L111V-G159E, A158E-E271F, A016S-S188D, T022A-L111V, S128N-A158E, A016S-A158E, V104L-A158E, S128N-R186H, G159E-Y209E, N062E-S101A, L111V-Y209E, L148I-S188D, S101A-Y209E, T022A-S188D, A016S-T022A, S128N-P129E, A016S-Y209E, A016S-S128N, T022A-E089P, S128N-Y209E, E089P-A158E, N062E-S103G, R186H-E271F, A016S-P129E, E089P-G159E, L111V-H249R, S101A-P129E, L148I-Y209E, T022A-G159E, P129E-H249R, P129E-Y209E, V104L-P129E, S128N-S188D, L111V-A158E, T022A-A158E, N062E-Y209E, N062E-H249R, S101A-R186H, E089P-P129E, P129E-E271F, T22A-L111V-G159E, S101A-S103G-V104L-Y209E, S101A-S103G-V104L-G159E, S101A-S103G-V104L-S188D, S101G-S103A-V104I-G159D, T22A-S103G-G159E, T22A-S128N-E271F-Y209E, T22A-Y209E-E271F, T22A-S101A-Y209E, S101A-Y209E-E271F, T22A-L111V-S128N, T22A-S101A-G159E, S101A-S103G-V104L, T22A-S101A-S103G-V104L, S101A-S103G-V104L, S101G-S103A-V104I, S101A-S103G-V104L-S128N, S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D和S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F;相对于具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶,所述蛋白酶变体具有0,-1,-2,-3,-4或-5,优选0,-1,-2或-3的总净电荷,并且;

[0195] 公开了所述含水洗涤液体优选具有约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm的电导率。

[0196] 洗涤液体包含消费品,所述消费品包含助剂材料和蛋白酶变体,所述蛋白酶变体包含:

[0197] a) 下列突变中的两个或更多个:V4R,H17R,N18R,G20R,T22R,S24R,S24W,G25R,N43R,N43A,G46R,P52F,P52N,T57R,Q59A,N62Q,T71G,L75R,N76D,S78R,L82R,P86W,E89P,E89W,E89T,E89I,E89H,E89V,V104L,S106V,S106G,G115R,G118I,V121F,S144R,N185I,D197F,Y209N,Y209S,L217E,A231I,P239R,P239S,W241R,S242R,S242L,N243R,V244R,

N248I, H249R, N252R, T253R, E271T, E271V, E271L, E271H, E271F, E271P, A1R, S9A, S212F和N269R; 和/或

[0198] b) 下列各组突变中的一个或多个: T022R-S024R, S009A-E271L, N018R-W241R, N018R-G115R, N043R-H249R, G020R-H249R, V004R-H249R, G020R-S024R, N018R-H249R, S009A-G020R, G020R-W241R, S009A-S078R, G020R-G115R, N018R-S024R, S024R-S242R, T022R-G115R, N018R-N043R, G020R-N043R, N018R-S242R, S242R-N269R, N018R-V244R, S024R-N269R, G020R-E271L, S024R-E271L, V004R-S009A, G020R-N269R, A001R-S024R, V244R-E271L, S009A-N018R, W241R-E271L, V004R-S024R, S009A-H249R, S009A-T022R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K和S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, 相对于具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶, 所述蛋白酶变体具有0, +1, +2, +3, +4或+5的总净电荷, 优选具有总净正电荷, 最优选为+1, +2或+3; 并且公开的所述衣物洗涤剂洗涤液体具有大于约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm的电导率。

[0199] 在一个方面, 此类消费品可为颗粒状或粉状衣物洗涤剂。

[0200] 在一个方面, 本文所公开的任何所述消费品可为多隔室单位剂量的形式。在所述多隔室单位剂量的一个方面, 所述蛋白酶变体可为与任何附加的酶和/或螯合剂处于不同隔室。

[0201] 在一个方面, 此类组合物可为液体衣物洗涤剂、餐具洗涤产品和/或颗粒状或粉状洗涤剂。

[0202] 本文所公开的任何所述消费品可为多隔室单位剂量的形式。在所述多隔室单位剂量的一个方面, 所述蛋白酶可与任何附加的酶和/或螯合剂处于不同隔室中。

[0203] 所述消费品可为任何形式, 包括流体或者固体。所述消费品可为单位剂量小袋的形式, 特别是当在液体形式时, 并且通常所述消费品为至少部分地、或甚至完全地被水溶性小袋所封闭。

[0204] 在前述消费品的一个或多个方面, 此类消费品可具有上面详细介绍的参数和/或特性的任何组合。

[0205] 附加的蛋白酶公开

[0206] 适宜的蛋白酶变体包括来源于亲本蛋白酶的酶, 所述亲本蛋白酶的序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或100%的同一性, 所述变体具有一个或多个下列特性:

[0207] a) 测试方法2性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9; 至少2; 1.1至约10、1.1至约8、或甚至1.1至约5;

[0208] b) 测试方法3性能指数为至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2; 1.1至约10、1.1至约8、或甚至1.1至约5;

[0209] c) 测试方法4性能指数为至少1.0、至少1.1、至少1.2、至少1.3、至少1.4、至少1.5、至少1.6、至少1.7、至少1.8、至少1.9、至少2; 1.0至约10、1.0至约8、或甚至1.0至约5。

[0210] 优选的蛋白酶变体,其具有根据以上测试方法2定义的特性。

[0211] 适宜的蛋白酶能来源于枯草杆菌蛋白酶,尤其是那些来源于迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)的SEQ ID NO:1枯草杆菌蛋白酶并且在一个方面可包含下列突变中的一个或多个:

[0212] A1R,Q2S,V4R,V4S,S9A,R10S,P14K,A16S,H17R,N18R,G20R,T22A,T22R,S24R,S24W,G25R,G25V,V26F,L42I,N43R,N43A,G46R,P52F,P52E,P52N,T57R,Q59A,N62E,N62Q,V68A,V68C,T71G,I72C,A74C.L75A,L75F,L75R,N76D,S78R,L82R,P86W,E89P,E89T,E89G,E89H,E89I,E89V,E89W,Y91N,K94N,G100S,S101A,S101N,S101G,S101D,S103G,S103N,V104L,V104I,S106V,S106G,A108I,L111V,E112V,G115K,G115R,N117F,G118I,V121F,S128D,S128F,S128L,S128N,P129E,S144R,L148I,A158E.G159E,S160D,S166D,N185E,N185I,R186H,S188E,S188D,D197F,V203E,Y209S,Y209N,Y209F,Y209T,Y209E,Y209H,Y209G,P210R,S212I,S212F,Y214F,A215N,A215D,A215E,L217E,L217N,T224A,A230E,A231I,Q236F,N238R,N238K,P239K,P239G,P239R,P239S,W241R,S242R,S242L,N243R,V244R,N248I,N248V,H249R,L250I,N252R,T253R,L262D,Y263F,S265F,L267V,L267N.N269I,N269R,E271F,E271I,E271H,E271P,E271T,E271V,E271L,和/或A272F,在一个优选的方面,所述酶变体包含至少以上两个突变。

[0213] 在一个方面,适宜的蛋白酶包括枯草杆菌蛋白酶,尤其是迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)的SEQ ID NO:1,其可包含下列各组突变、插入或缺失中的一个或多个:

[0214] T022R-S024R,S009A-E271L,N018R-W241R,N018R-G115R,N043R-H249R,G020R-H249R,V004R-H249R,G020R-S024R,N018R-H249R,S009A-G020R,G020R-W241R,S009A-S078R,G020R-G115R,N018R-S024R,S024R-S242R,T022R-G115R,N018R-N043R,G020R-N043R,N018R-S242R,S242R-N269R,N018R-V244R,S024R-N269R,G020R-E271L,S024R-E271L,V004R-S009A,G020R-N269R,A001R-S024R,V244R-E271L,S009A-N018R,W241R-E271L,V004R-S024R,S009A-H249R,S009A-T022R,N062E-P129E,N062E-G159E,A016S-L148I,A158E-H249R,A016S-N062E,L111V-S188D,T022A-N062E,N062E-L148I,T022A-P129E,N062E-E271F,N062E-A158E,A016S-G159E,N062E-R186H,S128N-G159E,N062E-S188D,N062E-S128N,L148I-G159E,S103G-A158E,L111V-G159E,A158E-E271F,A016S-S188D,T022A-L111V,S128N-A158E,A016S-A158E,V104L-A158E,S128N-R186H,G159E-Y209E,N062E-S101A,L111V-Y209E,L148I-S188D,S101A-Y209E,T022A-S188D,A016S-T022A,S128N-P129E,A016S-Y209E,A016S-S128N,T022A-E089P,S128N-Y209E,E089P-A158E,N062E-S103G,R186H-E271F,A016S-P129E,E089P-G159E,L111V-H249R,S101A-P129E,L148I-Y209E,T022A-G159E,P129E-H249R,P129E-Y209E,V104L-P129E,S128N-S188D,L111V-A158E,T022A-A158E,N062E-Y209E,N062E-H249R,S101A-R186H,E089P-P129E,P129E-E271F;

[0215] (b) T22A-L111V-G159E,S101A-S103G-V104L-Y209E,S101A-S103G-V104L-G159E,S101A-S103G-V104L-S188D,S101G-S103A-V104I-G159D,T22A-S103G-G159E,T22A-S128N-E271F-Y209E,T22A-Y209E-E271F,T22A-S101A-Y209E,S101A-Y209E-E271F,T22A-L111V-S128N,T22A-S101A-G159E,S101A-S103G-V104L,T22A-S101A-S103G-V104L,S101A-S103G-V104L,S101G-S103A-V104I,S101A-S103G-V104L-S128N,S103A-V104I-G159D-A232V-

Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D, 和/或S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F。

[0216] 在一个方面,适宜的蛋白酶包括枯草杆菌蛋白酶的变体,尤其是迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)的SEQ ID NO:1,所述变体包含三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个突变在包含位置1、2、4、9、10、14、16、17、18、20、22、24、25、26、42、43、46、52、57、59、62、68、71、72、74、75、76、78、82、86、89、91、94、100、101、103、104、106、108、111、112、115、117、118、121、128、129、144、148、158、159、160、166、185、186、188、197、203、209、210、212、214、215、217、224、230、231、236、238、239、241、242、243、244、248、249、250、252、253、262、263、265、267、269、271和272的位置组内。

[0217] 在一个优选的方面,适宜的蛋白酶包括枯草杆菌蛋白酶的变体,尤其是迟缓芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)的SEQ ID NO:1,所述变体包含总计三个突变,所述突变选自包含以下各项的组:A1R, Q2S, V4R, V4S, S9A, R10S, P14K, A16S, H17R, N18R, G20R, T22A, T22R, S24R, S24W, G25R, G25V, V26F, L42I, N43R, N43A, G46R, P52F, P52E, P52N, T57R, Q59A, N62E, N62Q, V68A, V68C, T71G, I72C, A74C, L75A, L75F, L75R, N76D, S78R, L82R, P86W, E89P, E89T, E89G, E89H, E89I, E89V, E89W, Y91N, K94N, G100S, S101A, S101N, S101G, S101D, S103G, S103N, V104L, V104I, S106V, S106G, A108I, L111V, E112V, G115K, G115R, N117F, G118I, V121F, S128D, S128F, S128L, S128N, P129E, S144R, L148I, A158E, G159E, S160D, S166D, N185E, N185I, R186H, S188E, S188D, D197F, V203E, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, P210R, S212I, S212F, Y214F, A215N, A215D, A215E, L217E, L217N, T224A, A230E, A231I, Q236F, N238R, N238K, P239K, P239G, P239R, P239S, W241R, S242R, S242L, N243R, V244R, N248I, N248V, H249R, L250I, N252R, T253R, L262D, Y263F, S265F, L267V, L267N, N269I, N269R, E271F, E271I, E271H, E271P, E271T, E271V, E271L和A272F;以及任选地包含下列突变中的一个或多个:S103A, G159D, Q236H, Q245R, N248D和N252K;优选所述变体包含四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个或十五个以上突变,以及任选地包含下列突变中的一个或多个:S103A, G159D, Q236H, Q245R, N248D和N252K。

[0218] 在一个方面,公开的所述蛋白酶为具有SEQ ID NO:1的枯草杆菌蛋白酶GG36的一

个变体,所述变体包含一个或多个突变,并且相对于枯草杆菌蛋白酶GG36野生型,其具有-5、-4、-3、-2、-1或0的总净电荷。

[0219] 在一个方面,所述蛋白酶变体为低离子强度蛋白酶。此类低离子强度是具有SEQ ID NO:1的枯草杆菌蛋白酶GG36的变体,所述变体包含一个或多个突变,优选如上文所定义,并且相对于枯草杆菌蛋白酶GG36野生型具有零或-5、-4、-3、-2、-1或0,优选为0、-1、-2或-3的负总净电荷。因此,根据本发明的一个优选方面提供了对于织物的洗涤方法,其包括在包含此类零或负总净电荷的蛋白酶、以及助剂材料的含水洗涤液体中洗涤织物,所述洗涤液体具有低离子强度。低离子强度意为其电导率为约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm的洗涤液体。优选此类蛋白酶变体将用在低浓度洗涤剂组合物中。

[0220] 所述蛋白酶优选包含突变,所述突变选自:

[0221] (a) 下列突变中的两个或更多个:A1R,Q2S,V4R,V4S,S9A,R10S,P14K,A16S,T22A,T22R,S24R,G25V,V26F,L42I,P52F,P52E,P52N,N62E,N62Q,V68A,V68C,T71G,I72C,A74C,L75A,L75F,S78R,E89P,E89T,E89G,E89H,E89W,Y91N,K94N,G100S,S101A,S101N,S101G,S101D,S103G,S103N,V104L,V104I,A108I,L111V,E112V,G115K,N117F,V121F,S128D,S128F,S128L,S128N,P129E,L148I,A158E,G159E,S160D,S166D,N185E,R186H,S188E,S188D,V203E,Y209S,Y209N,Y209F,Y209T,Y209E,Y209H,Y209G,P210R,S212I,S212F,Y214F,A215N,A215D,A215E,L217E,L217N,T224A,A230E,A231I,Q236F,N238R,N238K,P239K,P239G,P239R,N248V,H249R,L250I,L262D,Y263F,S265F,L267V,L267N,N269I,N269R,E271F,E271I,E271H和A272F;和/或

[0222] (b) 下列各组突变中的一个或多个:N062E-P129E,N062E-G159E,A016S-L148I,A158E-H249R,A016S-N062E,L111V-S188D,T022A-N062E,N062E-L148I,T022A-P129E,N062E-E271F,N062E-A158E,A016S-G159E,N062E-R186H,S128N-G159E,N062E-S188D,N062E-S128N,L148I-G159E,S103G-A158E,L111V-G159E,A158E-E271F,A016S-S188D,T022A-L111V,S128N-A158E,A016S-A158E,V104L-A158E,S128N-R186H,G159E-Y209E,N062E-S101A,L111V-Y209E,L148I-S188D,S101A-Y209E,T022A-S188D,A016S-T022A,S128N-P129E,A016S-Y209E,A016S-S128N,T022A-E089P,S128N-Y209E,E089P-A158E,N062E-S103G,R186H-E271F,A016S-P129E,E089P-G159E,L111V-H249R,S101A-P129E,L148I-Y209E,T022A-G159E,P129E-H249R,P129E-Y209E,V104L-P129E,S128N-S188D,L111V-A158E,T022A-A158E,N062E-Y209E,N062E-H249R,S101A-R186H,E089P-P129E,P129E-E271F,T22A-L111V-G159E,S101A-S103G-V104L-Y209E,S101A-S103G-V104L-G159E,S101A-S103G-V104L-S188D,S101G-S103A-V104I-G159D,T22A-S103G-G159E,T22A-S128N-E271F-Y209E,T22A-Y209E-E271F,T22A-S101A-Y209E,S101A-Y209E-E271F,T22A-L111V-S128N,T22A-S101A-G159E,S101A-S103G-V104L,T22A-S101A-S103G-V104L,S101A-S103G-V104L,S101G-S103A-V104I,S101A-S103G-V104L-S128N,S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K,S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K,S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K,S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K,S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K,S101G-S103A-V104L-G159D-

A232V-Q236H-N248D-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K, S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R, T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R, S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D和S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F;

[0223] 在一个方面上述低离子强度蛋白酶形成洗涤剂组合物的一部分,其在水中稀释,通常在一台洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm。

[0224] 在一个方面,所述蛋白酶为高离子强度蛋白酶。此类高离子强度蛋白酶为具有SEQ ID NO:1的枯草杆菌蛋白酶GG36的变体,所述变体包含两个或更多个突变,优选如上述所定义并且相对于枯草杆菌蛋白酶GG36野生型,具有+5,+4,+3,+2,+1或0的总净电荷,优选为正总净电荷,最优选为+1,+2或+3。因此,根据本发明的一个优选方面,提供了对于织物的洗涤方法,其包括在包含此类零或正总净电荷的蛋白酶、以及助剂材料的含水洗涤液体中洗涤织物,所述洗涤液体具有高离子强度。高离子强度意为其电导率为约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm的洗涤液体。

[0225] 在这个实施方案中所述蛋白酶中的突变是优选选自:

[0226] a) 下列突变中的两个或更多个:V4R,H17R,N18R,G20R,T22R,S24R,S24W,G25R,N43R,N43A,G46R,P52F,P52N,T57R,Q59A,N62Q,T71G,L75R,N76D,S78R,L82R,P86W,E89P,E89W,E89T,E89I,E89H,E89V,V104L,S106V,S106G,G115R,G118I,V121F,S144R,N185I,D197F,Y209N,Y209S,L217E,A231I,P239R,P239S,W241R,S242R,S242L,N243R,V244R,N248I,H249R,N252R,T253R,E271T,E271V,E271L,E271H,E271F,E271P,A1R,S9A,S212F和N269R;和/或

[0227] b) 下列各组突变中的一个或多个:T022R-S024R,S009A-E271L,N018R-W241R,N018R-G115R,N043R-H249R,G020R-H249R,V004R-H249R,G020R-S024R,N018R-H249R,S009A-G020R,G020R-W241R,S009A-S078R,G020R-G115R,N018R-S024R,S024R-S242R,T022R-G115R,N018R-N043R,G020R-N043R,N018R-S242R,S242R-N269R,N018R-V244R,S024R-N269R,G020R-E271L,S024R-E271L,V004R-S009A,G020R-N269R,A001R-S024R,V244R-E271L,S009A-N018R,W241R-E271L,V004R-S024R,S009A-H249R,S009A-T022R,S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F,S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R,S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R,S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K,S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K。

[0228] 在一个方面,上述高离子强度蛋白酶形成洗涤剂组合物的一部分,其加入水中,对

于手洗或者机洗方法,通常在洗衣机内,以形成洗涤液体,其电导率为高于约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm。

[0229] 相对于具有SEQ ID NO:1氨基酸序列的枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶野生型,所述蛋白酶变体的电荷表达了。赋予单负电荷的氨基酸为D和E,而那些赋予单正电荷的为R、H和K。任何对SEQ ID NO:1的改变电荷的氨基酸变化用于计算所述蛋白酶变体的电荷。例如,从野生型的中性位置导入一个负带电突变将对蛋白酶变体增加-1的净电荷,而从野生型正性氨基酸残基(R、H或K)导入一个负带电突变(D或E)将增加-2的净电荷。对蛋白酶变体中对具有SEQ ID NO:1氨基酸序列的枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶野生型不同的所有氨基酸残基的电荷变化进行加和,就得到了所述蛋白酶变体的电荷变化。

[0230] 用于低电导率衣物洗涤剂溶液的蛋白酶优选的电荷范围是-5,-4,-3,-2,-1,0,尤其是-2,-1;

[0231] 用于高电导率衣物洗涤剂溶液的蛋白酶优选的电荷范围是+5,+4,+3,+2,+1,0,尤其是+2,+1。通过正确的选择电荷,能获得意想不到的改善水平的清洁性能。

[0232] 低电导率溶液被定义为具有约0.1mS/cm至约3mS/cm、约0.3mS/cm至约2.5mS/cm、或甚至约0.5mS/cm至约2mS/cm的电导率。

[0233] 具有电导率溶液的高电导率被定义为具有约3mS/cm至约30mS/cm、约3.5mS/cm至约20mS/cm、或甚至约4mS/cm至约10mS/cm的电导率。

[0234] 制备冷水蛋白酶的方法

[0235] 业内已知有几种适宜的方法来生成本发明的修饰多个核苷酸序列,包括但不限于位点饱和诱变、扫描诱变、插入诱变、缺失诱变、随机诱变、定点诱变、定向进化、以及各种其他重组方法。常用的方法包括DNA改组(参见Stemmer,Proc Natl Acad Sci U S A.25:10747-51[1994]),methods based on non-homologous recombination of genes(例如ITCHY)(Ostermeier等人,Bioorg Med Chem.7:2139-44[1999]),SCRATCHY(Lutz等人,Proc Natl Acad Sci USA.98:11248-53[2001]),SHIPREC(Sieber等人,Nat Biotechnol.,19:456-60[2001]),和NRR(Bittker等人,Nat Biotechnol.,20:1024-9[2001];Bittker等人,Proc Natl Acad Sci USA.101:7011-6[2004]),和依赖于使用寡核苷酸以随机插入和靶向突变、缺失和/或插入的方法(Ness等人,Nat Biotechnol.20:1251-5[2002];Coco等人,Nat Biotechnol.,20:1246-50[2002];Zha等人,Chembiochem.3:34-9[2003],Glaser等人,J Immunol.,149:3903-13[1992],Sondek和Shortle,Proc Natl Acad Sci USA 89:3581-5[1992],Yáñez等人,Nucleic Acids Res.,32:e158[2004],Osuna等人,Nucleic Acids Res.,32:e136[2004],Gaytán等人,Nucleic Acids Res.,29:E9[2001],和Gaytán等人,Nucleic Acids Res.,30:e84[2002])。

[0236] 在一些实施方案中,所述全长亲本多核苷酸连接到合适的表达质粒中,然后使用后续诱变方法以有利于本发明的改性蛋白酶的构建,虽然也可以使用其他方法。所述方法基于Pisarchik等人(Pisarchik等人,Prot.Eng.Des.Select.,20:257-265[2007])。在一些实施方案中,提供了一个增加的优点:本文所用的限制性酶在其识别位点外切割,它允许实际上任意的碱基序列的消化和排除的限制性位点的瘢痕形成。首先,如本文所述,获得了一个天然存在的编码所述全长蛋白酶的基因,然后测序,然后扫描出一个或多个点,其中的一个或多个氨基酸可以期望制造突变(缺失、插入、取代或它们的组合)。为了改变基因的序列

以与所期望的序列相符而进行的基因突变,通过与普遍已知的方法相一致的引物延伸而实现。所述期望的突变点的左侧和右侧片段通过聚合酶链反应进行扩增,包括Eam1104I限制性位点。所述左侧和右侧片段用Eam1104I消化以生成多个具有互补的三个碱基突出端的片段,其然后合并起来并连接以生成包含一个或多个突变的修饰序列库。这一方法避免了移框突变的产生。此外,这个方法简化了诱变方法,因为所有的寡核苷酸能合成以便具有相同的限制性位点,而不像一些其他的方法需要合成接头以构建限制性位点。

[0237] 实施例31至43给出了一套非限制性的用于制备冷水蛋白酶的方法。

[0238] 适用的织物调色剂

[0239] 荧光增白剂发出至少一些可见的光。与之相反,织物调色剂能改变表面颜色是因为它们吸收至少一部分可见光谱。适用的织物调色剂包括染料、染料-粘土共轭物和颜料,它们能满足本说明书测试方法部分的测试方法1的需求。适宜的染料包括小分子染料和聚合物染料。适宜的小分子染料包括染料,所述染料选自:染料落入显色指数(CI)的分类直接蓝、直接红、直接紫、酸性蓝、酸性红、酸性紫、碱性蓝、碱性紫和碱性红、或它们的混合物。

[0240] 配制调色染料以从洗涤液体沉积到织物上,从而改善织物白色感。在一个方面,所述调色剂染料是蓝色或紫色。在一个方面,所述着色染料可具有550nm至650nm峰值吸收波长,或在一个方面570nm至630nm。染料合在一起的组合具有作为一个单一的染料对人眼的视觉效果,其在聚酯上的峰值吸收波长为550nm至650nm,或570nm到630nm。这可通过例如将红色和竹绿色染料混合以产生蓝色或紫色色调来提供。

[0241] 染料为有色有机分子,其可溶于包含表面活性剂的含水介质中。染料描述于K.Hunger(编辑)的“Industrial Dyes”(Wiley VCH 2002)中。染料列于由Society of Dyers and Colourists和American Association of Textile Chemists and Colorists公布的“Color Index International”中。染料通常是从碱性的、酸性的、疏水性的、直接的和聚合物染料和染料结合物的类中选择。洗涤剂制剂领域的技术人员能够从这些公布中选择适宜的调色染料。聚合物调色染料是可商购获得的,例如得自Milliken(Spartanburg, South Carolina,USA)。

[0242] 适宜染料的实例为直接紫7、直接紫9、直接紫11、直接紫26、直接紫31、直接紫35、直接紫40、直接紫41、直接紫51、直接紫66、直接紫99、酸性紫50、酸性蓝9、酸性紫17、酸性黑1、酸性红17、酸性蓝29、溶剂紫13、分散紫27、分散紫26、分散紫28、分散紫63和分散紫77、碱性蓝16、碱性蓝65、碱性蓝66、碱性蓝67、碱性蓝71、碱性蓝159、碱性紫19、碱性紫35、碱性紫38、碱性紫48、碱性蓝3、碱性蓝75、碱性蓝95、碱性蓝122、碱性蓝124、碱性蓝141、噻唑染料、活性蓝19、活性蓝163、活性蓝182、活性蓝96、**Liquitint[®]** Violet CT(Milliken, Spartanburg,USA)和Azo-CM-Cellulose(Megazyme,Bray,Republic of Ireland)。

[0243] 可以组合使用上述织物调色剂(可使用织物调色剂的任何混合物)。合适的织物调色剂可购自Aldrich,Milwaukee,Wisconsin,USA;Ciba Specialty Chemicals,Basel, Switzerland;BASF(Ludwigshafen,Germany);Dayglo Color Corporation,Mumbai,India;Organic Dyestuffs Corp.,East Providence,Rhode Island,USA;Dystar,Frankfurt, Germany;Lanxess,Leverkusen,Germany;Megazyme,Wicklow,Ireland;Clariant(Muttenz, Switzerland);Avecia,Manchester,UK和/或根据本文包含的实例制备。

[0244] 更适宜的调色剂在US 7,208,459 B2中有更详细的描述。

[0245] 包封物

[0246] 在前述消费品的一个方面,所述消费品可包含基于总消费品重量,约0.001重量%至约5重量%,约0.01重量%至约2重量%,或甚至约0.03重量%至约0.5重量%的所述包含香料的包封物,在一个方面,所述包封物的香料包含香料微胶囊。适宜的包封物通常包含芯、具有内外表面的壳,所述壳包封物所述芯。在所述包封物的一个方面,所述核心可包含选自下列香料的材料:增白剂;染料;驱虫剂;硅氧烷;蜡;风味剂;维生素;织物软化剂;皮肤护理剂,在一个方面,石蜡;酶;抗菌剂;漂白剂;感觉剂、以及它们的混合物;并且所述外壳可包含选自下列聚乙烯的材料:聚酰胺;聚苯乙烯;聚异戊二烯;聚碳酸酯;聚酯;聚丙烯酸酯;氨基塑料,在一个方面所述氨基塑料可包含聚脲、聚氨酯、和/或聚脲氨酯,在一个方面所述聚脲可包括聚甲醛脲和/或三聚氰胺甲醛树脂;聚烯烃;多糖,在一个方面所述多糖可包括藻酸盐和/或脱乙酰壳多糖;胶质;紫胶;环氧树脂;乙烯基聚合物;水不溶性无机物;硅氧烷;以及它们的混合物。

[0247] 在所述包封物的一个方面,所述核心可包含香料。

[0248] 在所述包封物的一个方面,所述外壳可包含三聚氰胺甲醛和/或交联的三聚氰胺甲醛。

[0249] 在一个方面,公开了可包含核心材料和外壳的适合的包封物,所述外壳至少部分地围绕所述核心材料。至少75%,85%或甚至90%的所述包封物具有约0.2MPa至约10MPa,约0.4MPa至约5MPa,约0.6MPa至约3.5MPa,或甚至约0.7MPa至约3MPa的破裂强度;以及0%至约30%,0%至约20%,或甚至0%至约5%的有益剂渗漏度。

[0250] 在一个方面,至少75%、85%或甚至90%的所述包封物可具有约1微米至约80微米,约5微米至60微米,约10微米至约50微米,或甚至约15微米至约40微米的粒度。

[0251] 在一个方面,至少75%、85%或甚至90%的所述包封物可具有约30nm至约250nm,约80nm至约180nm,或甚至约100nm至约160nm的颗粒壁厚。

[0252] 在一个方面中,所述包封物的核芯材料可包含物质,所述物质选自:香料原料和/或任选的物质,所述任选的物质选自:植物油(包括纯植物油和/或混合的植物油),包括蓖麻子油、椰油、棉籽油、葡萄油、油菜籽、大豆油、玉米油、棕榈油、亚麻籽油、红花油、橄榄油、花生油、椰子油、棕榈仁油、蓖麻油、柠檬油、以及它们的混合物;植物油酯、酯,包括己二酸二丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、己二酸苄酯丁酯、己二酸辛酯苄酯、磷酸三(邻甲苯酯)、磷酸三辛酯、以及它们的混合物;直链或支化烃,包括那些沸点大于约80℃的直链或支化烃;部分氢化的三联苯、邻苯二甲酸二烷基酯、烷基联苯(包括单异丙基联苯)、烷基化萘(包括二丙基萘)、石油溶剂油(包括煤油、矿物油)、以及它们的混合物;芳族溶剂,包括苯、甲苯、以及它们的混合物;硅油;以及它们的混合物。

[0253] 在一个方面,所述包封物的外壳材料可包含适合的树脂,所述树脂包括醛和胺的反应产物,适合的醛包括甲醛。适宜的胺包括三聚氰胺、脲、苯胍胺、甘脲、以及它们的混合物。适宜的三聚氰胺包括羟甲基三聚氰胺、甲基化羟甲基三聚氰胺、亚氨基三聚氰胺、以及它们的混合物。适宜的脲包括二羟甲基脲、甲基化二羟甲基脲、脲-间苯二酚、以及它们的混合物。

[0254] 在一个方面,适合的甲醛清除剂可被用于所述包封物,例如,加入胶囊悬浮液中

和/或在所述包封物被加入到消费品中之前、期间或之后加入此类消费品中。

[0255] 适合的胶囊能够按照USPA 2008/0305982 A1和/或USPA 2009/0247449 A1的教导制得。作为另外一种选择,适合的胶囊可购自Appleton,Wisconsin USA的Appleton Papers Inc.。

[0256] 此外,用于制备前述包封物的材料可以从Solutia Inc.(St Louis, Missouri U.S.A.)、Cytec Industries (West Paterson, New Jersey U.S.A.)、sigma-Aldrich (St.Louis, Missouri U.S.A.)、CP Kelco Corp.of San Diego, California, USA; BASF AG (Ludwigshafen, Germany); Rhodia Corp. (Cranbury, New Jersey, USA); Hercules Corp. (Wilmington, Delaware, USA); Agrium Inc. of Calgary, Alberta, Canada, ISP of New Jersey U.S.A., Akzo Nobel of Chicago, IL, USA; Stroever Shellac Bremen of Bremen, Germany; Dow Chemical Company of Midland, MI, USA; Bayer AG of Leverkusen, Germany; Sigma-Aldrich Corp., St.Louis, Missouri, USA。

[0257] 制备亲本蛋白酶变体的方法

[0258] 实施例31至43给出了用于制备所述蛋白酶的一组非限制性方法。

[0259] 蛋白酶氨基酸编号、酶的命名和附加的定义。

[0260] 本专利中所用的氨基酸位置编号是解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'编号体系。每个蛋白酶变体的每个氨基酸位置,根据如图1所示的解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列中对应的氨基酸位置的编号而编号,其由蛋白酶变体的氨基酸序列和解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN'氨基酸序列的比对所确定。

[0261] 供选择的替代编号方案是对迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36的特定氨基酸序列编号,该蛋白酶具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。本文所述的蛋白酶变体的氨基酸位置,包括蛋白酶变体,没有使用这种替代的编号方案。

[0262] 在本文描述的蛋白酶变体中,以下的术语被用于便于参考:初始氨基酸:位置:取代氨基酸。

[0263] 突变按以下方式命名:表示亲本氨基酸的单字母编码,接着是三位数字的位置编号,然后是表示变体氨基酸的单字母编码。例如,在位置87使甘氨酸(G)突变为丝氨酸(S)被表示为“G087S”或“G87S”。多重突变通过在突变之间插入“-”表示。在位置87和90的突变表示为“G087S-A090Y”或“G87S-A90Y”或“G87S+A90Y”或“G087S+A090Y”。对于缺失使用单字母代码“Z”。就相对于亲本序列的插入而言,单字母编码“Z”位于位置编号的左侧。就缺失而言,单字母编码“Z”位于位置编号的右侧。就插入而言,位置编号是该插入的氨基酸之前的位置编号,每一个氨基酸加上0.01。例如,在位置87和88之间插入三个氨基酸甘氨酸(A),丝氨酸(S)和酪氨酸(Y)显示为“Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y。”。因此,以上突变加上在位置100的组合为:“G087S-Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y-A090Y-A100Z。”

[0264] 在所有情况下,使用公认的IUPAC单字母或三字母氨基酸缩写。单字母X是指二十种氨基酸中的任何一种。

[0265] 术语“野生型”用于指氨基酸序列或核酸序列时表示该氨基酸序列或核酸序列是自然的或者天然存在的序列。如本文所用,术语“天然存在的”是指天然存在的(即尚未通过重组方法被操纵的)任何事物(例如,蛋白质、氨基酸或核酸序列)。如本文所用,术语“非天然存在的”是指并非天然存在的任何事物(例如,在实验室中产生的重组核酸)。

[0266] 如本文所用,就氨基酸残基位置而言,“与相应”或“对应于”或“对应的”是指在蛋白质或多肽中的所列举位置的氨基酸残基,或与蛋白质或多肽中的所列举残基同样的、同源的或等同的氨基酸残基。如本文所用,“对应的区域”一般是指相关的蛋白质或参考蛋白质上同样的位置。

[0267] 术语“来源于”和“获得自”不仅是指通过所关注的生物菌株生产的或可生产的蛋白酶,还指由从此类菌株分离的DNA序列编码的和在包含此类DNA序列的宿主生物中生产的蛋白酶。此外,该术语还指由合成的和/或cDNA来源的DNA序列编码的并且具有所关注的蛋白酶的标识性特征的蛋白酶。例如,“来源于芽孢杆菌属的蛋白酶”是指由芽孢杆菌属天然地产生的具有蛋白水解活性的那些酶,以及与通过芽孢杆菌属来源产生的那些相似,但却是通过使用基因工程技术,由用编码丝氨酸蛋白酶的核酸转化的非芽孢杆菌属生物产生的丝氨酸蛋白酶。

[0268] 当论及两种核酸或多肽时,术语“同一的”是指当就最大一致性进行比对(如使用下列的序列比对或分析算法所测量的)时,这两种序列中的残基是相同的。

[0269] 如本文所用,“同源基因”是指来自不同但通常相关的物种,彼此相当并且彼此相同或非常相似的一对基因。该术语包括被物种形成(即新物种的产生)所分离的基因(例如直系同源基因),以及通过基因复制被分离的基因(例如旁系同源基因)。

[0270] 蛋白质、多肽、或肽的“成熟的”形式,是指蛋白质、多肽、或肽不含信号肽序列和前肽序列的功能性形式。

[0271] 如本文所用,“同源性”是指序列的相似性或同一性,优选的是同一性。同源性可利用本领域中已知的标准技术测定(参见例如Smith和Waterman,Adv.Appl.Math.2:482[1981];Needleman和Wunsch,J.Mol.Biol.48:443[1970];Pearson和Lipman,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:2444[1988];软件程序如GAP,BESTFIT,FASTA,和TFASTA在the Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, Madison, WI);和Devereux等人,Nucl.Acid Res.12:387-395[1984])。有用的算法的一个例子是PILEUP。PILEUP采用渐进的双重比对从一组相关的序列产生多重序列比对。它能够生成显示用于产生上述比对的聚类关系的树状图。PILEUP使用简化的Feng和Doolittle的渐进比对方法(见Feng和Doolittle,J.Mol.Evol.35:351-360[1987])。该方法与Higgins和Sharp(参见Higgins和Sharp,CABIOS 5:151-153[1989])所描述的方法相似。有用的PILEUP参数包括默认为3.00的空位权重、默认为0.10的空位长度权重和加权末端空位。另一个有用算法的例子是BLAST算法,由Altschul等人描述,(参见Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410[1990];以及Karlin和Altschul,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-5787[1993])。一个特别有用的BLAST程序是WU-BLAST-2程序(参见Altschul等人,Meth.Enzymol.266:460-480[1996])。WU-BLAST-2使用多个检索参数,大多数的这些参数被设定为默认值。可调整参数设置为下列值:重叠跨度=1,重叠分数=0.125,字符阈值(T)=11。HSP S和HSP S2参数是动态的值,由程序自身依据特定序列的组成和针对其进行对所关注的序列的检索的特定数据库的组成而确定。但是,可以调整这些值以提高敏感度。

[0272] 本领域的技术人员可容易地确定参考序列与所关注的测试序列之间的序列同一性百分比。多核苷酸或多肽序列之间的同一性百分比,由这些分子之间序列信息的直接比较所决定,比较通过比对序列和用本领域中已知的方法测定同一性进行。适宜的用于确定

序列相似性的算法的一个例子是BLAST算法,(参见Altschul,et al.,J.Mol.Biol.,215:403-410[1990])。进行BLAST分析的软件可从美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)公开获得。该算法涉及首先通过识别与数据库序列中相同字长的序列比对时,检索序列中相匹配的或满足某种为正值阈值分数T的字长为W的短序列,而识别高评分序列对(HSP)。这些初始的相邻的字符命中,被作为发现包含它们的更长的HSP的起始点。字符命中沿被比较的两个序列在两个方向上延伸,只要累积的比对评分能够增加。字符命中的延伸被终止,当:所述累计的比对评分下降逾来自最大获取值的数量X;所述累计的评分为零或低于零;或到达了一侧序列的端部。BLAST算法的参数W、T和X决定了比对的敏感度和速度。BLAST程序使用下列默认值:字长(W)为11,BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff和Henikoff,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915[1992])比对(B)为50,期望值(E)为10, $M'5$, $N'-4$ 和对双链均进行比较。

[0273] 然后,BLAST算法进行对两条序列之间相似性的统计学分析(参见例如Karlin和Altschul,见上文)。BLAST算法所提供的一种相似性量度是最小概率总和(P(N)),其提供两条核苷酸或氨基酸序列间会随机出现匹配的概率的指示。例如,认为一条序列与本发明的丝氨酸蛋白酶核酸序列相似的条件是:将该测试核酸与丝氨酸蛋白酶核酸进行比较时的最小概率总和小于约0.1、更优选小于约0.01、最优选小于约0.001。当该测试核酸编码丝氨酸蛋白酶多肽时,如果最小概率总和的比较结果为小于约0.5,更优选为小于约0.2,则认为其与所指定的丝氨酸蛋白酶核酸是相似的。

[0274] 当论及两种或更多种核酸或多肽序列时,“同一性”百分比或“同一性”是指当就最大相似度(如使用序列比对算法或目测所确定的)被比较和比对时,两种或更多种序列是相同的,或者分别有指定百分比的核酸残基或氨基酸残基是相同的。受试氨基酸序列与参考(即查询)氨基酸序列的“序列同一性百分比”或“%同一性”或“%序列同一性”或“%氨基酸序列同一性”是指当序列被最优化对齐时,上述受试氨基酸序列在一段比对长度上与查询氨基酸序列按所指定的百分比是同一的(即以氨基酸连着氨基酸的原则)。因此,关于两段氨基酸序列的“80%氨基酸序列同一性”或“80%同一性”意指在两条最优化地对齐的氨基酸序列中80%的氨基酸残基是相同的。

[0275] 受试核酸序列与参考(即查询)核酸序列的“序列同一性百分比”或“%同一性”或“%序列同一性”或“%核酸序列同一性”是指当序列被最优化对齐时,上述受试核酸序列在一段比对长度上与查询核酸序列按所指定的百分比是同一的(即就多核苷酸序列而言以核苷酸连着核苷酸的原则)。因此,关于两段核酸序列的“80%核酸序列同一性”或“80%同一性”意指在两条最优化地对齐的核酸序列中80%的核酸残基是相同的。

[0276] 在一些实施方案中,受试序列与查询序列的“序列同一性百分比”或“%序列同一性”或“%同一性”,能够通过最优化地对齐这两段序列并在比对长度上比较这两段最优化对齐的序列而被算出。确定最优化的对齐中相同的残基在两条序列上均出现的位置的数量,从而提供了匹配位置的数量,然后用匹配位置的数量除以上述比对长度(除非另外指明,比对长度即查询序列的长度)的总的位置数量。将所得到的数字乘以100,即得到上述受试序列与查询序列的序列同一性百分比。

[0277] “最优化对齐”或“最优化地对齐的”是指两条(或更多条)序列给出最高的同一性百分比评分的对齐。例如,两种蛋白质序列的最优化对齐能够通过人工对齐序列以使得每

种序列中最大数量的相同的氨基酸残基被对齐、或者通过使用本文所述的或本领域中已知的软件程序或方法而实现。两种核酸序列的最优化对齐能够通过人工对齐序列以使得每种序列中最大数量的相同的核苷酸残基被对齐、或者通过使用本文所述的或本领域中已知的软件程序或方法而实现。

[0278] 在一些实施方案中,当采用所定义参数,例如所定义的氨基酸取代矩阵、空位存在罚分(也被称为空位开放罚分)和空位延伸罚分,以实现一对多肽序列所可能的最高的相似性评分,而将这对序列对齐时,这两条多肽序列被视为是“最优化地对齐的”。在多肽序列比对算法(例如,BLASTP)中,BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff和Henikoff,见上文),经常被用作默认的评分的取代矩阵。空位存在罚分应用于所比对的序列之一中单个氨基酸空位的引入,而空位延伸罚分应用于空位中的每一个残基位置。采用的示例性比对参数是:BLOSUM62评分矩阵,空位存在罚分=11,以及空位延伸罚分=1。比对评分由每一序列上比对在其处开始和结束的氨基酸位置(即比对窗口)限定,并且任选地通过向一条或两条序列均插入一个空位或多个空位,以实现最高的可能的相似性评分。

[0279] 两种或更多种序列之间的最优化对齐能够通过目测或通过使用计算机而被确定,例如但不限于:用于氨基酸序列的BLASTP程序和用于核酸序列的BLASTN程序(参见例如Altschul等人,Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402(1997);也见于美国国家生物技术信息中心(NCBI)网站)。

[0280] 非免疫等价的酶和/或附加的酶

[0281] 所述消费品能包含一个或多个酶,其提供了清洁性能和/或织物护理有益效果。适宜的酶的实例包括但不限于半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木素酶、支化淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、麦拉宁酶、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶和淀粉酶、或它们的混合物。典型的组合是可包含例如与淀粉酶结合的蛋白酶和脂肪酶的酶组合。当存在于消费品中时,前述附加的酶可以按所述消费品重量计约0.00001%至约2%,约0.0001%至约1%,或甚至约0.001%至约0.5%水平的酶蛋白存在。

[0282] 在一个方面,适宜的酶将包括蛋白酶。适合的蛋白酶包括金属蛋白酶和丝氨酸蛋白酶,包括中性或碱性微生物丝氨酸蛋白酶,如枯草杆菌蛋白酶(EC 3.4.21.62)。适用的蛋白酶包括动物、植物或微生物起源的那些蛋白酶。在一个方面,此类适宜的蛋白酶可源自微生物。适宜的蛋白酶包括化学上或基因上改性的上述适宜蛋白酶的突变体。在一个方面,适宜的蛋白酶可为丝氨酸蛋白酶,如碱性微生物蛋白酶和/或胰蛋白酶型蛋白酶。适宜中性或碱性蛋白酶的实例包括:

[0283] (a) 枯草杆菌蛋白酶(EC 3.4.21.62),包括来源于芽孢杆菌属的那些,如US 6,312,936 B1,US 5,679,630,US 4,760,025,US 7,262,042和W009/021867中所述的迟缓芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌。

[0284] (b) 胰蛋白酶型或胰凝乳蛋白酶型蛋白酶,如胰蛋白酶(例如,来源猪或牛的),包括如US5288627中所述的镰孢属(*Fusarium*)和如US PA 2008/0063774A1中所述来源于纤维单胞菌(*Cellulomonas*)的胰凝乳蛋白酶。

[0285] (c) 金属蛋白酶,包括那些如US PA 2008/0293610A1中所述来源于解淀粉芽孢杆

菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 的那些。

[0286] 适宜的蛋白酶包括那些来源于吉氏芽孢杆菌 (*Bacillus gibsonii*) 或迟缓芽孢杆菌 (*Bacillus lentus*) 的那些。

[0287] 适宜的可商购获得的蛋白酶包括那些以商品名 **Alcalase[®]**, **Savinase[®]**, **Primase[®]**, **Durazym[®]**, **Polarzyme[®]**, **Kannase[®]**, **Liquanase[®]**, **Liquanase Ultra[®]**, **Savinase Ultra[®]**, **Ovozyme[®]**, **Neutrase[®]**, **Everlase[®]** 和 **Esperase[®]** 商品名销售、来自 Novozymes A/S (Denmark) 的, 那些以商品名 **Maxatase[®]**, **Maxacal[®]**, **Maxapem[®]**, **Properase[®]**, **Purafect[®]**, **Purafect Prime[®]**, **Purafect Ox[®]**, **FN3[®]**, **FN4[®]**, **Excellase[®]** 和 **Purafect OXP[®]** 销售、来自 Genencor International 的, 那些以商品名 **Opticlean[®]** 和 **Optimase[®]** 销售、来自 Solvay Enzymes 的, 那些购自 Henkel/Kemira, 名为 BLAP (序列如 US 5,352,604 的图 29 所示, 带有下列突变: S99D+S101R+S103A+V104I+G159S, 在下文中称为 BLAP), BLAP R (BLAP 带有 S3T+V4I+V199M+V205I+L217D), BLAP X (BLAP 带有 S3T+V4I+V205I) 以及 BLAP F49 (BLAP 带有 S3T+V4I+A194P+V199M+V205I+L217D) - 全部来自 Henkel/Kemira; 和 KAP (嗜碱芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶带有突变 A230V+S256G+S259N) 来自 Kao。

[0288] 在一个方面, 所述消费品可包含与本发明所述蛋白酶不免疫等价的蛋白酶。就本发明的目的而言, 免疫等价的蛋白酶将与 BPN' 具有高度的同一性 (>80%), 并且会与相同抗体交叉反应。适合的非免疫等价的酶将包括来源于迟缓芽孢杆菌、吉氏芽孢杆菌的那些以及来源于解淀粉芽孢杆菌的金属蛋白酶。

[0289] 适宜的 α -淀粉酶包括源自细菌或真菌的淀粉酶。包括化学或基因修饰的突变体 (变体)。适宜的碱性 α -淀粉酶可为来源于一株芽孢杆菌, 如地衣芽孢杆 (*Bacillus licheniformis*), 解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*), 嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*), 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*), 或其他芽孢杆菌属 (*Bacillus sp.*), 如芽孢杆菌属 (*Bacillus sp.*)。NCIB 12289, NCIB 12512, NCIB 12513, DSM 9375 (USP 7,153,818) DSM 12368, DSMZ 12649, KSM AP1378 (US 6,979,731), KSM K36 或 KSM K38 (6,916,645)。适宜的淀粉酶包括:

[0290] (a) 在 W0 94/02597, US6,297,037, US 7,378,264 和 US5,763,385 中所述变体, 特别是对在 US 7,378,264 中列出如 SEQ ID NO:2 的酶, 在下列位置带有一个或多个取代的所述变体: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 181, 188, 190, 197, 202, 208, 209, 243, 264, 304, 305, 391, 408 和 444。

[0291] (b) 在 USP 5,856,164 和 US6,673,589, US 6,093,562, US 6,187,576 和 US PA 2008/0193999A1 中所述变体, 特别是对在 US PA 2008/0193999A1 中列出如 SEQ ID NO:12 的 AA560 酶, 在下列位置带有一个或多个取代的所述变体:

[0292] 26、30、33、82、37、106、118、128、133、149、150、160、178、182、186、193、203、214、231、256、257、258、269、270、272、283、295、296、298、299、303、304、305、311、314、315、318、319、339、345、361、378、383、419、421、437、441、444、445、446、447、450、461、471、482、484, 优选还包含 D183* 和 G184* 缺失的变体。

[0293] (c) 变体显示与 US PA 2008/0193999A1 中来自芽孢杆菌属 SP722 的 SEQ ID NO:4 具

有至少90%的同一性,特别是如US 6,187,576所述在位置183和184具有缺失的变体,其以引用的方式并入本文。

[0294] (d) 变体表现出与来自芽孢杆菌属707 (*Bacillus* sp.707) 的野生型酶 (US 6,093,562中的SEQ ID NO:7), 尤其是包含一个或多个下列突变:M202,M208,S255,R172和/或M261的那些,至少95%的同一性。在一个方面,所述淀粉酶包含一个或多个M202L,M202V,M202S,M202T,M202I,M202Q,M202W,S255N和/或R172Q。尤其适宜的是那些包含M202L或M202T突变。

[0295] 适合的可商购获得的 α -淀粉酶包括DURAMYL[®]、LIQUEZYME[®]、TERMAMYL[®]、TERMAMYL ULTRA[®]、NATALASE[®]、SUPRAMYL[®]、STAINZYME[®]、STAINZYME PLUS[®]、FUNGAMYL[®]和BAN[®] (Novozymes A/S,Bagsvaerd, Denmark)、KEMZYM[®] AT 9000 Biozym Biotech Trading GmbH Wehlistrasse 27b A-1200 Wien Austria、RAPIDASE[®]、PURASTAR[®]、ENZYSIZE[®]、OPTISIZE HT PLUS[®]和PURASTAROXAM[®] (Genencor International Inc.,Palo Alto,California) 和KAM[®] (Kao,14-10 Nihonbashi Kayabacho,1-chome,Chuo-ku Tokyo 103-8210, Japan)。在一个方面,适合的淀粉酶包括NATALASE[®]、STAINZYME[®]和STAINZYME PLUS[®]以及它们的混合物。

[0296] 在一个方面,此类附加的酶可为选自:脂肪酶,包括“第一循环脂肪酶”如那些在美国专利公开6,939,702 B1和美国专利申请2009/0217464中所述。在一个方面,所述脂肪酶为第一洗涤脂肪酶,在一个方面,所述来源于疏棉状嗜热丝孢菌 (*Thermomyces lanuginosus*) 的野生型脂肪酶变体包含T231R和N233R突变。野生型序列是Swissprot登录号为Swiss-Prot 059952 (来源于疏棉状嗜热丝孢菌 (柔毛腐质霉属)) 的269种氨基酸 (氨基酸23-291)。适宜的脂肪酶将包括以商品名Lipex[®]、Lipolex[®]和Lipoclean[®]由Novozymes (Bagsvaerd,Denmark) 出售的那些。

[0297] 在一个方面,所述组合物包含疏棉状嗜热丝孢菌 (*Thermomyces lanuginosus*) 脂肪酶变体,其与野生型氨基酸具有>90%的一致性,并且包含在位置T231和/或N233的取代,在一个方面,T231R和N233R。

[0298] 在一个方面,其他酶包括细菌或真菌来源的纤维素酶。包括化学改性的或蛋白工程化的突变体。适宜的纤维素酶包括来源于芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、腐质霉属 (*Humicola*)、镰孢属 (*Fusarium*)、草根霉属 (*Thielavia*)、枝顶孢霉属 (*Acremonium*)、例如,如US 4,435,307,US 5,648,263,US 5,691,178,US 5,776,757和US 5,691,178所公开的,产自特异腐质霉 (*Humicola insolens*)、嗜热毁丝霉 (*Myceliophthora thermophila*) 和尖孢镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 的真菌纤维素酶。适宜的纤维素酶包括碱性或中性纤维素酶,其具有颜色护理益处。此类纤维素酶实施例如US 5,520,838,US 5,948,672,US 5,919,691,US 6,001,639,WO 98/08940所述。其他的实施例如为如US 6,114,296,US 5,457,046,US 5,457,046,US 5,686,593,US 5,763,254,US 6,117,664,US PA 2009/0170747A1和PCT/DK98/00299所述的那些纤维素酶变体。可商购获得的纤维素酶包括CELLUZYME[®]和CAREZYME[®] (Novozymes A/S), CLAZINASE[®]

和PURADAX HA[®] (Genencor International Inc.), 以及KAC-500(B)[®] (Kao Corporation)。

[0299] 在一个方面,所述纤维素酶可为细菌清洁纤维素酶。此类细菌清洁纤维素酶为内切β-1,4-葡聚糖酶并具有不包含A类碳水化合物结合模块(CBM)的结构。A类CBM是按照A.B.Boraston等人,Biochemical Journal 2004,第382卷(第3部分)第769-781页所定义。具体地讲,所述纤维素酶不包含第1、2a、3、5和10家族中的A型CBM。

[0300] 在一个方面,所述细菌清洁纤维素酶可为具有对无定形纤维素底物的酶活性的糖基水解酶,其中所述糖基水解酶为选自GH家族5,7,12,16,44或74。在一个方面,所述纤维素酶可为选自GH家族5的糖基水解酶。在一个方面,所述纤维素酶可为购自Novozymes的Celluclean[®]。所述纤维素酶在US 7,141,403中有更详细描述。所述糖基水解酶(GH)家族的定义在Biochem J.1991,v280,309-316中有更详细描述。

[0301] 另一个适宜的细菌清洁纤维素酶是具有对木聚糖酶和无定形纤维素底物的活性的糖基水解酶,其中所述糖基水解酶选自GH家族5,12,44或74。在一个方面,所述糖基水解酶选自GH家族44。所述糖基水解酶可属于糖基水解酶家族44。

[0302] 适宜的糖基水解酶可为选自:GH家族44糖基水解酶来自多粘类芽胞杆菌(Paenibacillus polyxyma)(野生型)如在US 7,361,736中描述的XYG1006或为其变体;得自地衣芽胞杆菌(野生型)的GH第12家族糖基水解酶,如在US 6,268,197中所述的SEQ ID NO:1或为其变体;得自琼脂粘附芽胞杆菌(Bacillus agaradhaerens)(野生型)的GH第5家族糖基水解酶或其变体;GH家族5糖基水解酶来自类芽胞杆菌属(Paenibacillus)(野生型)如在US 6,630,340中所述的XYG1034和XYG 1022或其变体;GH家族74糖基水解酶得自琼斯氏菌(野生型)如W0 2002/077242中所述的XYG1020或其变体;和GH家族74糖基水解酶来自里氏木霉(Trichoderma Reesei)(野生型),如在US 7,172,891的Sequence ID NO.2中更详细描述,或其变体。

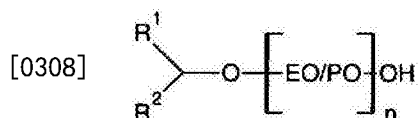
[0303] 适宜的糖基水解酶可为选自:得自多粘类芽胞杆菌(野生型)的GH第44家族糖基水解酶,如XYG1006或其变体。

[0304] 适宜的细菌清洁纤维素酶以Celluclean[®]和Whitezyme[®] (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)的商品名销售。

[0305] 在一个方面,所述组合物可包含属于糖基水解酶家族45的真菌清洁纤维素酶,其具有分子量为17kDa至30kDa,例如以Biotouch[®]NCD,DCC和DCL (AB Enzymes, Darmstadt, Germany)的商品名销售的内切葡聚糖酶。

[0306] 其他适宜的酶包括以Pectawash[®], Pectaway[®]的商品名销售的果胶裂解酶和以Mannaway[®] (都来自Novozymes A/S,Bagsvaerd,Denmark),和Purabrite[®] (Genencor International Inc.,Palo Alto,California)的商品名销售的甘露聚糖酶。

[0307] 在一个方面,所述组合物包含Guerbet非离子表面活性剂。所述Guerbet非离子表面活性剂为基于仲醇系的去污表面活性剂,其具有下式:



[0309] 其中 R^1 =直链或支化的、取代或未取代的、饱和或不饱和的 C_{2-8} 烷基；

[0310] 其中 R^2 =直链或支化的、取代或未取代的、饱和或不饱和的 C_{2-8} 烷基，

[0311] 其中 R^1+R^2 部分中存在的碳原子总数在7至13范围内；其中EO/PO为烷氧基部分，所述烷氧基部分选自乙氧基、丙氧基、或它们的混合物；

[0312] 其中n为平均烷氧基化度，并且在4至10范围内。

[0313] 助洗剂

[0314] 市售衣物洗涤剂包含强力无机助洗剂，典型为三聚磷酸钠(STPP)的磷酸盐助洗剂，或典型为硅铝酸钠的沸石助洗剂，被用作主要的强力助洗剂。一般来讲，此类强力助洗剂处于相对高水平如15重量%至20重量%或甚至更高，例如甚至高达40重量%。根据本发明的一个优选的方面，基于所述洗涤剂组合物的总重量计，选自磷酸盐和/或沸石助洗剂的强力助洗剂的量不大于10重量%，优选为低于8重量%，或甚至更优选低于5重量%或4重量%或3重量%或2重量%或1重量%。

[0315] 因此，本发明的优选的组合物为低助洗剂组合物，其包含包含0重量%至10重量%的沸石助洗剂，和0重量%至10重量%的磷酸盐助洗剂，所述磷酸盐和/或沸石的总量不超过10重量%，并且如上所述优选为低于10重量%。优选，本发明组合物包含0重量%至8重量%，或0重量%至5%或4重量%，或0重量%至3%或甚至小于2重量%的沸石助洗剂。所述组合物甚至优选基本上不含沸石助洗剂。基本上不含沸石助洗剂典型是指所述组合物不包含故意添加的沸石助洗剂。如果期望所述组合物高度易溶，尤其优选使水不溶性残余物(例如，其可沉积在织物表面上)的量为最小，并且当高度期望得到透明洗涤液体时也是如此。沸石助洗剂包括沸石A、沸石X、沸石P和沸石MAP。

[0316] 本发明组合物可包含0重量%至10重量%的磷酸盐助洗剂。所述组合物优选包含0重量%至8重量%，或0重量%至5%或4重量%，或0重量%至3%或甚至2重量%的磷酸盐助洗剂。所述组合物甚至优选基本上不含磷酸盐助洗剂。基本上不含磷酸盐助洗剂典型是指所述组合物不包含故意添加的磷酸盐助洗剂。如果期望该组合物具有非常好的环保特性，则这是尤其优选的。磷酸盐助洗剂包括三聚磷酸钠。

[0317] 在本发明的另一个优选的方面中，选自层状硅酸盐(SKS-6)、柠檬酸、柠檬酸盐和氨三乙酸或其盐的弱助洗剂的总含量按所述洗涤剂组合物的总重量计低于15重量%，更优选低于8重量%，更优选低于4重量%，或甚至低于3重量%或2重量%。典型地，层状硅酸盐、柠檬酸、柠檬酸盐和氨三乙酸或其盐的各自含量按所述组合物的总重量计低于10重量%，或甚至低于5重量%或重量%。

[0318] 虽然助洗剂可为配制人员带来若干有益效果，但它们的主要功能是从洗涤溶液中螯合可以别的方式与表面活性剂体系发生互相不利影响的二价金属离子(如钙和镁离子)。另外，助洗剂还可有效地从织物表面除去金属离子和无机污垢从而改善颗粒和饮料污渍的去除。因此可预计，减少它们的含量将会对清洁性能造成不利的影响。因此，使用受权利要求书保护的含量减少的磷酸盐和沸石助洗剂却可制备有效的洗涤剂组合物是令人吃惊的。

[0319] 储备碱度

[0320] 本文所用术语“储备碱度”是洗涤剂组合物缓冲能力的量度(g/NaOH/100g洗涤剂组合物)，其通过用盐酸将1% (w/v)的洗涤剂组合物溶液滴定至pH 7.5来测定，即为了计算如本文所定义的储备碱度：

[0321]

储备碱度 (至 pH 7.5) 以碱 g NaOH/100g 产品百分比 = $\frac{T \times M \times 40 \times Vol}{10 \times Wt \times \text{等分试样}}$

[0322] T = 至 pH 7.5 时的滴定度 (mL)

[0323] M = HCl 的摩尔浓度 = 0.2

[0324] 40 = NaOH 的分子量

[0325] Vol = 总体积 (即 1000 mL)

[0326] W = 产品重量 (10g)

[0327] 等分试样 = (100 mL)

[0328] 获得 10g 精确称量至小数点后两位的全配方洗涤剂组合物样本。应在除尘橱中, 使用 Pascal 1 采样器取得样本。向塑料烧杯中加入 10g 样本, 并加入 200 mL 不含二氧化碳的去离子水。在搅拌台上, 使用磁子以 150 rpm 的速度搅拌, 直至完全溶解, 并且搅拌至少 15 分钟。将烧杯中的内容物转移至 1 升容量瓶中, 并用去离子水补足至 1 升。充分混合, 然后立即使用一个 100 mL 移液器取 100 毫升 ± 1 mL 等分。使用能够读至 ± 0.01 pH 单位的 pH 计, 测定并记录样本的 pH 和温度, 并且搅拌, 以确保温度为 $21^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 。用 0.2 M 的盐酸, 在搅拌的同时滴定, 直至 pH 准确测定为 7.5。记录所用的盐酸毫升数。取三次相同重复试验的平均滴度。进行所述计算, 算得至 pH 7.5 时的 RA。

[0329] 本发明的洗涤剂组合物的 RA 可优选大于 7.5 和优选大于 8。RA 可为大于 9 或甚至大于 9.5 或 10 或更高。所述 RA 可最多为 20 或更高。

[0330] 可由例如一种或多种碱金属硅酸盐 (结晶层状硅酸盐除外)、碱金属碳酸盐来提供适当的储备碱度, 所述碱金属硅酸盐典型为非晶形硅酸盐, 通常为 1.2 至 2.2 比率的钠盐, 所述碱金属碳酸盐典型为碳酸钠、碳酸氢钠和/或倍半碳酸钠。STPP 和过酸盐如过硼酸盐和过碳酸盐也对碱度有贡献。需要缓冲作用, 以在洗涤过程期间维持碱性 pH, 中和污垢的酸性, 尤其是由脂肪酶所释放的脂肪酸。

[0331] 所述洗涤剂组合物优选包含 0 重量% 至 50 重量% 的硅酸盐, 更通常包含 5 重量% 至 30 重量% 的硅酸盐, 或 7 重量% 至 20 重量% 的硅酸盐, 所述硅酸盐通常为硅酸钠。

[0332] 为了提供优选的储备碱度, 本发明的洗涤剂组合物可包含碳酸盐, 通常 1 重量% 至 70 重量%, 或 5 重量% 至 50 重量% 或 10 重量% 至 30 重量% 的碳酸盐。优选的碳酸盐是碳酸钠和/或碳酸氢钠和/或倍半碳酸钠。碳酸盐可被全部掺入到洗涤剂组合物中, 或经由混合盐如 Burkeite 部分掺入到洗涤剂组合物中。高度优选的碳酸盐为碳酸钠。优选, 所述组合物可包含 5 重量% 至 50 重量% 的碳酸钠, 或 10 重量% 至 40 重量%, 或甚至 15 重量% 至 35 重量% 的碳酸钠。所述组合物还适宜包含 1 重量% 至 20 重量%, 或甚至 2 重量% 至 10 重量% 或 8 重量% 的碳酸氢钠。

[0333] 如果包含沸石, 则碳酸钠和/或硅酸钠与沸石助洗剂的重量比率可适宜地为至少 5:1, 优选至少 10:1, 或至少 15:1, 或至少 20:1, 或甚至至少 25:1。

[0334] 碳酸盐或至少部分碳酸盐典型为颗粒形式, 通常具有在 200 微米至 500 微米范围内的重均粒度。然而, 碳酸盐或至少部分碳酸盐可优选为微粉化颗粒形式, 其通常具有 4 微米至 40 微米范围内的重均粒度。这是特别优选的, 当所述碳酸盐或至少它们的部分是与去污表面活性剂以共颗粒混合物的形式, 如烷氧基化阴离子去污表面活性剂。

[0335] 为提供所需的储备碱度,典型为碳酸钠和硅酸钠的碳酸盐和/或硅酸盐的含量按所述组合物的总重量计优选为10重量%至70重量%,或10重量%或甚至15重量%至50重量%。

[0336] 助剂材料

[0337] 除了先前本文所公开的材料,并且并非出于本发明的目的所必需的,在下文中描述的助剂非限制性列表适用于即时消费品和可期望掺入本发明的某些实施方案中,例如辅助或增强清洁性能,对于处理要清洁的衬底、或修饰所述消费品的美观的情况一样,如香料、着色剂、染料等等。掺入任何消费品的任何此类助剂的水平为此外任何之前列举的掺入材料。这些附加的组分/助剂材料的确切性质,和它们的掺入水平将取决于所述消费品的物理形式和对于其将被使用的清洁操作的实质。适宜的助剂材料包括但不限于表面活性剂、助洗剂、螯合剂、染料转移抑制剂、分散剂、附加的酶和酶稳定剂、催化物质、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预成形的过酸、聚合物分散剂、粘土污垢去除/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构弹性化剂、织物软化剂、载体、水溶助长剂、加工助剂、溶剂和/或颜料。除了以下公开内容外,上述其它助剂的合适实例和用量还存在于美国专利5,576,282, 6,306,812 B1和6,326,348 B1中,所述文献以引用方式并入本文中。

[0338] 如前所述,所述助剂成分对于申请者的消费品不是必需的。因此,申请者的消费品的某些实施方案不包含一种或多种下列助剂材料:表面活性剂、助洗剂、螯合剂、染料转移抑制剂、分散剂、附加的酶和酶稳定剂、催化物质、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预成形过酸、聚合分散剂、粘土污垢去除/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料、结构增弹剂、织物软化剂、载体、水溶助长剂、加工助剂、溶剂和/或颜料。然而,当存在一种或多种助剂时,这些一种或多种助剂可如下详述存在:

[0339] 漂白剂-本发明的所述消费品可包含一种或多种漂白剂。不同于漂白催化剂的合适漂白剂包括光漂白剂、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预成形过酸以及它们的混合物。一般来讲,当使用漂白剂时,本发明的所述消费品可包含漂白剂按重量计受试的消费品为约0.1%至约50%或甚至约0.1%至约25%。合适漂白剂的示例包括:

[0340] (1) 光漂白剂,例如磺化酞菁锌、磺化酞菁铝、氧杂蒽染料以及它们的混合物;

[0341] (2) 预成形过酸:合适的预成形过酸包括但不限于选自下列的化合物:过羧酸及其盐、过碳酸及其盐、过亚胺酸及其盐、过一硫酸及其盐(例如过硫酸氢钾Oxone[®])、以及它们的混合物。适宜的过羧酸包括具有分子式R-(C=O)O-O-M结构的疏水性和亲水性过酸,其中R为烷基,任选支化烷基,当过酸疏水时,其具有6个至14个碳原子或者8个至12个碳原子,而当过酸亲水时,其具有小于6个碳原子或甚至小于4个碳原子;并且M为抗衡离子,例如钠、钾或氢;

[0342] (3) 过氧化氢源,例如无机过氢化合物盐,包括以下碱金属盐如钠盐:过硼酸盐(通常为一水合物或四水合物)、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐、过硅酸盐以及它们的混合物。在本发明的一个方面,无机过氢化合物盐选自由下列物质组成的组:过硼酸钠盐、过碳酸钠盐以及它们的混合物。在使用时,无机过氧化氢化合物盐通常的存在量为0.05重量%至40重量%,或1重量%至30重量%的总消费品和通常作为结晶固体掺入此类消费品,其可为包被的。合适的涂层包括:无机盐如碱金属硅酸盐、碳酸盐或硼酸盐或它们的混合物,或有机物如水溶性或可分散聚合物、蜡、油或脂肪皂;以及

[0343] (4) 具有 $R-(C=O)-L$ 结构的漂白活化剂,其中R为烷基,任选支化烷基,当漂白活化剂为疏水性时,其具有6个至14个碳原子或者8个至12个碳原子,而当漂白活化剂为亲水性时,其具有小于6个碳原子或甚至小于4个碳原子;并且L为离去基团。合适的离去基团的实施例为苯甲酸及其衍生物-尤其是苯磺酸盐。合适的漂白活化剂包括十二烷酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯磺酸盐、癸酰基氧基苯甲酸及其盐、3,5,5-三甲基己酰基氧基苯磺酸盐、四乙酰基乙二胺(TAED)和壬酰基氧基苯磺酸盐(NOBS)。适宜的漂白活化剂也公开于US 6,380,144中。虽然可采用任何适宜的漂白活化剂,但在本发明的一个方面,所述受试消费品可包含NOBS、TAED或它们的混合物。

[0344] 当存在时,所述过酸和/或漂白活化剂一般来讲存在于所述消费品中,其量为基于所述消费品计约0.1重量%至约60重量%,约0.5重量%至约40重量%或甚至约0.6重量%至约10重量%。一种或多种疏水过酸或其前体可与一种或多种亲水过酸或其前体联合使用。

[0345] 可选择过氧化氢源与过酸或漂白活化剂的量,使得可用氧(来自过氧化物源)与过酸的摩尔比为1:1至35:1,或甚至2:1至10:1。

[0346] 表面活性剂-根据本发明的消费品可包含表面活性剂或表面活性剂系统,其中所述表面活性剂能为选自非离子表面活性剂,阴离子表面活性剂,阳离子表面活性剂,两性表面活性剂,两性离子表面活性剂,半极性非离子表面活性剂以及它们的混合物。当其存在时,表面活性剂通常存在水平为按受试消费品重量计约0.1%至约60%,约1%至约50%或甚至约5%至约40%。

[0347] 适宜的阴离子去污表面活性剂包括硫酸盐和磺酸盐去污表面活性剂。

[0348] 适宜的磺酸盐去污表面活性剂包括烷基苯磺酸盐,在一个方面, C_{10-13} 烷基苯磺酸盐。适宜的烷基苯磺酸盐(LAS)可通过磺酸化可商购获得的直链烷基苯(LAB)而获得;适宜的LAB包括低级2-苯基LAB,例如以商品名Isochem[®]由Sasol供应的那些,或以商品名Petrelab[®]由Petresa供应的那些,其它适宜的LAB包括高级2-苯基LAB,例如以商品名Hyblene[®]由Sasol供应的那些。适宜的阴离子去污表面活性剂是烷基苯磺酸盐,其通过DETAL催化方法获得,然而其它合成途径例如HF也是适宜的。

[0349] 适宜的硫酸盐去污表面活性剂包括烷基硫酸盐,在一个方面, C_{8-18} 烷基硫酸盐,或主要为 C_{12} 烷基硫酸盐。

[0350] 其他适宜的磺酸盐去污表面活性剂为烷基烷氧基磺酸盐,在一个方面,烷基乙氧基磺酸盐,在一个方面, C_{8-18} 烷基烷氧基磺酸盐,在另一方面, C_{8-18} 烷基乙氧基磺酸盐,通常所述烷基烷氧基磺酸盐具有平均烷氧基化度为0.5至20,或0.5至10,通常所述烷基烷氧基磺酸盐为 C_{8-18} 烷基乙氧基磺酸盐,其具有平均乙氧基化度为0.5至10,0.5至7,0.5至5或甚至0.5至3。

[0351] 所述烷基硫酸盐、烷基烷氧基化硫酸盐和烷基苯磺酸盐可为直链或支化的,取代的或未取代的。

[0352] 所述去污表面活性剂可为中链支化的去污表面活性剂,在一个方面,中链支化的阴离子去污表面活性剂,在一个方面,中链支化的烷基硫酸盐和/或中链支化的烷基苯磺酸盐,例如中链支化的烷基硫酸盐。在一个方面,中链支化为 C_{1-4} 烷基,通常为甲基和/或乙基。

[0353] 适宜的非离子去污表面活性剂选自： C_8 - C_{18} 烷基乙氧基化物，如得自Shell的NEODOL[®]非离子表面活性剂； C_6 - C_{12} 烷基苯酚烷氧基化物其中所述烷氧基化物单元可为乙烯氧基单元，丙烯氧基单元或它们的混合物； C_{12} - C_{18} 醇和 C_6 - C_{12} 烷基酚与环氧乙烷/环氧丙烷嵌段聚合物的缩合物，如购自BASF的Pluronic[®]； C_{14} - C_{22} 中链支化的醇； C_{14} - C_{22} 中链支化烷基烷氧基化物，通常其具有1至30的平均烷氧基化度；烷基多糖，在一个方面，烷基多糖苷；多羟基脂肪酸酰胺；醚封端的聚(烷氧基化)醇表面活性剂；以及它们的混合物。

[0354] 适宜的非离子去污表面活性剂包括烷基多糖苷和/或烷基烷氧基化醇。

[0355] 在一个方面，非离子去污表面活性剂包括烷基烷氧基化醇，在一个方面 C_8 - C_{18} 烷基烷氧基化醇，例如 C_8 - C_{18} 烷基乙氧基化醇，所述烷基烷氧基化醇可具有平均烷氧基化度为1至50，1至30，1至20，或1至10。在一个方面，所述烷基烷氧基化醇可为 C_8 - C_{18} 烷基乙氧基化醇可具有平均乙氧基化度为1至10，1至7，更多的1至5或3至7。所述烷基烷氧基化醇可以是直链或支化的，并且是取代的或未取代的。

[0356] 适宜的阳离子去污表面活性剂包括烷基吡啶~~鎓~~化合物、烷基季铵化合物、烷基季铵~~鎓~~化合物、烷基三元𬝐化合物、以及它们的混合物。

[0357] 适宜的阳离子去污表面活性剂为具有以下通式的季铵化合物：

[0358] $(R)(R_1)(R_2)(R_3)N^+X^-$

[0359] 其中，R为直链或支化的、取代或未取代的 C_6 - C_{18} 烷基或烯基部分， R_1 和 R_2 独立地选自甲基或乙基部分， R_3 是羟基、羟甲基或羟乙基部分，X是提供电中性的阴离子，适宜的阴离子包括：卤化物，例如氯化物；硫酸根；和磺酸根。适宜的阳离子去污表面活性剂为单 C_6 - C_{18} 烷基单羟乙基二甲基氯化铵。高度适宜的阳离子去污表面活性剂是单- C_8 - C_{10} 烷基单-羟乙基双-甲基季铵氯化物，单- C_{10} - C_{12} 烷基单-羟乙基双-甲基季铵氯化物和单- C_{10} 烷基单-羟乙基双-甲基季铵氯化物。

[0360] 助洗剂-本发明的消费品可包含一种或多种助洗剂或助洗剂系统。当使用助洗剂时，所述受试消费品将通常包含助洗剂按所述受试消费品重量计至少约1%，约2%至约60%或甚至约5%至约10%。所述组合物可甚至基本上不含助洗剂；基本上不含是指“没有有意添加的”沸石和/或磷酸盐。典型的沸石助洗剂包括沸石A、沸石P和沸石MAP。典型的磷酸盐助洗剂是三聚磷酸钠。

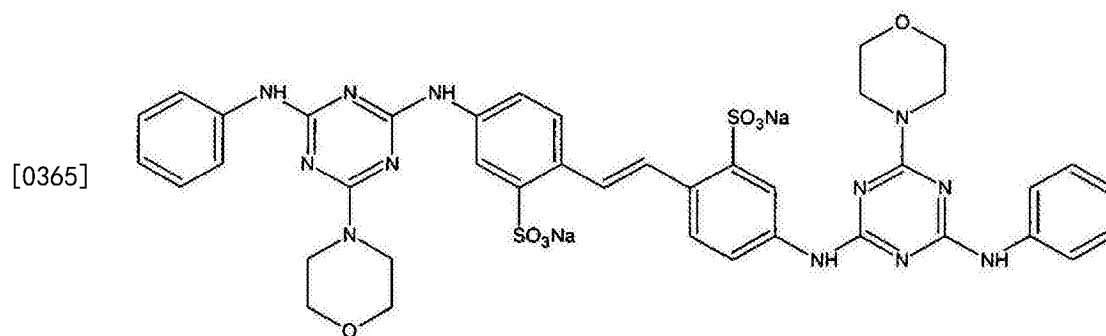
[0361] 螯合剂-本文的消费品可包含螯合剂。合适的螯合剂包括铜、铁和/或锰螯合剂以及它们的混合物。当使用螯合剂时，受试消费品可包含螯合剂按所述受试消费品重量计约0.005%至约15%或甚至约3.0%至约10%。适合的螯合剂包括DTPA(二亚乙基三胺五乙酸)、HEDP(羟基乙烷二膦酸)、DTPMP(二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸))、1,2-二羟基苯-3,5-二磺酸二钠盐合物、乙二胺、二乙烯三胺、乙二胺二琥珀酸(EDDS)、N-羟乙基乙二胺三乙酸(HEDTA)、三亚乙基四胺六乙酸(TTHA)、N-羟乙基亚胺二乙酸(HEIDA)、二羟乙基甘氨酸(DHEG)、乙二胺四丙酸(EDTP)以及它们的混合物。

[0362] 染料转移抑制剂-本发明的消费品也可包括一种或多种染料转移抑制剂。适宜的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于：聚乙烯吡咯烷酮聚合物、聚胺N-氧化物聚合物、N-乙烯基吡咯烷酮和N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯基咪唑烷酮和聚乙烯基咪唑或它们的混合物。当存在于受试消费品中时，所述染料转移抑制剂以按所述消费品重量计可为约

0.0001%至约10%，约0.01%至约5%或甚至约0.1%至约3%的水平存在。

[0363] 增白剂-本发明的消费品也能包含附加的组分，其可将清洁的用品着色，如荧光增白剂。

[0364] 所述组合物可包含C.I.荧光增白剂260，优选以 α -结晶型，其具有下列结构：



[0366] 在一个方面，所述增白剂为可溶性增白剂，如的C.I.荧光增白剂260。

[0367] 在一个方面，所述增白剂主要为 α -结晶型，其意为通常至少50重量%，至少75重量%，至少90重量%，至少99重量%，或甚至基本上所有的，C.I.荧光增白剂260为 α -结晶型。

[0368] 所述增白剂为优选微粉化的微粒型，其具有重均原生粒度为3微米至30微米，3微米至20微米，或3微米至10微米。

[0369] 所述组合物可包含 β -结晶型的C.I.荧光增白剂260，而其重量比为：(i) α -结晶型的C.I.荧光增白剂260，比上(ii) β -结晶型的C.I.荧光增白剂260可为至少0.1，或至少0.6。

[0370] BE680847涉及制备呈 α -结晶形式的C.I.荧光增白剂260的方法。

[0371] 合适的荧光增白剂含量包括约0.01重量%、约0.05重量%、约0.1重量%、或甚至约0.2重量%的较低含量至0.5重量%或甚至0.75重量%的较高含量。

[0372] 羧酸盐聚合物-本发明的消费品也可包括一种或多种羧酸盐聚合物，如马来酸酯/丙烯酸酯无规共聚物或聚丙烯酸盐均聚物。在一个方面，所述羧酸盐聚合物为聚丙烯酸盐均聚物，其具有分子量为4,000Da至9,000Da，或6,000Da至9,000Da。

[0373] 去垢性聚合物-本发明的消费品也可包括一种或多种去垢性聚合物，其具有由下列结构(I)，(II)或(III)之一所定义的结构：

[0374] (I) - $[(OCHR^1-CHR^2)_a-O-OC-Ar-CO-]_d$

[0375] (II) - $[(OCHR^3-CHR^4)_b-O-OC-sAr-CO-]_e$

[0376] (III) - $[(OCHR^5-CHR^6)_c-OR^7]_f$

[0377] 其中：

[0378] a、b和c为1至200；

[0379] d、e和f为1至50；

[0380] Ar为1,4-取代的亚苯基；

[0381] sAr为在5位用SO₃Me取代的1,3-取代的亚苯基；

[0382] Me为Li、K、Mg/2、Ca/2、Al/3、铵、一烷基铵、二烷基铵、三烷基铵或四烷基铵，其中烷基为C₁-C₁₈烷基或C₂-C₁₀羟烷基、或它们的混合物；

[0383] R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶独立地选自H或C₁-C₁₈正烷基或异烷基；以及

[0384] R⁷为直链或支化的C₁-C₁₈烷基，或直链或支化的C₂-C₃₀烯基，或具有5个至9个碳原

子的环烷基,或C₈-C₃₀芳基,或C₆-C₃₀芳烷基。

[0385] 适宜的去垢性聚合物为聚酯去垢性聚合物如Repel-o-tex聚合物,包括由Rhodia提供的Repel-o-tex SF, SF-2和SRP6。其他适宜的去垢性聚合物包括Texcare聚合物,包括由Clariant提供的Texcare SRA100, SRA300, SRN100, SRN170, SRN240, SRN300和SRN325。其他适宜的去垢性聚合物为Marloquest聚合物,如Sasol提供的Marloquest SL。

[0386] 纤维素聚合物-本发明的消费品也包含一种或多种纤维素聚合物,其包括那些选自烷基纤维素、烷基烷氧基烷基纤维素、羧基烷基纤维素、烷基羧基烷基纤维素。在一个方面,所述纤维素聚合物选自,其包含羧甲基纤维素、甲基纤维素、甲基羟乙基纤维素、甲基羧甲基纤维素以及它们的混合物。在一个方面,所述羧甲基纤维素具有羧甲基取代度为0.5至0.9和分子量100,000Da至300,000Da。

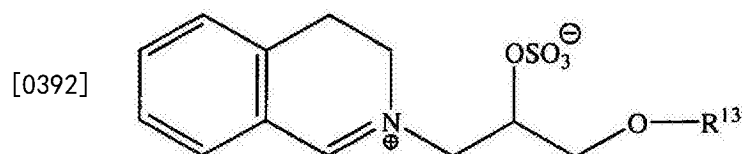
[0387] 漂白催化剂-本发明的消费品也可包括一种或多种漂白催化剂,如过渡金属催化剂或能形成过渡金属催化剂的配体,例如在EP1109965,或EP1240378或9中所述,或能从过氧酸和/或它们的盐接受氧原子、并转移氧原子给可氧化底物的漂白催化剂。适用的漂白催化剂包括但不限于:亚胺鎓阳离子和聚离子;亚胺鎓两性离子;改性的胺;改性的氧化胺;N-磺酰基亚胺;N-膦酰基亚胺;N-酰基亚胺;噻二唑二氧化物;全氟亚胺;环状糖酮以及它们的混合物,如USPA2007/0173430 A1所描述的。

[0388] 在另一方面,所述衣物洗涤剂组合物包含漂白剂成分,所述漂白剂成分具有logP_{o/w}不大于0,不大于-0.5,不大于-1.0,不大于-1.5,不大于-2.0,不大于-2.5,不大于-3.0,或甚至不大于-3.5。测定logP_{o/w}的方法更详细地描述于下文中。

[0389] 通常,所述漂白剂成分能够生成漂白物质,其具有X_{SO}为0.01至约0.30,0.05至约0.25,或甚至约0.10至0.20。测定X_{SO}的方法更详细地描述于下文中。例如,具有异喹啉结构的漂白成分能够生成具有过氧亚胺正离子结构的漂白物质。在该实例中,X_{SO}是过氧亚胺正离子漂白物质的X_{SO}。

[0390] 不受理论的束缚,发明人相信,以上述方式调节亲电性和疏水性,能够将漂白剂成分基本上仅递送至更疏水并且包含富电污垢的织物区域上,所述富电污垢包含可见发色团,易被高度亲电的氧化剂漂白。

[0391] 在一个方面,所述漂白催化剂具有对应的以下通式的结构:



[0393] 其中R¹³是选自:2-乙基己基、2-丙基庚基、2-丁基辛基、2-戊基壬基、2-己基癸基、正十二烷基、正十四烷基、正十六烷基、异壬基、异癸基、异十三烷基和异十五烷基。

[0394] 测定logP_{o/w}的方法

[0395] Log P_{o/w}按照在Brooke, D.N., Dobbs, A.J., Williams, N, Ecotoxicology and Environmental Safety (1986) 11 (3): 251-260中的方法进行测定。

[0396] 测定X_{SO}的方法

[0397] 所述参数X_{SO}是按照Adam, W., Haas, W., Lohray, B.B. Journal of the American Chemical Society (1991) 113 (16) 6202-6208中的方法进行测定。

[0398] 硅酸盐-本发明的消费品也能包含硅酸盐,如硅酸钠或硅酸钾。所述组合物可包含0重量%至小于10重量%的硅酸盐,至9重量%,或至8重量%,或至7重量%,或至6重量%,或至5重量%,或至4重量%,或至3重量%,或甚至至2重量%,以及优选高于0重量%,或0.5重量%,或甚至1重量%的硅酸盐。适宜的硅酸盐为硅酸钠。

[0399] 分散剂-本发明的消费品也能包含分散剂。合适的水溶性有机物包括均聚或共聚酸或其盐,其中多元羧酸包含至少两个相隔不超过两个碳原子的羧基。

[0400] 酶稳定剂-可通过多种技术来稳定用于洗涤剂的酶。本文采用的酶能通过在消费品成品中存在的、提供给酶的水溶性钙和/或镁离子而稳定,在含水消费品包含蛋白酶的情况下,一种可逆蛋白酶抑制剂,如硼化合物,或化合物如甲酸钙、甲酸钠和1,2-丙烷二醇能加入以进一步提高稳定性。

[0401] 催化金属配合物-申请人的组合物可包含催化金属配合物。一类含金属的漂白催化剂是这样的催化剂体系,该体系包含具有确定漂白催化活性的过渡金属阳离子,如铜阳离子、铁阳离子、钛阳离子、钇阳离子、钨阳离子、钼阳离子或锰阳离子;具有很低的或者没有漂白催化活性的辅助金属阳离子,如锌阳离子或铝阳离子;以及对于催化的和辅助的金属阳离子有确定稳定性常数的螯合剂,尤其是乙二胺四乙酸、乙二胺四(亚甲基膦酸)以及它们的水溶性盐。这种催化剂被公开于U.S.4,430,243中。

[0402] 如果需要,本文组合物可借助锰化合物来催化。上述化合物和用量是本领域熟知的,并且包括例如公开于U.S.5,576,282中的基于锰的催化剂。

[0403] 用于本文的钴漂白催化剂是已知的并且被描述了,例如在U.S.5,597,936;U.S.5,595,967中。上述钴催化剂易于通过已知的方法制备,例如美国专利5,597,936和5,595,967中所提出的方法。

[0404] 本文的组合物也可适当地包括的过渡金属络合物的配体如bispidones (US 7,501,389) 和/或大多环刚性配体-缩写为“MRLs”。作为一个实际问题,而不是通过限制的方式,本发明的组合物和方法可以被调整,以在含水洗涤液体中提供大约至少一亿分之一的活性MRL物质,并将通常在所述洗涤液体中提供约0.005ppm至约25ppm,约0.05ppm至约10ppm,或甚至约0.1ppm至约5ppm的MRL。

[0405] 本发明过渡金属漂白催化剂中合适的过渡金属包括例如锰、铁和铬。适宜的MRL包括5,12-二乙基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷。

[0406] 适宜的过渡金属MRLs很容易通过已知步骤进行制备,如U.S.6,225,464所示范的。

[0407] 溶剂-合适的溶剂包括水和其它溶剂如亲脂性流体。合适的亲脂性流体的实施例包括硅氧烷、其它硅氧烷、烃、二元醇醚、甘油衍生物如甘油醚、全氟胺、全氟化和氢氟醚溶剂、低挥发性无氟有机溶剂、二醇溶剂、其它对环境友好的溶剂以及它们的混合物。

[0408] 制备消费品的方法

[0409] 本发明的所述消费品能被配制成任何适宜的形式,并通过由配方设计师所选择的任何方法进行制备,其非限制性实施例的描述见申请人实施例和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; U.S.5,486,303,这些专利均以引用方式并入本文。

[0410] 使用方法

[0411] 本发明包括一种清洁和/或处理位置,特别是织物表面的方法。此类方法包括步骤有接触申请者实施例中的清洁消费品、以纯态或在洗涤液体中稀释,然后在一个部位的至少一部分任选地冲洗此类织物表面。所述部位可在前述冲洗步骤钱进行洗涤步骤。就本发明的目的而言,洗涤包括但不限于擦洗和机械搅拌。因此,本发明包括一种用于洗涤织物的方法。所述方法包含步骤有将要洗涤的织物接触所述清洁衣物洗涤溶液,其包含申请者的消费品中至少一个实施方案。织物可包括任何能够在正常消费者使用条件下洗涤的大部分任何织物。所述溶液通常具有pH为约7至约11。所述消费品在溶液中可采用的浓度为约500ppm至约15,000ppm。水温典型地为约5℃至约90℃。水与织物的比率通常为约1:1至约30:1。

[0412] 在一个方面,公开了用本文所公开的任何消费品处理过的部位。

[0413] 测试方法

[0414] 测试方法1

[0415] 本文给定了判断一种染料或颜料物质是否是用于本发明织物的着色剂的方案:

[0416] 1.) 将tergotometer洗涤试验仪的两个瓶装满800mL的Newcastle upon Tyne,UK, City Water(总硬度~12格令每美加仑,由Northumbrian Water,Pity Me,Durham, Co.Durham,UK提供)。

[0417] 2) 将瓶装入到洗涤试验仪中,试验期间水温控制在30℃,搅拌设置在40rpm

[0418] 3) 向每个瓶中加入4.8g IEC-B洗涤剂(IEC 60456 Washing Machine Reference Base Detergent Type B),该洗涤剂由wfk(Brüggen-Bracht,Germany)提供。

[0419] 4) 两分钟后,第一瓶中加入2.0mg活性着色剂。

[0420] 5) 一分钟后,向每个瓶中加入50g平整棉背心(由Warwick Equest,Consett, CountyDurham,UK提供),该背心被切成5cm×5cm的样品。

[0421] 6) 10分钟后,瓶中排水和重新填充(16℃)具有14.4英制克拉克度硬度的水,带有3:1的钙与镁的摩尔比。

[0422] 7) 漂洗2分钟后,移出织物。

[0423] 8) 使用相同的处理,将步骤3-7再重复三个循环。

[0424] 9) 收集并室内挂干所述织物12小时。

[0425] 10) 使用配有D65光源和UVA截止滤光器的Hunter Miniscan光度计分析样品,以获得Hunter a(红-绿轴)和Hunter b(黄-蓝轴)的值。

[0426] 11) 每组织物的平均Hunter a和Hunter b值。如果用着色剂处理的评估织物显示其a轴或b轴上的色调平均差值大于0.2个单位,就认为它是本发明所用的织物调色剂。

[0427] 测试方法2-6

[0428] 从协议中提供的任何偏差在相关的实施例中指明。

[0429] 所述测试的进行使用了Biomek FX机器人(Beckman Coulter或多通道移液器(例如,Rainin PipetLite,Mettler-Toledo)和SpectraMAX MTP阅读器(340型;Molecular Devices)。

[0430] 用于在96孔微量滴定板中测定蛋白质含量的TCA检测法

[0431] 枯草芽孢杆菌(B. subtilis)培养物在加湿通风、37℃、250-300rpm震荡培养2-3

天。通过离心和/或过滤,从含酶的培养上清液中去掉细胞。所述蛋白酶浓度使用TCA沉淀测试法进行测定。一等份(20–25 μ l)的培养上清液转移至酶标板96孔平底(MTP;Costar 9017中等结合透明聚苯乙烯板)其包含100 μ L/孔的0.25N HCl。所述阅读基线是通过光散射/吸收以测定,在405nm读数接5秒混合。100 μ L/孔的30% (w/v) 三氯乙酸(TCA)加入到含HCl的板上,并在室温孵育10分钟以有利于蛋白沉淀。这个“测试”板在405nm光散射/吸收在5秒混合后测定。所述浊度/光散射增加了与培养上清液中沉淀蛋白总量相关的样本。通过从“测试”读数(在加入TCA后获得)中减去“基线”读数(在加入HCl后获得)来计算以提供目前总蛋白的相对量度。如果需要,能通过校准TCA读数和与已知比活性的克隆的AAPF蛋白酶测定(见下文)建立标准曲线。然而,就50份至500ppm蛋白质(其中1ppm相当于1mg/L)的蛋白质浓度而言,TCA结果是线性的,因此能够直接用其对酶的性能作图,以便选择具有期望性能变体的。

[0432] 96孔微量滴定板中的AAPF蛋白酶检测法

[0433] 为了测定所述丝氨酸蛋白酶变体的蛋白酶活性,对N-琥珀酰-L-丙氨酰-L-丙氨酰-L-脯氨酰-L-苯基-对-硝基苯胺(suc-AAPF-pNA)的水解进行了测量。所述使用的试剂溶液为:100mM Tris/HCl,pH 8.6,包含0.005% **TWEEN**[®]-80 (Tris稀释缓冲液);100mM Tris缓冲液,pH 8.6,包含1mM CaCl₂和0.005% **TWEEN**[®]-80 (Tris/Ca缓冲液);和160mM suc-AAPF-pNA in DMSO (suc-AAPF-pNA储备液) (Sigma:S-7388)。将1ml的suc-AAPF-pNA原液添加至100ml的Tris/Ca缓冲液中并充分混合至少10秒,以制备suc-AAPF-pNA工作液。通过将10 μ l经稀释的蛋白酶溶液添加到96孔MTP的每个孔中,然后立即加入190 μ l的1mg/ml的suc-AAPF-pNA工作液,进行了检测。混合溶液5秒,然后于25 $^{\circ}$ C在MTP读取器中以动力学模式(5分钟内25次读数)读取405nm的吸光度变化。所述蛋白酶活性表示为AU (活性 = Δ OD $\cdot$ min⁻¹ml⁻¹)。

[0434] EglinC抑制检测法

[0435] 如本文所述,丝氨酸蛋白酶浓度和比活性通过用称为eglin c的抑制剂滴定来测定。来自于水蛭(Hirudo medicinalis)的eglin c是枯草杆菌蛋白酶和ASP蛋白酶的紧密结合蛋白抑制剂(Heinz等人,Biochemistry,31:8755–66[1992]),并且能因此用于测量蛋白酶的酶浓度,其继而允许以计算比活性。通过标准方法合成了eglin c的基因并在大肠杆菌(E.coli)中表达。其特性和抑制性效能与购自Sigma的eglin c是相同的。

[0436] (i) Eglin C原液的浓度测定

[0437] 一个已知比活性的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶样本在100mM Tris缓冲液中稀释,pH 8.6,含1mM CaCl₂和0.005% **TWEEN**[®]-80 (Tris/Ca缓冲液),至如上所述适宜AAPF蛋白酶测试的浓度。在上述Tris/Ca缓冲液中还制备了eglin c原液的多种稀释液。将每种经稀释的eglin c溶液的一份等分试样与等体积的经稀释的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶溶液混合。将仅有Tris/Ca缓冲液而不含eglin c的一份等分试样也与等体积的经稀释的迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶溶液混合,以测量不存在eglin c时未被抑制的枯草杆菌蛋白酶活性。于室温孵育混合的溶液15–30分钟,然后通过上文所述的AAPF检测法测量了每一样品的蛋白酶活性。利用迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶的已知的比活性,测定了每一样品中活性蛋白酶的浓度。然后,基于与未被抑制的枯草杆菌蛋白酶样品(其仅与Tris/Ca缓冲液混合,不含eglin c)的比较所观察到的蛋白酶活性的降低,计算了每一样品中eglin c的浓

度。如此,利用eglin c溶液已知的稀释度和体积,确定了原液中的eglin c浓度。

[0438] (ii) 枯草杆菌蛋白酶变体的浓度和比活性测定

[0439] 枯草杆菌蛋白酶变体的样品被稀释于包含1mM的CaCl₂和0.005% TWEEN[®]-80的pH 8.6的100mM的Tris缓冲液(Tris/Ca缓冲液)中。在上述Tris/Ca缓冲液中还制备了已知浓度的eglin c原液的多种稀释液。将每种经稀释的eglin c溶液的一份等分试样与等体积的枯草杆菌蛋白酶变体溶液混合。于室温孵育混合的溶液15-30分钟,然后通过AAPF检测法测量了每一样品的蛋白酶活性。利用当加入每一eglin c样品时所观察到的蛋白酶活性的降低和eglin c的已知的浓度,计算了完全抑制每种枯草杆菌蛋白酶变体所需的eglin c的浓度。这一浓度等价于样品中的酶浓度。将仅有Tris/Ca缓冲液而不含eglin c的一份等分试样也与每种枯草杆菌蛋白酶变体样品混合,并通过AAPF检测法测量了不存在eglin c时的蛋白酶活性。然后利用如上测定的酶浓度计算了枯草杆菌蛋白酶变体的比活性。

[0440] BMI微样品分析(BMI分析)

[0441] 预漂洗和打孔的血液,牛奶和墨汁(BMI)污染的微样品(EMPA116)的圆直径5.5毫米的96孔微量滴定板(MTP;Corning 3641)得自Testmaterials BV中心(Vlaardingen,The Netherlands)。

[0442] 通过在2mM碳酸钠中混合至少30分钟以制备洗涤剂,在适宜的水的硬度水平缓冲至pH 10.3(3:1Ca:Mg.-CaCl₂:MgCl₂ • 6H₂O)如表1-1和表6-4所述在Milli-Q水中。所述洗涤剂分装到50毫升锥形管中(Falcon),离心以除去沉淀,然后在使用前冰浴30分钟。

[0443] 相对于纯化的GG36(SEQ ID NO:1的酶)的标准,酶的浓度平衡至期待的固定浓度,范围20-50ppm。使用AAPF作为底物,GG36的比活性用于转换减去TCA值的基线至ppm形式的酶浓度。一旦酶浓度测定为ppm的形式,为了获得期望的原液酶浓度,用一个简单公式来计算需要加入到固定缓冲液体积中的每个变体的体积(300-600μL):

[0444]
$$x = (\text{目标ppm}) (v_b) / (y - \text{目标ppm})$$

[0445] 其中x=酶体积,y=酶浓度,v_b=缓冲液体积

[0446] 带有Versispan 8通道臂的Perkin-Elmer Janus机器人用于分配可变体积的酶,使用电导性吸头从源板(用于TCA酶浓度测定的带有合并收获的变体的Axygen半深孔板)转移至填充缓冲液的目的板。样品通过向上和向下移液混合三次。通过测量平衡了的板和与之相比的源板的AAPF活性,验证酶稀释的准确性,以确认已进行了正确的稀释。

[0447] 平衡后,5-15μL的酶溶液加入到填充了洗涤剂的微分析盘至终体积为~200μL。在某些情况下,所述酶样品没有经过平衡,而代替从原液板的所有相同稀释的以提供工作范围为0.1-5ppm。对于每个测试,从剂量反应曲线中测量从超过这个范围的给定洗涤剂的清洁活性来测定优化的目标浓度。

[0448] MTP用箔(BIO-RAD)密封并在IEMS培养箱/摇床(热/Labsystems)上孵育30分钟,预设为16℃,转速1400rpm,在寒冷的房间设定为4℃或在工作台上设为32℃。之后孵育,120μL的上清液转移至新鲜的MTP(Corning 9017)并使用SpectraMax阅读器在600nm读数。通过从每个数值中减去空白对照(不含酶)得到真实的吸收值读数。

[0449] 对每个变体计算性能指数(PI)。所述性能指数是在固定的酶浓度下,由变体酶清洁产生的上清液的吸收值和有GG36清洁产生的吸收值的比值。对于均衡板,PI值通过将变体的吸收值除以在给定板上的对照的吸收值而计算出来。对于非均衡板,标准曲线(例如

Langmuir或四参数逻辑的非线性回归模型拟合)从对照的活性和酶的浓度生成。使用这个标准曲线,所述变体的性能能在任何酶浓度下与对照进行直接比较。所述PI的测定是通过在相同的酶浓度下将变体吸收值除以对照的计算吸收值。

[0450] 通过变体与标准(例如,GG36)的比较,大于1 ($PI > 1$) 的性能指数 (PI) 表明优越的清洗,而PI为1 ($PI = 1$) 指出变体的性能与标准完全相同,而小于1的PI ($PI < 1$) 指出变体的性能比标准差。

[0451]

表 1-1: 用于 BMI 微样品分析的最终的洗涤剂、水的硬度和缓冲液浓度			
洗涤剂	最终的洗涤剂浓度 (g/L)	最终的水硬度* (gpg)	最终的碳酸钠缓冲液浓度 (mM)
实施例 26	0.808	6	2
实施例 27	1	3	2

[0452]

实施例 28	2.3	12	2
实施例 29	5.9	12	2
实施例 30	8.3	12	2

[0453] * (3:1Ca:Mg) 浓度为详细的文字。

[0454] 测试方法2:对于测试方法2,所述BMI微样品分析的运行使用了实施例29中的洗涤剂。将洗涤剂溶解于具有12gpg硬度的水中,并调节至温度为16℃。然后按照所描述的BMI微样品分析测定不同的酶的性能。所述性能指数通过比较所述变体和SEQ ID NO:1的酶的性能而测定,在所有情况下,酶用量范围为0.1-5PPM。具有性能指数为1.1或更高的酶被认为是冷水蛋白酶。

[0455] 测试方法3:对于测试方法3,所述BMI微样品分析的运行使用了实施例26中的洗涤剂。将洗涤剂溶解于具有6gpg硬度的水中,并调节至温度为16℃。然后按照所描述的BMI微样品分析测定不同的酶的性能。所述性能指数通过比较所述变体和SEQ ID NO:1的酶的性能而测定,在所有情况下,酶用量范围为0.1-5PPM。具有性能指数为1.1或更高的酶被认为是冷水蛋白酶。

[0456] 测试方法4:对于测试方法4,所述BMI微样品分析的运行使用了实施例26中的洗涤剂。将洗涤剂溶解于具有6gpg硬度的水中,并调节至温度为16℃。然后按照所描述的BMI微样品分析测定不同的酶的性能。所述性能指数通过比较所述变体和参考酶的性能而测定,所述参考酶为包括突变的SEQ ID NO:1的酶A158E,在所有情况下,酶用量范围为0.1-5ppm。具有性能指数为1.0或更高的酶被认为是冷水蛋白酶。

[0457] 测试方法5:按照标准方法ASTM D1125分析水溶液的电导率,并以milliSiemens/cm单位(在本发明中所写为mS/cm)报告。

[0458] 测试方法6:对于测试方法6,所述BMI微样品分析的运行使用了实施例36a-36n中的洗涤剂。所述洗涤剂溶解在具有表6-4中所指明的硬度的水中并调节温度至16℃。然后按照所描述的BMI微样品分析测定不同的酶的性能。所述性能指数通过比较所述变体和SEQ ID NO:1的酶的性能而测定,在所有情况下,酶用量范围为0.1-5ppm。具有性能指数为1.1或更高的酶被认为是冷水蛋白酶。

实施例

[0459] 实施例1-8

[0460] 适用于前加载式自动洗衣机的液体衣物洗涤剂组合物。

[0461]

成分	组成 (组合物重量%)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
直链烷基苯磺酸	7	11	4.5	1.2	1.5	12.5	5.2	4
C ₁₂₋₁₄ 烷基乙氧基 3 硫酸钠	2.3	3.5	4.5	4.5	7	18	1.8	2
C ₁₄₋₁₅ 烷基 8-乙氧基化物	5	8	2.5	2.6	4.5	4	3.7	2
C ₁₂ 烷基二甲基胺氧化物	-	-	0.2	-	-	-	-	-
C ₁₂₋₁₄ 烷基羟乙基二甲基氯化铵	-	-	-	0.5	-	-	-	-
C ₁₂₋₁₈ 脂肪酸	2.6	4	4	2.6	2.8	11	2.6	1.5
柠檬酸	2.6	3	1.5	2	2.5	3.5	2.6	2
蛋白酶*	0.05	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02
淀粉酶 (Natalase [®])	0.1	0.2	0.15	-	0.05	0.5	0.1	0.2
甘露聚糖酶 (Mannaway [®])	0.05	0.1	0.05	-	-	0.1	0.04	-
无规接枝共聚物 ¹	1	0.2	1	0.4	0.5	2.7	0.3	1
具有以下通式的化合物: 二 ((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(CH ₃)-N ⁺ -C _x H _{2x} - N ⁺ -(CH ₃)-二((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n), 其 中 n=20 至 30, 并且 x=3 至 8, 或 其硫酸化或磺酸化变体	0.4	2	0.4	0.6	1.5	1.8	0.7	0.3
乙氧基化聚氮丙啶 ²	-	-	-	-	-	0.5	-	-
两亲烷氧基化油脂清洁聚合物 ³	0.1	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3
二乙氧基化聚(对苯二甲酸 1,2-丙 二醇酯)短嵌段去垢聚合物	-	-	-	-	-	-	0.3	-
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)	0.2	0.3	-	-	0.2	-	0.2	0.3
羟基乙烷二膦酸	-	-	0.45	-	-	1.5	-	0.1
FWA	0.1	0.2	0.1	-	-	0.2	0.05	0.1
溶剂 (1,2-丙二醇、乙醇)、 稳定剂	3	4	1.5	1.5	2	4.3	2	1.5
氢化蓖麻油衍生物结构剂	0.4	0.4	0.3	0.1	0.3	-	0.4	0.5
硼酸	1.5	2.5		1.5	1.5	0.5	1.5	1.5
甲酸钠	-	-	-	1	-	-	-	-
可逆蛋白酶抑制剂 ⁴	-	-	0.002	-	-	-	-	-
香料	0.5	0.7	0.5	0.5	0.8	1.5	0.5	0.8
香料微胶囊浆液 (30%活性物质)	0.2	0.3	0.7	0.2	0.05	0.4	0.9	0.7
乙氧基化的噻吩调色染料 ⁵	0.005	0.007	0.010	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008
缓冲剂 (氢氧化钠、单乙醇胺)	至 pH 8.2							

[0462]

水和微量组分 (消泡剂、美观剂)	至 100%
---------------------	--------

[0463] 实施例9-16

[0464] 适用于顶部加载式自动洗衣机的液体衣物洗涤剂组合物。

[0465]

成分	组成 (组合物重量%)							
	9	10	11	12	13	14	15	16
C ₁₂₋₁₅ 烷基乙氧基(1.8)硫酸盐	20.1	15.1	20.0	15.1	13.7	16.7	10.0	9.9
C _{11,8} 烷基苯磺酸盐	2.7	2.0	1.0	2.0	5.5	5.6	3.0	3.9
C ₁₆₋₁₇ 支化烷基硫酸盐	6.5	4.9		4.9	3.0	9.0	2.0	
C ₁₂₋₁₄ 烷基-9-乙氧基化物	0.8	0.8	0.8	0.8	8.0	1.5	0.3	11.5
C ₁₂ 二甲基氧化胺			0.9					
柠檬酸	3.8	3.8	3.8	3.8	3.5	3.5	2.0	2.1
C ₁₂₋₁₈ 脂肪酸	2.0	1.5	2.0	1.5	4.5	2.3		0.9
蛋白酶*	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
淀粉酶(Natalase [®])	0.7	0.3	0.6	0.3	0.6	0.4		
淀粉酶(Termamyl Ultra [®])								1.1
甘露聚糖酶(Mannaway [®])	0.1					0.1		
果胶酸裂合酶(Pectawash [®])	0.1					0.2		
硼砂	3.0	3.0			2.0	3.0	3.0	3.3
钠&甲酸钙	0.2	0.2		0.2	0.2		0.7	
具有以下通式的化合物: 二 ((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(CH ₃)-N ⁺ - C _x H _{2x} -N ⁺ -(CH ₃)-二 ((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n), 其中 n=20 至 30, 并且 x=3 至 8, 或其硫酸化 或磺酸化变体	1.6	1.6	3.0	1.6	2.0	1.6	1.3	1.2
无规接枝共聚物 ¹	0.4	0.2	1.0	0.5	0.6	1.0	0.8	1.0
二亚乙基三胺五乙酸	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2	0.3	0.8	
Tinopal AMS-GX	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	
Tinopal CBS-X						0.1		0.2
两亲烷氧基化油脂清洁聚合物 ³	1.0	1.3	1.3	1.4	1.0	1.1	1.0	1.0
Texcare 240N (Clariant)				1.0				
乙醇	2.6	2.6	2.6	2.6	1.8	3.0	1.3	
丙二醇	4.6	4.6	4.6	4.6	3.0	4.0	2.5	
二甘醇	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.7	3.6	
聚乙二醇	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.1	1.4
单乙醇胺	2.7	2.7	2.7	2.7	4.7	3.3	1.7	0.4
三乙醇胺								0.9

[0466]

	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.3	至 pH 8.5
氢氧化钠								
抑泡剂								
染料	0.01	0.01	0.01		0.01	0.01	0.01	0.0
香料	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.8	0.6
香料微胶囊浆液 (30%活性物质)	0.2	0.5	0.2	0.3	0.1	0.3	0.9	1.0
乙氧基化的噻吩调色染料 ⁵	0.003	0.002	0.002	0.005	0.002	0.004	0.004	0.003
水	余量	余量	余量	余量	余量	余量	余量	余量

[0467] 实施例17-22

[0468] 下列是根据本发明制得的适用于洗涤织物的颗粒状洗涤剂组合物。

[0469]

	17	18	19	20	21	22
脂族碳链长度为 C ₁₁ -C ₁₂ 的直链烷基苯磺酸盐	15	12	20	10	12	13
其它表面活性剂	1.6	1.2	1.9	3.2	0.5	1.2
磷酸盐助洗剂	2	3	4			
沸石		1		1	4	1
硅酸盐	4	5	2	3	3	5
碳酸钠	2	5	5	4	0	3
聚丙烯酸酯 (MW 4500)	1	0.6	1	1	1.5	1
羧甲基纤维素 (Finnfix BDA, 得自 CPKelco)	1	-	0.3	-	1.1	-
Celluclean [®] (15.6mg/g)	0.23	0.17	0.5	0.2	0.2	0.6
蛋白酶*	0.23	0.17	0.05	0.2	0.03	0.1
Stainzyme Plus [®] (14mg/g)	0.23	0.17	0.5	0.2	0.2	0.6
Mannaway 4.0T (4mg/g)	0.1			0.1		0.1
Lipex 100T (18.6mg/g)	0.2		0.1		0.3	
荧光增白剂	0.16	0.06	0.16	0.18	0.16	0.16
二亚乙基三胺五乙酸或乙二胺四乙酸	0.6		0.6	0.25	0.6	0.6
MgSO ₄	1	1	1	0.5	1	1
漂白剂和漂白活化剂	6.88		6.12	2.09	1.17	4.66
乙氧基化的噻吩调色染料 ⁵	0.002	0.001	0.003	0.003	-	-
直接紫 9 购自 Ciba Specialty Chemicals				0.0006	0.0004	0.0006
硫酸盐/柠檬酸/碳酸氢钠/水分/香料	余量至 100%					

[0470] 1 无规接枝共聚物为聚乙酸乙烯酯接枝的环氧乙烷共聚物,其具有聚环氧乙烷主链和多个聚乙酸乙烯酯侧链。所述聚环氧乙烷主链的分子量为约6000,并且聚环氧乙烷与聚乙酸乙烯酯的重量比率为约40至60,并且每50个环氧乙烷单元具有不超过1个接枝点。

[0471] 2 聚氮丙啶 (MW=600), 每个-NH具有20个乙氧基化基团。

[0472] 3 两亲烷氧基化油脂清洁聚合物为聚氮丙啶 (MW=600), 每个-NH具有24个乙氧基化基团,并且每个-NH具有16个丙氧基化基团

[0480]

$((C_2H_5O)(C_2H_4O)_n)(CH_3)-N^+-C_xH_{2x}-N^+-(CH_3)-$ 二 $((C_2H_5O)(C_2H_4O)_n)$, 其中 $n=20$ 至 30 , 并 且 $x=3$ 至 8 , 或其硫酸化或磺酸化变体			
无规接枝共聚物 ¹		1.46	0.5
乙氧基化聚氮丙啶 ²	1.5	1.29	
二亚乙基三胺五乙酸	0.34	0.64	
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)			0.3
Tinopal AMS-GX		0.06	
Tinopal CBS-X	0.2	0.17	
两亲烷氧基化油脂清洁聚合物 ³	1.28	1	0.4
乙醇	2	1.58	1.6
丙二醇	3.9	3.59	1.3
二甘醇	1.05	1.54	
聚乙二醇	0.06	0.04	
单乙醇胺	3.05	2.41	0.4
氢氧化钠	2.44	1.8	
异丙基苯磺酸钠			1
甲酸钠		0.11	
水、美观组分(染料、香料)和微量组分 (酶、溶剂、结构剂)	余量	余量	余量

[0481] 1无规接枝共聚物为聚乙酸乙烯酯接枝的环氧乙烷共聚物,其具有聚环氧乙烷主链和多个聚乙酸乙烯酯侧链。所述聚环氧乙烷主链的分子量约为6000,并且聚环氧乙烷与聚乙酸乙烯酯的重量比率为约40至60,并且每50个环氧乙烷单元具有不超过1个接枝点。

[0482] 2聚氮丙啶(MW=600),每个-NH具有20个乙氧基化基团。

[0483] 3两亲烷氧基化油脂清洁聚合物为聚氮丙啶(MW=600),每个-NH具有24个乙氧基化基团,并且每个-NH具有16个丙氧基化基团

[0484] 实施例26-30

[0485] 下列为颗粒状的衣物洗涤剂组合物,其适宜用于顶部加载自动洗衣机(26-28)和前加载式洗衣机(29-30)。

[0486] 本发明所述蛋白酶被单独添加到这些配方中。

[0487]

	26	27	28	29	30
表面活性剂					
C ₁₆₋₁₇ 支化烷基硫酸盐	3.55				
C ₁₂₋₁₄ 烷基硫酸盐			1.5		

[0488]

脂族链长度为 C ₁₁ -C ₁₂ 的直链烷基苯磺酸钠盐	9.6	15.8	10.6	7.5	9
C _{14/15} 醇乙氧基-3-硫酸钠	1.15			2.88	
C _{14/15} 烷基硫酸钠	2.37				
具有平均 7 摩尔乙氧基化物的 C _{14/15} 醇				1.17	1
一-C ₈₋₁₀ 烷基一羟乙基二甲基季铵氯化物					0.45
二甲基羟基乙基月桂基氯化铵			0.18		
沸石 A	13.9	4.7	0.01	2.9	1.8
硅酸钠 1.6.比率	4	0.2		4	4
硅酸钠 2.35.比率			8		
柠檬酸				2.5	1.4
三聚磷酸钠			5		
碳酸钠	24.1	30	16.9	24.4	21
壬酰基氧基苯磺酸盐	5.78	2.81	0.96		
基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂				0.03	0.017
S,S-乙二胺二琥珀酸四钠				0.2	
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)七钠盐	0.61				0.33
羟乙烷二亚甲基膦酸				0.29	0.45
乙二胺四乙酸盐			0.27		
MgSO ₄			0.47	0.5994	0.782
过碳酸钠	7	4.4		15.9	19.1
四乙酰基乙二胺				3.3	4.6
一水合过硼酸钠			1.2		
羧甲基纤维素 (例如 Finnfix BDA ex CPKelco)	0.1		0.17	1.69	0.23
丙烯酸/马来酸共聚物钠盐 (70/30)	0.0236	3.8		2	2.5
聚丙烯酸钠 (Sokalan PA30 CL)	4		0.84		
对苯二甲酸聚合物				0.23	
聚乙二醇/乙酸乙烯酯无规枝接共聚物			0.89	0.89	0.91
光漂白剂-四磺酸酞菁锌			0.005	0.001	0.002
C.I.荧光增白剂 260	0.11	0.15	0.04	0.23	0.15
C.I.荧光增白剂 351 (Tinopal [®] CBS)			0.1		
抑泡剂颗粒		0.25		0.07	0.04
疏水改性羧甲基纤维素 (Finnifix [®] SH-1)			0.019	0.028	
膨润土			8.35		
杂项 (染料、香料、加工助剂、水分和硫酸钠)	余量	余量	余量	余量	余量

[0489] 实施例26-30标注:

[0490] 表面活性剂成分可得自BASF (Ludwigshafen, Germany) (Lutensol[®]) ; Shell Chemicals (London, UK) ; Stepan (Northfield, Illinois, USA) ; Huntsman (Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA) ; Clariant (Sulzbach, Germany) (Praepagen[®]) 。

[0491] 沸石可得自工业沸石 (UK) Ltd., Grays, Essex, UK。

[0492] 柠檬酸和柠檬酸钠可得自Jungbunzlauer, Basel, Switzerland。

[0493] 过碳酸钠,碳酸钠,碳酸氢钠和倍半碳酸钠能得自Solvay,Brussels,Belgium。

[0494] 丙烯酸酯/马来酸酯共聚物能得自BASF,Ludwigshafen,Germany。

[0495] 羧甲基纤维素和疏水改性的羧甲基纤维素可得自CPKelco,Arnhem,The Netherlands。

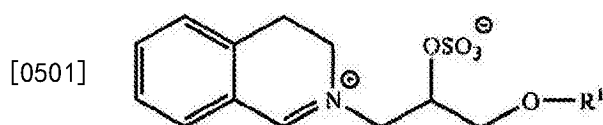
[0496] C.I.荧光增白剂260可得自3V Sigma,Bergamo,Italy的Optiblanc[®] Optiblanc[®] 2M/G,Optiblanc[®] 2MG/LT Extra,或Optiblanc[®] Ecobright。

[0497] S,S-乙二胺二琥珀酸四钠可得自Innospec,Ellesmere Port,UK。

[0498] 对苯二甲酸酯共聚物能得自商品名为Repelotex SF 2。

[0499] 1-羟乙烷-1,1-二膦酸可得自Thermphos,Vlissingen-Oost,The Netherlands。

[0500] 基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂具有下列结构,其中R1=2-丁基辛基,并且依照US 2006/0089284A1来制备。



[0502] 酶Natalase[®], Termamyl[®], Stainzyme Plus[®], Celluclean[®]和Mannaway[®],能得自Novozymes,Bagsvaerd,Denmark。

[0503] 锌酞菁四能得自Ciba Specialty Chemicals,Basel,Switzerland,如Tinolux[®] BMC。

[0504] 抑泡剂颗粒可得自Dow Corning (Barry,UK)。

[0505] 无规接枝共聚物是聚乙烯基乙酸酯接枝的聚环氧乙烷共聚物,其具有聚环氧乙烷主链和众多聚醋酸乙烯酯侧链。所述聚环氧乙烷主链的分子量为约6000,并且聚环氧乙烷与聚醋酸乙烯酯的重量比率为约40至60,并且每50个环氧乙烷单元具有不超过1个接枝点。

[0506] 实施例31

[0507] 生成GG36位点评估库 (SELs)

[0508] 在这个实施例中GG36 SELs的构建是通过GENEART,对于基因优化、基因合成、库的生产和分析使用它们的专有方法和技术平台进行的(WO 2004/059556A3,欧洲专利0,200,362和0,201,184;和美国专利4,683,195,4,683,202和6,472,184)。所述The GG36 SELs是使用pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌(B.subtilis)表达质粒、在本发明事先选定的位置处产生的(见图2)。所述枯草芽孢杆菌(B.subtilis)表达质粒包含如下所示的GG36表达盒,地衣芽孢杆菌(B.licheniformis) LAT启动子(Plat),和来自pUB110的附加的元件(McKenzie等人,Plasmid,15:93-103,1986)包括复制酶基因(reppUB),新霉素/卡那霉素抗性基因(neo)以及博来霉素抗性标记(bleo)(在美国专利6,566,112中图4)。

[0509] GG36的DNA序列(信号肽序列以小写字母表示,前肽以小写带下划线的字体表示,而GG36成熟序列以大写字体表示)

[0510]

gtgagaagcaaaaaattgtggatcgctcgctcgaccgcactactcatttctgttgctttcagttcatcgatcgcatc
ggctgctgaagaagcaaaagaaaaatatatttaattggctttaatgagcaggaagctgtcagtgagtttgtagaacaag
tagaggcaaatgacgaggtcgccattctctctgaggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcatgaatttgaaacg

attcctgttttatccgttgagttaagcccagaagatgtggacgcgcttgagctcgatccagcgatttcttatattga
agaggatgcagaagtaacgacaatgGC~~CG~~CAATCAGTGCCATGGGGAATTAGCCGTGTGCAAGCCCCAGCTGCCATA
 ACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTA~~AAA~~AGTTGCTGTCCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATT
 CGTGGTGGCGCTAGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGTGGCCGGGAC
 GATTGCTGCTTTAAACAATTCGATTGGCGTTCTTGGCGTAGCGCCGAGCGCGGA~~ACT~~TATACGCTGTTAAAGTATTAG
 GGGCGAGCGGTTCA~~GGTTC~~GGTCAGCTCGATTGCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCT
 AATTTGAGTTT~~AGGAAGCCCTTC~~GCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGCGACTTCTAGAGGCGTTCT
 TGTTGTAGCGGCATCTGGA~~AATTC~~AGGTGCAGGCTCAATCAGCTATCCGGCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCG
 GAGCTACTGACCA~~AAAACAACA~~ACCGCGCCAGCTTTTACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATTGTGCGACCAGGTGTA
 AACGTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGCTACTCCTCATGTTGCAGG
 TGCAGCAGCCCTTGTTAAACA~~AAAAGA~~ACCCATCTTGGTCCAATGTACAAATCCGCAATCATCTAAAGAATACGGCAA
 CGAGCTTAGGAAGCACGA~~ACTTGTAT~~GGAAGCGGACTTGTCAATGCAGAAGCTGCAACTCGTTAA

[0511] SEQ ID NO:4为全长序列,包括前肽和信号肽。

[0512] GG36的蛋白序列(前肽为小写,带下划线的字体,而GG36成熟序列为大写字体)

[0513]

vrskklwivastallisvafsssi~~asaa~~eeakeky~~ligfneq~~eavsefveqveandevailsee~~eeve~~iellhefet
ipvlsv~~els~~pedvdaleldpaisyieedaevttmAQSV~~PW~~GISRVQAPAAHNRLTGSGVKVAVLDTGISTHPDLNI
 RGGASFVPGE~~PSTQ~~DGNHGTHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGSGSVSSIAQGLEWAGNNGMHVA
 NLSLGSPSPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGAGSISYPARYANAMAVGATDQNNRASFSQYGAGLDIVAPGV
 NVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVAGAAALVKQKNPSWSNVQIRNHLKNTATSLGSTNLYGSLVN~~AE~~AATR

[0514] SEQ ID NO:1为成熟序列,并且SEQ ID NO:3也包括信号肽和前肽。

[0515] 诱变方法是基于密码子特异性的突变方法,在该方法中,利用在所关注的位点包含简并密码子NNS((A、C、T或G),(A、C、T或G),(C或G))的正向和反向诱变引物,在所关注的特异性密码子处同时产生全部可能的氨基酸取代。为构建每个GG36 SELs,进行了三次聚合酶链反应:两个诱变反应(主要聚合酶链反应1和聚合酶链反应2)使用NNS正向和反向诱变引物(25-45核苷酸长)在成熟GG36DNA序列中导入感兴趣的突变密码子,而第三个反应将这两次诱变聚合酶链反应的产物融合在一起以构建pHPLT-GG36表达载体,其在成熟GG36序列中具有的期望的突变密码子。

[0516] 在本实施例中使用的引物序列提供如下:

[0517]

CGCGCTTGAGCTCGATCCAGCGATTTC	SacI-Fw
GTCTCCAAGCTTTAACGAGTTGCAG	HindIII-Rv

[0518]

GCAATTCAGATCTTCCTTCAGGTTATGACC	pHPLT-BglIII-Fw
GCATCGAAGATCTGATTGCTTAACTGCTTC	pHPLT-BglIII-Rv

[0519] Phusion高保真DNA聚合酶(Phusion High-Fidelity DNA Polymerase, Finnzymes 目录号F-530L)被用于所有的聚合酶链反应中,反应按照随聚合酶提供的制造商规程进行。具体地讲,就初始聚合酶链反应1而言,使用pHPLT-BglIII-Fw引物和NNS反向诱变引物各1μl(10μM),就初始聚合酶链反应2而言,使用pHPLT-BglIII-Rv引物和NNS正向诱变引物各1μl

(10 μ M)。每一反应还包括1 μ l的pHPLT-GG36质粒模板DNA (0.1–1ng/ μ L)。MJ Research PTC-200 Peltier热循环仪被用于上述聚合酶链反应。上述反应产生两段大约2kb至3kb的片段,所述片段具有围绕所关注的GG36密码子的大约30个核苷酸的重叠。在与以上所述的类似的第三个聚合酶链反应反应中,使所获得的片段融合,第三个聚合酶链反应反应使用1 μ l的初始聚合酶链反应1反应混合物、1 μ l的初始聚合酶链反应2反应混合物和正向和反向SacI-Fw和HindIII-Rv引物各1 μ l (10 μ M)。(用QIAGEN® Qiaquick聚合酶链反应纯化试剂盒)纯化了所扩增的编码GG36变体基因的859bp线性片段,并用SacI和HindIII限制性酶消化,以在上述融合片段的两端产生粘性末端。约50ng的pHPLT-GG36质粒在用SacI和HindIII消化后也被纯化,得到3.9kb的载体主链片段。消化的载体片段使用T4DNA连接酶(Invitrogen)连接至50ng的所述859bp的消化片段,然后对于克隆粘性末端采用制造商规程。随后,连接混合物被用于转化枯草芽孢杆菌细胞(Δ aprE, Δ nprE, oppA, Δ spoIIE, degUHy32, Δ amyE:: [xylR, pxy1A-comK]),如文献(WO 2002/014490)所述。

[0520] 携带GG36变体质粒的枯草芽孢杆菌菌株被接种至包含150 μ l的补充了10 μ g/ml新霉素的Luria肉汤培养基的微量滴定板中,以表达变体蛋白质,用于进一步的生物化学分析。将EnzyScreen盖子(EnzyScreen)用于微量滴定板上,使平板在80%湿度下于37 $^{\circ}$ C以300rpm摇动生长过夜。十微升的来自上述过夜平板的培养物被用于接种新的包含190 μ l含10 μ g/ml新霉素的MBD培养基(基于MOPS的合成培养基)的微量滴定板。如本领域基本已知的制备MBD培养基(见Neidhardt等人, J. Bacteriol., 119:736–747 [1974]),除了NH₄Cl, FeSO₄, 和CaCl₂从基础培养基中省略掉,使用了3mM K₂HPO₄,并且在基本培养基中补充了60mM尿素,和100ml 210g/L的葡萄糖溶液,和350g/L的麦芽糊精。微量营养素以100X原液的形式制成,一升原液中包含:400mg的FeSO₄·7H₂O、100mg的MnSO₄·H₂O、100mg的ZnSO₄·7H₂O、50mg的CuCl₂·2H₂O、100mg的CoCl₂·6H₂O、100mg的NaMoO₄·2H₂O、100mg的Na₂B₄O₇·10H₂O、10ml的1M的CaCl₂和10ml的0.5M的柠檬酸钠。使用EnzyScreen盖子(EnzyScreen),让包含MBD培养基的微量滴定板在80%湿度下于37 $^{\circ}$ C以300rpm摇动生长68小时,以测定蛋白质的表达。第二天,培养物通过微滤板过滤(0.22 μ m; Millipore)而所得滤液用于生化分析。TCA, LAS/EDTA和BMI微样品分析按照测试方法一节中描述的进行。性能指数也如测试方法一节的BMI测定的描述进行计算,并且它们显示在表2-1。

[0521] 表2-1: 在BMI微样品分析中使用测试方法3的GG36变体相对于GG36的性能指数(PI)值

[0522]

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN'编号)	BMI, 实施例 26 16C 的洗涤剂, PI
Q2S	1.1
V4R	1.1
V4S	1.1
R10S	1.1
P14K	1.1
A16S	1.1
T22A	1.1
T22R	1.1
S24R	1.2
G25V	1.1
V26F	1.1
L42I	1.2
P52F	1.2
P52E	1.1
P52N	1.1
N62E	1.1
N62Q	1.1
V68A	1.1
V68C	1.1
T71G	1.2
I72C	1.2
A74C	1.1
L75A	1.1
L75F	1.1
S78R	1.1
E89P	1.2
E89T	1.2
E89G	1.1
E89H	1.1
E89W	1.1
Y91N	1.3
K94N	1.1
G100S	1.1
S101A	1.2
S101N	1.1
S101G	1.1
S101D	1.1

[0523]

S103G	1.3
S103N	1.2
V104L	1.1
V104I	1.1
A108I	1.1
L111V	1.5
E112V	1.2
G115K	1.1
N117F	1.1
V121F	1.1
S128D	1.2
S128F	1.1
S128L	1.1
S128N	1.1
P129E	1.1
L148I	1.1
A158E	1.1
G159E	1.1
S160D	1.2
S166D	1.2
N185E	1.1
R186H	1.1
S188E	1.2
S188D	1.1
V203E	1.2
Y209S	1.2
Y209N	1.2
Y209F	1.1
Y209T	1.1
Y209E	1.1
Y209H	1.1
Y209G	1.1
P210R	1.1
S212I	1.2
Y214F	1.1
A215N	1.1
A215D	1.1
A215E	1.1
L217E	1.1
L217N	1.1
T224A	1.1
A230E	1.1
A231I	1.1

[0524]

Q236F	1.1
N238R	1.1
N238K	1.1
P239K	1.2
P239G	1.2
P239R	1.1
N248V	1.1
H249R	1.1
L250I	1.1
L262D	1.1
Y263F	1.1
S265F	1.1
L267V	1.2
L267N	1.1
N269I	1.1
E271I	1.1
E271H	1.1
A272F	1.2

[0525] 表2-2:在BMI微样品分析中使用实施例29中的洗涤剂的GG36变体相对于GG36的性能指数 (PI) 值

[0526] 下列变体的所述性能指数使用16C中的测试方法2进行测定。

[0527]

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN'编号)	PI
V4R	1.1
H17R	1.1
N18R	1.1
G20R	1.1
T22R	1.1
S24R	1.1
S24W	1.1
G25R	1.1
N43R	1.1
N43A	1.1
G46R	1.1
P52F	1.1
P52N	1.1
T57R	1.1
Q59A	1.1
N62Q	1.1

[0528]

T71G	1.2
L75R	1.1
N76D	1.1
S78R	1.1
L82R	1.1
P86W	1.1
E89P	1.2
E89W	1.1
E89T	1.1
E89I	1.1
E89H	1.1
E89V	1.1
V104L	1.1
S106V	1.1
S106G	1.1
G115R	1.1
G118I	1.2
V121F	1.1
S144R	1.1
N185I	1.1
D197F	1.1
Y209N	1.1
Y209S	1.1
L217E	1.1
A231I	1.1
P239R	1.1
P239S	1.1
W241R	1.1
S242R	1.1
S242L	1.1
N243R	1.2
V244R	1.1
N248I	1.1
H249R	1.1
N252R	1.1
T253R	1.1
E271T	1.2
E271V	1.1
E271L	1.1
E271H	1.1
E271F	1.1
E271P	1.1

[0529] 实施例32[0530] NHJ1和WCE1组的GG36变体的构建和清洁性能

[0531] 本文所述的NHJ1和WCE1组的GG36变体在带有它们的专有方法的DNA 2.0, Inc. (Menlo Park, CA)、使用如上所述(图2)的pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)表达质粒进行构建。如实施例31所述,所述变体在枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)细胞中表达(基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$),并且如测试方法一节所述使用TCA和BMI微样品分析进行进一步鉴定。

[0532] 表3-1:在测试方法3中NHJ1变体相对于GG36的性能指数(PI)值

[0533]

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN'编号)	在实施例 26 在 16C 的洗 涤剂中测定的 PI
N062E-P129E	1.2
N062E-G159E	1.2
A016S-L148I	1.2
A158E-H249R	1.2
A016S-N062E	1.2
L111V-S188D	1.2
T022A-N062E	1.2
N062E-L148I	1.2
T022A-P129E	1.1
N062E-E271F	1.1
N062E-A158E	1.1
A016S-G159E	1.1
N062E-R186H	1.1
S128N-G159E	1.1
N062E-S188D	1.1
N062E-S128N	1.1
L148I-G159E	1.1
S103G-A158E	1.1
L111V-G159E	1.1
A158E-E271F	1.1
A016S-S188D	1.1
T022A-L111V	1.1
S128N-A158E	1.1
A016S-A158E	1.1
V104L-A158E	1.1
S128N-R186H	1.1
G159E-Y209E	1.1
N062E-S101A	1.1
L111V-Y209E	1.1

[0534]

L148I-S188D	1.1
S101A-Y209E	1.1
T022A-S188D	1.1
A016S-T022A	1.1
S128N-P129E	1.1
A016S-Y209E	1.1
A016S-S128N	1.1
T022A-E089P	1.1
S128N-Y209E	1.1
E089P-A158E	1.1
N062E-S103G	1.1
R186H-E271F	1.1
A016S-P129E	1.1
E089P-G159E	1.1
L111V-H249R	1.1
S101A-P129E	1.1
L148I-Y209E	1.1
T022A-G159E	1.1
P129E-H249R	1.1
P129E-Y209E	1.1
V104L-P129E	1.1
S128N-S188D	1.1
L111V-A158E	1.1
T022A-A158E	1.1
N062E-Y209E	1.1
N062E-H249R	1.1
S101A-R186H	1.1
E089P-P129E	1.1
P129E-E271F	1.1

[0535] 表3-2: 在BMI微样品分析中使用测试方法2的WCE1变体相对于GG36的性能指数 (PI) 值

[0536]

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN'编号)	在使用来自实施例 29 在 16C 的洗涤剂的 PI
T022R-S024R	1.2
S009A-E271L	1.1
N018R-W241R	1.1
N018R-G115R	1.1
N043R-H249R	1.1
G020R-H249R	1.1
V004R-H249R	1.1
G020R-S024R	1.1
N018R-H249R	1.1

[0537]	S009A-G020R	1.1
	G020R-W241R	1.1
	S009A-S078R	1.1
	G020R-G115R	1.1
	N018R-S024R	1.1
	S024R-S242R	1.1
	T022R-G115R	1.1
	N018R-N043R	1.1
	G020R-N043R	1.1
	N018R-S242R	1.1
	S242R-N269R	1.1
	N018R-V244R	1.1
	S024R-N269R	1.1
	G020R-E271L	1.1
	S024R-E271L	1.1
	V004R-S009A	1.1
	G020R-N269R	1.1
	A001R-S024R	1.1
	V244R-E271L	1.1
	S009A-N018R	1.1
	W241R-E271L	1.1
	V004R-S024R	1.1
	S009A-H249R	1.1
	S009A-T022R	1.1

[0538] 实施例33

[0539] NHJ4组的GG36变体的构建和清洁性能

[0540] 如下表4-4所述, NHJ4组的GG36变体使用pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒 (图2), 通过如下所述的聚合酶链反应融合或 **QuikChange[®]** 多定点诱变试剂盒 (“QCMS试剂盒”; Stratagene) 进行构建。

[0541] a) NHJ4变体的构建通过 **QuikChange[®]** 多定点诱变 (QCMS)

[0542] 由 **QuikChange[®]** 多定点诱变生成的变体如表4-4中所示。根据制造商的说明, 亲本质粒pHPLT-GG36 (模板DNA) 使用两微克DNA和Dam甲基化酶 (New England Biolabs) 进行甲基化。定点诱变由 **QuikChange[®]** 多定点诱变试剂盒生成 (“QCMS试剂盒”; Stratagene) 按照制造商规程 (见表4-1引物序列)。为有效转化枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*), 按照制造商规程, 来自QCMS反应的DNA使用Illustra Templiphi试剂盒 (GE Healthcare) 通过滚环复制 (RCA) 进行扩增。一微升的10倍稀释的扩增DNA用于转化50μL的枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 感受态细胞 (基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$)。在37℃摇动转化混合物1小时。10微升等份的转化混合物铺在脱脂乳 (1.6%) Luria琼脂平板上, 补充10μg/ml的新霉素。随后, 带晕的菌落接种到120μl的Luria肉汤培养基中, 其包含10μg/ml的新霉素用于质粒DNA提取 (QIAprep Spin Miniprep试剂盒, Qiagen)。提取的质粒被测序, 以确认所期

望的突变的存在。

[0543]

表 4.1: 使用 QCMS 方法构建 NHJ4 变体所用的引物序列		
引入的突变 (BPN'编号)	引物名称	引物序列 (5'-磷酸化的)
S101A S103G V104L	P5939	AAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTGGACTTAGC TCGATTGCCCAAGGATTG (SEQ ID NO:5)
G159E	P5940	CATCTGGAAATTCAGGTGCAGAATCAATCAGCTATC CGGCCCCGTTA (SEQ ID NO:6)
T22A	P5941	CTGCCCATAACCGTGGATTGGCAGGTTCTGGTGTA AAGTTGCTG (SEQ ID NO:7)
Y209E	P5942	AGGTGTAAACGTGCAGAGCACAGAACCAGGTTCAA CGTATGCCAG (SEQ ID NO:8)
E271F	P5943	GAAGCGGACTTGTCAATGCATTCGCTGCAACTCGTT AAAGCTTG (SEQ ID NO:9)
S101A	P5944	AAAGTATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTTCGGTCAGC TCGATTGCCCAA (SEQ ID NO:10)
S103G	P5945	TATTAGGGGCGAGCGGTTTCAGGTGGAGTCAGCTCGA TTGCCCAAGGA (SEQ ID NO:11)
L111V	P5946	GTCAGCTCGATTGCCCAAGGAGTAGAATGGGCAGGG AACAATGGCA (SEQ ID NO:12)
S128N	P5947	CGTTGCTAATTTGAGTTTAGGAAACCCTTCGCCAAGT GCCACACTTGA (SEQ ID NO:13)
N62E	P5948	GAACCATCCACTCAAGATGGGGAAGGGCATGGCAC GCATGTG (SEQ ID NO:14)
S188D	P5949	ACCAAAACAACAACCGCGCCGACTTTTCACAGTATG GCGCAGGGCTT (SEQ ID NO:15)

[0544] b) 通过延伸聚合酶链反应构建NHJ4变体

[0545] 通过延伸生成十个GG36的重组突变体(表4-4)。引入质粒pHPLT-GG36的突变列表和用于此目的的引物如表4-2所示。为生成每个突变,几个片段(表4-3)通过表4-2所示的引物进行扩增。每个聚合酶链反应扩增反应包含30pmol的各种引物和100ng的DNA模板,pHPLT-GG36质粒。扩增使用Vent DNA聚合酶(New England Biolabs)进行。所示聚合酶链反应反应(20μL)起始为在95℃加热2.5分钟,随后30个循环的94℃变性15秒,在55℃退火15秒和72℃延伸1分钟。扩增后每个变体的2至4个聚合酶链反应片段(表4-3)使用QIAGEN®凝胶-带纯化试剂盒进行凝胶纯化,并混合(每个片段50ng)。这些混合物作为DNA模板,使用引物P5954和P5955用于扩增以生成全长基因片段。所述聚合酶链反应条件同如上所述相同,除了延伸阶段是在72℃进行2分钟。所述全长DNA片段使用QIAGEN®凝胶-带纯化试剂盒进行凝胶纯化,用BamHI和HindIII限制酶消化,并和用相同限制酶消化的pHPLT-GG36载体连接。连接混合物使用滚环复制进行扩增并如上述QCMS方法转化枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)细胞。获得的所述GG36变体进行测序以确认期望突变的存在。通过延伸聚合酶链反应构建的变体显示于表4-4中。

[0546]

表 4-2: 通过延伸聚合酶链反应构建 NHJ4 变体所用引物列表			
突变 (BPN'编号)	引物名称	正向或 反向	引物序列
	P5950 侧翼	正向	CATATGAGTTATGCAGTTTGTAG (SEQ ID NO:16)
	P5951 侧翼	反向	TGTTTTTCTTGGAATTGTGCTGT (SEQ ID NO:17)
	P5954 侧翼	正向	CAGTTTGTAGAATGCAAAAAGTG (SEQ ID NO:18)
	P5955 侧翼	反向	GACAAGGTAAAGGATAAAACAGC (SEQ ID NO:19)
T22A	P5956	正向	CATAACCGTGGATTGGCAGGTTCT GGTGTAAGTTGCTG (SEQ ID NO:20)
T22A	P5957	反向	ACTTTTACACCAGAACCTGCCAAT CCACGGTTATGGGCAG (SEQ ID NO:21)
S103G	P5960	正向	GCGAGCGGTTTCAGGTGGAGTCAG CTCGATTGCCCAAGGA (SEQ ID NO:24)
S103G	P5961	反向	TGGGCAATCGAGCTGACTCCACCT GAACCGCTCGCCCCTA (SEQ ID NO:25)
S103G L111V	P5962	正向	GTGGAGTCAGCTCGATTGCCCAAG GAGTAGAATGGGCAGGGAACAATGGCAT (SEQ ID NO:26)

[0547]

表 4-2: 通过延伸聚合酶链反应构建 NHJ4 变体所用引物列表			
突变 (BPN'编号)	引物名称	正向或 反向	引物序列
S103G L111V	P5963	反向	CATTCTACTCCTTGGGCAATCGAG CTGACTCCACCTGAACCGCTCGCCCCTA (SEQ ID NO:27)
S101G S103A V104I	P5964	正向	GCGAGCGGTGGAGGTGCGATCAGCTC GATTGCCCAAGGATTG (SEQ ID NO:28)
S101G S103A V104I	P5965	反向	CTTGGGCAATCGAGCTGATCGCACCT CCACCGCTCGCCCCTAATACTTTA (SEQ ID NO:29)
S101A S103G V104L	P5966	正向	GCGAGCGGTGCAGGTGGACTTAGCTC GATTGCCCAAGGATTG (SEQ ID NO:30)
S101A S103G V104L	P5967	反向	CTTGGGCAATCGAGCTAAGTCCACCT GCACCGCTCGCCCCTAATACTTTA (SEQ ID NO:31)
S101A	P5968	正向	TATTAGGGGCGAGCGGTGCAGGTTTCGG TCAGCTCGATTGC (SEQ ID NO:32)
S101A	P5969	反向	ATCGAGCTGACCGAACCTGCACCGCTC GCCCCTAATACTTTA (SEQ ID NO:33)
S128N	P5970	正向	CTAATTTGAGTTTAGGAAACCCTTCGC CAAGTGCCACACTT (SEQ ID NO:34)
S128N	P5971	反向	GCACTTGGCGAAGGGTTTCTAAACTC AAATTAGCAACGTG (SEQ ID NO:35)
G159D	P5972	正向	GAAATTCAGGTGCAGACTCAATCAGCT ATCCGGCCCCGTT (SEQ ID NO:36)
G159D	P5973	反向	GGATAGCTGATTGAGTCTGCACCTGAA TTCCAGATGC (SEQ ID NO:37)
G159E	P5974	正向	GAAATTCAGGTGCAGAATCAATCAGCT ATCCGGCCCCGTT (SEQ ID NO:38)
G159E	P5975	反向	GGATAGCTGATTGATTCTGCACCTGAAT TTCCAGATGC (SEQ ID NO:39)
Y209E	P5976	正向	AACGTGCAGAGCACAGAACCAGGTTCA ACGTATGCCAGCTT (SEQ ID NO:40)
Y209E	P5977	反向	CATACGTTGAACCTGGTTCTGTGCTCTG CACGTTTACACC (SEQ ID NO:41)
L111V	P5978	正向	TCGATTGCCCAAGGAGTAGAATGGGCA GGGAACAATGGCAT (SEQ ID NO:42)
L111V	P5979	反向	CATTGTTCCCTGCCCATTCTACTCCTTGG GCAATCGAGCTGAC (SEQ ID NO:43)

[0548]

表 4-3: 通过延伸聚合酶链反应建立的组合变体			
变体#	变体 (BPN 编号)	片段	聚合酶链反应 1 片段 s

表 4-3: 通过延伸聚合酶链反应建立的组合变体

变体#	变体 (BPN 编号)	片段	聚合酶链反应 1 片段 s
[0549]	NHJ4-1	1	P5950+P5965
		2	P5964+P5951
	NHJ4-2	3	P5950+P5965
		4	P5964+P5973
		5	P5972+P5951
	NHJ4-3	6	P5950+P5967
		7	P5966+P5951
	NHJ4-4	8	P5950+P5967
		9	P5966+P5975
		10	P5974+P5951
	NHJ4-5	11	P5950+P5957
		12	P5956+P5967
		13	P5966+P5951
	NHJ4-10	14	P5950+P5957
		15	P5956+P5969
		16	P5968+P5977
		17	P5976+P5951
	NHJ4-12	21	P5950+P5957
		22	P5956+P5961
		23	P5960+P5975
		24	P5974+P5951
	NHJ4-20	29	P5950+P5967
		30	P5966+P5971
		31	P5970+P5951

[0550] 携带变体质粒的枯草芽孢杆菌菌株被接种至包含150μl的补充了10μg/ml新霉素的Luria肉汤培养基的微量滴定板中,以表达NHJ4组的变体蛋白质,用于进一步的生物化学分析。如实施例31所述,所述培养物生长以表达蛋白,并且也如实施例31中描述的,它们通过微过滤器板过滤(0.22μm;Millipore)。所得到的滤液被用于生物化学分析。对于蛋白含量测定的eglin c抑制测定和测试多种洗涤剂的BMI微样品分析如测试方法一节所述来进行。性能指数也如测试方法一节所述、通过BMI微样品分析进行计算。

[0551]

表 4-4: NHJ4 多突变的变体。相对于 GG36 的性能指数 (PI) (通过测试方法 3-实施例 26, 16C 的洗涤剂而测定)

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN'编号)	PI	变体名称 (构建方法)
T22A-L111V-G159E	1.4	NHJ4-13 (QCMS)
S101A-S103G-V104L-Y209E	1.3	NHJ4-6 (QCMS)
S101A-S103G-V104L-G159E	1.3	NHJ4-4 (延伸聚合酶链反应)
S101A-S103G-V104L-S188D	1.2	NHJ4-19 (QCMS)

[0552]

S101G-S103A-V104I-G159D	1.2	NHJ4-2 (延伸)
T22A-S103G-G159E	1.2	NHJ4-12 (延伸)
T22A-S128N-E271F-Y209E	1.2	NHJ4-14 (QCMS)
T22A-Y209E-E271F	1.2	NHJ4-7 (QCMS)
T22A-S101A-Y209E	1.1	NHJ4-10 (延伸)
S101A-Y209E-E271F	1.1	NHJ4-9 (QCMS)
T22A-L111V-S128N	1.1	NHJ4-17 (QCMS)
T22A-S101A-G159E	1.1	NHJ4-24 (QCMS)
S101A-S103G-V104L	1.1	NHJ4-3 (延伸)
T22A-S101A-S103G-V104L	1.1	NHJ4-5 (延伸)
S101A-S103G-V104L	1.1	NHJ4-1 (延伸)
S101G-S103A-V104I	1.1	NHJ4-20 (延伸)
S101A-S103G-V104L-S128N	1.1	NHJ4-13 (QCMS)

[0553] 实施例34

[0554] NHJ3组的GG36变体的构建和清洁性能

[0555] 本文所述的NHJ3组的变体是基于GG36变体计的(称为GG36-9)其包含下列突变: S101G, S103A, V104I, G159D, A232V, Q236H, Q245R, N248D, 和N252K (BPN'编号)。这些变体是使用QuikChange[®] Lightning多定点诱变试剂盒生成的(QCLMS试剂盒; Stratagene), 采用质粒pRA68 (见图3) 作为DNA模板。质粒pRA68来源于pBN3载体(见Babé等人, Biotech. Appl. Biochem. 27:117-124[1998])。

[0556] GG36-9变体的DNA序列(信号肽序列以小写字母显示, 前肽以小写加下划线的文本表示, 而GG36-9成熟序列以大写字体表示)提供如下:

[0557]

Gtgagaagcaaaaaattgtggatcgctcgctgaccgcactactcatttctgttgcgttttagttcatcgatcgcatc
 ggctgctgaagaagcaaaagaaaaatatattaattggctttaatgagcaggaagctgtcagtgagtttgtagaacaag
 tagaggcaaatgacgaggtcgccattctctctgaggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcatgaatttgaaacg
 attcctgttttatccgttgagttaagcccagaagatgtggacgcgcttgaactcgatccagcgatttcttatattga
 agaggatgcagaagtaacgacaatgGCGCAATCAGTGCCATGGGGAATTAGCCGTGTGCAAGCCCCGGCTGCCATA
 ACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAAGTTGCTGTCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATT
 CGTGGTGGCGTAGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGTGGCCGGGAC
 GATTGCTGCTCTAAACAATTCGATTGGCGTACTTGGCGTAGCGCCGAGCGCGGAAGTATACGCTGTTAAAGTATTAG
 GGGCGAGCGGTGGGGGCGCCATCAGCTCGATTGCCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCT
 AATTTGAGTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGGACTTCTAGGGGCGTTCT
 TGTTGTAGCGGCATCTGGAAATTCGGGTGCAGACTCAATCAGCTATCCGGCCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCG
 GAGCTACTGACCAAAACAACAACCGCGCCAGCTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATCGTCGCACCAGGTGTA
 AACGTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGCTACTCCTCATGTTGCAGG
 TGCAGCAGTCCTTGTTAAACATAAGAACCCTCTTGGTCCAATGTACGAATCCGCGATCATCTAAAGAAAACGGCAA
 CGAGCTTAGGAAGCACGAACTTGATGGAAGCGGACTTGTCAATGCCGAAGCTGCAACTCGTTAA (SEQ ID NO:
 44)

[0558] GG36-9变体的蛋白质序列(信号序列以小写字母显示,前肽以小写加下划线的文本表示,GG36-9成熟蛋白酶序列以大写字母表示)提供如下:

[0559]

vrskklwivastallisvafsssiassaaeeeakekyligfneqeavsefveqveandevailseeeveieillhefet
ipvlsvelspedvdaleldpaisyieedaevttmAQSVPWGISRVQAPAAHNRGLTSGVKVAVLDTGISTHPDLNI
RGGASFVPGEPTQDGNHGTHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGGGAISSIAQGLEWAGNNGMHVA
NLSLGSPSPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGADSIYPARYANAMAVGATDQNNNRASFQYAGLDIVAPGV
NVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVAGAAVLVKHKNPSWSNVRI RDHLKKTATSLGSTNLYGSLVNAEAATR (SEQ
ID NO:45)

[0560] 使用QCLMS试剂盒以生成NHJ3变体,对每个变体设计的诱变引物如表5-1所示。按照制造商的说明,每个变体的诱变反应包括0.5 μ l pRA68质粒DNA (168ng/ μ L),0.5 μ l正向“f”诱变引物(25 μ M),0.5 μ l反向“r”诱变引物(25 μ M),1 μ l dNTPs(在QCLMS试剂盒中提供),1.5 μ l Quik solution(在QCLMS试剂盒中提供),1 μ l酶共混物(在QCLMS试剂盒中提供),和39.5 μ l的蒸馏的去离子水以制备50 μ L的反应体积。循环程序为1个循环在95 $^{\circ}$ C 2分钟,18个循环在95 $^{\circ}$ C 20秒,60 $^{\circ}$ C 10秒和68 $^{\circ}$ C 3分钟,22秒,以及最终循环为68 $^{\circ}$ C 5分钟。下一步,试剂盒中提供的1 μ L的DpnI限制酶用于消化反应中的质粒DNA,然后2 μ L的反应液用于转化TOP 10大肠杆菌(E.coli)感受态细胞(Invitrogen)。所述大肠杆菌(E.coli)转化子在包含50ug/mL(ppm)羧苄青霉素的LB平板上,在37 $^{\circ}$ C过夜生长后进行选择。使用QIAprep spin miniprep试剂盒(Qiagen),从4-8个在包含50ug/mL(ppm)羧苄青霉素的LA培养基中生长的菌落中提取质粒DNA。上述质粒被测序,以确认所期望的突变的存在。然后将变体质粒转入了枯草芽孢杆菌细胞中,如实施例31中所述。如实施例31所述枯草芽孢杆菌(B.subtilis)变体菌株生长以进行进一步的生化分析,如使用eglin c抑制剂测试(测试方法一节)进行蛋白含量测定以及BMI微分析清洁测试(测试方法一节)。NHJ3变体的清洁性能如表5-2和5-3所示。

[0561]

表 5-1: 用于生成 NHJ3 组变体的诱变引物列表
(* “f” 指正向引物, 并且 “r” 指反向引物)

变体	突变注册的 (BPN' 编号)	诱变引物名称	诱变引物序列 5'至 3'
NHJ3-1	G101S	p138_G101S f*	GTATTAGGGGCGAGCGGTGGCGGCGCCATCAG CTCGATTGC (SEQ ID NO:46)
		p139_G101S r*	GCAATCGAGCTGATGGCGCCGCCACCGCTCGCC CCTAATAC (SEQ ID NO:47)
NHJ3-2	A103S	p140_A1013 f	GGGGCGAGCGGTGGGGGCGGCATCAGCTCGATT GCCCAAG (SEQ ID NO:48)
		p141_A1013 r	CTTGGGCAATCGAGCTGATGCCGCCCCCACCCTCG CGCCCC (SEQ ID NO:49)
NHJ3-3	I104V	p142_I104V f	GGGCGAGCGGTGGGGGCGCCGTTAGCTCGATTG C CCAAGGATTG (SEQ ID NO:50)
		p143_I104V r	CAATCCTTGGGCAATCGAGCTAACGGCGCCCCCA CCGCTCGCCC (SEQ ID NO:51)
NHJ3-4	D159G	p144_D159G f	GCATCTGGAAATTCGGGTGCAGGCTCAATCAGCT ATCCGGCCCCGT (SEQ ID NO:52)
		p145_D159G r	ACGGGCCGGATAGCTGATTGAGCCTGCACCCGA A TTTCCAGATGC (SEQ ID NO:53)

[0562]

表 5-1: 用于生成 NHJ3 组变体的诱变引物列表
(* “f” 指正向引物, 并且 “r” 指反向引物)

变体	突变注册的 (BPN' 编号)	诱变引物名称	诱变引物序列 5'至 3'
NHJ3-5	V232A	p146_V232A f	CTCATGTTGCAGGTGCAGCAGCACTTGTTAAACA T
		p147_V232A r	AAGAACCC (SEQ ID NO:54) GGGTTCTTATGTTTAAACAAGTGCTGCTGCACCTG C
NHJ3-6	H236Q	p148_H236Q f	AACATGAG (SEQ ID NO:55) GTGCAGCAGTCCTTGTTAAACAAAAGAACCCATC TTGGTCCAAT (SEQ ID NO:56)
		p149_H236Q r	ATTGGACCAAGATGGGTTCTTTTGTTTAAACAAGG ACTGCTGCAC (SEQ ID NO:57)
NHJ3-7	R245Q	p150_R245Q f	CCATCTTGGTCCAATGTACAAATCCGCGATCATC TAAAGAAAAC (SEQ ID NO:58)
		p151_R245Q r	GTTTTCTTTAGATGATCGCGGATTTGTACATTGG ACCAAGATGG (SEQ ID NO:59)
NHJ3-8	D248N	P152_D248N f	GGTCCAATGTACGAATCCGCAATCATCTAAAGA AAACGGCAAC (SEQ ID NO:60)
		P153_D248N r	GTTGCCGTTTTCTTTAGATGATTGCGGATTTCGTA CATTGGACC (SEQ ID NO:61)
NHJ3-9	K252N	P154_K252N f	GAATCCGCGATCATCTAAAGAATACGGCAACGA GCTTAGGAAG (SEQ ID NO:62)
		P155_K252N r	CTTCCTAAGCTCGTTGCCGTATTCTTTAGATGATC GCGGATTC (SEQ ID NO:63)

[0563]

表 5-2: 在测试方法 3 中 NHJ3 变体的清洁性能。相对于 GG36 的性能指数 (PI)

对 SEQ ID NO:1 的突变 (BPN' 编号)	PI	变体名称
S103A-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.8	NHJ3-1
S101G-V104I-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.9	NHJ3-2
S101G-S103A-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	2.0	NHJ3-3
S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.5	NHJ3-4
S101G-S103A-V104L-G159D-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.9	NHJ3-5
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q245R-N248D-N252K	2.0	NHJ3-6
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-N248D-N252K	1.6	NHJ3-7
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K	1.8	NHJ3-8
S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N248D	1.7	NHJ3-9

[0564]

表 5-3: 在测试方法 2 中 NHJ3 变体的清洁性能。相对于 GG36 的性能指数 (PI)

变体	相对于 GG36 的变体序列 (BPN' 编号)	PI
NHJ3-4	S101G-S103A-V104L-A232V-Q236H-Q245R-N248D-N252K	1.1
NHJ3-8	S101G-S103A-V104L-G159D-A232V-Q236H-Q245R-N252K	1.1

[0565] 实施例 35

[0566] NHJ5 组的 GG36 变体的构建和清洁性能

[0567] 本文所述 NHJ5 组的变体是基于 GG36 的变体 (称为 GG36-7) 其包含下列突变: S101G, S103A, V104I, G159D, A232V, Q245R, N248D (BPN' 编号)。如实施例 34 中所述, 使用 QuikChange® Lightning 多定点诱变试剂盒生成这些变体 (QCLMS 试剂盒; Stratagene) 以 pRA96 质粒作为 DNA 模板 (图 4; 质粒 pRA96 来源于 pBN3 载体, 其在 Babe 等人, Biotech. Appl. Biochem. 27:117-124, 1998) 中所述。所述引入的突变和在 GG36-7 中引入突变所用的引物序列如表 6-1 所示。使用如实施例 34 所述的方法生成所述变体。如实施例 31 所述枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 变体菌株生长以进行进一步的生化分析, 如使用 eglin c 抑制剂测试 (测试方法一节) 进行蛋白含量测定以及 BMI 微分析清洁测试 (测试方法一节)。所述 NHJ5 组的变体的清洁性能如表 6-2 和 6-3 所示。

[0568] SEQ ID NO: 64 GG36-7 变体的 DNA 序列 (信号肽序列以小写字母表示, 前肽以小写带下划线的字体表示, 而 GG36-7 成熟序列以大写字体表示)

[0569]

Gtgagaagcaaaaaattgtggatcgctcgctcgaccgcactactcatttctgttgcttttagttcatcgatcgcatc
ggctgctgaagaagcaaaagaaaaatatattaattggctttaatgagcaggaagctgtcagtgagttttagaacaag
tagaggcaaatgacgaggtcgccattctctctgaggaagaggaagtcgaaattgaattgcttcatgaatttgaaacg
attcctgtttttatccggttgagtttaagcccagaagatgtggacgcgcttgaactcgatccagcgatttcttataattga
agaggatgcagaagtaacgacaatgGCGCAATCAGTGCCATGGGGAATTAGCCGTGTGCAAGCCCCGGCTGCCATA
ACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAAGAGTTGCTGTCTCGATACAGGTATTTCCACTCATCCAGACTTAAATATT
CGTGGTGGCGTAGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACTCAAGATGGGAATGGGCATGGCACGCATGTGGCCGGGAC
GATTGCTGCTCTAAACAATTCGATTGGCGTACTTGGCGTAGCGCCGAGCGCGGAACCTATACGCTGTTAAAGTATTAG
GGGCGAGCGGTGGGGGCGCCATCAGCTCGATTGCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAACAATGGCATGCACGTTGCT
AATTTGAGTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGCCACACTTGAGCAAGCTGTTAATAGCGCGACTTCTAGGGGCGTTCT
TGTTGTAGCGGCATCTGGAATTCGGGTGCAGACTCAATCAGCTATCCGGCCCGTTATGCGAACGCAATGGCAGTCG
GAGCTACTGACCAAAACAACAACCGCGCCAGCTTTTACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATCGTCGCACCAGGTGTA
AACGTGCAGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGCTACTCCTCATGTTGCAGG
TGCAGCAGTCCTTGTTAAACAAAAGAACCCTCTTGGTCCAATGTACGAATCCGCGATCATCTAAAGAATACGGCAA
CGAGCTTAGGAAGCACGAACCTTGATGGAAGCGGACTTGTCATGCCGAAGCTGCAACTCGT

[0570] SEQ ID NO: 65 GG36-7 变体的蛋白序列 (信号肽序列以小写字母表示, 前肽以小写带下划线的字体表示, 而 GG36-7 成熟序列以大写字体表示)

[0571]

vrskklwivastallisvafsssiassaaeeakekyligfneqeavsefveqveandevailseeeveieillhefet
ipvlsvlspedvdaleldpaisyieedaevttmAQSVPWGISRVQAPAAHNRGLTGSGVKVAVLDTGISTHPDLNI

RGGASFVPGEPTQDGNHGHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGGGAISSIAQGLEWAGNNGMHVA
 NLSLGSPSPSATLEQAVNSATSRGVLVVAASGNSGADSIYPARYANAMAVGATDQNNNRASFQYAGGLDIVAPGV
 NVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVAGAAVLVKQKNPSWSNVRI RDHLKNTATSLGSTNLYGSGLVNAEAAATR
 [0572]

表 6-1: 生成 NHJ5 组变体所用引物的列表

引物#	使用 GG36 编号的突变 (如亲本酶所示的 BPN' 编号)	引物序列
168	H243R (H249R)	GTACGAATCCGCGATAGACTAAAGAATA CGGCAACGAG (SEQ ID NO:66)
170	E265F (E271F)	GCGGACTTGTCAATGCCTTTGCTGCAACT CGTTAAAGCTTACAT (SEQ ID NO:67)
172	D157E (D159E)	GGAAATTCGGGTGCAGAATCAATCAGCTA TCCGGCCCGTTA (SEQ ID NO:68)
174	A156E (A158E)	CTGGAAATTCGGGTGAAGACTCAATCAGC TATCCGGCC (SEQ ID NO:69)

[0573]

176	A156E-D157G (A158E-D159E)	CGGCATCTGGAAATTCGGGTGAAGGCTCA ATCAGCTATCCGGCCCGTTATG (SEQ ID NO:70)
178	T22A	CATAACCGTGGATTGGCAGGTTCTGGTGT AAAAGTTGCTGTC (SEQ ID NO:71)
180	N60E (N62E)	TCCACTCAAGATGGGGAAGGGCATGGCA CGCATGTGGC (SEQ ID NO:72)
182	N232R (N238R)	CTTGTTAAACAAAAGAGACCATCTTGGTC CAATGTACGAATC (SEQ ID NO:73)
186	T247R (T253R)	AATGTACGAATCCGCAGACATCTAAAGA ATACGGCAACGAGC (SEQ ID NO:74)
188	S24R	CGATCATCTAAAGAATAGAGCAACGAGC TTAGGAAGCACGAAC (SEQ ID NO:75)
190	N74D (N76D)	GTGGATTGACAGGTAGAGGTGTAAAAGTT GCTGTCCTCGATA (SEQ ID NO:76)

[0574] 表6-2: 使用测试方法3的NHJ5变体的清洁性能。相对于GG36的性能指数 (PI)。

[0575]

对SEQ ID NO:1的突变(BPN' 编号)	PI	变体名称
N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.6	NHJ5-14
N62E-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R	1.3	NHJ5-13
T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R	1.3	NHJ5-11
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R	1.3	NHJ5-5
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-T253R	1.3	NHJ5-4
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1.3	NHJ5-9

T22A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.3	NHJ5-12
S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1.2	NHJ5-7
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N238R	1.2	NHJ5-2
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.2	NHJ5-10
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D	1.2	GG36-7
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.2	NHJ5-1
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-N76D	1.2	NHJ5-6
S101G-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.1	NHJ5-8

[0576]

表 6-3: 使用测试方法 2 的 NHJ3 变体的清洁性能。相对于 GG36 的性能指数 (PI)

变体	相对于 GG36 的变体序列 (BPN'编号)	PI
NHJ5-1	S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.1
NHJ5-5	S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-S24R	1.1
NHJ5-9	S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	1.2
NHJ5-10	S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-E271F	1.1

[0577] 实施例36

[0578] 下表 (6-4) 举例说明了在实施例36a-36n所示洗涤剂类型中使用的洗涤剂的浓度和缓冲液。

[0579]

表 6-4: 用于 BMI 微样品分析的最终洗涤剂、水的硬度和缓冲液浓度

洗涤剂组合物	最终的洗涤剂浓度 (g/L)	最终的水硬度* (gpg)	最终的碳酸钠缓冲液浓度 (mM)
36a	0.75	6	2
36b	0.808	6	2
36c	0.808	6	2
36d	2.25	12	2
36e	1	3	2
36f	1.2	12	2
36g	3.96	12	2
36h	7.69	20	2
36i	5	10	2
36j	7.69	20	2
36k	7.69	20	2
36l	6.15	10	2
36m	7.69	20	2
36n	6.15	20	2

[0580] 下列为颗粒状的衣物洗涤剂组合物。本发明的所述蛋白酶被单独添加到这些配方中。

[0581]

	36a	36b	36c	36d	36e
表面活性剂					
C ₁₀ 非离子				0.1843	
C ₁₆₋₁₇ 支化烷基硫酸盐	3.53	3.53	3.53		
C ₁₂₋₁₄ 烷基硫酸盐					
脂族链长度为 C ₁₁ -C ₁₂ 的直链烷基苯磺酸钠盐	8.98	8.98	8.98	13.58	14.75
C _{14/15} 醇乙氧基-3-硫酸钠	1.28	1.28	1.28		
C _{14/15} 烷基硫酸钠	2.36	2.36	2.36		
具有平均 7 摩尔乙氧基化物的 C _{14/15} 醇乙氧基化物					
一-C ₈₋₁₀ 烷基一羟乙基二甲基季铵氯化物					
二甲基羟基乙基月桂基氯化铵				0.1803	
沸石 A	15.31	15.31	15.31		4.47
膨润土				8.35	
硅酸钠 1.6 比率					0.16

[0582]

硅酸钠 2.0.比率	3.72	3.72	3.72	8.41	
硅酸钠 2.35.比率					
柠檬酸				0.0066	
三聚磷酸钠				5.06	
碳酸钠	26.1	26.18	26.1	15.9	29.0
壬酰基氧基苯磺酸盐	5.78	5.78	5.78	1.17	1.86
基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂	0.037	0.037	0.037		
S,S-乙二胺二琥珀酸四钠					
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)七钠盐	0.62	0.62	0.62		
羟乙烷二亚甲基膦酸					
乙二胺四乙酸盐				0.2701	
MgSO ₄	0.056	0.056	0.056	0.47	
过碳酸钠		7.06	7.06		3.64
四乙酰基乙二胺					
一水合过硼酸钠				1.47	
羧甲基纤维素 (例如 Finnfix BDA ex CPKelco)	0.38	0.38	0.38	0.173	
丙烯酸/马来酸共聚物钠盐 (70/30)	3.79	3.78	3.79		3.64
聚丙烯酸钠 (Sokalan PA30 CL)	3.78	3.78	3.78	0.842	
对苯二甲酸聚合物					
聚乙二醇/乙酸乙烯酯无规枝接共聚物				0.89	
光漂白剂-四磺酸酞菁锌					
C.I.荧光增白剂 260	0.1125	0.1125	0.1125	0.043	0.15
C.I.荧光增白剂 351 (Tinopal [®] CBS)				0.0952	
抑泡剂颗粒	0.015	0.015	0.015		0.031
疏水改性羧甲基纤维素 (Finnifix [®] SH-1)					
膨润土					
杂项 (染料、香料、加工助剂、水分和硫酸钠)	余量	余量	余量	余量	余量

[0583]

	36f	36g	36h	36i	36j
表面活性剂					
C ₁₀ 非离子	0.1142	0.2894	0.1885	0.1846	0.1885
C ₁₆₋₁₇ 支化烷基硫酸盐					
C ₁₂₋₁₄ 烷基硫酸盐					
脂族链长度为 C ₁₁ -C ₁₂ 的直链烷基苯磺酸钠盐	12.94	15.69	9.01	8.42	9.51
C _{14/15} 醇乙氧基-3-硫酸钠					
C _{14/15} 烷基硫酸钠					
具有平均 7 摩尔乙氧基化物的 C _{12/14} 醇乙氧基化物	2.9				
具有平均 3 摩尔乙氧基化物的 C _{12/14} 醇乙氧基化物				2.44	

[0584]

具有平均 7 摩尔乙氧基化物的 C _{14/15} 醇乙氧基化物			0.97	1.17	0.97
一-C ₈₋₁₀ 烷基一羟乙基二甲基季铵氯化物			0.45		
二甲基羟基乙基月桂基氯化铵		0.195			0.45
沸石 A	2.01	0.39	1.83	2.58	0.59
硅酸钠 1.6.比率			4.53	5.62	4.53
硅酸钠 2.0.比率		10.1			
硅酸钠 2.35.比率	7.05				
柠檬酸			1.4	1.84	1.0
三聚磷酸钠		5.73			
碳酸钠	12.65	15.93	21.0	27.31	20.2
壬酰基氧基苯磺酸盐		1.73			
基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂			0.0168	0.0333	0.024
S,S-乙二胺二琥珀酸四钠					
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)七钠盐			0.327		0.3272
羟乙烷二亚甲基膦酸			0.45	0.2911	0.45
乙二胺四乙酸盐		0.28		0.1957	
MgSO ₄		0.54	0.79	0.6494	0.793
过碳酸钠			19.1	15.85	22.5
四乙酰基乙二胺			4.554	3.71	5.24
一水合过硼酸钠		5.55			
羧甲基纤维素 (例如 Finnfix BDA ex CPKelco)	0.62	0.21	0.23	1.07	0.2622
丙烯酸/马来酸共聚物钠盐 (70/30)	0.40	2.61	2.5	2.00	1.75
聚丙烯酸钠 (Sokalan PA30 CL)			0.0055	0.011	0.008
对苯二甲酸聚合物				0.231	
聚乙二醇/乙酸乙烯酯无规枝接共聚物	0.55	1.40	0.911	0.8924	0.911
光漂白剂-四磺酸酞菁锌					
C.I.荧光增白剂 260	0.1174	0.048	0.1455	0.2252	0.1455
C.I.荧光增白剂 351 (Tinopal [®] CBS)		0.1049			
抑泡剂颗粒			0.04	0.0658	0.04
疏水改性羧甲基纤维素 (Finnifix [®] SH-1)					
膨润土					
杂项 (染料、香料、加工助剂、水分和硫酸钠)	余量	余量	余量	余量	余量

[0585]

	36k	36l	36m	36n	
表面活性剂					
C ₁₀ 非离子	0.1979	0.1979	0.1979	0.1979	
C ₁₆₋₁₇ 支化烷基硫酸盐					
C ₁₂₋₁₄ 烷基硫酸盐					

[0586]

脂族链长度为 C ₁₁ -C ₁₂ 的直链烷基苯磺酸钠盐	8.92	8.92	11.5	11.5	
C _{14/15} 醇乙氧基-3-硫酸钠	1.62	1.62	1.125	1.125	
C _{14/15} 烷基硫酸钠					
具有平均 7 摩尔乙氧基化物的 C _{14/15} 醇乙氧基化物	1.0	1.0	1.5	1.5	
一-C ₈₋₁₀ 烷基一羟乙基二甲基季铵氯化物					
二甲基羟基乙基月桂基氯化铵					
沸石 A	1.63	1.63	2.0	2.0	
硅酸钠 1.6.比率	4.75	4.75	4.75	4.75	
硅酸钠 2.0.比率			0.06	0.06	
硅酸钠 2.35.比率					
柠檬酸	1.10	1.10	1.1	1.1	
三聚磷酸钠					
碳酸钠	23.3	23.3	23.3	23.3	
壬酰基氧基苯磺酸盐					
基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂	0.021	0.021	0.015	0.015	
S,S-乙二胺二琥珀酸四钠	0.26	0.26	0.26	0.26	
二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸)七钠盐					
羟乙烷二亚甲基膦酸	0.47	0.47	0.47	0.47	
乙二胺四乙酸盐					
MgSO ₄	0.83	0.83	0.82	0.82	
过碳酸钠	19.35	19.35	19.35	19.35	
四乙酰基乙二胺	4.51	4.51	4.51	4.51	
一水合过硼酸钠					
羧甲基纤维素 (例如 Finnfix BDA ex CPKelco)	1.01	1.01	1.01	1.01	
丙烯酸/马来酸共聚物钠盐 (70/30)	1.84	1.84	1.84	1.84	
聚丙烯酸钠 (Sokalan PA30 CL)	0.007	0.007	0.005	0.005	
对苯二甲酸聚合物	0.179	0.179	0.179	0.179	
聚乙二醇/乙酸乙烯酯无规枝接共聚物	0.96	0.96	0.96	0.96	
光漂白剂-四磺酸酐菁锌					
C.I.荧光增白剂 260	0.153	0.153	0.171	0.171	
C.I.荧光增白剂 351 (Tinopal [®] CBS)					
抑泡剂颗粒	0.042	0.042	0.042	0.042	
疏水改性羧甲基纤维素 (Finnifix [®] SH-1)					
膨润土					
杂项 (染料、香料、加工助剂、水分和硫酸钠)	余量	余量	余量	余量	余量

[0587] 实施例36标注:

[0588] 表面活性剂成分可得自 BASF (Ludwigshafen, Germany) (Lutensol[®]) ; Shell Chemicals (London, UK) ; Stepan (Northfield, Illinois, USA) 、Huntsman (Huntsman, Salt

Lake City, Utah, USA)、Clariant (Sulzbach, Germany) (Praepagen[®])。

[0589] 沸石可得自工业沸石 (UK) Ltd., Grays, Essex, UK。

[0590] 柠檬酸和柠檬酸钠可得自 Jungbunzlauer, Basel, Switzerland。

[0591] 过碳酸钠, 碳酸钠, 碳酸氢和倍半碳酸钠能得自 Solvay, Brussels, Belgium。

[0592] 丙烯酸/马来酸共聚物能得自 BASF, Ludwigshafen, Germany。

[0593] 羧甲基纤维素和疏水改性的羧甲基纤维素可得自 CP Kelco, Arnhem, The Netherlands。

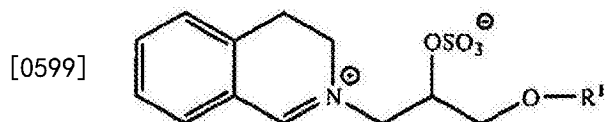
[0594] C.I. 荧光增白剂 260 能得自 3V Sigma, Bergamo, Italy 如 Optiblanc[®] Optiblanc[®] 2M/G, Optiblanc[®] 2MG/LT Extra, 或 Optiblanc[®] Ecobright。

[0595] S,S-乙二胺二琥珀酸四钠可得自 Innospec, Ellesmere Port, UK。

[0596] 对苯二甲酸酯共聚物能得自 Clariant 以商品名为 Repelotex SF 2。

[0597] 1-羟乙烷-1,1-二膦酸可得自 Thermphos, Vlissingen-Oost, The Netherlands。

[0598] 基于过氧亚胺正离子的漂白增强剂具有下列结构, 其中 R¹ = 2-丁基辛基, 并且依照 US 2006/0089284A1 来制备。



[0600] 酶 Natalase[®], Termamyl[®], Stainzyme Plus[®], Celluclean[®] 和 Mannaway[®], 能得自 Novozymes, Bagsvaerd, Denmark。

[0601] 酞菁四锌能得自 Ciba Specialty Chemicals, Basel, Switzerland, 如 Tinolux[®] BMC。

[0602] 抑泡剂颗粒可得自 Dow Corning, Barry, UK。

[0603] 无规接枝共聚物为聚乙酸乙烯酯接枝的环氧乙烷共聚物, 其具有聚环氧乙烷主链和多个聚乙酸乙烯酯侧链。所述聚环氧乙烷主链的分子量约为 6000, 并且聚环氧乙烷与聚乙酸乙烯酯的重量比率为约 40 至 60, 并且每 50 个环氧乙烷单元具有不超过 1 个接枝点。

[0604] 实施例 37

[0605] NHJ2 组合库的构建

[0606] 这个实施例描述了 GG36 组合库的构建, 其包含一个或多个下列突变: A016S, T022A, S101A, S103G, V104L, L111V, S128N 和 L148I (BPN' 编号)。所述 pHPLT-GG36 枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒提供至 DNA 2.0 Inc., 用于生成 NHJ2 组合库。构建 NHJ2 库的连接反应由 DNA 2.0, Inc. 提供以转化枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 菌株 (基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$)。使用本文所述的方法和洗涤剂组合物, 就低温清洁应用对所产生的包含一个或多个本文所述的突变的变体进行了测试。

[0607] 实施例 38

[0608] 附加的库和 GG36 变体的构建

[0609] 附加的库和变体使用下列组的突变构建: A001R, A230E, E271L, G115R, G020R, H249R, K235F, K027V/F/L, L075E, L082R, N018R, N269R, N043D, N043R, N076D, R045T, S212F,

S242R, S024R, S078R, S009A, T022R, V121E, V244R, V028E, V030E, V004R, W241R (BPN' 编号)。生成的包含一个或多个这些突变所述变体, 使用本文所述的方法和洗涤剂组合物, 在BMI微样品清洁测试(实施例1)中对于冷水清洁进行测试。结果提供于下文的表8-1中。在下列表格中, 所述洗涤剂组合物("Det.") 相当于那些如上实施例36所示的。此外, 如文, 氨基酸位置按照BPN' 编号列出。

[0610] 下面所示附加的各组GG36变体进行构建并使用本文所述的方法和洗涤剂组合物, 在BMI微样品清洁测试(测试方法6)中对于冷水清洁进行测试。结果提供于下文的表8-1中。所述测试的GG36变体为: G020R-N043R-H249R, G020R-T022R-N043R, G020R-N043R-S242R, G020R-N043R-E271L, G020R-N043R-V244R, G020R-S024R-N043R-S242R, S009A-T022R-S078R-S212F-W241R, S009A-G020R-N043R-S212F, S009A-N043R-S212F, G020R-N043R-S212F, G020R-T022R-N043R-S212F, S024R-S078R-S212F, S009A-N043R-S078R, S009A-N043R-S078R-S242R, S009A-G020R-N043R-S078R, G020R-S024R-N043R-S078R-S242R, T022R-S024R-S078R-S212F, S009A-G020R-N043R-S078R-S242R, G020R-N043R-S078R-H249R, G020R-N043R-S078R, S009A-S078R-S212F, S009A-T022R-N043R-S078R, S009A-G020R-S024R-N043R, S009A-T022R-S078R-S212F, V004R-S009A-T022R-S078R-S212F, G020R-S024R-N043R, A001R-S009A-N043R, G020R-S024R-N043R-G115R, S009A-S024R-N043R, G020R-T022R-S024R-N043R, A001R-S024R-N043R, S009A-G020R-S024R-N043R-S242R, S009A-G020R-T022R-S078R-S212F, S009A-S024R-N043R-V244R, S009A-S024R-N043R-S242R, V004R-S009A-T022R-S024R-S212F和T022R-S024R-N043R (BPN' 编号)。

[0611]

表 8-1: WCE4 变体的 BMI 清洁性能。

PI=相对于 GG36 的性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 l 的洗涤剂中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	相对于 GG36 的 PI; 实施例 36k 或 l 的洗涤剂, BMI 测定, 16C
V004R-S009A-G020R-S242R	+++
G020R-N043R-W241R	+++
G020R-S242R-N269R	+++
V004R-S009A-G020R-N043R-	+++
V004R-G020R-H249R-	+++
N018R-S024R-V244R	+++
S009A-T022R-S212F-W241R	+++
G020R-N043R-N269R-	+++
N018R-S024R-S242R	+++
V004R-S009A-N043R-W241R-	+++
G020R-N043R-V244R-	+++
G020R-T022R-S242R-	+++
V004R-G020R-N043R-	+++
V004R-S009A-G020R-N043R-S242R-	+++
G020R-N043R-S242R-	+++
G020R-N043R-S242R-H249R-	+++
G020R-S212F-H249R-	+++
V004R-S009A-W241R-	+++

[0612]

A001R-S009A-N043R-	+++
G020R-N043R-H249R-	+++
S009A-G020R-N043R-W241R	+++
G020R-T022R-N043R-	+++
G020R-H249R-N269R-	+++
G020R-T022R-W241R-	+++
V004R-S009A-S024R-N043R-W241R-	+++
S009A-N043R-S078R	+++
V004R-G020R-S024R-V244R-	+++
G020R-T022R-S078R-S242R-	+++
G020R-S024R-S242R-H249R-	+++
V004R-S009A-S078R-W241R-	+++
S009A-N043R-S078R-S242R	+++
V004R-G020R-S024R-	+++
S009A-N043R-S212F	+++
G020R-N043R-S212F-	+++
S024R-S078R-S212F-	+++
S009A-G020R-S024R-N043R	+++
S009A-T022R-N043R-S078R	+++
G020R-T022R-S212F-W241R-	+++
G020R-N043R-S212F-W241R-	+++
S009A-N043R-W241R	+++
G020R-N043R-E271L	+++
G020R-T022R-S078R-W241R-	+++
G020R-S024R-N043R-S242R-	+++
G020R-T022R-N043R-W241R-	+++
S009A-G020R-N043R-S212F	+++
V004R-S009A-G020R-S024R-S242R-	+++
G020R-N043R-H249R-E271L	+++
G020R-T022R-S024R-S242R-	+++
S009A-T022R-S078R-S212F	+++
G020R-N043R-S242R-E271L	+++
S009A-T022R-S078R-S212F-W241R	+++
V004R-G020R-S024R-H249R-	+++
G020R-T022R-E271L	+++
G020R-T022R-N043R-S212F-	+++
V004R-G020R-S024R-N043R-S242R-	+++
V004R-G020R-S024R-N043R-	+++
V004R-S009A-T022R-S078R-S212F-	+
G020R-T022R-S078R-S212F-W241R-	+
G020R-T022R-N269R-	+

[0613] 实施例39

[0614] GG36库WCE2的构建和清洁性能

[0615] WCE2组合库使用pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒、由DNA 2.0,

Inc. 生成。构建WCE2库的连接反应由DNA 2.0, Inc. 提供以转化枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 菌株 (基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$)。用于生成WCE2库的突变组为 A230E, G020R, H249R, N018R, N043R/D, N076D, R045T, S242R 和 S024R (BPN' 编号)。生成的包含一个或多个这些突变所述变体, 使用本文所述的方法和洗涤剂组合物, 在BMI微样品清洁测试 (测试方法6) 中对于冷水清洁进行测试。结果提供于下文的表9-1中。在下列表格中, 所述洗涤剂组合物 (“Det.”) 相当于在以上实施例36中所示的那些。此外, 如文, 氨基酸位置按照 BPN' 编号列出。

[0616]

表 9-1: GG36 的 WCE2 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数相对于 GG36

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 36h 或 36i 中

GG36 变体的序列 (BPN' 编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 洗涤剂 36h 或 36i, 16°C
N018R-G020R-N043D-R045T-A230E	+++
N018R-N043R-R045T-S242R-H249R	+++
S024R-N043D-H249R	+++
N018R-G020R-R045T	+++
G020R-S024R-N076D-H249R	+++
S024R-N043R-A230E-S242R	+++
N018R-S024R-N043D-A230E	++
G020R-N076D	++
N018R-S024R-N043D-N076D-H249R	++
S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-R045T-S242R	++
G020R-N043D-N076D-A230E-H249R	++
G020R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-S024R-N076D-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-L233I-S242R	+++
S024R-N043R-A230E	+++
N018R-G020R-N043D	+++
N043R-S242R-H249R	+++
G020R-N043R-R045T-A230E	+++
N043R-N076D-S242R-H249R	+++
G020R-S024R-R045T-A230E-S242R	+++

[0617]

表 9-1: GG36 的 WCE2 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数相对于 GG36

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 36h 或 36i 中

S024R-R045T-N076D-A230E-S242R-H249R	+++
S024R-R045T	+++
S024R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R	++
N018R-S024R-N043D-R045T-H249R	++
N018R-N043R-R045T-H249R	+++
S024R-N043R-S242R	+++
N018R-G020R-N043R-N076D-H249R	+++
G020R-S024R-N043D-H249R	+++
G020R-N043R-A230E-S242R	+++
G020R-N043R-S242R	+++
N018R-N043R-N076D-A230E	++
G020R-S024R-N043D-S242R	+++
G020R-N043R-A230E	+++
N018R-G020R-N043R-N076D-S242R-H249R	+++
N043D-R045T-N076D-H249R	+
N018R-N043R-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-G020R-N043D-A230E-S242R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-H249R	+++
S024R-N043R-H249R	+++
G020R-S024R-K027E-N043R-N076D-A230E	+++
S024R-N043R-R045T-S242R	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-A230E	+++
G020R-N043R-N076D-A230E-H249R	+++
N018R-N043R-R045T-S242R	+++
G020R-S242R-H249R	+++
N018R-N043R-N076D-A230E-S242R-H249R	++
N018R-S024R-N076D	++
G020R-S024R-K27R-N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S242R	++
N018R-N043R-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-A230E-H249R	+++
N018R-G020R-N043D-H249R	++
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S242R	+++
S024R-N043R-N076D-A230E-S242R	+++
G020R-S024R-T38I-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-N043R	+++
N018R-S024R-R045T-A230E-S242R	++
N018R-G020R-H249R	+++
S024R-N043R-N076D	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-H249R	++

[0618]

表 9-1: GG36 的 WCE2 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数相对于 GG36

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 36h 或 36i 中

N018R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R	+++
S024R-N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043D-R045T-S242R	++
G020R-S024R-N043R-N076D	++
N018R-G020R-N043D-R045T-A230E-S242R	++
G020R-S024R-N043R-R045T-N076D-S242R-H249R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S242R	++
N018R-G020R-N043R-N076D-A230E-S242R	++
N018R-S024R-N043D-H249R	++
N018R-S024R-N043R-R045T-A230E-H249R	++
N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-S242R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-A230E-S242R	++
R045T-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-S242R	+++
N018R-G020R-N043D-R045T-S240P	++
S024R-N043R-R045T-S242R-H249R	++
N018R-S024R-V30S-L31S-D32I-T33Q-G34V-I35F	++
N018R-G020R-N043R-N076D	+++
G020R-N043D-R045T-N076D-S242R-H249R	++
N018R-S024R-N043D-A230E-S242R	++
N018R-S024R-N043D-S242R-H249R	+++
S024R-N043D-R045T-S242R-H249R	++
N043R-A230E-H249R	+
N043R-A230E-H249R	+
G020R-S024R-N043D-N076D-H249R	++
S024R-R045T-S242R-A273V	+
G020R-S024R-R045T-N076D-S242R-H249R	+
N018R-S024R-N043D-N076D-S242R	+
N018R-N043R-N076D-A230E-H249R	+
N018R-G020R-N043R-R045T-H249R	+
N018R-N043R-R045T-A230E-S242R	+
G020R-S024R-N043D-R045T-A230E-S242R	+
N018R-N043D-A230E-H249R	+
N018R-N043R-N076D-S242R	+++
N018R-G020R-N076D	+
N018R-G020R-N043D-N076D-S242R-H249R	+
G020R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	+++
N043D-S242R-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N043R-N076D	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-H249R	+

[0619]

表 9-1: GG36 的 WCE2 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数相对于 GG36

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 36h 或 36i 中

N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-A230E-H249R	+
N018R-N076D-S242R	+
G020R-N043R-H249R	+
N018R-N076D-S242R-H249R	+
N018R-S024R-R045T-A230E-H249R	+
A230E-H249R	+++
N018R-R045T-H249R	+
G020R-N043R-N076D	+++
N043R-R045T-H249R	+++
N018R-N043D-N076D-S242R-H249R	+
N043R-N076D-H249R	+++
G020R-S024R-N043D-R045T	+++
S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	+++
N043R-N076D-A230E-H249R	+++

[0620] 实施例40

[0621] WCE3组的GG36变体的构建和清洁性能

[0622] 本实施例描述了基于GG36变体、GG36-7 (实施例5) 和GG36-9 (实施例4) 的WCE3组的突变。这些变体为:S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D, S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R, S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R, S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248R和S101G, S103A, V104I, A232V, Q236H, Q245R和N252K。它们是使用QuikChange[®] Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis试剂盒生成的, (QCLMS试剂盒; Stratagene) 如实施例34所述采用pRA96质粒作为DNA模板。生成的所述变体使用这个申请所述的方法和洗涤剂组合物, 在BMI微样品分析 (测试方法6) 中对于冷水清洁进行测试。

[0623]

表 10-1: WCE3 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数相对于 GG36

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 36h 或 36i 中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36h 或 36i 的洗涤剂, 16C
S101G-S103A-V104I-A232V-Q236H-Q245R-N252K	++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248R	++
S101G-S103A-V104I-G159R-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248R	+
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D	+

[0624] 实施例41

[0625] 附加的库和GG36变体的构建

[0626] 这个实施例描述了冷水清洁的GG36重组变体,其包含一个或多个下列突变: A016S, T022A, S024R, N062E, N076D, E089P, S101A/G, S103G/A, V104L/I, L111V, S128N, P129E, A232V, L148I, A158E, G159D/E, S166D, R186H, S188D, Y209E, Q236H, N238R, Q245R, N248D/R, H249R, N252K/R, T253R, E271F (BPN'编号)。所述重组变体是由DNA2.0, Inc. 构建的,使用枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒 (例如, pHPLT-GG36; 图2) 和枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 菌株 (基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$)。在DNA库的情况下,每个所述构建的库的连接反应使用了枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒 (例如, pHPLT-GG36; 图2) 由DNA 2.0, Inc. 提供以转化枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 菌株 (基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$)。生成的包含上述列出的一个或多个突变的所述变体,使用这个申请所述的方法和洗涤剂组合,在BMI微样品分析 (测试方法6) 中对于冷水清洁进行测试。

[0627]

表 11-1: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 b, d 或 e 中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-S188D-	+++

[0628]

表 11-1: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。 PI=性能指数 PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 b, d 或 e 中	
GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
A232V-Q245R-N248D	
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++

[0629]

表 11-1: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 b, d 或 e 中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-	++

[0630]

表 11-1: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 b, d 或 e 中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
N238R-Q245R-N248D	
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-	++

[0631]

表 11-1: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在洗涤剂 b, d 或 e 中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
Q245R-N248D	
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-G159E-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S024K-S101G-S103A-V104I-S128N-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-P129E-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A232V-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-L148I-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D	+
S101G-S103A-V104I-S128N-P129E-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+

[0632]

表 11-2: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36gi 的洗涤剂, 16C
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A232V-Q245R-N248D	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238R-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-L148I-A158E-A232V-Q245R-N248D	+
S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-N238R-Q245R-N248D	+
T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-A232V-	+

[0633]

表 11-2: NHJ6 库变体的 BMI 清洁性能。 PI=性能指数 PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+	
GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36gi 的洗涤剂, 16C
Q245R-N248D	
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-A232V-Q245R-N248D	+

[0634]

表 11-3: NHJ7 组合变体的 BMI 清洁性能。 PI=性能指数 PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36b, 36d, 或 36e 的洗涤剂中	
GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
V104L-S128N-A158E-R186H-H249R	+++
S128N-A158E-S188D-H249R	+++
N062E-S128N-A158E-G159E-E271F	+++
N062E-A158E-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-A158E-R186H-H249R-E271F	+++
S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F	+++
N062E-G159E-S188D-H249R	+++
A016S-N062E-A158E-R186H-H249R	+++
N062E-A158E-G159E-H249R	+++
S101A-S128N-A158E-Y209E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-A158E-S188D-H249R	+++
N062E-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-A158E-R186H-H249R	+++
N062E-S101A-R186H-H249R	+++
N062E-S101A-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-V104L-A158E-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-G159E-R186H-H249R	+++
N062E-G159E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-H249R	+++
S128N-A158E-S188D-E271F	+++
N062E-A158E-H249R	+++
N062E-R186H-S188D-H249R-E271F	+++

[0635]

表 11-3: NHJ7 组合变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36b, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
S128N-A158E-Y209E-	+++
N062E-S101A-A158E-H249R	+++
V104L-S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-S101A-A158E-R186H-H249R-E271F	+++
A016S-N062E-A158E-H249R	+++
N062E-S101A-G159E-H249R	+++
S128N-A158E-R186H-S188D-E271F	+++
S101A-S128N-A158E-R186H-E271F	+++
N062E-S101A-S188D-H249R	+++
S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	+++
N062E-G159E-H249R-E271F	+++
S128N-A158E-G159E-E271F	+++
A016S-N062E-V104L-A158E-R186H-E271F	+++
T022A-S128N-A158E-H249R	+++
S128N-A158E-H249R	+++
N062E-S101A-V104L-A158E-R186H-E271F	+++
A016S-N062E-A158E-R186H-E271F	+++
V104L-S128N-A158E-H249R	+++
V104L-S128N-A158E-S188D-H249R	+++
T022A-N062E-A158E	+++
N062E-S101A-S188D-H249R-E271F	+++
N062E-A158E-H249R-E271F	++
V104L-S128N-A158E-R186H-S188D-E271F	++
N062E-S101A-R186H-E271F	++
N062E-V104L-G159E-H249R	++
N062E-R186H-H249R	++
N062E-S101A-R186H-H249R-E271F	++
S101A-A158E-R186H-S188D-H249R	++
N062E-S101A-R186H	++
S101A-S128N-P129E-R186H-H249R	++
S101A-S103G-A158E-R186H-H249R	++
A016S-N062E-V104L-R186H-S188D-E271F	++
V104L-A158E-R186H-H249R	++
S101A-S128N-A158E-S188D-Y209E-E271F	++
N062E-S101A-R186H-S188D-E271F	++
A016S-N062E-A158E-H249R-E271F	++
N062E-S128N-A158E	++
N062E-S128N-G159E-H249R	++

[0636]

表 11-3: NHJ7 组合变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36b, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
N062E-S101A-A158E-S188D-H249R	++
S101A-S128N-A158E-H249R	++
N062E-A158E-R186H-S188D-H249R	++
A016S-V104L-A158E-R186H-E271F	++
N062E-L148I-G159E	++
N062E-S101A-A158E-R186H-H249R	++
N062E-S101A-R186H-S188D-H249R	++
V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	++
N062E-S101A-V104L-R186H-S188D-E271F	++
T022A-S101A-A158E-R186H-H249R	++
S101A-S128N-A158E-Y209E	++
A158E-R186H-S188D-H249R-E271F	++
V104L-A158E-R186H-S188D-H249R-E271F	++
S101A-V104L-A158E-R186H-H249R	++
V104L-A158E-H249R	++
S101A-V104L-S128N-A158E-R186H-E271F	++
A016S-V104L-S188D-H249R	++
S101A-V104L-A158E-R186H-S188D-E271F	++
V104L-S128N-G159E-E271F	++
V104L-A158E-R186H-H249R-E271F	++
A158E-R186H-H249R	++
S101A-A158E-R186H-H249R	++
V104L-A158E-S188D-H249R-E271F	++
A016S-S128N-A158E-R186H	++
V104L-S128N-R186H-S188D-H249R	++
A016S-S101A-S128N-R186H	++
A016S-N062E-S128N-R186H-E271F	++
A016S-S128N-R186H-E271F	+
S128N-P129E-R186H	+
A158E-R186H-H249R-E271F	+
A016S-A158E-H249R	+
A016S-A158E-R186H-H249R	+
A016S-T022A-A158E-R186H-E271F	+
E089P-S101A-P129E-R186H	+
T022A-S128N-A158E-R186H	+
S101A-V104L-S128N-A158E-R186H	+
T022A-S128N-R186H-S188D-	+
N062E-V104L-A158E-R186H-S188D-H249R	+

[0637]

表 11-3: NHJ7 组合变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36b, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36b, 36d 或 36e 的洗涤剂, 16C
T022A-A158E-R186H-H249R-E271F	+
T022A-V104L-A158E-H249R	+
S101A-L111V-P129E	+
A016S-A158E-H249R-E271F	+
A016S-L111V-S188D-	+
T022A-V104L-R186H-S188D-H249R	+

[0638] 实施例42

[0639] 附加的库和GG36变体的构建

[0640] 整个实施例描述了在枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 中GG36变体和库的构建, 其使用了下列突变中的一个或多个 (BPN' 编号): A001R, Q002S, Q002M, Q002A, Q002R, Q002W, S003R, V004R, V004S, V004C, I008A, S009A, S009F, S009W, R010S, R010A, R010H, R010M, Q012F, Q012R, P014K, P014F, P014Q, A015R, A015F, A016S, H017R, H017M, H017F, N018R, N018K, G020F, G020K, G020R, T022A, T022R, T022Y, T022V, T022Q, T022L, T022W, G023A, G023S, G023F, S024R, S024F, S024W, S024Q, S024H, S024L, G025V, G025F, G025R, V026F, K027L, K027F, K027R, K027V, V028A, V028N, V028E, A029T, V030E, L031F, T033S, T033G, T033D, G034P, I035M, S036T, S036F, S036R, T038L, T038F, T038R, P040N, P040L, P040T, P040W, P040H, P040R, L042I, N043A, N043F, N043I, N043S, N043R, N043M, N043W, N043D, R045T, G046R, A048R, F050C, V051W, V051F, V051H, P052F, P052E, P052N, P055Y, T057R, Q059A, Q059F, Q059R, D060P, D060Q, D060A, N062E, N062Q, G063V, G063M, G063T, G063I, G063A, G063S, G063H, G063Q, G063D, G063E, G063P, H064F, H064T, V068A, V068C, A069N, A069T, A069P, A069W, T071G, I072C, A074C, L075A, L075F, L075E, L075R, N076D, S078R, S078N, S078I, I079W, I079Q, V081R, L082F, L082T, L082V, L082R, L082M, A085M, P086W, P086L, P086I, E089P, E089T, E089G, E089H, E089L, E089V, E089W, E089F, E089I, Y091N, Y091F, A092F, K094N, S099F, S099T, S099P, S099G, S099M, G100S, G100N, G100Q, G100I, S101A, S101N, S101G, S101T, S101D, S101E, S101P, S101F, G102A, G102T, G102N, G102H, G102E, S103G, S103N, S103D, S103A, V104L, V104I, V104E, V104D, S105T, S105E, S105Q, S106G, S106T, S106E, S106D, S106A, S106V, S106F, I107M, I107F, A108I, A108G, Q109M, L111V, L111I, E112V, E112L, E112Q, A114G, G115K, G115R, N116K, N116A, N116L, N117F, G118R, G118I, M119C, H120A, H120F, H120R, V121F, V121E, N123G, N123E, L124S, S128D, S128F, S128L, S128N, S128H, S128M, S128I, S128Q, P129E, S132A, S132E, A138G, S144R, V147L, L148I, A158E, G159D, G159E, G159C, S160D, S166D, S166E, Y167W, M175V, V177C, D181A, Q182R, N183I, N183D, N183M, N183F, N183R, N185E, N185V, N185I, R186H, R186K, S188E, S188D, S188R, Y192H, Y192W, A194E, A194V, A194F, D197F, I198L, I198F, V203E, V203C,

T208S, Y209S, Y209N, Y209F, Y209T, Y209E, Y209H, Y209G, Y209L, P210R, P210V, P210L, G211Q, G211R, S212I, S212M, S212F, T213A, Y214F, A215N, A215D, A215E, A215H, A215F, S216F, S216A, L217E, L217N, L217D, N218D, N218P, N218E, T224A, T224G, V227I, A230E, A231I, A231C, A232V, L233C, V234F, K235F, Q236F, Q236N, Q236H, N238R, N238K, N238L, P239K, P239G, P239R, P239H, P239T, P239N, P239S, P239F, S240R, W241R, S242L, S242R, N243F, N243R, V244R, Q245R, I246S, N248D, N248V, N248I, N248R, H249R, H249T, L250I, K251R, K251S, N252I, N252F, N252R, N252K, N252H, T253I, T253R, T253F, A254C, S256N, G258R, T260V, T260I, L262D, L262H, Y263F, S265F, L267V, L267N, L267M, N269I, N269R, A270C, E271I, E271V, E271H, E271M, E271L, E271P, E271A, E271F, E271T, A272F, A272F, A272R, A273F, A273I 和 T274G。这些变体和库由 DNA2.0, Inc. 构建, 如实施例 41 所述。生成的包含一个或多个这些突变的所述变体, 使用这个申请的测试方法 6 中所述的方法和洗涤剂组合物, 在 BMI 微样品分析上对于冷水清洁进行测试。

[0641]

表 12-1: WCE6 和 WCE8 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI > 或 = 1.5 为 +++; PI 在 1.49 和 1.3 之间 = ++; PI 在 1.29 和 1.1 之间 = + 在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
A001R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
V004R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L	+++
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
V004R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271L	+++
G020R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-G025R-N116A-Y167W	+++
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S078R-S103N-S106G-Y167W-Q236N	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-S101A-H120F-A194F-H249R	+++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-S212F-A232V-Q245R	+++
G020R-S144R-N185I-L233C-Q236N	+++
G023A-S078R-S216F-Q236N-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-G115R-A232V-Q245R	+++
P052N-S078R-S103N-L148I-T213A	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++

[0642]

表 12-1: WCE6 和 WCE8 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G025R-E089I-N116A-P239S-A270C	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
L148I-T213A-N252R	+++
S024R-G025R-N183D-Y192W-P239S	+++
G046R-A194F-S212M	+++
V104L-L217E-T224A-H249R-N252R	+++
G023A-Y091F-V121F-Y192W-Q236N	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-V244R-Q245R	+++
S099F-S144R-Y167W-N252R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022W-S078R-Y167W-S212M-A270C	+++
V121F-N252R-A270C	+++
G020R-S103N-S216F-Q236N-N252R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
G023A-P052N-Y192W-I198L-N252R	+++
G025R-G046R-V121F	+++
S024R-S078R-V104L-N116A-N183D	+++
G046R-Q059A-S103N-G211Q-S212M	+++
G020R-P052N-N062Q-Y091F-Y192W	+++
G023A-P052N-S144R-Y192W-S216F	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+++
P052N-S103N-N116A-L148I-Y192W	+++
E089I-N116A-N117F-T224A-H249R	+++
S144R-G211Q-N238L-P239S-H249R	+++
N043A-N062Q-A194F-G211Q	+++
G020R-S024R-P052N-Q059A-S216F	+++
S024R-Y167W-T224A-H249R	+++
T057R-Y167W-H249R	+++
G025R-S103N-R186K-A194F-T224A	+++
S105T-S128N-S144R-L148I-S212M	+++
G020R-Q059A-S144R-Y192W-T224A	+++
S024R-N043A-N117F-A194F-G211Q	+++
N117F-A194F-T213A-A270C	+++
S078R-Y091F-V121F-L233C-N252R	+++
T057R-S099F-S105T-I198L-T213A	+++
G023A-Y091F-S101A-I198L-N252R	+++
N062Q-S103N-V121F-S144R-H249R	+++

[0643]

表 12-1: WCE6 和 WCE8 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+++
G023A-S024R-N117F-S212M-S216F	+++
V104L-T213A-S216F	+++
A194F-G211Q-Q236N	+++
N062Q-S103N-N117F-A194F	+++
S024R-N062Q-V104L-S106G-H249R	+++
T057R-E089I-I198L	+++
G046R-Q059A-S106G-L217E-H249R	+++
N117F-T213A-A215F	+++
S101A-H120F-Y192W-A215F-T224A	+++
N043A-T057R-N117F-S144R-N183D	+++
G046R-N183D-N238L	+++
G025R-N043A-E089I-N117F	+++
S078R-V104L-T213A-A215F-T224A	+++
Y091F-S099F-S101A-S105T-Y167W	+++
S106G-N117F-N238L	+++
G046R-E089I-Y091F-S101A-N116A	+++
G020R-N062Q-E089I-R186K-S212M	+++
T057R-S099F-V121F-N185I-Y192W	+++
G046R-E089I-Y192W-L233C-A270C	+++
E089I-N117F-N185I-A215F-L233C	++
P052N-V104L-N183D-S216F-H249R	++
S078R-S099F-N116A-R186K-T224A	++
G025R-S105T-S128N-S144R-A270C	++
S105T-G211Q-S216F	++
S024R-G046R-Y091F-V121F	++
S106G-N185I-S216F-Q236N	++
N062Q-S101A-Q236N-N252R-A270C	++
G025R-N043A-Y091F-I198L-A270C	++
G020R-G023A-V104L-Y192W-L233C	++
S024R-N043A-S105T-S106G-I198L	++
G020R-E089I-L217E	++
S024R-Y091F-I198L-A215F-P239S	++
G046R-E089I-S099F-R186K-S212M	++
V104L-H120F-R186K-S216F-N252R	++
T022W-A194F-T213A-L233C-N238L	+
S099F-S105T-S106G-A194F-S212M	+
E089I-S105T-N116A-A215F-S216F	+

[0644]

表 12-1: WCE6 和 WCE8 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G025R-N116A-H120F-T224A-A270C	+
N043A-Q059A-S101A-S216F-T224A	+
T057R-N183D-Q236N	+
G025R-N062Q-S128N-S144R-N185I	+
S103N-H120F-Y167W-I198L-L233C	+
T022W-E089I-S216F	+
S024R-S106G-N116A-S212M-T224A	+
G020R-P052N-S101A-I198L-L233C	+
E089I-Y091F-N185I-G211Q-A270C	+

[0645]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116S-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R	+++
N018R-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	+++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+++
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++

[0646]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
S024R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S103A-A232V-H249R	+++
N018R-S101G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-H249R	+++
N018R-T22K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	+++
N018R-N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	+++
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-Q245R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S101G-S103A-H249R	+++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A232V-Q245R	+++

[0647]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-S101G-V104I-A232V-H249R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A215F-A232V-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-H249R	+++
N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-S101G-V104I-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R	+++
N018R-Q245R	+++
S024R-S103A-Q245R	+++
S024R-S103A-V104I-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-V104I-H249R	+++
N018R-S024R-V104I-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	+++
R019H-G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S103A-V104I-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	+++
N018R-S024R-S101G-V104I-A232V	+++
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++

[0648]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间++; PI 在 1.29 和 1.1 之间+=在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-G020R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
N018R-S024R-S101G-V104I	+++
G020R-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-S103A-Q245R	+++
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-V104I-H249R	+++
G020R-T22W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
S024R-N076D-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R	+++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
A001T-N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++

[0649]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-N076D-S101G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-I198L-A215F-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	+++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+++
S024R-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	+++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215V-H249R	+++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	+++
G020R-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-A232V-Q245R	++

[0650]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-T22W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	++
G020R-T022W-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	++
G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-T180A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-S103A-V104I	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S103A-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-G211Q-H249R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-G211Q-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-A232V-H249R	++
N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N076D-Q245R	++
S024R-V104I-Q245R	++
S101G-A232V	++
G020R-T22W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++

[0651]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-I198L-A232V-Q245R	++
S024R-Q245R-H249R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-H249R	++
S024R-S101G-V104I-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-V104I	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-T22W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
Q012H-G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-I198L-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-T213A-H249R	++
S024R-V104I-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-H249R	++
N018R-N076D-S103A-V104I-H249R	++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R-E271G	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	++
G020R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-A215F-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-	++

[0652]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
T213A-A215F-A232V-Q245R	
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
S024R-S103A-M175L-A232V-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-T213A-H249R	++
G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-Q245R	++
G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
S024R-A232V	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-A232V-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198M-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S103A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R-V268G	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R	++
S101G-S103A-V104I-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	++
S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++

[0653]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	++
G020R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
S024R-S103A-A232V	++
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S076T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A273T	++
N018R-G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101G-A232V	++
A232V-Q245R	++
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-V234I-Q245R	++
S024R-N076D-S103A-V104I-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-A272V	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-S103A-V104I-A232V	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S078R-S101G-S103A-V104I-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	++

[0654]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-M117I-N183D-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A232V-Q245R	++
N018R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-Y209H-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-M175L-A232V-Q245R	++
N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R	++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-A215F-H249R	++
S024R-N076D-V104I-Q245R	++
K027R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-	++

[0655]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
Q245R	
N043R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-A215F-H249R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-V104I	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-N076D-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-A114T-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	++
N018R-T022K-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V	++
N018R-S024R-N076D-N116A-H249R	++
G020R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	++

[0656]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S101G-S103A-V104I-N183D-G211Q-A232V-Q245R-	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	++
N018R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-H249R	++
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-S078R-S101G-S103A-V104I-N116A-A131V-N183D-T213A-A232V-Q245R	++
N018R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S024R-S101G-Q245R	++
S024R-N076D-S101G-Q245R	++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	++
S024R-S101G	++
N018R-T22W-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R	++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-I198L-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-N043D-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-I198L-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	++

[0657]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-V104I	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-L088I-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	++
N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N018R-N076D-S101G-V104I-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-A215F-H249R	++
N018R-G020R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R	++
S024R-N076D-Q245R	++
N018R-G020R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T22W-S078R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R	++
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-H249R	++
G020R-T022W-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-N218S-A232V-Q245R	++
N018R-S103A	++
G020R-T22W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N076D-S101A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	++

[0658]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
S024R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	++
K027R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	++
G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-V104I	++
S101G-S103A-V104I-A232V-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R	++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R-R275S	++
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-H249R	++
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	++
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	++
V004M-N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-H249R	++
V104I-A232V-H249R	++
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	++
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-T274I	+
G020R-S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+

[0659]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S103A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R-A270V	+
N018R-N043D-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-H249R	+
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V	+
S101G-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-M175L-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-N269S	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-T213A-A215F-H249R-T260K	+
N018R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R	+
S024R-N076D-S103A-H249R	+
N018R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-H249R	+

[0660]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
G020R-S024R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A272D	+
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-S101A-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
S024R-N076D-S101G-S103A-A232V	+
S024R-S103A-V104I	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
S024R-N076D-S103A-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
S103A-V104I-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+

[0661]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
A016T-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-A215F-H249R	+
N043R-N076D-S101G-S103T-V104I-A232V-Q245R-H249R-N269R	+
G020R-S078R-S101A-S103A-V104I-G115E-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101G	+
N076D-S101G-A232V-Q245R	+
N018R-N076D-S101G-S103A-V104I-Q245R	+
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-A215F-H249R	+
N018R-V104I-A232V	+
N043D-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S024R-N076D-S101G-A232V-H249R	+
S103A-A232V-Q245R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
S024R-N076D-S103A-V104I-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+

[0662]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-A131T-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N043R-S101G-S103A-V104I-Q245R-H249R	+
N018R-N076D-A232V-H249R	+
N018K-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R-L267I	+
A232V-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-V104I-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	+
S024R-S101G-S103A-A232V	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-H249R	+
S103A-A232V-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+

[0663]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-G020R-R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R-T274I	+
S024R-S103A-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-H249R	+
S103A-A232V	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+
N018R-N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+

[0664]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-A232V	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R-N263S	+
S024R-N076D-S101G-V104I-A232V-H249R	+
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-V197A-T213A-A215F-H249R	+
S024R-S101G-S103A	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-A215F-H249R	+
N043R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+

[0665]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
S024R-V104I-A232V	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
G020R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-A150T-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-H249R	+
S024R-N076D-A232V-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116T-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-H249R	+
G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A232V-Q245R	+
N076D-S101G-S103A-Q245R	+
G020R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-H249R	+
N018R-T22W-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-	+

[0666]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
T213A-H249R	
N076D-S101G-V104I-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-S024R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-G211Q-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-Y209H-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-Q245R	+
N076D-S101G-V104I-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-T213A-H249R	+
G020R-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
S101G-S103A-V104I	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+

[0667]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-G020R-S024R-N076D-N204D-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A209V-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-G211Q-A215F-H249R-N269D	+
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101G-S103A-V104I-N183D-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-Y209H-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-	+

[0668]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N183D-G211Q-H249R	
N076D-A232V-Q245R	+
N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-T213A-H249R	+
G020R-S024R-N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-A215F-H249R	+
G020R-A090S-S101G-S103A-V104I-N116A-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N043D-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N043D-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N076D-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
R045T-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+

[0669]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-G020R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N076D-S103A-V104I-Q245R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101G-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N076D-V104I-A232V-Q245R	+
K027R-N043R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S103A-V104I-L135I-A232V	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-H249R	+
P005S-N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-H249R	+

[0670]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-N043D-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-I198L-A215F-A232V-Q245R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-G211Q-N243D-H249R	+
N018R-G020R-R045T-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
S024R-N076D-S101G	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-I198L-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N183D-A215F-H249R	+

[0671]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N018R-N043D-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-Q245R	+
G020R-S024R-N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-G020R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N183D-G211Q-T213A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-N116A-I198L-G211Q-A215F-H249R-N269S	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
G020R-T022W-S101A-S103A-V104I-N183D-T213A-A215F-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-A086V-S101A-N183D-I198L-G211Q-H249R	+
N018R-N076D-S101G-I198T-A232V	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-S024R-N076D-N183D-H249R-A248T	+
N018R-N076D-V104I-Q245R-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-S101A-N116A-N183D-I198L-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-T213A-A215F-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-H249R	+
N018R-G020R-S024R-N076D-S101A-N116A-T213A-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-G211Q-A215F-H249R	+
N018R-T022W-S024R-N076D-N116A-N183D-I198L-G211Q-T213A-H249R	+

[0672]

表 12-2: WCE10 至 WCE14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36k 或 36l 的洗涤剂, 16C
N043R-R045T-S078R-S101G-S103A-V104I-L217E-A232V-Q245R	+
N043R-R045T-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	+
N018R-N076D-S101G-V104I	+

[0673]

表 12-3: WCE15 和 WCE16 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36m 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; 实施例 36m 的洗涤剂, BMI, 16C
N018R-S024R-N043R-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-N043R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
T022R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N076D-S078R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-H249R-N269R	+++
N018R-T022R-S024R-N043D-N076D-H249R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-S078R-H249R	+++
G020R-S101G-S103G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R	+++

[0674]

表 12-3: WCE15 和 WCE16 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36m 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; 实施例 36m 的洗涤剂, BMI, 16C
G020R-S101G-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103S-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103S-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103G-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101S-S103G-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103A-V104V-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103S-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101A-S103S-V104V-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-S078R-H249R	++
S024R-N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-H249R	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	++
N018R-G020R-S024R-N076D-L217E-H249R	++
N018R-S024R-N043R-N076D-L217E-H249R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S242R-H249R	++
N018R-G020R-S024R-N043R-N076D-H249R	++
G020R-S101A-S103G-V104V-A232V-Q245R	++
N043D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+
N018R-S024R-N076D-L217E-H249R-N269R	+

[0675]

[0676]

表 12-4: WCE20 和 WCE21 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36m 或 36n 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36m 或 36n 的洗涤剂, 16C
G020R-S101A-S103A-V104I-G118R-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-N116A-T213A	+++
N043R-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
S024R-N043R-S101A-N116A	+++
S024R-N043R-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-A215F-A232V-Q245R	+++
N043R-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-T213A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-T213A	+++
S024R-N043R-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-S024R-T213A-A215F	+++
G020R-N116A-N269R	+++
S024R-N116A-T213A-N269R	+++
N043R-S101A-N116A-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-N116A-T213A-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-A215F-N269R	+++
G020R-N043R-S101A-N269R	+++
S101A-S103A-V104I-T213A-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-A215F-N269R	+++
N043R-S101A-N116A-T213A-A215F-N269R	+++
N043R-S101A-T213A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-S101A-N116A-T213A-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-N269R	+++
G020R-N043R-R045T-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-N269R	+++
G020R-S024R-N043R-R045T	+++
N043R-N116A-N269R	+++
S024R-N043R-S101A-A215F-N269R	+++
S024R-N043R-R045T-T213A-A215F-N269R	+++
G020R-S024R-R045T-N269R	+++
G020R-N043R-S101A-N116A-T213A-A215F	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-T213A-A215F-A232V-Q245R	+++
G020R-S024R-R045T-N116A-N269R	+++

[0677]

表 12-4: WCE20 和 WCE21 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36m 或 36n 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36m 或 36n 的洗涤剂, 16C
G020R-S101A-N116A-N269R	+++
S024R-N043R-A215F	+++
G020R-S024R-T213A	+++
S024R-N043R-S101A-A215F	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A	+++
G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-N269R	+++
G020R-S024R-S101A-A215F	+++
G020R-S024R-N116A-T213A-A215F	+++
G020R-S024R-N116A	+++
G020R-S024R-S101A-N116A	+++
N043R-T213A-A215F-N269R	+++
S024R-S101A-N269R	+++
S024R-N043R-N116A-A215F	+++
G020R-T038A-N043R-S101A	+++
G020R-S024R-N116A-A215F	+++
S024R-N043R-S101A-T213A	++
P014L-G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-A215F	++
G020R-S024R-A215F	++
G020R-N116A-A215F-N269R	++
G020R-R045T-N116A-N269R	++
G020R-S024R-N043R-R045T-A215F	++
G020R-S024R-N043R-R045T-N116A-T213A-A215F	++

[0678]

表 12-5: NHJ8 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36f 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36f 的洗涤剂 16C
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+++
S024R-N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F-E271F	+++

[0679]

表 12-5: NHJ8 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36f 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36f 的洗涤剂 16C
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A114V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

[0680]

表 12-6: NHJ8, NHJ9, NHJ14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36c 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36c 的洗涤剂 16C
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++

[0681]

表 12-6: NHJ8, NHJ9, NHJ14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36c 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36c 的洗涤剂 16C
T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N043R-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
S101G-S103A-V104I-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
N043R-N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S166D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
N076D-S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+

[0682]

表 12-7: NHJ9 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+对于实施例 36f 的洗涤剂

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定; 实施例 36f 的洗涤剂 16C
H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+++
T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	++
H017R-T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271F	+
T022A-S101G-G102A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+

[0683]

表 12-8: NHJ11 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36a 或 36c 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 或 36c 的洗涤剂 1 不漂白 16C
S101S-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103G-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101A-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103G-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101S-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++

[0684]

S101S-S103S-V104V-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103S-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103S-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101S-S103A-V104I-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104L-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101A-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101A-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101G-S103S-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S101S-S103A-V104L-G159E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

[0685]

表 12-9: NHJ12 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂 16C
V026F-V051W-V104L-S106E	+++
V026F-L031F-S078N-G102A-S160D	+++
G020K-G100S-N116L-A158E-S166D-N243F	+++
T033S-N043W-N218D-P239G-N243F	+++
T022L-T038F-A048R-N062E-G100S-R186K	+++
S101D-S103N-N116L-S144R-A215D	+++
V104L-S105T-T213A-L217E-S256N	+++
N043W-S101D-S212M-N243F	+++
V026F-A048R-S105T-T213A-N218D-T224A	+++
S024F-S101D-G118R-A215D-L250I-A272F	++
V121F-N185E-T224A-P239G	++
T022L-L031F-G102A-S128D-T224A-N243F	++
N062E-S078N-G102A-N116L-S144R-L250I	++
T022L-T038F-V121F-S160D-A272F	++
V026F-S078N-G159C-R186K-N243F	++
S024F-A048R-G118R-S166D-L217E	++
G023A-T038F-S078N-G100S-S212M-A215D	++

[0686]

表 12-9: NHJ12 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂 16C
G100S-N116L-A158E-T213A	++
S078N-V104L-G118R-S128D	++
G102A-S103N-S105T-A194E	++
T022L-S078N-S128D-T213A	+
K027R-G100S-G118R-S160D-S188D-N243F	+
S024F-G102A-R186K-T213A-L217E-N243F	+
T033S-S105T-S188D-S216F	+
G023A-G100S-A194E-S212M	+
A048R-S128D-N185E-P239G	+
G020K-S024F-T033S-P129E-A194E	+
G020K-K027R-P129E-S166D-P239G	+
T022L-G023A-K027R-S101D-V104L-S216F	+
T033S-G118R-P129E-A194E-P239G	+
T022L-S078N-N116L-P129E-S256N	+
K027R-S101D-S103N-S105T-A272F	+
A048R-S078N-N116L-N185E-L217E-P239G	+
G023A-S024F-K027R-N062E	+
S024F-S103N-V104L-G118R-S188D	+
V026F-V104L-S256N-A272F	+
S024F-N043W-V104L-V121F-P129E	+
N062E-S078N-N116L-T224A	+

[0687]

表 12-10: NHJ15 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂 16C
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-	+++

[0688]

表 12-10: NHJ15 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂 16C
L217D-A232V-N248D	
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D	++
T022A-N043R-S101D-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S024R-N043R-S101D-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N248D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N043R-N062E-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-S101D-S103A-V104I-G118R-S128I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	++
T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	++
T022A-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+
T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-	+

[0689]

表 12-10: NHJ15 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂 16C
A232V-Q245R-N248D	
T022A-S101D-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-S103A-V104I-G118R-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F	+
T022A-S024R-N043R-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-L217D-A232V-N248D	+

[0690]

表 12-11: NHJ16 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; 实施例 36a 的洗涤剂 16C
G020K-S024F-N062E-S188D-P239G	+++
S024F-N062E-N116L-P239G	+++
G020K-G023A-N062E-S188D	+++
G020K-G023A-S024F-N062E-G118R-S188D-T213A	+++
G020K-N043W-N062E-N116L-S188D-T213A-P239G	+++
G023A-N062E-N116L-G118R	+++
G023A-S024F-N062E-N116L-G118R	+++
S024F-N116L	+++
S024F-N062E-S188D-T213A	+++
G023A-N062E-N116L-G118R-S188D-P239G	+++
G020K-S024F-N062E	++
G020K-N043W-N062E-N116L-P239G	++
S024F-N062E-N116L-T213A-P239G	++
G020K-S024F-N043W-N062E-N116L-T213A	++
G020K-G023A-S024F-N062E-N116L-S188D-T213A	++
S024F-N062E-S188D-P239G	++
G023A-N043W-N062E-N116L-G118R-T213A	++
N062E-S188D-P239G	++
G020K-S024F-N062E-P239G	+
S024F-N116L-G118R-S188D-P239G	+
G020K-G023A-N062E-N116L-G118R-T213A	+

[0691]

表 12-11: NHJ16 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; 实施例 36a 的洗涤剂 16C
G020K-G023A-S024F-N062E-S188D-T213A-P239G	+
S024F-N043W-G118R-S188D	+
G023A-S024F-N116L-G118R-S188D-T213A	+
G020K-G023A-N043W-N116L-S188D-T213A-P239G	+
G023A-S024F-N116L-S188D-P239G	+
G023A-N043W-N116L-G118R-S188D	+
G023A-S024F-G118R-S188D-P239G	+
G023A-S024F-N043W-N062E-N116L-G118R	+

[0692]

表 12-12: NHJ15 和 NHJ16 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a、36d 或 36f 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 实施例 36a、36d 或 36f 的洗涤剂; 16C
G020K-G023A-N043W-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D	+++
S024F-G118R-S128I-P129E-G159D	+++
G020K-S024F-N062E-N116L-G118R-S188D	+++
G020K-N062E-N116L-S188D	+++
N062E-N116L-G118R-T213A	+++
G020K-G023A-N062E-N116L-S188D	+++
N062E-N116L-G118R-S188D	+++
G020K-N062E-N116L-T213A	+++
G020K-G023A-N062E-N116L	+++
G020K-N062E-S188D-T213A	+++
G020K-N062E	+++
G020K-S024F-N062E-N116L-S188D	+++
G020K-N043W-N062E-N116L-S188D	+++
G020K-S024F-N062E-S188D-T213A	+++
N062E-N116L-S188D-T213A	+++
G020K-N062E-N116L	+++
G020K-G023A-N062E-N116L-S188D-T213A	+++
G023A-S024F-N062E-N116L-T213A	+++
T022A-N043R-S103A-V104I-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D	+++

[0693]

表 12-12: NHJ15 和 NHJ16 库变体的 BMI 清洁性能。 PI=性能指数 PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a、36d 或 36f 的洗涤剂中	
GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 实施例 36a、36d 或 36f 的洗涤剂; 16C
T022A-N043R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F	+++
S024F-N062E-N116L-S188D	+++
T022A-S024R-S103A-V104I-G118R-S128I-P129E-G159D-S188D-A232V-N248D	+++
G023A-N062E-N116L-S188D	+++
N043W-N062E-N116L	+++
G020K-G023A-N116L-S188D	++
N043W-N062E-N116L-S188D	++
S024F-N062E-N116L	++
N062E-N116L-S188D	++
T022A-S024R-S103A-V104I-S128I-G159D-S188D-A232V-N248D	+

[0694] 实施例13

[0695] 附加的库和GG36变体的构建

[0696] 这个实施例描述了附加的GG36变体和库的冷水清洁,其构建在DNA2.0, Inc. 合成的枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 多数DNA库中,使用pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒,所述构建库的连接反应转化到枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 菌株中(基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$ 在使用如实施例33所述的滚环扩增以扩增DNA之后所述WCE9和NHJ10库和变体通过延伸或QuickChange诱变生成(见实施例33对于方法的描述)。WCE9和NHJ10库和变体也通过使用pHPLT-GG36枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 表达质粒来生成。所述变体表达在枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 细胞中(基因型: $\Delta aprE$, $\Delta nprE$, $amyE::xylRPxylAcomK-phleo$) 如实施例31所述,并且如测试方法6所述使用BMI微样品清洁测试做进一步鉴定。这些结果如表13-1至13-6所示。在下列表格中,所述洗涤剂组合物(“Det.”)相当于在以上实施例36中所示的那些。此外,如文,氨基酸位置按照BPN'编号列出。

[0697]

表 13-1: WCE5 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36k 或 36l 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36h 或 36i 的洗涤剂, 16C
S087R-S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-A232V-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R-E271V	+++
S101G-S103A-V104I-Q109R-S212P-A232V-Q245R	+++
N076D-S87R-S103A-V104I-S212P-E271V	+++
N076D-S103A-V104I-Q109R	+++
N076D-S103A-V104I-S212P-E271V	+++
N076D-S103A-V104I-Q109R-Q245R	+++
N076D-S103A-V104I-S212P-Q245L-E271V	+++

[0698]

表 13-2: WCE9 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂, 16C
S024R-P086W-G118R	+++
S024R-S078R-P086W-N243F	+++
S024R-T033S-P086S-S087N-Y209A	+++
T033S-G118R	+++
S024R-S078R-P086W-G118R-A270T	+++
S024R-T033S-P086W-G118R	+++
S078R-P086W-N243F	+++
T033S-S078R-P086W-G118R-Y209A	+++
T033S-S078R-Y209A	+++
P086W-G118R-N243F	+++
S024R-P086W	+++
S078R-P086W-K235F	+++
S024R-G118R	+++
S024R-P086R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V	+++
S024R-T033S-S078R-P086W-G118R	+++
S024R-G118R-Y209A	+++
Y209A-W241R	+++

[0699]

表 13-2: WCE9 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂, 16C
T033S-P086W-N243F	+++
T033S-A172V-Y209A	+++
G118R-Y209A-N243F	+++
S024R-P086S-S141G	+++
S024R-G118R-Y209A-N243F	+++
S024R-T033S-P086S-S085N-K235F	+++
S024R-T033S-A133V	+++
S024R-T033S-S078R-P086W	+++
S024R-P086W-Y209A	+++
S024R-W241R	+++
T033S-G118R-N243F	+++
S024R-K235F	+++
S024R-S078R-P086W	+++
S024R-G118R-Y209A-K235F	+++
S024R-Y209A-W241R	+++
T033S-G118R-W241R	+++
P086W-G118R-Y209A	+++
T033S-G118R-G159D-Y209A	+++
T033S-S078R-P086W	+++
S024R-P086W-N243F	+++
G118R-Y209A	+++
S024R-P086W-G118R-V203I	+++
S078R-Y209A-K235F	+++
S024R-T033S-W241R	+++
S078R-G118R	+++
T033S-G118R-Y209A-N243F	+++
L021M-S024R-T033S	+++
S024R-T033S-P086W	+++
T033S-K235F	+++
S078R-P086W-Y209A	+++
S024R-T033S-Y209A-K235F	+++
T033S-P086W-G118R	+++
S024R-T033S-S078R-Y209A	+++
T033S-P086W-G118R-Y209A-N243F	+++
P086W-Y209A-N243F	+++
P005S-S078R-G118R-W241R	+++
S024R-A174T	+++

[0700]

表 13-2: WCE9 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂, 16C
T033S-Y209A-N243F	+++
P086W-G118R-A133V	+++
S024R-T033S-G118R	+++
S024R-P086W-Y209A-K235F	++
P086W-Y209A	++
I008T-S024R	++
P086W-G118R	++
T033S-W241R	++
P005S-S024R-T033S-N243F	++
S024R-Y209A-S242P	++
S024R-T033S-S078R-G118R	++
S024R-T033S-A194T	++
S024R-N243F	++
S024R-Y209A	++
S024R-T033S-G118R-Y209A	++
T033S-P086W	++
S024R-T033S	++
S024R-T033S-S078R-N243F	++
P086W-N243F	++
T033S-G118D-A138V-Y209A	++
T033S-Y209A-K235F	++
S024R-P086R-G118R	++
T033S-P201S	++
S024R-P239Q	++
T033S-G118R-Y209A-	++
S078R-P086W	++
K235F-N243F	++
S024R-Y209A-K235F	++
G118R-A172V	++
H017Y-S024R-T033S-P086W	++
T033S-L148F	++
S024R-G118R-K235F	++
T033S-S078R	++
T033S-N243F	++
S024C-T033S	++
G118R-A194T	++
T033S-Y209A	++

[0701]

表 13-2: WCE9 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂中

相对于 GG36 的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36j, 36d, 或 36e 的洗涤剂, 16C
G118R-Y209A-K235F	++
S024R-T033S-Y209A-N243F	++
S024R-T033S-K235F	++
S024R-T033S-G118R-K235F	++
S024R-S141G	++
S024R-T274I	++
S024R-T033S-Y209A	++
P086W-K235F	+
S024R-Y209A-N243F	+
V004E-T033S-S078R	+
P086W-Y209A-K235F	+
A015T-T033S	+
T033S-P086W-S156L-Y209A	+
S024R-G118R-N243F-R269H	+
Y209A-K235F	+
S024R-R247H	+
S024R-T033S-A228T	+
S078R-K235F	+
S024R-T033S-A174V-K235F	+
S024R-K235F-N243F	+
S024R-T033S-K235F-W241R	+
S024R-T033S-A151V	+
S024R-V104A	+
T033S-A048T	+
Q012H-V104A-G118R	+
G118R-K235F	+
T033S-T253A	+
T143A-Y209A	+
S024R-T033S-N243F	+
T033S-P239T	+

[0702]

表 13-3: WCE15 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36m 的洗涤剂中

[0703]

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36m 的洗涤剂, 16C
G020R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
G020R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
N018R-G020R-S024R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-G020R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-S024R-N043R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-S087D-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S078R-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-H249R-N269R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-S242R-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-S087D-V150L-H249R	+++
N018R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N018R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-S087D-H249R	+++
N018R-T022R-S024R-N076D-V150L-H249R	+++
N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
N043R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S024R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S078R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
S078R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+++
S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-N269R	+++
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R	+++
T022R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	+++
N018R-S024R-N043D-N076D-V150L-H249R	++
N043R-S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R	++
T022R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	++
N018R-S024R-N043D-N076D-S087D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-S087D-H249R	+
N018R-S024R-N076D-V150L-S242R-H249R	+
N043R-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R-N269R	+
N076D-S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+
S087D-S101G-S103A-V104I-A232V-S242R-Q245R	+
S101G-S103A-V104I-V150L-A232V-Q245R	+

表 13-4: NHJ14 库变体的 BMI 清洁性能。
PI=性能指数
PI>或=1.5 为+++; PI 在 1.49 和 1.3 之间=++; PI 在 1.29 和 1.1 之间=+在实施例 36c 的洗涤剂中

[0704]

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36c 的洗涤剂 16C
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-K027R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++

[0705]

表 13-5: NHJ10 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂, 16C
S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222Q-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222Q-Q245R	+++
S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R	++

[0706]

表 13-5: NHJ10 变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI>或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36a 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36a 的洗涤剂, 16C
N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-M222S-Q245R	++
N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

[0707]

表 13-6: NHJ14 库变体的 BMI 清洁性能。

PI=性能指数

PI >或=1.3 为+++; PI 在 1.29 和 1.2 之间=++; PI 在 1.19 和 1.1 之间=+在实施例 36f 的洗涤剂中

GG36 变体的序列 (BPN'编号)	PI 相对于 GG36; BMI 测定, 实施例 36f 的洗涤剂 16C
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+++
S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S130A-A158E-N183D-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S101G-S103A-V104I-S128L-S130A-A158E-S188D-L217E-A232V-Q245R-N248D-H249R	++
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-S130A-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+
S024R-S101G-S103A-V104I-S128L-P129Q-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R-E271G	+
S101G-S103A-V104I-P129Q-A158E-N183D-S188D-A232V-Q245R-N248D-H249R	+

[0708] 本文所公开的量纲和值不应当被理解为严格限于所引用的精确值。相反,除非另外指明,每个这样的量纲均旨在既表示所引用的值,也表示围绕此值的功能上等同的范围。例如,公开为“40mm”的量纲旨在表示“约40mm”。

<110> 宝洁公司

<120> 消费品

<130> 11710M&

<160> 77

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 269

<212> PRT

<213> 迟缓芽孢杆菌 (*Bacillus lentus*)

<400> 1

```

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1           5           10           15
His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
          20           25           30
Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
          35           40           45
Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
          50           55           60
His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65           70           75           80
Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
          85           90           95
Ser Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
          100          105          110
Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
          115          120          125
Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
          130          135          140
Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Gly Ser Ile Ser
145          150          155          160
Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
          165          170          175
Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
          180          185          190
Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
          195          200          205
Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210          215          220

```

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
 225 230 235 240
 Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
 245 250 255
 Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
 260 265
 <210> 2
 <211> 275
 <212> PRT
 <213> 解淀粉芽孢杆菌 (Bacillus Amyloliquefaciens)
 <400> 2
 Ala Gln Ser Val Pro Tyr Gly Val Ser Gln Ile Lys Ala Pro Ala Leu
 1 5 10 15
 His Ser Gln Gly Tyr Thr Gly Ser Asn Val Lys Val Ala Val Ile Asp
 20 25 30
 Ser Gly Ile Asp Ser Ser His Pro Asp Leu Lys Val Ala Gly Gly Ala
 35 40 45
 Ser Met Val Pro Ser Glu Thr Asn Pro Phe Gln Asp Asn Asn Ser His
 50 55 60
 Gly Thr His Val Ala Gly Thr Val Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly
 65 70 75 80
 Val Leu Gly Val Ala Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu
 85 90 95
 Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu
 100 105 110
 Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met Asp Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Gly
 115 120 125
 Pro Ser Gly Ser Ala Ala Leu Lys Ala Ala Val Asp Lys Ala Val Ala
 130 135 140
 Ser Gly Val Val Val Val Ala Ala Ala Gly Asn Glu Gly Thr Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Ser Ser Thr Val Gly Tyr Pro Gly Lys Tyr Pro Ser Val Ile Ala
 165 170 175
 Val Gly Ala Val Asp Ser Ser Asn Gln Arg Ala Ser Phe Ser Ser Val
 180 185 190
 Gly Pro Glu Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr
 195 200 205
 Leu Pro Gly Asn Lys Tyr Gly Ala Tyr Asn Gly Thr Ser Met Ala Ser
 210 215 220

Pro His Val Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lys His Pro Asn
 225 230 235 240
 Trp Thr Asn Thr Gln Val Arg Ser Ser Leu Glu Asn Thr Thr Thr Lys
 245 250 255
 Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Gly Lys Gly Leu Ile Asn Val Gln Ala
 260 265 270
 Ala Ala Gln
 275
 <210> 3
 <211> 380
 <212> PRT
 <213> 迟缓芽孢杆菌 (*Bacillus lentus*)
 <400> 3
 Val Arg Ser Lys Lys Leu Trp Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
 1 5 10 15
 Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala Ala Glu Glu Ala Lys
 20 25 30
 Glu Lys Tyr Leu Ile Gly Phe Asn Glu Gln Glu Ala Val Ser Glu Phe
 35 40 45
 Val Glu Gln Val Glu Ala Asn Asp Glu Val Ala Ile Leu Ser Glu Glu
 50 55 60
 Glu Glu Val Glu Ile Glu Leu Leu His Glu Phe Glu Thr Ile Pro Val
 65 70 75 80
 Leu Ser Val Glu Leu Ser Pro Glu Asp Val Asp Ala Leu Glu Leu Asp
 85 90 95
 Pro Ala Ile Ser Tyr Ile Glu Glu Asp Ala Glu Val Thr Thr Met Ala
 100 105 110
 Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala His
 115 120 125
 Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp Thr
 130 135 140
 Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser Phe
 145 150 155 160
 Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr His
 165 170 175
 Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu Gly
 180 185 190
 Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala Ser
 195 200 205

Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala Gly	
210	215 220
Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser Pro	
225	230 235 240
Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly Val	
245	250 255
Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Gly Ser Ile Ser Tyr	
260	265 270
Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln Asn	
275	280 285
Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile Val	
290	295 300
Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr Ala	
305	310 315 320
Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala Ala	
325	330 335
Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile Arg	
340	345 350
Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu Tyr	
355	360 365
Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg	
370	375 380

<210> 4

<211> 1143

<212> DNA

<213> 迟缓芽孢杆菌 (Bacillus lentus)

<400> 4

gtgagaagca aaaaattgtg gatcgtcgcg tcgaccgcac tactcatttc tgttgctttc	60
agttcatcga tcgcatcggc tgctgaagaa gcaaaagaaa aatatttaaat tggctttaat	120
gagcaggaag ctgtcagtga gtttgtagaa caagtagagg caaatgacga ggtcgccatt	180
ctctctgagg aagaggaagt cgaaattgaa ttgcttcattg aatttgaaac gattcctggt	240
ttatccgttg agttaagccc agaagatgtg gacgcgcttg agctcgatcc agcgatttct	300
tatattgaag aggatgcaga agtaacgaca atggcgcaat cagtgccatg gggaattagc	360
cgtgtgcaag cccagctgc ccataaccgt ggattgacag gttctggtgt aaaagttgct	420
gtcctcgata caggatattc cactcatcca gacttaaata ttcgtggtgg cgctagcttt	480
gtaccagggg aaccatccac tcaagatggg aatgggcatg gcacgcattg ggccgggacg	540
attgctgctt taaacaattc gattggcggt cttggcgtag cgccgagcgc ggaactatac	600
gctgttaaag tattaggggc gagcggttca ggttcggtca gctcgattgc ccaaggattg	660
gaatgggcag ggaacaatgg catgcacgtt gctaatttga gtttaggaag cccttcgccca	720

agtgccacac ttgagcaagc tgtaaatagc gcgacttcta gaggcgttct tgttgtagcg	780
gcatctggaa attcagggtgc aggctcaatc agctatccgg cccgttatgc gaacgcaatg	840
gcagtcggag ctactgacca aaacaacaac cgcgccagct tttcacagta tggcgcaggg	900
cttgacattg tgcaccagg tgtaaactg cagagcacat acccaggttc aacgtatgcc	960
agcttaaacg gtacatcgat ggctactcct catgttgtagc gtgcagcagc ccttgtaaa	1020
caaaagaacc catcttggtc caatgtacaa atccgcaatc atctaaagaa tacggcaacg	1080
agcttaggaa gcacgaactt gtatggaagc ggacttgtca atgcagaagc tgcaactcgt	1140
taa	1143
<210> 5	
<211> 54	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 5	
aaagtattag gggcgagcgg tgcaggtgga cttagctcga ttgcccaagg attg	54
<210> 6	
<211> 46	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 6	
catctggaaa ttcaggtgca gaatcaatca gctatccggc ccgtta	46
<210> 7	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 7	
ctgcccataa ccgtggattg gcaggttctg gtgtaaaagt tgctg	45
<210> 8	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 8	

ctgcccataa ccgtggattg gcaggttctg gtgtaaaagt tgctg	45
<210> 9	
<211> 44	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 9	
gaagcggact tgtcaatgca ttcgctgcaa ctcgttaaag cttg	44
<210> 10	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 10	
aaagtattag gggcgagcgg tgcaggttcg gtcagctcga ttgcccaa	48
<210> 11	
<211> 47	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 11	
tattaggggc gagcggttca ggtggagtca gctcgattgc ccaagga	47
<210> 12	
<211> 46	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 12	
gtcagctcga ttgcccaagg agtagaatgg gcaggggaaca atggca	46
<210> 13	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	

<400> 13	
cgttgctaataa ttgagtttag gaaacccttc gccaaagtgc acacttga	48
<210> 14	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 14	
gaaccatcca ctcaagatgg ggaagggcat ggcacgcatg tg	42
<210> 15	
<211> 47	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 15	
acaaaaacaa caaccgcgcc gacttttcac agtatggcgc agggctt	47
<210> 16	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 16	
catatgagtt atgcagtttg tag	23
<210> 17	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 17	
tgtttttctt ggaattgtgc tgt	23
<210> 18	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 引物	
<400> 18	
cagttttag atgcaaaaa gtg	23
<210> 19	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 19	
gacaaggtaa aggataaaac agc	23
<210> 20	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 20	
cataaccgtg gattggcagg ttctggtgta aaagttgctg	40
<210> 21	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 21	
acttttacac cagaacctgc caatccacgg ttatgggcag	40
<210> 22	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 22	
cactcaagat ggggaagggc atggcacgca tgtgg	35
<210> 23	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223>	引物
<400>	23
atgcgtgccca tgccttccc catcttgagt ggatggttc	39
<210>	24
<211>	39
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	24
gcgagcgggtt caggtggagt cagctcgatt gcccaagga	39
<210>	25
<211>	40
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	25
tgggcaatcg agctgactcc acctgaaccg ctcgcccta	40
<210>	26
<211>	52
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	26
gtggagtcag ctcgattgcc caaggagtag aatgggcagg gaacaatggc at	52
<210>	27
<211>	52
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	27
cattctactc cttgggcaat cgagctgact ccacctgaac cgctcgeccc ta	52
<210>	28
<211>	42
<212>	DNA

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 28	
gcgagcggtg gaggtgcat cagctcgatt gcccaaggat tg	42
<210> 29	
<211> 50	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 29	
cttgggcaat cgagctgatc gcacctccac cgtcgcgcc taatacttta	50
<210> 30	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 30	
gcgagcggtg caggtggact tagctcgatt gcccaaggat tg	42
<210> 31	
<211> 50	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 31	
cttgggcaat cgagctaagt ccacctgcac cgtcgcgcc taatacttta	50
<210> 32	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 32	
tattaggggc gagcgggtgca ggttcgggtca gctcgattgc	40
<210> 33	
<211> 42	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 33	
atcgagctga ccgaacctgc accgctcgcc cctaatactt ta	42
<210> 34	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 34	
ctaatttgag ttaggaaac ccttcgccaa gtgccacact t	41
<210> 35	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 35	
gcacttggcg aagggtttcc taaactcaaa ttagcaacgt g	41
<210> 36	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 36	
gaaattcagg tgcagactca atcagctatc cggeccgtt	39
<210> 37	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 37	
ggatagctga ttgagtctgc acctgaattt ccagatgc	38
<210> 38	

<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	38	
	gaaattcagg tgcagaatca atcagctatc cggcccgtt	39
<210>	39	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	39	
	ggatagctga ttgattctgc acctgaattt ccagatgc	38
<210>	40	
<211>	41	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	40	
	aacgtgcaga gcacagaacc aggttcaacg tatgccagct t	41
<210>	41	
<211>	40	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	41	
	catacgttga acctggttct gtgctctgca cgtttacacc	40
<210>	42	
<211>	41	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	42	
	tcgattgccc aaggagtaga atgggcaggg aacaatggca t	41

<210>	43	
<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	43	
	cattgttccc tgccattct actccttggg caatcgagct gac	43
<210>	44	
<211>	810	
<212>	DNA	
<213>	迟缓芽孢杆菌 (<i>Bacillus lentus</i>)	
<400>	44	
	gcgcaatcag tgccatgggg aattagccgt gtgcaagccc cggtgcecca taaccgtgga	60
	ttgacaggtt ctggtgtaaa agttgctgtc ctcgatacag gtatttccac tcatccagac	120
	ttaaataattc gtggtggcgc tagctttgta ccaggggaaac catccactca agatgggaat	180
	gggcatggca cgcattgtgc cgggacgatt gctgctctaa acaattcgat tggcgtactt	240
	ggcgtagcgc cgagcgcgga actatacgct gttaaagtat taggggcgag cgggtgggggc	300
	gccatcagct cgattgceca aggattggaa tgggcaggga acaatggcat gcacgttget	360
	aatttgagtt taggaagccc ttcgccaagt gccacacttg agcaagctgt taatagcgcg	420
	acttctaggg gcgttcttgt tgtagcggca tctggaaatt cgggtgcaga ctcaatcagc	480
	tatccggccc gttatgcgaa cgcaatggca gtcggagcta ctgaccaaaa caacaaccgc	540
	gccagctttt cacagtatgg cgcagggtt gacatcgtcg caccaggtgt aaacgtgcag	600
	agcacatacc caggttcaac gtatgccagc ttaaacggta catcgatggc tactcctcat	660
	gttgacaggtg cagcagtcct tgtaaacaat aagaacccat cttggtccaa tgtacgaatc	720
	cgcgatcatc taaagaaaac ggcaacgagc ttaggaagca cgaacttgta tggaagcgga	780
	cttgtcaatg ccgaagctgc aactcgtaa	810
<210>	45	
<211>	269	
<212>	PRT	
<213>	迟缓芽孢杆菌 (<i>Bacillus lentus</i>)	
<400>	45	
	Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala	
	1 5 10 15	
	His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp	
	20 25 30	
	Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser	
	35 40 45	
	Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr	

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

<210> 46

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 46

gtattagggg cgagcggtgg cggcgccatc agctcgattg c

41

<210> 47

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>	
<223>	引物
<400>	47
gcaatcgagc tgatggcgcc gccaccgctc gcccctaata c	41
<210>	48
<211>	40
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	48
ggggcgagcg gtggggcgcg catcagctcg attgcccag	40
<210>	49
<211>	40
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	49
cttgggcaat cgagctgatg ccgccccac cgctcgcccc	40
<210>	50
<211>	44
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	50
gggcgagcgg tggggcgccc gttagctcga ttgcccagg attg	44
<210>	51
<211>	44
<212>	DNA
<213>	人工序列
<220>	
<223>	引物
<400>	51
caatccttgg gcaatcgagc taacggcgcc cccaccgctc gccc	44
<210>	52
<211>	45
<212>	DNA

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 52	
gcattctggaa attcgggtgc aggetcaatc agctatccgg cccgt	45
<210> 53	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 53	
acgggccgga tagctgattg agcctgcacc cgaatttcca gatgc	45
<210> 54	
<211> 43	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 54	
ctcatgttgc aggtgcagca gcacttgta aacataagaa ccc	43
<210> 55	
<211> 43	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 55	
gggttcttat gtttaacaag tgctgctgca cctgcaacat gag	43
<210> 56	
<211> 44	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 56	
gtgcagcagt ccttgtaaa caaaagaacc catcttggtc caat	44
<210> 57	
<211> 44	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	57	
attggaccaa gatgggttct ttgtttaac aaggactgct gcac		44
<210>	58	
<211>	44	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	58	
ccatcttggc ccaatgtaca aatccgcgat catctaaaga aaac		44
<210>	59	
<211>	44	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	59	
gttttcttta gatgatcgcg gatttgtaca ttggaccaag atgg		44
<210>	60	
<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	60	
ggtccaatgt acgaatccgc aatcatctaa agaaaacggc aac		43
<210>	61	
<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	61	
gttgccgttt tctttagatg attgcggatt cgtacattgg acc		43
<210>	62	

<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	62	
	gaatccgcga tcatctaaag aatacggcaa cgagcttagg aag	43
<210>	63	
<211>	43	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	引物	
<400>	63	
	cttcctaagc tcgttgccgt attctttaga tgatcgcgga ttc	43
<210>	64	
<211>	807	
<212>	DNA	
<213>	迟缓芽孢杆菌 (<i>Bacillus lentus</i>)	
<400>	64	
	gcgcaatcag tgccatgggg aattagccgt gtgcaagccc cggtgcecca taaccgtgga	60
	ttgacagggt ctggtgtaaa agttgctgtc ctcgatacag gtatttccac tcatccagac	120
	ttaaataattc gtggtggcgc tagctttgta ccaggggaaac catccactca agatgggaat	180
	gggcatggca cgcattgtgc cgggacgatt gctgctctaa acaattcgat tggcgtactt	240
	ggcgtagcgc cgagcgcgga actatacgct gttaaagtat taggggcgag cgggtgggggc	300
	gccatcagct cgattgcccc aggattggaa tgggcaggga acaatggcat gcacgttgct	360
	aatttgagtt taggaagccc ttcgccaagt gccacacttg agcaagctgt taatagcgcg	420
	acttctaggg gcgttcttgt tgtagcggca tctggaaatt cgggtgcaga ctcaatcagc	480
	tatccggccc gttatgcgaa cgcaatggca gtcggageta ctgacaaaa caacaaccgc	540
	gccagctttt cacagtatgg cgcagggtt gacatcgteg caccaggtgt aaacgtgcag	600
	agcacatacc caggttcaac gtatgccage ttaaaccgta catcgatggc tactcctcat	660
	gttgacagtg cagcagtcct tgttaaacia aagaacccat cttggtccaa tgtacgaatc	720
	cgcgatcatc taaagaatac ggcaacgagc ttaggaagca cgaacttgta tggaagcgga	780
	cttgtcaatg ccgaagctgc aactcgt	807
<210>	65	
<211>	269	
<212>	PRT	
<213>	迟缓芽孢杆菌 (<i>Bacillus lentus</i>)	
<400>	65	

Ala	Gln	Ser	Val	Pro	Trp	Gly	Ile	Ser	Arg	Val	Gln	Ala	Pro	Ala	Ala
1				5				10					15		
His	Asn	Arg	Gly	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Val	Lys	Val	Ala	Val	Leu	Asp
			20					25					30		
Thr	Gly	Ile	Ser	Thr	His	Pro	Asp	Leu	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Ala	Ser
			35					40					45		
Phe	Val	Pro	Gly	Glu	Pro	Ser	Thr	Gln	Asp	Gly	Asn	Gly	His	Gly	Thr
			50					55				60			
His	Val	Ala	Gly	Thr	Ile	Ala	Ala	Leu	Asn	Asn	Ser	Ile	Gly	Val	Leu
65					70					75					80
Gly	Val	Ala	Pro	Ser	Ala	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Lys	Val	Leu	Gly	Ala
					85					90				95	
Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ile	Ser	Ser	Ile	Ala	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ala
				100				105					110		
Gly	Asn	Asn	Gly	Met	His	Val	Ala	Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Ser	Pro	Ser
			115					120					125		
Pro	Ser	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Ala	Val	Asn	Ser	Ala	Thr	Ser	Arg	Gly
			130					135					140		
Val	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Gly	Ala	Asp	Ser	Ile	Ser
145					150					155					160
Tyr	Pro	Ala	Arg	Tyr	Ala	Asn	Ala	Met	Ala	Val	Gly	Ala	Thr	Asp	Gln
					165					170				175	
Asn	Asn	Asn	Arg	Ala	Ser	Phe	Ser	Gln	Tyr	Gly	Ala	Gly	Leu	Asp	Ile
			180					185					190		
Val	Ala	Pro	Gly	Val	Asn	Val	Gln	Ser	Thr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Thr	Tyr
			195					200					205		
Ala	Ser	Leu	Asn	Gly	Thr	Ser	Met	Ala	Thr	Pro	His	Val	Ala	Gly	Ala
			210					215					220		
Ala	Val	Leu	Val	Lys	Gln	Lys	Asn	Pro	Ser	Trp	Ser	Asn	Val	Arg	Ile
225					230					235					240
Arg	Asp	His	Leu	Lys	Asn	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Thr	Asn	Leu
					245					250				255	
Tyr	Gly	Ser	Gly	Leu	Val	Asn	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Arg			
			260					265							

<210> 66

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物	
<400> 66	
gtacgaatcc gcgatagact aaagaatacg gcaacgag	38
<210> 67	
<211> 44	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 67	
gcggacttgt caatgccttt gctgcaactc gttaaagctt acat	44
<210> 68	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 68	
ggaaattcgg gtgcagaatc aatcagctat ccggcccgtt a	41
<210> 69	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 69	
ctggaaattc gggtgaagac tcaatcagct atccggcc	38
<210> 70	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 70	
cggcatctgg aaattcgggt gaaggetcaa tcagctatcc ggcccgttat g	51
<210> 71	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 引物	
<400> 71	
cataaccgtg gattggcagg ttctggtgta aaagttgctg tc	42
<210> 72	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 72	
tccactcaag atggggaagg gcatggcacg catgtggc	38
<210> 73	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 73	
cttggttaaac aaaagagacc atcttgggtcc aatgtacgaa tc	42
<210> 74	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 74	
aatgtacgaa tccgcagaca tctaaagaat acggcaacga gc	42
<210> 75	
<211> 43	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 75	
cgatcatcta aagaatagag caacgagctt aggaagcacg aac	43
<210> 76	
<211> 42	
<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 76

gtggattgac aggtagaggt gtaaaagttg ctgtcctcga ta

42

<210> 77

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 77

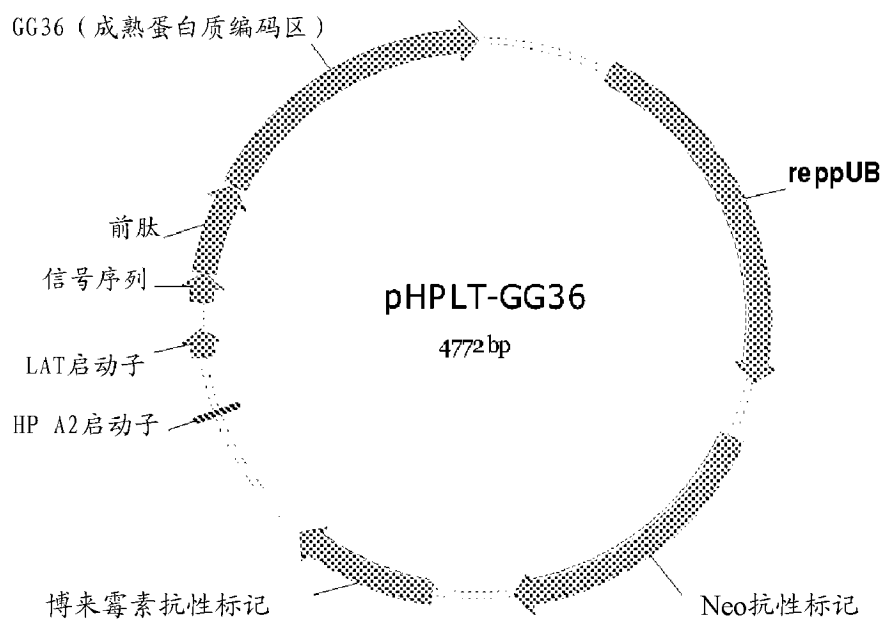
acgattgctg ctctagataa ttcgattggc gtacttggcg tag

43

BPN'	1	AQSVPYGVSQ	IKAPALHSQG	YIGSNVKVAV	IDSGIDSSHP	DLKVAGGASM	VPSETNPFQD
GG36	1	AQSVPWGISR	VQAPAAHNRG	LIGSGVKVAV	LDTGIS-THP	DLNIRGGASF	VPGEFST-QD
BPN'	61	NNSHGTHVAG	TVAALNNSIG	VLGVAPSASL	YAVKVLGADG	SGQYSWIING	IEWAIANMMD
GG36	59	GNGHGTHVAG	TIAALNNSIG	VLGVAPSAEL	YAVKVLGASG	SGSVSSIAQG	LEWAGNNGMH
BPN'	121	VINMSLGGPS	GSAALKAAVD	KAVASGVVVV	AAAGNEGTSG	SSSTVGYPGK	YPSVIAVGAV
GG36	119	VANLSLGSPS	PSATLEQAVN	SATSRGVLV	AASGNSGAGS	----ISYPAR	YANAMAVGAT
BPN'	181	DSSNQRASFS	QYGPELDVMA	PGVSIQSTLP	GNKYGAYNGT	SMASPHVAGA	AALILSKHPN
GG36	175	DQNNNRASFS	QYGAGLDIVA	PGVNVQSTYP	GSIYASLNGT	SMATPHVAGA	AALVKQKNPS
BPN'	241	WTNIQVRSSL	ENTTTKLGDS	FYYGKGLINV	QAAAQ		
GG36	235	WSNVQIRNHL	KNTATSLGST	NLYGSGLVNA	EAATR		

成熟参考蛋白酶解淀粉芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶BPN' (SEQ ID NO: 2) 和迟缓芽孢杆菌枯草杆菌蛋白酶GG36蛋白酶 (SEQ ID NO: 1) 的比对。

图 1



pHPLT-GG36表达质粒

图 2

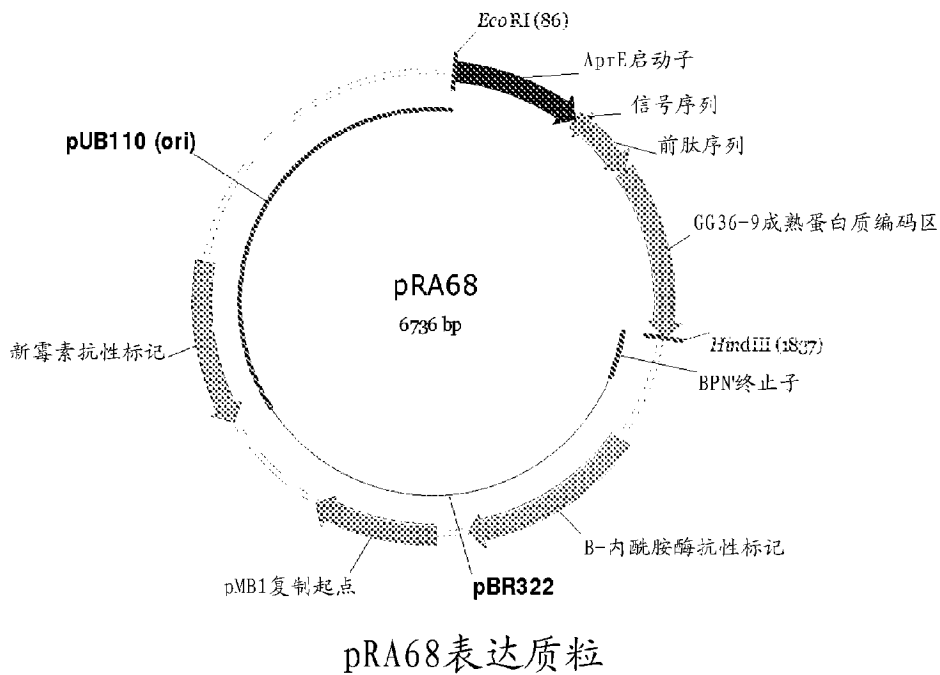


图 3

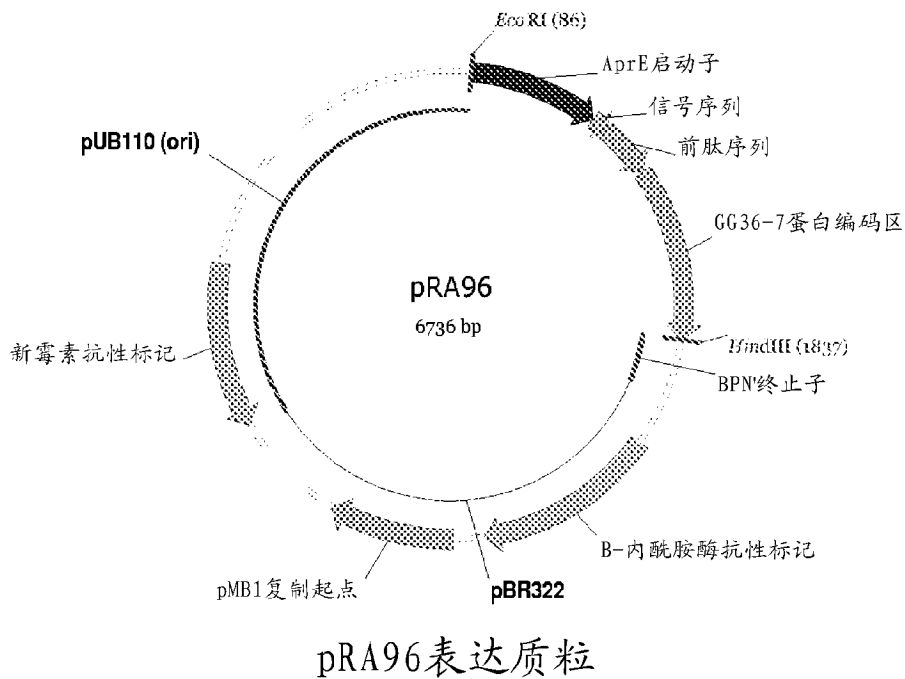


图 4