



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107580606 B

(45) 授权公告日 2021.06.08

(21) 申请号 201680019036.1

(22) 申请日 2016.03.28

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107580606 A

(43) 申请公布日 2018.01.12

(30) 优先权数据
62/142654 2015.04.03 US
62/142658 2015.04.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.09.27

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/024582 2016.03.28

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/160738 EN 2016.10.06

(73) 专利权人 营养与生物科学美国4公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 J.L.鲍林 R.纳姆比亚尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001
代理人 翟建伟 黄希贵

(51) Int.Cl.
C08B 37/02 (2006.01)
C08L 5/02 (2006.01)
C12P 19/18 (2006.01)
C12P 19/08 (2006.01)

审查员 于爱霞

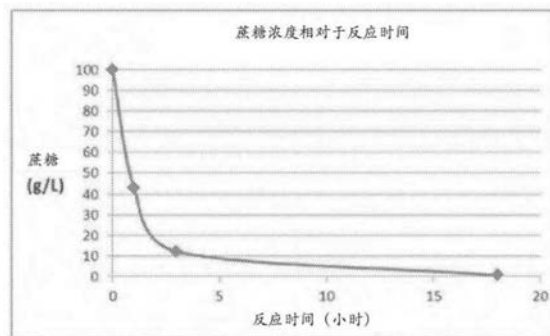
权利要求书2页 说明书61页
序列表62页 附图3页

(54) 发明名称

凝胶化右旋糖酐醚

(57) 摘要

本文披露了包含至少一种右旋糖酐醚化合物的组合物,该至少一种右旋糖酐醚化合物包含不带电荷的、阴离子的和/或阳离子的有机基团。一种或多种右旋糖酐醚化合物的取代度为约0.0025至约3.0。可以衍生所披露的醚化合物的右旋糖酐可以具有约5000万至2亿道尔顿的重均分子量和/或约200-280nm的z-平均回转半径。还披露了生产右旋糖酐醚化合物的方法,以及在各种应用中使用这些醚化合物的方法。



1. 一种包含右旋糖酐醚化化合物的组合物,其中所述右旋糖酐醚化合物包含:
 - (i) 87 wt%-91.5 wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;
 - (ii) 0.1 wt%-1.2 wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;
 - (iii) 0.1 wt%-0.7 wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;
 - (iv) 7.7 wt%-8.6 wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;
 - (v) 0.4 wt%-1.7 wt%在以下位置处连接的葡萄糖:
 - (a) 位置1、2和6,或
 - (b) 位置1、4和6;以及
 - (vi) 0.0025至3.0的用至少一种有机基团的取代度(DoS);其中所述右旋糖酐醚化化合物的重均分子量(Mw)为5000万至2亿道尔顿,且其中衍生所述右旋糖酐醚化化合物的右旋糖酐是葡萄糖基转移酶的产物,所述葡萄糖基转移酶具有SEQ ID NO: 2的氨基酸序列。
2. 权利要求1的组合物,其中所述右旋糖酐醚化合物包含:
 - (i) 89.5 wt%-90.5 wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;
 - (ii) 0.4 wt%-0.9 wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;
 - (iii) 0.3 wt%-0.5 wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;
 - (iv) 8.0 wt%-8.3 wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及
 - (v) 0.7 wt%-1.4 wt%在以下位置处连接的葡萄糖:
 - (a) 位置1、2和6,或
 - (b) 位置1、4和6。
3. 权利要求1的组合物,其中所述右旋糖酐醚化合物包含在分支结构内连接在一起的链,其中所述链在长度上相似并且包含至少98% α -1,6-糖苷键。
4. 权利要求3的组合物,其中所述链的平均长度为10-50个单体单元。
5. 权利要求1的组合物,其中衍生所述右旋糖酐醚化化合物的所述右旋糖酐的z-平均回转半径为200-280 nm。
6. 权利要求1的组合物,其中至少一种有机基团是羧基烷基、烷基或羟基烷基。
7. 权利要求6的组合物,其中至少一种有机基团是羧甲基、甲基、乙基、羟丙基、二羟基丙基、或羟乙基。
8. 权利要求1的组合物,其中至少一种有机基团是带正电荷的有机基团。
9. 权利要求8的组合物,其中至少一种带正电荷的有机基团包含取代的铵基团。
10. 权利要求9的组合物,其中所述取代的铵基团是三甲基铵基团。
11. 权利要求1的组合物,其中所述组合物呈家用产品、个人护理产品、药物产品、工业产品或食物产品的形式。
12. 一种生产右旋糖酐醚化化合物的方法,所述方法包括:

在碱性条件下的反应中使右旋糖酐与至少一种包含有机基团的醚化剂接触,其中至少一种有机基团被醚化至右旋糖酐,从而产生右旋糖酐醚化合物,其中所述右旋糖酐醚化合物具有0.0025至3.0的用至少一种有机基团的取代度并且所述右旋糖酐醚化化合物的重均分子量(Mw)为5000万至2亿道尔顿,其中所述右旋糖酐包含:

- (i) 87 wt%-91.5 wt%在位置1和6处连接的葡萄糖；
- (ii) 0.1 wt%-1.2 wt%在位置1和3处连接的葡萄糖；
- (iii) 0.1 wt%-0.7 wt%在位置1和4处连接的葡萄糖；
- (iv) 7.7 wt%-8.6 wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖；以及
- (v) 0.4 wt%-1.7 wt%在以下位置处连接的葡萄糖：
 - (a) 位置1、2和6,或
 - (b) 位置1、4和6,且

其中衍生所述右旋糖酐醚化合物的所述右旋糖酐是葡萄糖基转移酶的产物,所述葡萄糖基转移酶具有SEQ ID NO: 2的氨基酸序列。

13. 一种增加水性组合物的粘度的方法,所述方法包括:

使如权利要求1中所述的右旋糖酐醚化合物与所述水性组合物接触,其中与在所述接触步骤之前的所述水性组合物的粘度相比,所述水性组合物的粘度被所述右旋糖酐醚化合物增加。

14. 一种处理材料的方法,所述方法包括:

使材料与如权利要求1中所述的包含右旋糖酐醚化合物的水性组合物接触。

凝胶化右旋糖酐醚

[0001] 本申请要求美国临时申请号62/142,654 (2015年4月3日提交) 和62/142,658 (2015年4月3日提交) 的权益,这两个申请以其全文通过引用结合在此。

发明领域

[0002] 本披露属于多糖衍生物领域。例如,本披露涉及某些阴离子的、不带电荷的或阳离子的右旋糖酐醚及其制备方法和作为粘度调节剂的用途。

[0003] 以电子方式提交的序列表的引用

[0004] 该序列表的官方副本经由EFS-Web作为ASCII格式的序列表以电子方式提交,文件名为“20160317_CL6423WOPCT_SequenceListingST25.txt”,创建于2016年3月17日,且具有164千字节大小,并与本说明书同时提交。包括在该ASCII格式的文件中的序列表是本说明书的一部分并且以其全文通过引用结合在此。

背景技术

[0005] 由使用酶促合成或微生物遗传工程寻找新的结构多糖的愿望驱使,研究人员已经发现了可生物降解的并且可以从可再生来源的原料经济地制得的多糖。一个这样的多糖类家族是 α -葡聚糖,该 α -葡聚糖是包含通过 α -配糖键连接的葡萄糖单体的聚合物。

[0006] 右旋糖酐代表一系列复杂的支链 α -葡聚糖,所述 α -葡聚糖通常包含 α -1,6-连接的葡萄糖单体的链,具有通过 α -1,3-键与直链连接的周期性侧链(分支)(约安(Ioan)等人,大分子(Macromolecules) 33:5730-5739)。典型地,右旋糖酐的生产通过使用细菌(例如明串珠菌属(*Leuconostoc*)或链球菌属(*Streptococcus*)物种)的蔗糖发酵来进行,其中蔗糖用作右旋糖酐聚合的葡萄糖来源(内森斯(Naessens)等人,化学技术与生物技术杂志(*J.Chem.Technol.Biotechnol.*) 80:845-860;萨尔瓦特(Sarwat)等人,国际生物科学杂志(*Int.J.Biol.Sci.*) 4:379-386;Onilude等人,国际食品研究杂志(*Int.Food Res.J.*) 20:1645-1651)。尽管鉴于在水中的高溶解度右旋糖酐在几种应用中被使用(例如,佐剂、稳定剂),但是这种高溶解度可以负面地影响右旋糖酐在水状胶质应用中作为增稠剂的一般用途。

[0007] 因此,有兴趣研发更适合于高粘度应用的新的、更高粘度的右旋糖酐聚合物及其醚衍生物。

发明内容

[0008] 在一个实施例中,本披露涉及包含右旋糖酐醚化合物的组合物,该组合物包含:(i) 约87wt%-93wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii) 约0.1wt%-1.2wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii) 约0.1wt%-0.7wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv) 约7.7wt%-8.6wt%在位置1,3和6处连接的葡萄糖;(v) 约0.4wt%-1.7wt%在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1,2和6,或(b) 位置1,4和6;以及(vi) 约0.0025至约3.0的用至少一种有机基团的取代度(DoS);其中该右旋糖酐醚化合物的重均分子量(Mw)为约5000万至2亿道尔顿。

[0009] 在另一个实施例中,该右旋糖酐醚化合物包含:(i)约89.5wt%-90.5wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii)约0.4wt%-0.9wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii)约0.3wt%-0.5wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv)约8.0wt%-8.3wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v)约0.7wt%-1.4wt%在以下位置处连接的葡萄糖:(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6。

[0010] 在另一个实施例中,该右旋糖酐醚化合物包含在分支结构内连接在一起的链,其中所述链在长度上相似并且主要包含 α -1,6-糖苷键。

[0011] 在另一个实施例中,衍生该右旋糖酐醚化合物的该右旋糖酐的z-平均回转半径为约200-280nm。

[0012] 在另一个实施例中,衍生该右旋糖酐醚化合物的该右旋糖酐是葡萄糖基转移酶的产物,该葡萄糖基转移酶包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:17具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0013] 在另一个实施例中,该右旋糖酐醚化合物的至少一种有机基团是羧烷基、烷基或羟烷基。在另一个实施例中,至少一种有机基团是羧甲基、甲基、乙基、羟丙基、二羟丙基或羟乙基。

[0014] 在另一个实施例中,该右旋糖酐醚化合物的至少一种有机基团是带正电荷的有机基团。在另一个实施例中,至少一种带正电荷的有机基团包含取代的铵基团。在另一个实施例中,这种带正电荷的有机基团包含三甲基铵基团。在另一个实施例中,至少一种带正电荷的有机基团包含烷基或羟烷基。在另一个实施例中,这种带正电荷的有机基团是季铵羟丙基。

[0015] 在另一个实施例中,(i)该右旋糖酐醚化合物含有一种类型的有机基团,或(ii)该右旋糖酐醚化合物含有两种或更多种类型的有机基团。

[0016] 在另一个实施例中,包含右旋糖酐醚化合物的该组合物是具有至少约3cPs粘度的水性组合物。

[0017] 在另一个实施例中,包含右旋糖酐醚化合物的该组合物呈家用产品、个人护理产品、药物产品、工业产品或食物产品的形式。

[0018] 在另一个实施例中,本披露涉及一种生产右旋糖酐醚化合物的方法。该方法包括:

[0019] (a)在碱性条件下的反应中使右旋糖酐与至少一种包含有机基团的醚化剂接触,其中至少一种有机基团被醚化至右旋糖酐,从而产生右旋糖酐醚化合物,其中该右旋糖酐醚化合物具有约0.0025至约3.0的用至少一种有机基团的取代度并且该右旋糖酐醚化合物的重均分子量(Mw)为约5000万至2亿道尔顿,其中该右旋糖酐包含:(i)约87wt%-93wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii)约0.1wt%-1.2wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii)约0.1wt%-0.7wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv)约7.7wt%-8.6wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v)约0.4wt%-1.7wt%在以下位置处连接的葡萄糖:(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6;并且

[0020] (b)任选地,分离步骤(a)中产生的该右旋糖酐醚化合物。

[0021] 在另一个实施例中,本披露涉及增加水性组合物的粘度的方法。该方法包括:使如本文披露的右旋糖酐醚化合物与该水性组合物接触,其中与在该接触步骤之前的该水性组合物的粘度相比,该水性组合物的粘度被该右旋糖酐醚化合物增加。

[0022] 在另一个实施例中,本披露涉及一种处理材料的方法。该方法包括:使材料与包含如本文披露的右旋糖酐醚化合物的水性组合物接触。

[0023] 附图和序列的简述

[0024] 图1:通过包含100g/L蔗糖和0768 gtf (SEQ ID NO:1)的葡萄糖基转移酶反应对蔗糖消耗进行的HPLC分析。参考实例2。

[0025] 图2A:用于在枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 中表达2919gtf (SEQ ID NO:5)的质粒pZZHB583的图谱。参考实例3。

[0026] 图2B:用于在枯草芽孢杆菌中表达2918gtf (SEQ ID NO:9)的质粒pZZHB582的图谱。参考实例4。

[0027] 图2C:用于在枯草芽孢杆菌中表达2920gtf (SEQ ID NO:13)的质粒pZZHB584的图谱。参考实例5。

[0028] 图2D:用于在枯草芽孢杆菌中表达2921gtf (SEQ ID NO:17)的质粒pZZHB585的图谱。参考实例6。

[0029] 图3:通过包括可商购的右旋糖酐蔗糖酶的反应对蔗糖消耗进行的HPLC分析。参考实例7。

[0030] 表1.核酸和蛋白质SEQ ID号的总结

描述	核酸 SEQ ID NO.	蛋白质 SEQ ID NO.
“0768 gtf”, 假肠膜明串珠菌 (<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>)。基因库 (GENBANK) 识别号 497964659 的成熟形式。		1 (1447 aa)
“0768 gtf”, 假肠膜明串珠菌。基因库识别号 497964659 的成熟形式, 但包括起始甲硫氨酸和另外的 N-和 C-末端氨基酸。		2 (1457 aa)
WciGtf1, 食窦魏斯氏菌 (<i>Weissella cibaria</i>)。包括信号序列的全长形式。基因库登录号 ZP_08417432 (氨基酸序列)。	3 (4347 个碱基)	4 (1448 aa)
“2919 gtf”, 食窦魏斯氏菌。基因库识别号 ZP_08417432 的成熟形式。		5 (1422 aa)
“2919 gtf”, 食窦魏斯氏菌。针对在枯草芽孢杆菌中的表达进行了优化的序列。用异源信号序列和另外的 N-末端氨基酸编码 2919 gtf。	6 (4269 个碱基)	

[0031]

[0032]	LfeGtf1, 发酵乳杆菌 (<i>Lactobacillus fermentum</i>)。包括信号序列的全长形式。基因库登录号 AAU08008 (氨基酸序列)。	7 (4392 个碱基)	8 (1463 aa)
	“2918 gtf”, 发酵乳杆菌。基因库识别号 AAU08008 的成熟形式。		9 (1426 aa)
	“2918 gtf”, 发酵乳杆菌。针对在枯草芽孢杆菌中的表达进行了优化的序列。用异源信号序列和另外的 N-末端氨基酸编码 2918 gtf。	10 (4281 个碱基)	
	SsoGtf4, 表兄链球菌 (<i>Streptococcus sobrinus</i>)。包括信号序列的全长形式。基因库登录号 AAX76986 (氨基酸序列)。	11 (4521 个碱基)	12 (1506 aa)
	“2920 gtf”, 表兄链球菌。基因库识别号 AAX76986 的成熟形式。		13 (1465 aa)
	“2920 gtf”, 表兄链球菌。针对在枯草芽孢杆菌中的表达进行了优化的序列。用异源信号序列和另外的 N-末端氨基酸编码 2920 gtf。	14 (4398 个碱基)	
	SdoGtf7, 汗毛链球菌 (<i>Streptococcus downei</i>)。包括信号序列的全长形式。基因库登录号 ZP_08549987.1 (氨基酸序列)。	15 (4360 个碱基)	16 (1453 aa)
	“2921 gtf”, 汗毛链球菌。基因库识别号 ZP_08549987.1 的成熟形式。		17 (1409 aa)
	“2921 gtf”, 汗毛链球菌。针对在枯草芽孢杆菌中的表达进行了优化的序列。用异源信号序列和另外的 N-末端氨基酸编码 2921 gtf。	18 (4230 个碱基)	

[0033] 详细说明

[0034] 在此引用的所有专利和非专利文献的披露内容以其全文通过引用结合在此。

[0035] 除非另有披露, 否则如在此所用的术语“一个/一种”旨在涵盖参考特征的一个/一种或多个/多种(即至少一个/一种)。

[0036] 在存在的情况下, 所有范围是包含性的和可组合的, 除非另有说明。例如, 当列举“1至5”的范围时, 所列举的范围应解释为包括“1至4”、“1至3”、“1至2”、“1至2和4至5”、“1至3和5”等范围。

[0037] 本文中术语“葡聚糖”是指通过糖苷键(glucosidic linkage)连接的D-葡萄糖单体的多糖, 糖苷键是配糖键(glycosidic linkage)的一种类型。本文中“ α -葡聚糖”是指成分D-葡萄糖单体为 α -D-葡萄糖单体的葡聚糖。

[0038] 术语“右旋糖酐”、“右旋糖酐聚合物”、“右旋糖酐化合物”等在本文中可互换地使用, 并且是指通常包含大量(多半的) α -1,6-连接的葡萄糖单体的链的复杂的、支链 α -葡聚糖, 其中侧链(分支)主要由 α -1,3-键连接。本文中术语“凝胶化右旋糖酐”是指本文披露的一种或多种右旋糖酐(i)在酶促右旋糖酐合成过程中以及任选地(ii)当这种合成的右旋糖酐被分离(例如, >90%纯度)然后被置于水性组合物中时形成粘稠溶液或凝胶样组合物的能力。

[0039] 本文中右旋糖酐“长链”可以包含“大量[或多半的] α -1,6-糖苷键”,这意味着所述长链在一些方面可以具有至少约98.0%的 α -1,6-糖苷键。本文中右旋糖酐可以在一些方面包含“分支结构”(支链结构)。预期在这种结构中,长链可能以迭代的方式从其他长链分支出(例如,长链可以是来自另一个长链的分支,其反过来可以本身是来自另一个长链的分支,等等)。预期在这种结构中的长链可以是“长度相似”,这意味着分支结构中所有长链的至少70%的长度(DP[聚合度])是在分支结构的所有长链的平均长度的正/负30%内。

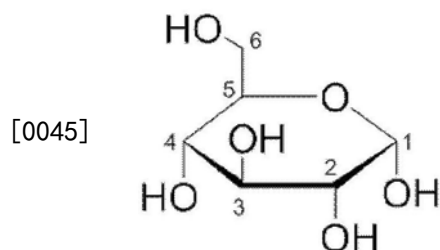
[0040] 在一些实施例中,右旋糖酐还可以包含从长链分支出的“短链”,典型地长度为一至三个葡萄糖单体,并且包含少于右旋糖酐聚合物的所有葡萄糖单体的约10%。典型地,这样的短链包含 α -1,2-、 α -1,3-和/或 α -1,4-糖苷键(据信,在一些方面,也可以在长链中存在小百分比的这种非 α -1,6键)。

[0041] 术语“配糖键”(glycosidic linkage和glycosidic bond)等在本文可互换使用并且是指将碳水化合物分子彼此连接的共价键。术语“糖苷键”(glucosidic linkage和glucosidic bond)等在本文可互换使用并且是指两个葡萄糖分子之间的配糖键。如本文中所示,术语“ α -1,6-糖苷键”是指通过在相邻 α -D-葡萄糖环上的碳1和碳6将 α -D-葡萄糖分子彼此连接的共价键。如本文中所示,术语“ α -1,3-糖苷键”是指通过在相邻 α -D-葡萄糖环上的碳1和碳3将 α -D-葡萄糖分子彼此连接的共价键。如本文中所示,术语“ α -1,2-糖苷键”是指通过在相邻 α -D-葡萄糖环上的碳1和碳2将 α -D-葡萄糖分子彼此连接的共价键。如本文中所示,术语“ α -1,4-糖苷键”是指通过在相邻 α -D-葡萄糖环上的碳1和碳4将 α -D-葡萄糖分子彼此连接的共价键。本文中,“ α -D-葡萄糖”将被称为“葡萄糖”。本文披露的所有糖苷键都是 α -糖苷键,除了另有说明的情况。

[0042] 本文中,“在位置1和6处连接的葡萄糖(葡萄糖单体)”是指其中只有葡萄糖单体的碳1和碳6涉及各自与两个相邻葡萄糖单体的糖苷键的右旋糖酐的葡萄糖单体。该定义同样适用于(i)“在位置1和3处连接的”、和(ii)“在位置1和4处连接的”葡萄糖,相应地,将在每个各自的键中涉及的不同碳位置考虑在内。

[0043] 本文中,“在位置1、3和6处连接的葡萄糖(葡萄糖单体)”是指其中葡萄糖单体的碳1、碳3和碳6涉及各自与三个相邻葡萄糖单体的糖苷键的右旋糖酐的葡萄糖单体。仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖是分支点。该定义同样适用于(i)在位置1、2和6处、和(ii)在位置1、4和6处连接的葡萄糖,但因此将在每个各自的键中涉及的不同碳位置考虑在内。

[0044] 本文中葡萄糖位置(葡萄糖碳位置)1、2、3、4和6在本领域中是已知的(在以下结构中描述):



[0046] 本文中右旋糖酐或右旋糖酐醚化合物的配糖键谱图可以使用本领域已知的任何方法确定。例如,可以使用采用核磁共振(NMR)光谱(例如 ^{13}C NMR或 ^1H NMR)的方法确定键谱图。可以使用的这些和其他方法披露于食品碳水化合物:化学、物理性质和应用(S.W.Cui,

Ed., Chapter 3, S.W. Cui, Structural Analysis of Polysaccharides, Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton, FL, 2005 [S.W. Cui, 编辑, 第3章, S.W. Cui, 多糖的结构分析, 泰勒与弗朗西斯集团有限公司, 佛罗里达州波卡拉顿, 2005]) 中, 其通过引用结合在此。

[0047] 本文中, 术语“蔗糖”是指由 α -1,2-配糖键连接的 α -D-葡萄糖分子和 β -D-果糖分子构成的非还原性二糖。通常, 蔗糖被称为食用糖。

[0048] 本文中右旋糖酐或右旋糖酐醚化合物的“分子量”可以表示为数均分子量(M_n)或重均分子量(M_w), 其单位为道尔顿或克/摩尔。可替代地, 分子量可以表示为 DP_w (重均聚合度)或 DP_n (数均聚合度)。用于计算这些分子量测量的各种方法在本领域中是已知的, 例如采用高压液相色谱法(HPLC)、尺寸排阻色谱法(SEC)或凝胶渗透色谱法(GPC)。

[0049] 本文中, 术语“回转半径”(Rg)是指右旋糖酐的平均半径, 并且将其计算为右旋糖酐分子的组分(原子)与分子重心的均方根距离。例如, Rg能以埃或纳米(nm)为单位提供。本文中, 右旋糖酐的“z-平均回转半径”是指如使用光散射(例如MALS)测量的右旋糖酐的Rg。用于测量z-平均Rg的方法是已知的, 并且相应地可以在本文中使用。例如, z-平均Rg可以如在以下文献中所披露的进行测量: 美国专利号7531073、美国专利申请公开号2010/0003515和2009/0046274, 怀亚特(Wyatt)(分析化学学报(Anal. Chim. Acta) 272:1-40), 以及莫里(Mori)和巴斯(Barth)(尺寸排阻色谱法(Size Exclusion Chromatography), 施普林格出版社(Springer-Verlag), 柏林(Berlin), 1999), 其全部通过引用结合在此。

[0050] 术语“葡萄糖基转移酶”、“gtf酶”、“gtf酶催化剂”、“gtf”、“葡聚糖蔗糖酶”等在本文中可互换地使用。本文中gtf酶的活性催化底物蔗糖的反应以制得产物葡聚糖和果糖。产生右旋糖酐(葡聚糖的一种类型)的gtf酶也可以称为右旋糖酐蔗糖酶。Gtf反应的其他产物(副产物)可以包括葡萄糖(其中葡萄糖从葡糖基-gtf酶中间体复合物水解), 并且各种可溶性寡糖(例如DP2-DP7)例如明串珠菌二糖、葡萄糖基转移酶的野生型形式通常含有(在N-末端至C-末端方向上)信号肽、可变结构域、催化结构域和葡聚糖结合结构域。根据CAZy(碳水化合物活性酶)数据库(康塔雷尔(Cantarel)等人, 核酸研究(Nucleic Acids Res.) 37: D233-238, 2009), 将本文的gtf分类在糖苷水解酶家族70(GH70)下。

[0051] 术语“葡萄糖基转移酶催化结构域”和“催化结构域”在本文中可互换地使用, 并且是指向葡萄糖基转移酶提供葡聚糖生产活性的葡萄糖基转移酶的结构域。

[0052] 术语“gtf反应”、“gtf反应溶液”、“葡萄糖基转移酶反应”、“酶促反应”、“右旋糖酐合成反应”、“右旋糖酐反应”等在本文可互换地使用, 并且是指由葡萄糖基转移酶进行的反应。如本文中所使用, gtf反应通常是指最初包含至少一种活性葡萄糖基转移酶(在含蔗糖和水的溶液中)、以及任选地其他组分的反应。在其已经开始后可以存在于gtf反应中的其他组分包括果糖、葡萄糖、可溶性寡糖(例如DP2-DP7)例如明串珠菌二糖和右旋糖酐产物。在gtf反应中, 进行了使水、蔗糖和葡萄糖基转移酶接触的步骤。如本文中所使用, 术语“在合适的gtf反应条件下”是指支持经由葡萄糖基转移酶活性将蔗糖转化为右旋糖酐的gtf反应条件。本文的gtf反应不是天然发生的。

[0053] 如本文中所使用, “对照”gtf反应可以是指使用葡萄糖基转移酶的反应, 所述葡萄糖基转移酶不包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:17具有至少90%同一性的氨基酸序列。对照反应溶液的所有其他特征(例如, 蔗糖浓度、温度、pH、时间)可以其与之进行比较的反应的那些相同。

[0054] gtf反应的“干固体百分比”是指gtf反应中所有糖的wt%。例如,可以基于用于制备反应物的蔗糖的量来计算gtf反应的干固体百分比。

[0055] 由本文的gtf反应产生的右旋糖酐的“产率”表示在反应中转化的被表达为蔗糖底物的重量百分比的右旋糖酐产物的重量。例如,如果将反应溶液中的100g蔗糖转化成产物,并且10g产物是右旋糖酐,那么右旋糖酐的产率为10%。该产率计算可以被认为是反应对右旋糖酐的选择性的量度。

[0056] 术语“多核苷酸”、“多核苷酸序列”和“核酸序列”在本文可互换地使用。这些术语涵盖核苷酸序列等。多核苷酸可以是单链或双链的DNA或RNA的聚合物,其任选地包含合成的、非天然的或改变的核苷酸碱基。多核苷酸可以由cDNA、基因组DNA、合成DNA或其混合物的一个或多个区段组成。

[0057] 如本文中所使用,关于多核苷酸或多肽序列的术语“序列同一性”或“同一性”是指在两个序列中的核酸碱基或氨基酸残基当在指定的比较窗口上比对最大对应度时是相同的。因此,“序列同一性百分比”或“百分比同一性”是指通过在比较窗口上比较两个最佳比对的序列所确定的值,其中与参比序列(其不包含添加或缺失)比较两个序列的最佳比对时,该多核苷酸或多肽序列在比较窗口中的部分可以包含添加或缺失(即空位)。通过以下方式计算该百分比:确定在两个序列中出现相同核酸碱基或氨基酸残基的位置的数目以产生匹配位置的数目,将匹配位置的数目除以比较窗口中的位置的总数目,然后将该结果乘以100以产生序列同一性百分比。应当理解的是,当计算DNA序列和RNA序列之间的序列同一性时,DNA序列的T残基与RNA序列的U残基比对,并且可以被认为与其“一致”。出于确定第一和第二多核苷酸的百分比互补性的目的,可以通过确定(i)第一多核苷酸和第二多核苷酸的补体序列之间的百分比同一性(或反之亦然),例如和/或(ii)将产生规范的沃森和克里克碱基对的第一和第二多核苷酸之间的碱基百分比来获得。

[0058] 可以使用在美国国家生物技术信息中心(NCBI)网站上在线获得的基本局部比对搜索工具(BLAST),例如,来测量在两个或更多个多核苷酸序列(BLASTN算法)或多肽序列(BLASTP算法)之间的百分比同一性。可替代地,使用Clustal算法(例如,ClustalW、ClustalV或Clustal-欧米加)可以进行序列之间的百分比同一性比对。对于使用Clustal比对方法的多重比对,默认值可以对应于空位罚分(GAP PENALTY) = 10和空位长度罚分(GAP LENGTH PENALTY) = 10。使用Clustal方法进行逐对比对和蛋白质序列的百分比同一性计算的默认参数可以是KTUPLE = 1、空位罚分 = 3、窗口(WINDOW) = 5、以及存储的对话框(DIAGONALS SAVED) = 5。对于核酸,这些参数可以是KTUPLE = 2、空位罚分 = 5、窗口 = 4、以及存储的对话框 = 4。仍可替代地,序列之间的百分比同一性可以使用BLOSUM矩阵(例如,BLOSUM62),使用具有参数例如空位开始(GAP OPEN) = 10、空位延伸(GAP EXTEND) = 0.5、最终空位罚分(END GAP PENALTY) = 错误(false)、最终空位开始(END GAP OPEN) = 10、最终空位延伸(END GAP EXTEND) = 0.5的EMBOSS算法(例如,needle)来执行。

[0059] 作为某些实施例的特征,本文披露了各种多肽氨基酸序列和多核苷酸序列。可以使用与本文披露的序列具有至少约70%-85%、85%-90%、或90%-95%同一性的这些序列的变体。可替代地,变体氨基酸序列或多核苷酸序列可以与本文披露的序列具有至少70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一

性。变体氨基酸序列或多核苷酸序列可以具有与所披露的序列的相同的功能/活性,或具有所披露的序列的功能/活性的至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的功能/活性。

[0060] 术语“右旋糖酐醚化合物”、“右旋糖酐醚”、“右旋糖酐醚衍生物”等在本文中可以互换使用。本文中的右旋糖酐醚化合物是已经用一个或多个有机基团(不带电荷的、阴离子的和/或阳离子的)醚化的右旋糖酐,使得该化合物具有约0.0025至约3.0的用一个或多个有机基团的取代度(DoS)。这种醚化可以发生在例如右旋糖酐的至少30%的单糖单体单元的一个或多个羟基上。

[0061] 右旋糖酐醚化合物在本文中由于包括亚结构 $-C_M-O-C-$ 被称为“醚”,其中“ $-C_M-$ ”表示右旋糖酐醚化合物的单糖单体单元的碳原子(其中这种碳原子键合至醚的右旋糖酐前体中的羟基[OH]上),并且其中“-C-”是有机基团的碳原子。应当理解,本文中右旋糖酐醚化合物的单糖单体单元通常在醚键中具有一个或多个有机基团。因此,这样的单糖单体单元也可以被称为醚化的单糖单体单元。

[0062] 如本文所用的“有机基团”可以是指(i)具有式 $-C_nH_{2n+1}$ (即,完全饱和的烷基)或(ii)大部分是饱和的,但具有一个或多个被另一个原子或官能团取代的氢(即“取代的烷基”)的一个或多个碳的链。这种取代可以用一个或多个羟基、氧原子(从而形成醛或酮基)、羧基或其他烷基。因此,作为实例,本文中的有机基团可以是烷基、羧烷基或羟烷基。因此,在一些实施例中,本文中的有机基团可以是不带电荷的或阴离子的(阴离子有机基团的实例是羧烷基)。

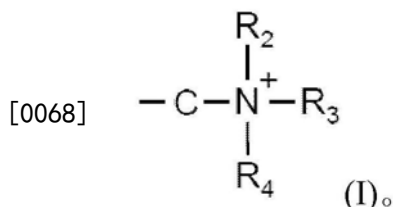
[0063] 本文中的“羧烷基”是指其中烷基的一个或多个氢原子被羧基取代的取代的烷基。本文中的“羟烷基”是指其中烷基的一个或多个氢原子被羟基取代的取代的烷基。

[0064] “有机基团”可以可替代地是指“带正电荷的有机基团”。如本文所用的带正电荷的有机基团是指具有被另一个原子或官能团取代的一个或多个氢(即“取代的烷基”)的一个或多个碳的链,其中这些取代中的一个或多个是用带正电荷的基团。当带正电荷的有机基团具有除了用带正电荷的基团进行的取代之外的取代时,这种额外的取代可以用一个或多个羟基、氧原子(从而形成醛或酮基)、烷基、和/或额外的带正电荷的基团。带正电荷的有机基团具有净正电荷,因为它包含一个或多个带正电荷的基团。

[0065] 术语“带正电荷的基团”、“带正电荷的离子基团”、“阳离子基团”等在本文中可互换使用。带正电荷的基团包括阳离子(带正电荷的离子)。带正电荷的基团的实例包括取代的铵基、碳阳离子基团和酰基阳离子基团。

[0066] 本文中“带正电荷的”或“阳离子的”组合物通常具有比电子更多的质子,并且被其他带正电荷的物质排斥,但被吸引到带负电荷的物质上。本文的右旋糖酐醚化合物可任选地表征为阳离子右旋糖酐醚化合物。

[0067] 术语“取代的铵基”、“取代的铵离子”和“取代的铵阳离子”在本文中可互换使用。本文的取代的铵基包括结构I:

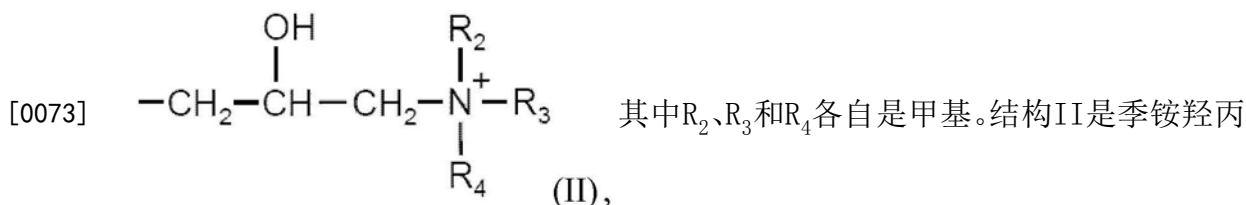


[0069] 结构I中的 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地表示氢原子或烷基、芳基、环烷基、芳烷基或烷芳基。结构I中的碳原子(C)是带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链(“碳链”)的一部分。碳原子与右旋糖酐的单糖单体单元直接醚连接,或者是与右旋糖酐的单糖单体单元醚连接的两个或更多个碳原子的链的一部分。结构I中的碳原子可以是 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ (其中H被另一基团如羟基取代)或 $-\text{C}-$ (其中两个H被取代)。

[0070] 取代的铵基可以是“伯铵基团”、“仲铵基团”、“叔铵基团”或“季铵”基团,这取决于结构I中的 R_2 、 R_3 和 R_4 的组成。本文中的伯铵基团是指其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是氢原子的结构I(即, $-\text{C}-\text{NH}_3^+$)。本文中的仲铵基团是指其中 R_2 和 R_3 各自是氢原子并且 R_4 是烷基、芳基或环烷基的结构I。本文中的叔铵基团是指其中 R_2 是氢原子并且 R_3 和 R_4 各自是烷基、芳基或环烷基的结构I。本文中的季铵基团是指其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是烷基、芳基或环烷基(即, R_2 、 R_3 和 R_4 没有一个为氢原子)的结构I。

[0071] 例如,本文中的季铵右旋糖酐醚可以包含三烷基铵基团(其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是烷基)。三甲基铵基团是三烷基铵基团的实例,其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是甲基。应当理解的是,在这种命名法中“季”所暗指的第四个成员(即, R_4)是与右旋糖酐的单糖单体单元醚连接的带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链。

[0072] 季铵右旋糖酐醚化合物的实例是三甲基铵羟丙基右旋糖酐。该醚化合物的带正电荷的有机基团可以表示为结构II:



基的实例。

[0074] 本文中的“卤化物”是指包含一个或多个卤素原子(例如,氟、氯、溴、碘)的化合物。本文中的卤化物可以是指包含一个或多个卤化物基团的化合物,如氟化物、氯化物、溴化物或碘化物。卤化物基团可以用作醚化剂的反应性基团。

[0075] 术语“醚化反应”和类似术语是指至少包含右旋糖酐和醚化剂的反应。这些组分通常在包含碱性氢氧化物的水性溶剂中溶解和/或混合。将反应置于合适的条件(例如时间,温度)下,以供醚化剂用本文中的有机基团醚化右旋糖酐的单糖单体单元的一个或多个羟基,从而产生右旋糖酐醚化合物。

[0076] 本文中的术语“碱性条件”是指至少11或12的溶液或混合物的pH。碱性条件可以通过本领域已知的任何手段制备,例如通过将碱性氢氧化物溶解在溶液或混合物中。

[0077] 术语“醚化剂”、“烷基化剂”等在本文中可互换使用。本文中的醚化剂是指可用于用有机基团醚化右旋糖酐的一个或多个单糖单体单元的一个或多个羟基的试剂。因此,醚

化剂包含至少一种有机基团。

[0078] 如本文所用的术语“取代度”(DoS)是指在右旋糖酐醚化化合物的每个单体单元中被取代的羟基的平均数。

[0079] 如本文所用的术语“摩尔取代度”(M.S.)是指右旋糖酐醚化化合物的每个单体单元的有机基团的摩尔数。M.S.可以可替代地是指用于与右旋糖酐中的每个单体单元反应的醚化剂的平均摩尔数(M.S.因此可以描述用醚化剂的衍生化程度)。应当注意的是,在一些情况下,右旋糖酐的M.S.值可能没有上限。例如,当含有羟基的有机基团(例如,羟乙基或羟丙基)已经被醚化至右旋糖酐时,该有机基团的羟基可经历进一步反应,从而将更多的该有机基团连接至右旋糖酐。

[0080] 本文中的“水性组合物”具有例如包含至少约10wt%的水的液体组分。水性组合物的实例包括例如混合物、溶液、分散体(例如胶体分散体)、悬浮液和乳液。在某些实施例中的水性组合物包含溶解于水性组合物中的右旋糖酐或右旋糖酐醚(即在溶液中,并且典型地具有粘度)。

[0081] 如本文中所使用,术语“胶体分散体”是指具有分散相和分散介质的异相系统,即微观上分散的不溶性颗粒(例如,本文中的一些形式的右旋糖酐醚)悬浮在另一种物质(例如水性组合物例如水或水性溶液)中。本文中胶体分散体的实例是水状胶体。胶体分散体例如水状胶体的全部或部分颗粒可以包含本披露的某些右旋糖酐醚化合物。术语“分散剂(dispersant)”和“分散药剂(dispersion agent)”在本文可互换地使用,是指促进分散体的形成和/或稳定的材料。

[0082] 术语“水状胶体(hydrocolloid)”和“水凝胶(hydrogel)”在本文可互换地使用。水状胶体是指水是分散介质的胶体系统。

[0083] 本文中,术语“水性溶液”是指其中溶剂包含水的溶液。在本文的某些方面,水性溶液可以用作分散剂。在某些实施例中,右旋糖酐醚化合物可以溶解、分散或混合在水性溶液中。

[0084] 如本文中所使用,术语“粘度”是指流体或水性组合物例如水状胶体抵抗趋于导致其流动的力的程度的量度。本文可以使用的各种粘度单位包括厘泊(cPs)和帕斯卡秒(Pa·s)。一泊等于 $0.100\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。因此,如本文中所使用,术语“粘度调节剂”和“粘度改性剂”是指可以改变/改性流体或水性组合物的粘度的任何物质。

[0085] 如本文中所使用,术语“剪切稀化行为”是指随着剪切速率增加水性组合物的粘度降低。如本文中所使用,术语“剪切增稠行为”是指随着剪切速率增加水性组合物的粘度增加。本文中“剪切速率”是指对水性组合物应用渐进剪切变形的速率。可以旋转地应用剪切变形。

[0086] 如本文中所使用,关于增加水性组合物的粘度的方法,术语“接触”是指导致水性组合物与右旋糖酐醚在一起的任何作用。可以通过本领域已知的任何手段进行接触,例如像溶解、混合、振动或均质化。

[0087] 术语“糕点糖果”、“蜜饯”、“甜食”、“甜品”、“糖果”等在本文可互换地使用。糕点糖果是指具有甜味的任何风味食物产品,其稠度可以是硬的或软的,其典型地通过在口腔内吮和/或咀嚼来食用。糕点糖果可以含糖或者相反不含糖。

[0088] 术语“织物”、“纺织品”、“布”等在本文可互换地使用,是指具有天然和/或人造纤

维网络的编织材料。这样的纤维例如可以是线或纱线。

[0089] 本文中“织物护理组合物”是适合用于以某种方式处理织物的任何组合物。这种组合物的实例包括衣物洗涤剂 and 织物柔软剂。

[0090] 术语“重垢型洗涤剂”、“通用洗涤剂”等在本文可互换地使用,是指可用于在任何温度下常规洗涤白色和有色纺织品的洗涤剂。术语“轻垢型洗涤剂”、“精细织物洗涤剂”等在本文可互换地使用,是指可用于护理精细织物例如粘胶、羊毛、丝绸、超细纤维或需要特别护理的其他织物的洗涤剂。“特别护理”可以包括例如使用过量水、低搅拌和/或不漂白的条件。

[0091] 典型地,本文“洗涤剂组合物”包含至少一种表面活性剂(洗涤剂化合物)和/或至少一种助洗剂。本文中“表面活性剂”是指倾向于降低物质溶解的液体的表面张力的物质。表面活性剂可以用作例如洗涤剂、润湿剂、乳化剂、发泡剂和/或分散剂。

[0092] 术语“抗再沉积剂”、“抗污垢再沉积剂”、“抗变灰剂”等是指在这些污垢被去除之后有助于阻止污垢重新沉积到衣物洗涤水中的衣物上的试剂,因此防止衣物变灰/变色。抗再沉积剂可以通过帮助将污垢分散在洗涤水中或/或通过阻止污垢粘附在织物表面上起作用。

[0093] 本文中“口腔护理组合物”是适合用于处理口腔中的软或硬表面(例如牙齿(dental或teeth)和/或牙龈表面)的任何组合物。

[0094] 本文中术语“吸附”是指化合物(例如,本文的右旋糖酐醚化合物)粘附到材料的表面上。

[0095] 术语“纤维酶(Gellulase)”、“纤维素酶(cellulase enzyme)”等在本文可互换地使用,是指水解纤维素中的 β -1,4-D-糖苷键的酶,从而部分或完全降解纤维素。可替代地,纤维素酶可以是指例如“ β -1,4-葡聚糖酶”,并且可以具有内切纤维素酶活性(EC 3.2.1.4)、外切纤维素酶活性(EC 3.2.1.91)或纤维二糖酶活性(EC 3.2.1.21)。“纤维素”是指具有 β -1,4-连接的D-葡萄糖单体单元的直链的不溶性多糖。

[0096] 术语“按体积计的百分比”、“体积百分比”、“vol%”、“v/v%”等在本文可互换地使用。在溶液中溶质的体积百分比可以使用以下公式确定: $[(\text{溶质体积}) / (\text{溶液体积})] \times 100\%$ 。

[0097] 术语“按重量计的百分比”、“重量百分比(wt%)”、“重量-重量百分比(%w/w)”等在本文可互换地使用。重量百分比是指当包含在组合物、混合物或溶液中时,材料在质量基础上的百分数。

[0098] 如本文中所使用,术语“增加”可以是指比该增加的量或活性与之进行比较的量或活性多至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、50%、100%、或200%的量或活性。术语“增加的”、“提高的”、“增强的”、“大于”、“改进的”等在本文可互换地使用。

[0099] 如本文中所使用,术语“分离的”可以表征右旋糖酐或右旋糖酐醚化合物。因此,本披露的右旋糖酐和右旋糖酐醚化合物是合成的、人造的化合物,和/或表现出不被认为是天然存在的性质。

[0100] 有兴趣研发更适合于凝胶化和其他应用的新的新的高粘度右旋糖酐聚合物以及其醚衍生物。

[0101] 本披露的实施例涉及包含右旋糖酐醚化化合物的组合物,该右旋糖酐醚化合物包含:

[0102] (i) 约87wt%-93wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;

[0103] (ii) 约0.1wt%-1.2wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;

[0104] (iii) 约0.1wt%-0.7wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;

[0105] (iv) 约7.7wt%-8.6wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;

[0106] (v) 约0.4wt%-1.7wt%在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1、2和6,或(b) 位置1、4和6;并且

[0107] (vi) 约0.0025至约3.0的用至少一种有机基团的取代度(DoS);

[0108] 其中该右旋糖酐醚化化合物的重均分子量(Mw)为约5000万至2亿道尔顿。

[0109] 显著地,预期目前披露的这种右旋糖酐醚化合物在水性组合物中表现出高粘度,即使在相对低浓度的右旋糖酐醚化合物下。

[0110] 本文的右旋糖酐醚化合物包含(i) 约87wt%-93wt%仅在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii) 约0.1wt%-1.2wt%仅在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii) 约0.1wt%-0.7wt%仅在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv) 约7.7wt%-8.6wt%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v) 约0.4wt%-1.7wt%仅在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1、2和6,或(b) 位置1、4和6。

在某些实施例中,右旋糖酐可以包含(i) 约89.5wt%-90.5wt%仅在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii) 约0.4wt%-0.9wt%仅在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii) 约0.3wt%-0.5wt%仅在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv) 约8.0wt%-8.3wt%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v) 约0.7wt%-1.4wt%仅在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1、2和6,或(b) 位置1、4和6。

[0111] 在一些方面,右旋糖酐醚化合物可以包含约87wt%、87.5wt%、88wt%、88.5wt%、89wt%、89.5wt%、90wt%、90.5wt%、91wt%、91.5wt%、92wt%、92.5wt%、或93wt%仅在位置1和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约87wt%-92.5wt%、87wt%-92wt%、87wt%-91.5wt%、87wt%-91wt%、87wt%-90.5wt%、87wt%-90wt%、87.5wt%-92.5wt%、87.5wt%-92wt%、87.5wt%-91.5wt%、87.5wt%-91wt%、87.5wt%-90.5wt%、87.5wt%-90wt%、88wt%-92.5wt%、88wt%-92wt%、88wt%-91.5wt%、88wt%-91wt%、88wt%-90.5wt%、88wt%-90wt%、88.5wt%-92.5wt%、88.5wt%-92wt%、88.5wt%-91.5wt%、88.5wt%-91wt%、88.5wt%-90.5wt%、88.5wt%-90wt%、89wt%-92.5wt%、89wt%-92wt%、89wt%-91.5wt%、89wt%-91wt%、89wt%-90.5wt%、89wt%-90wt%、89.5wt%-92.5wt%、89.5wt%-92wt%、89.5wt%-91.5wt%、89.5wt%-91wt%、或89.5wt%-90.5wt%仅在位置1和6处连接的葡萄糖。

[0112] 在一些方面,右旋糖酐醚化合物可以包含约0.1wt%、0.2wt%、0.3wt%、0.4wt%、0.5wt%、0.6wt%、0.7wt%、0.8wt%、0.9wt%、1.0wt%、1.1wt%、或1.2wt%仅在位置1和3处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约0.1wt%-1.2wt%、0.1wt%-1.0wt%、0.1wt%-0.8wt%、0.3wt%-1.2wt%、0.3wt%-1.0wt%、0.3wt%-0.8wt%、0.4wt%-1.2wt%、0.4wt%-1.0wt%、0.4wt%-0.8wt%、0.5wt%-1.2wt%、0.5wt%-1.0wt%、0.5wt%-0.8wt%、0.6wt%-1.2wt%、0.6wt%-1.0wt%、或0.6wt%-0.8wt%仅在位置1和3处连接的葡萄糖。

[0113] 在一些方面,右旋糖酐醚化合物可以包含约0.1wt%、0.2wt%、0.3wt%、0.4wt%、

0.5wt%、0.6wt%、或0.7wt%仅在位置1和4处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约0.1wt%-0.7wt%、0.1wt%-0.6wt%、0.1wt%-0.5wt%、0.1wt%-0.4wt%、0.2wt%-0.7wt%、0.2wt%-0.6wt%、0.2wt%-0.5wt%、0.2wt%-0.4wt%、0.3wt%-0.7wt%、0.3wt%-0.6wt%、0.3wt%-0.5wt%、或0.3wt%-0.4wt%仅在位置1和4处连接的葡萄糖。

[0114] 在一些方面,右旋糖酐醚化合物可以包含约7.7wt%、7.8wt%、7.9wt%、8.0wt%、8.1wt%、8.2wt%、8.3wt%、8.4wt%、8.5wt%、或8.6wt%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约7.7wt%-8.6wt%、7.7wt%-8.5wt%、7.7wt%-8.4wt%、7.7wt%-8.3wt%、7.7wt%-8.2wt%、7.8wt%-8.6wt%、7.8wt%-8.5wt%、7.8wt%-8.4wt%、7.8wt%-8.3wt%、7.8wt%-8.2wt%、7.9wt%-8.6wt%、7.9wt%-8.5wt%、7.9wt%-8.4wt%、7.9wt%-8.3wt%、7.9wt%-8.2wt%、8.0wt%-8.6wt%、8.0wt%-8.5wt%、8.0wt%-8.4wt%、8.0wt%-8.3wt%、8.0wt%-8.2wt%、8.1wt%-8.6wt%、8.1wt%-8.5wt%、8.1wt%-8.1wt%、8.1wt%-8.3wt%、或8.1wt%-8.2wt%的仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖。

[0115] 在一些方面,右旋糖酐醚化合物可以包含约0.4wt%、0.5wt%、0.6wt%、0.7wt%、0.8wt%、0.9wt%、1.0wt%、1.1wt%、1.2wt%、1.3wt%、1.4wt%、1.5wt%、1.6wt%、或1.7wt%仅在(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约0.4wt%-1.7wt%、0.4wt%-1.6wt%、0.4wt%-1.5wt%、0.4wt%-1.4wt%、0.4wt%-1.3wt%、0.5wt%-1.7wt%、0.5wt%-1.6wt%、0.5wt%-1.5wt%、0.5wt%-1.4wt%、0.5wt%-1.3wt%、0.6wt%-1.7wt%、0.6wt%-1.6wt%、0.6wt%-1.5wt%、0.6wt%-1.4wt%、0.6wt%-1.3wt%、0.7wt%-1.7wt%、0.7wt%-1.6wt%、0.7wt%-1.5wt%、0.7wt%-1.4wt%、0.7wt%-1.3wt%、0.8wt%-1.7wt%、0.8wt%-1.6wt%、0.8wt%-1.5wt%、0.8wt%-1.4wt%、0.8wt%-1.3wt%的仅在(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6处连接的葡萄糖。

[0116] 本文的右旋糖酐醚化合物的糖苷键谱图可以基于用于生产醚化合物的右旋糖酐的键谱图。这种右旋糖酐的键谱图可以按照本文披露的任何方案来确定。合适的键确定方案的实例可以与实例9中披露的方案类似或相同:例如,将已经通过在约70-90°C(例如80°C)下将反应加热约5-30分钟(例如10分钟)而失活的0768 gtf酶反应放入具有12-14kDa的MWC0的透析管(例如,用再生纤维素制成)(例如, **Spectra/Por[®]** 4透析管,料号132706,光谱实验室公司(Spectrum Laboratories, Inc.))。然后,经过约4-10天(例如7天),在约20-25°C(室温)下将失活的反应相对于大量的水(例如3-5L)透析;在透析过程中这种水可以每天更换。然后,该右旋糖酐产物(i)通过将透析的失活反应与约1-2x(1.5x)反应体积的100%甲醇混合来沉淀,(ii)使用相同体积的100%甲醇洗涤至少两次,并且(iii)在约40-50°C(例如45°C)(任选地在真空下)干燥。将可溶解量的干右旋糖酐溶解在二甲亚砜(DMSO)或DMSO/5%LiCl中,其后所有游离羟基基团被甲基化(例如通过依次添加NaOH/DMSO浆液,随后是碘甲烷)。然后将甲基化右旋糖酐萃取出(例如,在二氯甲烷中),并在约110-125°C(例如120°C)下用三氟乙酸(TFA)水溶液水解成单体单元。然后蒸发TFA,并且使用硼氢化钠进行还原性开环。然后,通过水解配糖键产生的羟基基团在约40-60°C(例如50°C)的温度下通过用乙酰氯和TFA处理来乙酰化。接下来,将衍生化试剂蒸发,得到的甲基化/乙酰化单体在

乙腈中重构;然后通过GC/MS使用合适的柱(例如,双氰基丙基氰基丙基苯基聚硅氧烷)分析该制备物。甲基和乙酰基官能团的相对位置使得物质具有不同的保留时间指数和可与公开的数据库进行比较的质谱。以这种方式,单体单元的衍生物表明每个单体最初如何连接在右旋糖酐聚合物中。

[0117] 据信本文的右旋糖酐醚化合物具有与用于生产醚化合物的右旋糖酐相同或相似的结构。预期用于生产本文的右旋糖酐醚化合物的右旋糖酐具有分支结构,其中存在彼此迭代分支的长链(主要包括或全部为 α -1,6-键)(例如,长链可以是来自另一个长链的分支,其反过来可以本身是来自另一个长链的分支,等等)。支链结构还可以包含来自长链的短分枝;这些短链被认为主要包括例如 α -1,3键和-1,4键。右旋糖酐中的分支点,无论是来自从长链分支的另一个长链还是从长链分支的短链,似乎包含没有 α -1,3键、-1,4键或-1,2键而涉及 α -1,6键的葡萄糖。在一些实施例中,平均来说,右旋糖酐的所有分支点的约20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、15-35%、15-30%、15-25%、15-20%、20-35%、20-30%、20-25%、25-35%、或25-30%分支成长链。大多数(>98%或99%)或所有其他分支点分支成短链。

[0118] 在一些方面,右旋糖酐分支结构的长链的长度可以相似。长度相似,这意味着分支结构中所有长链的至少70%、75%、80%、85%、或90%的长度(DP)是在分支结构的所有长链的平均长度的正/负15%(或10%、5%)之内。在一些方面,长链的平均长度(平均长度)为约10-50DP(即,10-50个葡萄糖单体)。例如,长链的平均个体长度可以是约10、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、10-50、10-40、10-30、10-25、10-20、15-50、15-40、15-30、15-25、15-20、20-50、20-40、20-30、或20-25DP。

[0119] 在某些实施例中,右旋糖酐长链可以主要包含 α -1,6-糖苷键和少量(少于2.0%) α -1,3-糖苷键和/或 α -1,4-糖苷键。例如,右旋糖酐长链可以包含约或至少约98%、98.25%、98.5%、98.75%、99%、99.25%、99.5%、99.75%、或99.9%的 α -1,6-糖苷键。在某些实施例中,右旋糖酐长链不包含 α -1,4-糖苷键(即,这样的长链主要具有 α -1,6键和少量的 α -1,3键)。相反,在一些实施例中,右旋糖酐长链不包含 α -1,3-糖苷键(即,这样的长链主要具有 α -1,6键和少量的 α -1,4键)。上述实施例的任何右旋糖酐长链可以进一步不包括例如 α -1,2-糖苷键。仍然在一些方面,右旋糖酐长链可以包含100%的 α -1,6-糖苷键(除了被这样的长链用于从另一个链分支的键)。

[0120] 在一些方面,右旋糖酐的短链的长度为一至三个葡萄糖单体,并且包含少于右旋糖酐聚合物的所有葡萄糖单体的约5%-10%。本文中至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或全部的短链的长度为1-3个葡萄糖单体。右旋糖酐的短链可以包含例如少于右旋糖酐的全部葡萄糖单体的约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、或1%。

[0121] 在一些方面,右旋糖酐的短链可以包含 α -1,2-糖苷键、 α -1,3-糖苷键和/或 α -1,4-糖苷键。短链,当全部一起(不是单独)被考虑时,可以包括例如(i)这些键中的全部三个,或(ii) α -1,3-糖苷键和 α -1,4-糖苷键。据信,本文的右旋糖酐的短链相对于右旋糖酐的其他短链可以是异质的(即,显示键谱图的一些变化)或同质的(即,共享相似或相同的键谱图)。

[0122] 据信上述关于右旋糖酐的键和分支谱图的披露内容同样或类似地适用于本文的右旋糖酐醚化合物的键和分支谱图,因为这种醚化合物可以衍生自上述披露的右旋糖酐。

[0123] 在某些实施例中,右旋糖酐醚化合物可以具有约或至少约50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、或200百万(或在5000万至2亿之间的任何整数)(或在这些值中的两个之间的任何范围)的Mw。右旋糖酐醚化合物的Mw可以为例如约50-200、60-200、70-200、80-200、90-200、100-200、110-200、120-200、50-180、60-180、70-180、80-180、90-180、100-180、110-180、120-180、50-160、60-160、70-160、80-160、90-160、100-160、110-160、120-160、50-140、60-140、70-140、80-140、90-140、100-140、110-140、120-140、50-120、60-120、70-120、80-120、90-120、100-120、110-120、50-110、60-110、70-110、80-110、90-110、100-110、50-100、60-100、70-100、80-100、90-100、或95-105百万。在一些方面,用于制备本文的右旋糖酐醚化合物的右旋糖酐具有本文披露的Mw。

[0124] 在某些实施例中,右旋糖酐醚化合物可以衍生自具有约200-280nm的z-平均回转半径(Rg)的右旋糖酐。例如,z-平均Rg可以是约200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、或280nm(或在200-280nm之间的任何整数)。作为其他实例,z-平均Rg可以为约200-280、200-270、200-260、200-250、200-240、200-230、220-280、220-270、220-260、220-250、220-240、220-230、230-280、230-270、230-260、230-250、230-240、240-280、240-270、240-260、240-250、250-280、250-270、或250-260nm。

[0125] 在一些方面,用于衍生右旋糖酐醚化合物的右旋糖酐的Mw和/或z-平均Rg可以按照与实例9中披露的方案类似或相同的方案来测量。例如,本文的Mw和/或z-平均Rg可以通过首先将由0768 gtf产生的右旋糖酐以0.4-0.6mg/mL(例如约0.5mg/mL)溶解在具有150-250ppm(例如约200ppm)NaN₃的0.05-1.0M(例如约0.075M)的三(羟甲基)氨基甲烷缓冲液中。干右旋糖酐的溶解可以通过在45-55°C(例如约50°C)下振摇12-18小时来实现。所得到的右旋糖酐溶液可以进入合适的流动注射色谱装置,该装置包括与三台在线检测器相联接的分离模块(例如,来自马萨诸塞州米尔福德的沃特斯公司(Waters Corporation, Milford, MA)的厄莱恩斯(Alliance)TM2695分离模块),该在线检测器为:差示折光计(例如沃特斯2414折射率检测器)、配备有准弹性光散射(QELS)检测器(例如,来自加利福尼亚州圣巴巴拉市的怀亚特技术公司(Wyatt Technologies, Santa Barbara, CA)的QELS检测器)的多角光散射(MALS)光度计(例如,HeleosTM-2 18-角多角MALS光度计)、和差示毛细管粘度计(例如,来自怀亚特的ViscoStarTM差示毛细管粘度计)。两种合适的尺寸排阻柱(例如,来自加利福尼亚州圣克拉拉市的安捷伦科技公司(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)的AQUAGEL-OH GUARD柱)可用于将右旋糖酐聚合物峰与注射峰分离,其中流动相可以与样品溶剂(上文)相同,流速可以为约0.2mL/min,注射体积可以为约0.1mL,并且柱温可以为约30°C。适合的软件可以用于数据采集(例如,来自沃特斯的EmpowerTM版本3软件)和用于多重检测器数据缩减(来自怀亚特的AstraTM版本6软件)。MALS数据可以提供重均分子量(Mw)和z-平均回转半径(Rg),并且QELS数据可以提供例如z-平均流体动力学半径。

[0126] 可以衍生本文的右旋糖酐醚化合物的右旋糖酐可以是葡萄糖基转移酶的产物,该葡萄糖基转移酶包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13、或SEQ ID NO:17具有100%同一性或至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的氨基酸序列或由其组成(并且具有gtf活性)。包含SEQ ID NO:1(或相关序列)的葡萄糖基转移酶的非限制性实例包括含有与SEQ ID NO:2具有100%同一

性或至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的氨基酸序列或由其组成(并且具有gtf活性)的葡萄糖基转移酶。例如,如本文所披露的,可以使用gtf反应来实现右旋糖酐的生产。可以任选地将在马上详细描述的说 明书中披露的右旋糖酐(例如分子量、键和分支谱图)表征为包含SEQ ID NO:1或2(或其具有至少90%同一性的相关序列[上文])或由其组成的葡萄糖基转移酶的产物。在一些其他方面中,葡萄糖基转移酶包含与SEQ ID NO:6、10、14、或18编码的氨基酸序列的分泌部分(即去除的信号肽)具有100%同一性或具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0127] 本文的葡萄糖基转移酶可以来自各种微生物来源,例如细菌或真菌。细菌葡萄糖基转移酶的实例是衍生自链球菌属物种、明串珠菌属物种、乳杆菌属物种或魏斯氏菌属(*Weissella*)物种的那些。链球菌属物种的实例包括表兄链球菌、汗毛链球菌、唾液链球菌(*S. salivarius*)、牙链球菌(*S. dentirosetti*)、变异链球菌(*S. mutans*)、口腔链球菌(*S. oralis*)、解没食子酸链球菌(*S. gallolyticus*)、和血链球菌(*S. sanguinis*)。明串珠菌属物种的实例包括假肠膜明串珠菌(*L. pseudomesenteroides*)、阿米巴氏明串珠菌(*L. amelibiosum*)、阿根廷明串珠菌(*L. argentinum*)、肉明串珠菌(*L. carnosum*)、柠檬明串珠菌(*L. citreum*)、乳脂明串珠菌(*L. cremoris*)、葡聚糖明串珠菌(*L. dextranicum*)和果糖明串珠菌(*L. fructosum*)。乳杆菌属物种的实例包括发酵乳杆菌、嗜酸乳杆菌、德氏乳杆菌(*L. delbrueckii*)、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)、唾液乳杆菌(*L. salivarius*)、干酪乳杆菌(*L. casei*)、弯曲乳杆菌(*L. curvatus*)、植物乳杆菌(*L. plantarum*)、清酒乳杆菌(*L. sakei*)、短乳杆菌(*L. brevis*)、布赫内氏乳杆菌(*L. buchneri*)和罗伊乳杆菌(*L. reuteri*)。魏斯氏菌属物种的实例包括食窦魏斯氏菌(*W. cibaria*)、融合魏斯氏菌(*W. confusa*)、耐盐魏斯氏菌(*W. halotolerans*)、赫伦魏斯氏菌(*W. hellenica*)、坎氏魏斯氏菌(*W. kandleri*)、泡菜魏斯氏菌(*W. kimchii*)、高丽魏斯氏菌(*W. koreensis*)、微小魏斯氏菌(*W. minor*)、类肠膜魏斯氏菌(*W. paramesenteroides*)、土壤魏斯氏菌(*W. soli*)和泰国魏斯氏菌(*W. thailandensis*)。在一些方面,葡萄糖基转移酶不是来自肠膜明串珠菌(*L. mesenteroides*);因此 在一些方面,用于生产右旋糖酐醚化化合物的右旋糖酐不是肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)葡萄糖基转移酶的产物。

[0128] 本文的葡萄糖基转移酶的实例可以是本文披露的任何氨基酸序列,并且进一步包括在N-末端和/或C-末端的1-300个(或其在[例如,10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、或50个]之间的任何整数个)残基。这样的另外的残基可以来自衍生出葡萄糖基转移酶的相应的野生型序列,或可以是异源序列例如像表位标签(在N-或C-末端)或异源信号肽(在N-末端)。

[0129] 典型地,用于生产本文的右旋糖酐的葡萄糖基转移酶是缺乏N-末端信号肽的成熟形式。用于生产本文的成熟的葡萄糖基转移酶的表达系统可以使用编码酶的多核苷酸,该多核苷酸进一步包含编码N-末端信号肽的序列以指导细胞外分泌。在这样的实施例中,将信号肽在分泌过程中从酶上切割。信号肽可以是天然或异源的葡萄糖基转移酶。可用于本文的信号肽的实例是来自细菌(例如芽孢杆菌属物种例如枯草芽孢杆菌)或真菌物种的信号肽。细菌信号肽的实例是aprE信号肽,例如来自芽孢杆菌属(例如枯草芽孢杆菌,参见Vogtentanz等人,蛋白质表达与纯化(*Protein Expr. Purif.*) 55:40-52,其通过引用结合在

此)的信号肽。

[0130] SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:17是缺乏N-末端信号肽的成熟葡萄糖基转移酶的实例。由于这些和相关的氨基酸序列不以甲硫氨酸残基开始,所以应当理解,如果不使用信号肽表达任何这些酶(例如使用其中酶在细胞内表达并从细胞裂解物中获得的表达系统),N-末端起始的甲硫氨酸优选添加被到序列中(直接或经由插入的异源氨基酸序列例如表位)。

[0131] 在某些实施例中,葡萄糖基转移酶可以通过本领域已知的任何手段生产。例如,可以在异源表达系统例如微生物异源表达系统中重组生产葡萄糖基转移酶。异源表达系统的实例包括细菌(例如大肠杆菌例如TOP10、MG1655或BL21 DE3;芽孢杆菌属物种例如枯草芽孢杆菌)和真核生物(例如,酵母,例如毕赤酵母属物种和酵母属物种)表达系统。

[0132] 本文披露的葡萄糖基转移酶能以任何纯化状态(例如,纯的或非纯的)使用。例如,葡萄糖基转移酶可以在其使用之前被纯化和/或分离。不纯的葡萄糖基转移酶的实例包括处于细胞裂解物形式的那些。可以从用于异源表达酶的细菌(例如,大肠杆菌)制备细胞裂解物或提取物。例如,可以使用弗氏压碎器使细菌经受破裂。在可替代的实施例中,细菌可以用均化器(例如APV、兰尼(Rannie)、戈兰(Gaulin))均化。典型地,葡萄糖基转移酶可溶于这些类型的制剂。本文的细菌细胞裂解物、提取物或匀浆物能以约0.15%-0.3%(v/v)用于从蔗糖生产右旋糖酐的反应中。

[0133] 本文的葡萄糖基转移酶的活性可以使用本领域已知的任何方法确定。例如,葡萄糖基转移酶活性可以通过测量在包含蔗糖(约50g/L)、右旋糖酐T10(约1mg/mL)和磷酸钾缓冲液(约pH 6.5,50mM)的反应中还原糖(果糖和葡萄糖)的产生来测定,其中溶液在约22-25℃下保持约24-30小时。可以通过向含有约1N NaOH和约0.1%三苯基四氮唑氯化物的混合物中添加0.01mL的反应物,然后监测在OD_{480nm}下持续约5分钟吸光度的增加来测量还原糖。而且,例如,本文的酶例如gtf 0768(包含SEQ ID NO:1)的单位可以被定义为在26℃、pH 6.5下并且在100g/L蔗糖下在1小时内消耗1g蔗糖所需的酶量。

[0134] 本文中的右旋糖酐醚化合物可以衍生自右旋糖酐,该右旋糖酐是包含在葡萄糖基转移酶反应中的葡萄糖基转移酶的产物。如果需要,可以控制本文的gtf反应的温度。在某些实施例中,温度在约5℃至约50℃之间。在某些其他实施例中,温度在约20℃至约40℃之间。可替代地,温度可以是约20℃、21℃、22℃、23℃、24℃、25℃、26℃、27℃、28℃、29℃、30℃、31℃、32℃、33℃、34℃、35℃、36℃、37℃、38℃、39℃、或40℃。本文中可以使用本领域已知的各种手段来维持本文的gtf反应的温度。例如,可以通过将含有反应物的容器放置在设定在所希望的温度的空气或水浴培养箱中来维持温度。

[0135] 蔗糖在本文的gtf反应中的初始浓度可以为约20g/L至900g/L、20g/L至400g/L、75g/L至175g/L、或50g/L至150g/L。例如,蔗糖的初始浓度可以为约20g/L、30g/L、40g/L、50g/L、60g/L、70g/L、80g/L、90g/L、100g/L、110g/L、120g/L、130g/L、140g/L、150g/L、160g/L、200g/L、300g/L、400g/L、500g/L、600g/L、700g/L、800g/L、900g/L、50-150g/L、75-125g/L、90-110g/L、50-500g/L、100-500g/L、200-500g/L、300-500g/L、400-500g/L、50-400g/L、100-400g/L、200-400g/L、300-400g/L、50-300g/L、100-300g/L、200-300g/L、50-200g/L、100-200g/L、或50-100g/L(或在20g/L和900g/L之间的任何整数)。“蔗糖的初始浓度”是指刚刚在已经添加所有反应组分(至少水、蔗糖、gtf酶)之后在gtf反应中的蔗糖浓度。

[0136] 在某些实施例中,gtf反应的pH可以在约4.0至约8.0之间。可替代地,pH可以为约4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、或8.0。可以通过添加或掺入合适的缓冲液来调节或控制pH,包括但不限于:磷酸盐、Tris、柠檬酸盐或其组合。gtf反应中的缓冲液浓度可以为例如从0mM至约100mM、或约10mM、20mM或50mM。

[0137] 任选地,可以经由例如搅拌或轨道振摇来搅拌本文的gtf反应。这样的搅拌可以为例如约50rpm、60rpm、70rpm、80rpm、90rpm、100rpm、110rpm、120rpm、130rpm、140rpm、150rpm、50-150rpm、60-140rpm、70-130rpm、80-120rpm、或90-110rpm。

[0138] gtf酶在反应中的浓度可以为例如至少约15U/L、20U/L、25U/L、30U/L、35U/L、或40U/L。在一些方面中,可以使用15-35U/L、15-30U/L、15-25U/L、20-35U/L、20-30U/L、20-25U/L、25-35U/L、25-30U/L、或30-35U/L的葡萄糖基转移酶。

[0139] 本文的gtf反应可花费约2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、18、24、30、36、48、60、72、84、96、18-30、20-28、或22-26小时来完成。反应时间可以取决于例如某些参数,如反应中使用的蔗糖和gtf酶的量。

[0140] 因此,可以组合所有本文中限定葡萄糖基转移酶反应的特征。仅作为实例,使用0768 gtf(包含SEQ ID NO:1或其相关序列)的反应最初可以包含90-110g/L(例如约100g/L)蔗糖、10-30mM(例如约20mM)磷酸钠缓冲液(pH 6.0-7.0(例如约pH 6.5))、以及20-30U/L(例如约25U/L)酶。这样的反应可以在24-28℃(例如约26℃)下以50-150rpm(例如约100rpm)振摇保持约20-28小时(例如约24小时)。

[0141] 仍然在另外的实施例中,可以使用如在以下实例中所披露的用于进行gtf反应的条件来制备可以衍生本文的右旋糖酐醚化化合物的右旋糖酐。

[0142] 如本文披露的右旋糖酐醚化化合物的用有机基团的取代度(DoS)可以为约0.0025至约3.0。可替代地,DoS可以为约或至少约0.0025、0.005、0.01、0.025、0.05、0.075、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、或3.0。

[0143] 本文中的与有机基团醚连接的右旋糖酐醚化化合物的单糖单元(即,其中单糖单体单元的一个或多个羟基已经被有机基团醚化)的百分比可以根据在醚化反应中本文中的右旋糖酐被有机基团醚化的程度而变化。该百分比可以是例如至少约30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%(或在30%与100%之间的任何整数值)。

[0144] 应当理解的是,取决于右旋糖酐醚化化合物的葡萄糖单体单元所涉及的配糖键,葡萄糖单体单元的某些碳原子可以独立地与OH基团连接或与有机基团处于醚连接。

[0145] 目前披露的右旋糖酐醚化合物包含与右旋糖酐聚合物醚连接的一个或多个有机基团。本文披露的任何醚化合物可以衍生自如本文披露的右旋糖酐。

[0146] 本文的有机基团可以是烷基,例如像甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基或癸基。

[0147] 可替代地,有机基团可以是在烷基的一个或多个碳上具有取代的取代的烷基。该一个或多个取代基可以是一个或多个羟基、醛、酮和/或羧基。例如,取代的烷基可以是羟烷基、二羟烷基或羧烷基。

[0148] 合适的羟烷基的实例是羟甲基(-CH₂OH)、羟乙基(例如,-CH₂CH₂OH、-CH(OH)CH₃)、羟丙基(例如,-CH₂CH₂CH₂OH、-CH₂CH(OH)CH₃、-CH(OH)CH₂CH₃)、羟丁基和羟戊基。其他实例包

括二羟烷基(二醇),例如二羟甲基、二羟乙基(例如, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$)、二羟丙基(例如, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$)、二羟丁基和二羟戊基。

[0149] 合适的羧烷基的实例是羧甲基($-\text{CH}_2\text{COOH}$)、羧乙基(例如, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}(\text{COOH})\text{CH}_3$)、羧丙基(例如, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{COOH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_3$)、羧丁基和羧戊基。

[0150] 仍然可替代地,烷基的一个或多个碳可以具有用另一个烷基进行的一个或多个取代。此类取代基烷基的实例是甲基、乙基和丙基。为了说明,有机基团可以是 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$,例如,这二者都是具有甲基取代的丙基。

[0151] 如从各种取代的烷基的上述实例应清楚的,在某些实施例中,烷基上的取代(例如羟基或羧基)可以键合到该烷基的末端碳原子上,其中该末端碳基团与和右旋糖酐醚化合物中的单体单元(单糖单元)处于醚连接的末端相反。该末端取代的实例是羟丙基 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。可替代地,取代可以在烷基的内部碳原子上。内部取代的实例是羟丙基 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 。烷基可以具有一个或多个取代,这些取代可以是相同的(例如,两个羟基[二羟基])或不同的(例如,羟基和羧基)。

[0152] 在某些实施例中,本文披露的右旋糖酐醚化合物可以含有一种类型的有机基团。此类化合物的实例包含羧烷基作为有机基团(一般来说,羧烷基右旋糖酐)。这种化合物的具体非限制性实例是羧甲基右旋糖酐。其他实例包括含有烷基作为有机基团的右旋糖酐醚化合物(一般来说,烷基右旋糖酐)。这种化合物的具体非限制性实例是甲基右旋糖酐。其他实例包括含有二羟烷基作为有机基团的右旋糖酐醚化合物(一般来说,二羟烷基右旋糖酐)。这种化合物的具体非限制性实例是二羟丙基右旋糖酐。

[0153] 可替代地,本文披露的右旋糖酐醚化合物可以含有两种或更多种不同类型的有机基团。此类化合物的实例包含(i)两个不同的烷基作为有机基团,(ii)烷基和羟烷基作为有机基团(一般来说,烷基羟烷基右旋糖酐),(iii)烷基和羧烷基作为有机基团(一般来说,烷基羧烷基右旋糖酐),(iv)羟烷基和羧烷基作为有机基团(一般来说,羟烷基羧烷基右旋糖酐),(v)两个不同的羟烷基作为有机基团,或(vi)两个不同的羧烷基作为有机基团。此类化合物的具体非限制性实例包括乙基羟乙基右旋糖酐、羟烷基甲基右旋糖酐、羧甲基羟乙基右旋糖酐和羧甲基羟丙基右旋糖酐。

[0154] 例如,本文的右旋糖酐醚化合物可以包含至少一种非离子有机基团和至少一种阴离子基团。作为另一个实例,本文的右旋糖酐醚化合物可以包含至少一种非离子有机基团和至少一种带正电荷的有机基团。

[0155] 在一些方面,本文的有机基团可以可替代地为带正电荷的有机基团。例如,本文的带正电荷的基团可以是取代的铵基团。取代的铵基团的实例是伯、仲、叔和季铵基团。结构I描绘了伯、仲、叔或季铵基团,这取决于结构I中的 R_2 、 R_3 和 R_4 的组成。结构I中的 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地表示氢原子或烷基、芳基、环烷基、芳烷基或烷芳基。可替代地, R_2 、 R_3 和 R_4 各自可以独立地表示氢原子或烷基。烷基可以是例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基或癸基。其中 R_2 、 R_3 和 R_4 中的两个或三个是烷基,它们可以是相同或不同的烷基。

[0156] 本文中的“伯铵右旋糖酐醚化合物”可以包含具有铵基团的带正电荷的有机基团。在该实例中,该带正电荷的有机基团包括其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是氢原子的结构I。当 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是氢原子时,这种带正电荷的有机基团的非限制性实例由结构II表示。伯铵右旋糖酐醚化合物的实例可以简短地表示为铵右旋糖酐醚。应当理解的是,在上述命名法中“伯”所

暗指的第一个成员(即, R_1)是与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接的带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链。

[0157] 本文中的“仲铵右旋糖酐醚化合物”可以包含例如具有单烷基铵基团的带正电荷的有机基团。在该实例中,该带正电荷的有机基团包括其中 R_2 和 R_3 各自是氢原子并且 R_4 是烷基的结构I。当 R_2 和 R_3 各自是氢原子并且 R_4 是烷基时,这种带正电荷的有机基团的非限制性实例由结构II表示。仲铵右旋糖酐醚化合物的实例可以在本文中简短地表示为单烷基铵右旋糖酐醚(例如,单甲基-、单乙基-、单丙基-、单丁基-、单戊基-、单己基-、单庚基-、单辛基-、单壬基-、或单癸基-铵右旋糖酐醚)。应当理解的是,在上述命名法中“仲”所暗指的第二个成员(即, R_1)是与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接的带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链。

[0158] 本文中的“叔铵右旋糖酐醚化合物”可以包含例如具有二烷基铵基团的带正电荷的有机基团。在该实例中,该带正电荷的有机基团包括其中 R_2 是氢原子并且 R_3 和 R_4 各自是烷基的结构I。当 R_2 是氢原子并且 R_3 和 R_4 各自是烷基时,这种带正电荷的有机基团的非限制性实例由结构II表示。叔铵右旋糖酐醚化合物的实例可以简短地表示为二烷基铵右旋糖酐醚(例如,二甲基-、二乙基-、二丙基-、二丁基-、二戊基-、二己基-、二庚基-、二辛基-、二壬基-或二癸基-铵右旋糖酐醚)。应当理解的是,在上述命名法中“叔”所暗指的第三个成员(即, R_1)是与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接的带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链。

[0159] 本文中的“季铵右旋糖酐醚化合物”可以包含例如具有三烷基铵基团的带正电荷的有机基团。在该实例中,该带正电荷的有机基团包括其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是烷基的结构I。当 R_2 、 R_3 和 R_4 各自是烷基时,这种带正电荷的有机基团的非限制性实例由结构II表示。季铵右旋糖酐醚化合物的实例可以简短地表示为三烷基铵右旋糖酐(例如,三甲基-、三乙基-、三丙基-、三丁基-、三戊基-、三己基-、三庚基-、三辛基-、三壬基-或三癸基-铵右旋糖酐醚)。应当理解的是,在上述命名法中“季”所暗指的第四个成员(即, R_1)是与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接的带正电荷的有机基团的一个或多个碳的链。

[0160] 当 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地表示氢原子;烷基如甲基、乙基或丙基;芳基如苯基或萘基;芳烷基如苄基;烷芳基;或环烷基时,可用作本文中的带正电荷的基团的取代的铵基团的另外的非限制性实例在结构I中表示。 R_2 、 R_3 和 R_4 各自可以进一步包含例如氨基或羟基。

[0161] 由结构I表示的取代的铵基中的氮原子键合至包含在带正电荷的有机基团中的一个或多个碳的链上。一个或多个碳的此链(“碳链”)与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接,并且除了用取代的铵基团的氮原子进行的取代之外,还可以具有一个或多个取代。碳链中可以存在例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个碳。为了说明,结构II的碳链的长度为3个碳原子。

[0162] 除了用带正电荷的基团进行的取代之外不具有取代的带正电荷的有机基团的碳链的实例包括 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。在这些实例的每一个中,该链的第一个碳原子与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接,并且该链的最后一个碳原子与带正电荷的基团连接。在该带正电荷的基团为取代的铵基的情况下,这些实例的每一个中的链的最后一个碳原子由结构I中的C表示。

[0163] 当带正电荷的有机基团的碳链具有除了用带正电荷的基团进行的取代之外的取

代时,这种额外的取代可以用一个或多个羟基、氧原子(从而形成醛或酮基)、烷基(例如,甲基、乙基、丙基、丁基)、和/或额外的带正电荷的基团。带正电荷的基团通常键合至碳链的末端碳原子上。

[0164] 具有一个或多个用羟基进行的取代的带正电荷的有机基团的碳链的实例包括羟烷基(例如,羟乙基、羟丙基、羟丁基、羟戊基)和二羟烷基(例如,二羟乙基、二羟丙基、二羟丁基、二羟戊基)。羟烷基和二羟烷基(二醇)碳链的实例包括 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{OH})_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 。在这些实例的每一个中,该链的第一个碳原子与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接,并且该链的最后一个碳原子与带正电荷的基团连接。在该带正电荷的基团为取代的铵基的情况下,这些实例的每一个中的链的最后一个碳原子由结构I中的C表示。

[0165] 具有一个或多个用烷基进行的取代的带正电荷的有机基团的碳链的实例包括具有一个或多个取代基甲基、乙基和/或丙基的链。甲基烷基的实例包括 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$,这二者都是具有甲基取代的丙基。在这些实例的每一个中,该链的第一个碳原子与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接,并且该链的最后一个碳原子与带正电荷的基团连接。在该带正电荷的基团为取代的铵基的情况下,这些实例的每一个中的链的最后一个碳原子由结构I中的C表示。

[0166] 在某些实施例中,本文披露的右旋糖酐醚化合物可以含有一种类型的带正电荷的有机基团。例如,与醚化合物的右旋糖酐组分的单糖单元醚连接的一个或多个带正电荷的有机基团可以是三甲基铵羟丙基(结构II)。可替代地,本文披露的右旋糖酐醚化合物可以含有两种或更多种不同类型的带正电荷的有机基团。

[0167] 例如,本文的具有至少一种阳离子基团的右旋糖酐醚化合物可以进一步包含至少一种非离子有机基团和/或至少一种阴离子基团。作为另一个实例,本文的右旋糖酐醚化合物可以包含至少一种非离子有机基团和至少一种带正电荷的有机基团。

[0168] 包含本文的右旋糖酐醚化合物的组合物可以是非水性的(例如干组合物)。这样的实施例的实例包括粉末、颗粒、微胶囊、薄片或任何其他形式的颗粒物质。其他实例包括更大的组合物,例如球粒、棒、核、珠粒、片剂、条棍或其他附聚物。本文的非水性组合物或干组合物典型地在其中包含有少于3wt%、2wt%、1wt%、0.5wt%、或0.1wt%的水。例如,非水性组合物或干组合物中的本文的右旋糖酐醚化合物的量可以是约或至少约1wt%、2wt%、3wt%、4wt%、5wt%、6wt%、7wt%、8wt%、9wt%、10wt%、11wt%、12wt%、13wt%、14wt%、15wt%、16wt%、17wt%、18wt%、19wt%、20wt%、21wt%、22wt%、23wt%、24wt%、25wt%、26wt%、27wt%、28wt%、29wt%、30wt%、31wt%、32wt%、33wt%、34wt%、35wt%、36wt%、37wt%、38wt%、39wt%、40wt%、41wt%、42wt%、43wt%、44wt%、45wt%、46wt%、47wt%、48wt%、49wt%、50wt%、51wt%、52wt%、53wt%、55wt%、56wt%、57wt%、58wt%、59wt%、60wt%、61wt%、62wt%、63wt%、64wt%、65wt%、66wt%、67wt%、68wt%、69wt%、70wt%、71wt%、72wt%、73wt%、74wt%、75wt%、76wt%、77wt%、78wt%、79wt%、80wt%、81wt%、82wt%、83wt%、84wt%、85wt%、86wt%、87wt%、88wt%、89wt%、90wt%、91wt%、92wt%、93wt%、94wt%、95wt%、96wt%、97wt%、98wt%、99wt%、99.5wt%、或99.9wt%。例如,本

文的非水性组合物可以呈家用产品、个人护理产品、药物产品、工业产品或食物产品的形式。例如,本文的非水性组合物可以呈家用产品、个人护理产品、药物产品、工业产品或食物产品的形式。

[0169] 在本披露的某些实施例中,包含右旋糖酐醚化化合物的组合物可以是粘度为约或至少约3cPs的水性组合物。可替代地,例如,本文的这种水性组合物可以具有的粘度为约或至少约4cPs、5cPs、10cPs、25cPs、50cPs、75cPs、100cPs、250cPs、500cPs、750cPs、1000cPs、2000cPs、3000cPs、4000cPs、5000cPs、6000cPs、7000cPs、8000cPs、9000cPs、10000cPs、11000cPs、12000cPs、13000cPs、14000cPs、15000cPs、16000cPs、17000cPs、18000cPs、19000cPs、20000cPs、25000cPs、30000cPs、35000cPs、40000cPs、45000cPs、或50000cPs(或在3cPs和50000cPs之间的任何整数)。本文的水性组合物的实例包括水状胶体和水性溶液。

[0170] 粘度可以用本文的水性组合物在约3°C至约110°C之间(或在3°C和110°C之间的任何整数)的任何温度下测量。可替代地,粘度可以在例如在约4°C至30°C、或约20°C至25°C之间的温度下测量。粘度可以在大气压(约760托)或任何其他更高或更低的压力下测量。

[0171] 本文披露的水性组合物的粘度可以使用粘度计或流变仪或使用本领域已知的任何其他方法来测量。本领域技术人员应当理解,粘度计或流变仪可以用于测量本文的表现出流变行为(即,具有随着流动条件变化的粘度)的水性组合物的粘度。这样的实施例的粘度可以例如以约0.1rpm至1000rpm(每分钟转数)的旋转剪切速率测量。可替代地,可以在约10rpm、60rpm、150rpm、250rpm或600rpm的旋转剪切速率下测量粘度。

[0172] 在某些实施例中,可以使用合成成分右旋糖酐的水性组合物测量粘度。例如,可以测量本文中处于完成或接近完成的gtf反应的粘度。因此可以使用成分右旋糖酐是未纯化的水性组合物(例如,除了水之外,组合物中的其他组分以大于1wt%、5wt%、或10wt%存在)测量粘度;这样的组合物可以含有一种或多种盐、缓冲液、蛋白质(例如,gtf酶)、糖(例如果糖、葡萄糖、明串珠菌二糖、寡糖)。

[0173] 本文披露的水性组合物的pH可以例如在约2.0至约12.0之间。可替代地,pH可以为例如约2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0;或在5.0至约12.0之间;或在约4.0和8.0之间;或在约5.0和8.0之间。

[0174] 本文的水性组合物例如水状胶体或水性溶液可以包含具有至少约10wt%的水的溶剂。在其他实施例中,例如,溶剂为至少约20wt%、30wt%、40wt%、50wt%、60wt%、70wt%、80wt%、90wt%、或100wt%的水(或在10wt%与100wt%之间的任何整数)。

[0175] 例如,本文的右旋糖酐醚化合物能以约或至少约0.01wt%、0.05wt%、0.1wt%、0.2wt%、0.3wt%、0.4wt%、0.5wt%、0.6wt%、0.7wt%、0.8wt%、0.9wt%、1.0wt%、1.2wt%、1.4wt%、1.6wt%、1.8wt%、2.0wt%、2.5wt%、3.0wt%、3.5wt%、4.0wt%、4.5wt%、5wt%、6wt%、7wt%、8wt%、9wt%、10wt%、11wt%、12wt%、13wt%、14wt%、15wt%、16wt%、17wt%、18wt%、19wt%、20wt%、21wt%、22wt%、23wt%、24wt%、25wt%、26wt%、27wt%、28wt%、29wt%、30wt%、31wt%、32wt%、33wt%、34wt%、35wt%、36wt%、37wt%、38wt%、39wt%、40wt%、41wt%、42wt%、43wt%、44wt%、45wt%、46wt%、47wt%、48wt%、49wt%、50wt%、51wt%、52wt%、53wt%、55wt%、56wt%、57wt%、58wt%、59wt%、60wt%、61wt%、62wt%、63wt%、64wt%、65wt%、66wt%、67wt%、68wt%、69wt%、70wt%、71wt%、72wt%、73wt%、74wt%、75wt%、76wt%、77wt%、78wt%、79wt%、80wt%、81wt%、

82wt%、83wt%、84wt%、85wt%、86wt%、87wt%、88wt%、89wt%、或90wt%的wt%存在于水性组合物中。

[0176] 除了右旋糖酐醚化合物之外,本文的水性组合物可以包含其他组分。例如,水性组合物可以包含一种或多种盐,例如钠盐(例如NaCl、Na₂SO₄)。盐的其他非限制性实例包括具有(i)铝、铵、钡、钙、铬(II或III)、铜(I或II)、铁(II或III)、氢、铅(II)、锂、镁、锰(II或III)、汞(I或II)、钾、银、钠、铯、锡(II或IV)或锌阳离子,和(ii)乙酸盐、硼酸盐、溴酸盐、溴化物、碳酸盐、氯酸盐、氯化物、亚氯酸盐、铬酸盐、氰胺(cyanamide)、氰化物、重铬酸盐、磷酸二氢盐、铁氰化物、亚铁氰化物、氟化物、碳酸氢盐、磷酸氢盐、硫酸氢盐、硫化氢、亚硫酸氢盐、氢化物、氢氧化物、次氯酸盐、碘酸盐、碘化物、硝酸盐、氮化物、亚硝酸盐、草酸盐、氧化物、高氯酸盐、高锰酸盐、过氧化物、磷酸盐、磷化物、亚磷酸盐、硅酸盐、锡酸盐、亚锡酸盐、硫酸盐、硫化物、亚硫酸盐、酒石酸盐或硫氰酸盐阴离子的那些。因此,例如,具有上述(i)中的阳离子和上述(ii)中的阴离子的任何盐可以在水性组合物中。例如,盐能以约0.01至约10.00(或在0.01至10.00之间的任何百分之一增量)的wt%存在于本文的水性组合物中。

[0177] 本领域技术人员将理解,在本披露的某些实施例中,右旋糖酐醚化合物可以在水性组合物中呈阴离子形式。实例可以包括具有包含被羧基取代的烷基的有机基团的那些右旋糖酐醚化合物。羧烷基右旋糖酐醚化合物中的羧基(COOH)基团在水性条件下可以转化成羧酸根(COO⁻)基团。这样的阴离子基团可以与盐阳离子相互作用,这些盐阳离子是例如上述(i)中列出的那些中的任一种(例如,钾、钠或锂阳离子)。因此,右旋糖酐醚化合物可以是例如羧烷基右旋糖酐醚钠(例如,羧甲基右旋糖酐钠)、羧烷基右旋糖酐醚钾(例如,羧甲基右旋糖酐钾)、或羧烷基右旋糖酐醚锂(例如,羧甲基右旋糖酐锂)。

[0178] 在某些方面中,右旋糖酐醚化合物当包含在水性组合物中时是呈阳离子形式。本文的右旋糖酐醚化合物的阳离子基团可与可能存在于水性组合物中的盐阴离子相互作用。此类盐阴离子可以是例如上述(ii)中列出的那些中的任一种(例如,氯阴离子)。

[0179] 本文的组合物可以任选地含有一种或多种活性酶。合适的酶的非限制性实例包括蛋白酶、纤维素酶、半纤维素酶、过氧化物酶、脂肪分解酶(例如金属脂肪分解酶)、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶(例如芳基酯酶、聚酯酶)、过氧水解酶、角质酶、果胶酶、果胶裂解酶、甘露聚糖酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶(例如胆碱氧化酶)、酚氧化酶、脂氧合酶、木质素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、苹果酸酶(malanase)、β-葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、金属蛋白酶、阿马多里酶(amadoriase)、葡糖淀粉酶、阿拉伯呋喃糖酶、肌醇六磷酸酶、异构酶、转移酶和淀粉酶。如果包括一种或多种酶,则其能以例如约0.0001wt%-0.1wt%(例如0.01wt%-0.03wt%)的活性酶(例如,以纯酶蛋白计算)包含在本文的组合物中。

[0180] 本文的纤维素酶可以具有内切纤维素酶活性(EC 3.2.1.4)、外切纤维素酶活性(EC 3.2.1.91)或纤维二糖酶活性(EC 3.2.1.21)。本文的纤维素酶是在合适的条件下具有维持纤维素酶活性的活性的“活性纤维素酶”;确定这样的合适的条件在本领域技术范围内。除了能够降解纤维素之外,在某些实施例中,纤维素酶还可以降解纤维素醚衍生物如羧甲基纤维素。美国专利号7012053、7056880、6579840、7534759和7576048中披露了预期对纤维素酶不稳定的纤维素醚衍生物的实例。

[0181] 本文的纤维素酶可以衍生自任何微生物来源,例如细菌或真菌。包括化学修饰的纤维素酶或蛋白质工程化的突变纤维素酶。合适的纤维素酶包括但不限于来自芽孢杆菌属、假单胞菌属、链霉菌属、木霉属、腐质霉属、镰孢菌属、梭孢壳属(*Thielavia*)和支顶孢属的纤维素酶。作为其他实例,纤维素酶可以衍生自特异腐质霉(*Humicola insolens*)、嗜热毁丝霉(*Myceliophthora thermophila*)或尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*);这些和其他纤维素酶被披露在美国专利号4435307、5648263、5691178、5776757和7604974中,其全部均通过引用结合在此。示例性里氏木霉(*Trichoderma reesei*)纤维素酶披露于美国专利号4689297、5814501、5324649和国际专利申请公开号W092/06221和W092/06165中,其全部通过引用结合在此。示例性芽孢杆菌属(*Bacillus*)纤维素酶披露于美国专利号6562612中,其通过引用结合在此。纤维素酶,例如前述任何一种,优选为缺乏N-末端信号肽的成熟形式。可用于本文的可商购的纤维素酶包括纤维素酶(CELLUZYME)[®]和护理酶(CAREZYME)[®](诺维信公司(Novozymes A/S));CLAZINASE[®]和PURADAX[®]HA(杜邦工业生物科学公司(DuPont Industrial Biosciences)) and KAC-500(B)[®](花王公司(Kao Corporation))。

[0182] 当制备本文披露的组合物时,可以直接添加一种或多种纤维素酶作为成分。可替代地,可以在所披露的组合物中间接地(非故意地)提供一种或多种纤维素酶。例如,可以通过存在于用于制备组合物的非纤维素酶制剂中而在本文的组合物中提供纤维素酶。间接地向其中提供纤维素酶的组合物中的纤维素酶能以例如约0.1-10ppb(例如,少于1ppm)存在。本文的组合物通过使用右旋糖酐醚化化合物的预期益处是可以使用可能具有背景纤维素酶活性的非纤维素酶制剂,而不用担心右旋糖酐的希望的作用将被背景纤维素酶活性抵消。

[0183] 在某些实施例中,纤维素酶可以是热稳定的。纤维素酶热稳定性是指酶在暴露于高温(例如约60-70°C)持续一段时间(例如约30-60分钟)后保留活性的能力。纤维素酶的热稳定性可以通过其以几分钟、几小时或几天给出的半衰期($t_{1/2}$)来测量,在该半衰期期间纤维素酶活性的一半在限定的条件下丧失。

[0184] 在某些实施例中纤维素酶可以在宽范围的pH值(例如中性或碱性pH,例如约7.0至约11.0的pH)下稳定。这样的酶可以在这样的pH条件下保持稳定一段预定的时间(例如至少约15min、30min或1小时)。

[0185] 至少一种、两种或更多种纤维素酶可以包括在组合物中。纤维素酶在处理织物的水性组合物中的有效浓度可以由本领域技术人员容易地确定。在织物护理过程中,例如,纤维素酶可以以最小约0.01-0.1ppm的总纤维素酶蛋白质的浓度、或约0.1-10ppb的总纤维素酶蛋白质的浓度(少于1ppm)至最大约100ppm、200ppm、500ppm、1000ppm、2000ppm、3000ppm、4000ppm、或5000ppm的总纤维素酶蛋白质的浓度存在于处理织物的水性组合物(例如洗涤剂)中。

[0186] 据信本文提供的右旋糖酐醚对纤维素酶的降解是大部分或完全稳定的(具有抗性)。例如,一种或多种纤维素酶对本文的右旋糖酐的降解百分比被认为少于10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、或1%,或是0%。例如,通过比较使用纤维素酶处理一段时间(例如约24小时)前后的右旋糖酐醚的分子量可以确定这样的降解百分比。

[0187] 在某些实施例中,认为水性组合物具有剪切稀化行为或剪切增稠行为。剪切稀化行为被观测为随着剪切速率增加水性组合物的粘度降低,而剪切增稠行为被观测为随着剪

切速率增加水性组合物的粘度增加。本文的水性组合物的剪切稀化行为或剪切增稠行为的改性可归因于右旋糖酐醚化合物与水性组合物的混合。因此,目前披露的一种或多种右旋糖酐醚化合物可以添加到水性组合物中以改变其流变特征(即,改变水性液体、溶液或混合物的流动特性)。而且,在一些方面,可以将一种或多种本文的右旋糖酐醚化合物添加到水性组合物中以改性其粘度。

[0188] 通过在增加的旋转剪切速率(例如,从约0.1rpm至约1000rpm)下测量粘度可以观测到本文的水性组合物的流变特性。例如,本文披露的水性组合物的剪切稀化行为可以被观测为随着旋转剪切速率从约10rpm增加至60rpm、从10rpm增加至150rpm、从10rpm增加至250rpm、从60rpm增加至150rpm、从60rpm增加至250rpm、或从150rpm增加至250rpm,粘度(cPs)降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、或95%(或在5%与95%之间的任何整数)。作为另一个实例,水性组合物的剪切增稠行为可以被观测为随着旋转剪切速率从约10rpm增加至60rpm、从10rpm增加至150rpm、从10rpm增加至250rpm、从60rpm增加至150rpm、从60rpm增加至250rpm、或从150rpm增加至250rpm,粘度(cPs)增加至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、或200%(或在5%至200%之间的任何整数)。

[0189] 本文披露的水性组合物可以呈家用产品、个人护理产品、药物产品、工业产品或食物产品(例如像下面描述的那些产品中的任何一种)的形式和/或包含在其中。例如,本文的右旋糖酐醚化合物可以用作这些产品中的一种或多种中的增稠剂(结构试剂(structural agent))和/或抗再沉积剂。如果需要,这样的增稠剂可以与一种或多种其他类型的增稠剂结合使用,例如在美国专利号8541041中披露的那些增稠剂,将其通过引用结合在此。

[0190] 据信,本文披露的右旋糖酐醚化合物可用于向个人护理产品、药物产品、家用产品、工业产品或食物产品提供一种或多种以下物理特性:例如增稠、冷冻/解冻稳定性、润滑性、湿度保持和释放、质地、稠度、形状保持、乳化、粘合、悬浮、分散、凝胶化、矿物硬度降低。产物中右旋糖酐醚化合物的浓度或量的实例可以是例如本文提供的任何重量百分比。

[0191] 本文的个人护理产品没有特别限制,并且包括例如皮肤护理组合物、化妆品组合物、抗真菌组合物和抗细菌组合物。本文的个人护理产品可以呈例如洗剂、霜剂、糊剂、香脂、软膏、润发油、凝胶剂、液体、这些的组合等的形式。如果需要,本文披露的个人护理产品可以包括至少一种活性成分。活性成分通常被认为是引起预期的药理作用的成分。在某些实施例中,本文中的个人护理产品可用于个人护理清洁应用中。

[0192] 在某些实施例中,可以将皮肤护理产品应用于皮肤以解决与缺乏水分有关的皮肤损伤。也可以使用皮肤护理产品来解决皮肤的视觉外观(例如,减少片状,龟裂和/或红色皮肤的外观)和/或皮肤的触感(例如,减少皮肤的粗糙度和/或干燥度,同时改善皮肤的柔软度和微观细化)。典型地,皮肤护理产品可以包括用于治疗或预防皮肤疾病、提供美容效果、或为皮肤提供保湿益处的至少一种活性成分,例如氧化锌、凡士林、白凡士林、矿物油、鱼肝油、羊毛脂、二甲聚硅氧烷、硬脂、维生素A、尿囊素、炉甘石、高岭土、甘油或胶体燕麦片、以及这些的组合。皮肤护理产品可以包括一种或多种天然保湿因子,例如像神经酰胺、透明质酸、甘油、角鲨烷、氨基酸、胆固醇、脂肪酸、三酸甘油酯、磷脂质、鞘糖脂、尿素、亚油酸、葡糖氨基葡聚糖、黏多糖、乳酸钠、或吡咯烷酮羧酸钠。可以包括在皮肤护理产品中的其他成分

包括但不限于甘油酯、杏仁油、卡诺拉油、角鲨烷、角鲨烯、椰子油、玉米油、荷荷芭油、荷荷芭蜡、卵磷脂、橄榄油、红花油、芝麻油、乳木果油、大豆油、甜杏仁油、向日葵油、茶树油、乳木果油、棕榈油、胆固醇、胆固醇酯、蜡酯、脂肪酸和橙皮油。

[0193] 本文的个人护理产品也可以呈例如化妆品、唇膏、睫毛膏、胭脂、粉底、腮红、眼线膏、唇线笔、唇彩、其他化妆品、防晒霜、防晒乳、指甲油、指甲调理剂、沐浴露 (bath gel)、淋浴凝胶 (shower gel)、沐浴乳 (body wash)、洗面奶、润唇膏、护肤霜、冷霜、润肤膏、身体喷雾剂、皂、身体磨砂膏、去角质剂 (exfoliant)、收敛剂、颈背爽肤水 (scruffing lotion)、脱毛剂、烫发溶液 (permanent waving solution)、去头皮屑配制品、止汗组合物、除臭剂、剃须产品、剃须前产品、剃须后产品、清洁剂、皮肤凝胶、染发剂、洁牙剂组合物、牙膏、或漱口剂。

[0194] 在某些方面,个人护理产品可以是头发护理产品。本文的头发护理产品的实例包括洗发精、护发素(免洗或漂洗型)、营养发水、染发剂、染发产品、头发光亮产品、护发精华、头发防毛躁产品、头发分叉修复产品、摩丝、喷发剂和发型啫喱。在一些实施例中,头发护理产品可以呈液体、糊剂、凝胶、固体或粉末的形式。典型地,如本文披露的头发护理产品包含一种或多种以下通常用于配制头发护理产品的成分:阴离子表面活性剂,例如聚氧乙烯月桂醚硫酸钠;阳离子表面活性剂,例如硬脂酰基三甲基氯化铵和/或二硬脂酰基二甲基氯化铵;非离子表面活性剂,例如单硬脂酸甘油酯、山梨糖醇酐单棕榈酸酯和/或聚氧乙烯鲸蜡醚;润湿剂,例如丙二醇、1,3-丁二醇、甘油、山梨糖醇、焦谷氨酸盐、氨基酸和/或三甲基甘氨酸;烃类,例如液体石蜡、凡士林油、固体石蜡、角鲨烷和/或烯烃低聚物;高级醇,例如硬脂醇和/或鲸蜡醇;富脂剂;去头皮屑剂;消毒剂;消炎剂;生药;水溶性聚合物,例如甲基纤维素、羟基纤维素和/或部分脱乙酰的甲壳素(除本文披露的一种或多种右旋糖酐醚之外);防腐剂,例如对羟基苯甲酸酯;紫外光吸收剂;珠光剂;pH调节剂;香料;以及颜料。

[0195] 本文的药物产品可以呈例如乳剂、液体、酞剂、凝胶、悬浮液、溶液、霜剂或软膏剂的形式。而且,本文的药物产品可以呈本文披露的任何个人护理产品的形式,例如抗细菌或抗真菌组合物。药物产品可以进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂和/或药学上可接受的盐。本文披露的右旋糖酐醚化合物也可以用于胶囊、封装剂、片剂包衣以及药剂和药物的赋形剂。

[0196] 本文的食物产品的非限制性实例包括蔬菜、肉和大豆馅饼;改良海鲜;改良奶酪棒;奶油汤;肉汁和酱汁;沙拉酱;蛋黄酱;洋葱圈;果酱、果冻和糖浆;饼馅;马铃薯产品,例如炸薯条和膨化薯条;用于油炸食品、薄煎饼/华夫饼干和蛋糕的面糊;宠物食品;糕点糖果(糖果);饮料;冷冻甜点;冰淇淋;培养的奶制品 (cultured dairy products), 例如松软干酪、酸奶、奶酪和酸奶油;蛋糕糖霜和釉料;人造稠黄油;发酵和未发酵的烘焙食品;棒状物;等等。

[0197] 在某些实施例中,右旋糖酐醚化合物能以提供所希望的程度的增稠和/或分散的量包含在食品或任何其他可吸收的材料(例如肠内药物制剂)中。例如,产品中的右旋糖酐醚的浓度或量可以为约0.1wt%-3wt%、0.1wt%-4wt%、0.1wt%-5wt%、或0.1wt%-10wt%。

[0198] 本文的家用和/或工业产品可以呈以下形式:例如,干壁胶带接合化合物;砂浆;水泥浆;石膏水泥灰浆 (cement plaster);喷雾灰泥;水泥灰泥 (cement stucco);粘合剂;糊

剂;墙壁/天花板调质剂;用于带式浇注、挤压成型、喷射模塑和陶瓷的粘合剂和加工助剂;用于杀有害生物剂、除草剂和化肥的喷洒附着物和悬浮/分散助剂;织物护理产品,例如织物柔软剂和衣物洗涤剂;餐具洗涤剂;硬表面清洁剂;空气清新剂;聚合物乳液;凝胶例如水性凝胶;表面活性剂溶液;涂料如水性涂料;保护涂层;粘合剂;密封剂和填缝剂;油墨例如水性油墨;金属加工液;或用于电镀、磷化、镀锌和/或一般金属清洗操作中的乳液型金属清洗液。在某些实施例中,本文的家用产品或工业产品可用于清洁应用中,并且因此例如可以包含在洗涤剂组合物中。

[0199] 据信,本文披露的右旋糖酐醚化合物可用于向个人护理产品、药物产品、家用产品、工业产品或食物产品提供一种或多种以下物理特性:例如增稠、冷冻/解冻稳定性、润滑性、湿度保持和释放、质地、稠度、形状保持、乳化、粘合、悬浮、分散、凝胶化、矿物硬度降低。产品中右旋糖酐醚的浓度或量的实例可以是例如上文提供的任何重量百分比。

[0200] 本文的食物产品可以呈例如糕点糖果的形式。本文的糕点糖果可以含有一种或多种糖(例如蔗糖、果糖、葡萄糖)用于甜化,或相反不含糖。

[0201] 糕点糖果的实例包括煮糖(硬煮糖[即,硬糖])、糖衣糖、果冻糖果、口香糖(gums)、甘草糖、求斯糖、焦糖、太妃糖、软糖、口香糖(chewing gums)、泡泡糖、牛轧糖、耐嚼膏、哈拉瓦(halawa)、片剂、糖锭、糖霜、霜状白糖、布丁和凝胶(例如、水果凝胶、明胶甜点)。糕点糖果的其他实例包括充气糖果,例如棉花糖和烘焙糖果。

[0202] 本文的糕点糖果可以任选地使用巧克力,以任何形式(例如棒状、糖果、糖块、松露、扁豆)制备。例如,糕点糖果可以用巧克力、糖衣、糖果、釉面和/或薄膜包衣来进行包衣。薄膜包衣方法典型地包括向糖果的表面应用成膜液体组合物,该组合物在干燥后变成保护膜。例如,这种薄膜包衣用于保护糕点糖果中包含的有效成分;保护糕点糖果本身免于潮湿、冲击和/或易碎;和/或赋予糕点糖果有吸引力的视觉特性(例如,光泽、均匀的颜色、光滑的表面)。

[0203] 在某些实施例中,糕点糖果可以用液体、糊状、固体或粉末状的填料进行填充。本文的右旋糖酐醚化合物可以包含在这样的填料中,在这种情况下,在填充的糕点糖果组分中任选地还包含右旋糖酐醚化合物。

[0204] 本文的糕点糖果任选地是无糖的、不包含糖,并且典型地相反具有一种或多种人造糖和/或非糖甜味剂(任选非热量型)(例如,阿斯巴甜、糖精、甜叶菊(STEVIA)、蔗糖素(SUCRALOSE))。在某些实施例中,无糖糕点糖果可以包含一种或多种多元醇(例如赤藓糖醇、甘油、乳糖醇、甘露糖醇、麦芽糖醇、木糖醇)、可溶性纤维和/或代替糖的蛋白质。

[0205] 本文的食物产品可以例如处于宠物食物的形式。本文的宠物食物可以是驯养动物例如狗或猫(或任何其他陪伴动物)的食物。在某些实施例中,宠物食品向家畜提供以下中的一种或多种:必需的饮食必需品、零食(例如狗饼干)、食品补充剂。宠物食品的实例包括干宠物食物(例如,核、粗粒食物)、半湿润组合物、湿宠物食物(例如罐头宠物食物)或其任何组合。湿宠物食品典型地具有超过65%的水分含量。半湿润宠物食品典型地具有20-65%的水分含量,并且可以包括湿润剂例如丙二醇、山梨酸钾和防止微生物(细菌和霉菌)生长的成分。干宠物食品典型地具有低于20%的水分含量,并且其加工通常包括挤压、干燥和/或烘焙。宠物食品可以任选地处于肉汁、酸奶、粉末、悬浮液、咀嚼物或零食(例如饼干)的形式;如果需要,所有这些组合物也可以用作宠物食品补充剂。宠物零食可以是例如半湿可咀

嚼的零食；干燥零食；可咀嚼的骨头；烘焙的、挤压的或冲压的零食；或糖果零食。其中可以添加本文的右旋糖酐醚化化合物的宠物食物组合物/配制品的实例包括美国专利申请公开号2013/0280352和2010/0159103和美国专利号6977084中披露的那些，其全部通过引用结合在此。

[0206] 本文披露的组合物可以呈织物护理组合物的形式。例如，本文的织物护理组合物可用于手洗、机洗和/或其他目的，例如织物的浸泡和/或预处理。织物护理组合物可以采取例如衣物洗涤剂；织物调理剂；任何洗涤产品、漂洗产品或烘干机添加的产品；单位剂量或喷雾的形式。处于液体形式的织物护理组合物可以呈如本文披露的水性组合物的形式。在其他方面，织物护理组合物可以呈干燥形式，例如颗粒洗涤剂或烘干机添加的织物柔软剂片。本文的织物护理组合物的其他非限制性实例包括：颗粒或粉末形式的通用或重垢型洗涤剂；液体、凝胶或糊状形式的通用或重垢型洗涤剂；液体或干燥精细织物（例如精致衣物）洗涤剂；清洁助剂例如漂白添加剂、“去污棒”或预处理；含基底的产品，例如干和湿的抹布、衬垫或海绵；喷雾和雾。

[0207] 本文的洗涤剂组合物可以呈任何有用的形式，例如粉末、颗粒、糊剂、棒、单位剂量或液体。液体洗涤剂可以是水性的，典型地包含多达约70wt%的水和0wt%至约30wt%的有机溶剂。它也可以呈仅含有约30wt%水的紧密凝胶类型的形式。

[0208] 典型地本文的洗涤剂组合物包含一种或多种表面活性剂，其中该表面活性剂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及其混合物。在一些实施例中，表面活性剂以从约0.1%至约60%的水平存在，而在可替代的实施例中，该水平为从约1%至约50%，而在又进一步的实施例中，该水平为从约5%至约40%，以洗涤剂组合物的重量计。通常，洗涤剂将含有0wt%至约50wt%的阴离子表面活性剂，例如直链烷基苯磺酸盐(LAS)、 α -烯烴磺酸盐(AOS)、烷基硫酸盐(脂肪醇硫酸盐)(AS)、醇乙氧基硫酸盐(AEOS或AES)、仲链烷磺酸盐(SAS)、 α -磺基脂肪酸甲酯、烷基-或烯基琥珀酸或皂。另外，洗涤剂组合物可任选地含有0wt%至约40wt%的非离子表面活性剂，例如醇乙氧基化物(AEO或AE)、羧化醇乙氧基化物、壬基苯酚乙氧基化物、烷基多糖苷、烷基二甲基胺氧化物、乙氧基化脂肪酸单乙醇酰胺、脂肪酸单乙醇酰胺、或多羟基烷基脂肪酸酰胺(如在W092/06154中所描述，其通过引用结合在此)。

[0209] 本文的洗涤剂组合物典型地包含一种或多种洗涤剂助洗剂或助洗剂系统。例如，可以包括一种或多种氧化的聚 α -1,3-葡聚糖化合物作为助洗剂。在一些方面，可以包括氧化的聚 α -1,3-葡聚糖作为共助洗剂，其中它与一种或多种另外的助洗剂(例如本文披露的任何一种)一起使用。用于本文的氧化的聚 α -1,3-葡聚糖化合物披露在美国专利申请公开号2015/0259439中。在掺入至少一种助洗剂的一些实施例中，清洁组合物包含以组合物的重量计至少约1%、从约3%至约60%、或甚至从约5%至约40%的助洗剂。助洗剂(除了氧化的聚 α -1,3-葡聚糖之外)包括但不限于，聚磷酸盐的碱金属、铵和链烷醇铵盐；碱金属硅酸盐、碱土金属和碱金属碳酸盐；铝硅酸盐；聚羧酸化合物；醚羟基聚羧酸酯；马来酸酐与乙烯或乙烯基甲基醚、1,3,5-三羟基苯-2,4,6-三磺酸、和羧基甲基氧基琥珀酸的共聚物；聚乙酸的各种碱金属、铵和取代的铵盐，例如乙二胺四乙酸和次氨基三乙酸；连同聚羧酸酯，例如苯六甲酸、琥珀酸、柠檬酸、氧代二琥珀酸(oxydisuccinic acid)、聚马来酸、苯1,3,5-三

羧酸、羧基甲基氧基琥珀酸及其可溶性盐。实际上,预期任何适合的助洗剂将可用于本披露的各种实施例中。洗涤剂助洗剂或络合剂的另外的实例包含沸石、二磷酸盐、三磷酸盐、膦酸盐、柠檬酸盐、次氨基三乙酸 (NTA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸 (DTMPA)、烷基或烯基琥珀酸、可溶性硅酸盐或层状桂酸盐 (如,来自赫斯特公司 (Hoechst) 的SKS-6)。

[0210] 在一些实施例中,助洗剂形成水溶性硬离子络合物 (例如螯合助洗剂),例如柠檬酸盐和多磷酸盐 (例如三聚磷酸钠和三聚磷酸钠六水合物、三聚磷酸钾、以及混合的三聚磷酸钠和三聚磷酸钾等)。预期任何适合的助洗剂将可用于本披露的实施例,包括本领域已知的那些 (参见例如EP2100949)。

[0211] 在一些实施例中,适合的助洗剂可以包括磷酸盐助洗剂和非磷酸盐助洗剂。在一些实施例中,助洗剂是磷酸盐助洗剂。在一些实施例中,助洗剂是非磷酸盐助洗剂。助洗剂以按组合物的重量计从0.1%至80%、或从5%至60%、或从10%至50%的水平使用。在一些实施例中,产品包括磷酸盐和非磷酸盐助洗剂的混合物。适合的磷酸盐助洗剂包括单磷酸盐、二磷酸盐、三聚磷酸盐或低聚多磷酸盐,包括这些化合物的碱金属盐,包括钠盐。在一些实施例中,助洗剂可以是三聚磷酸钠 (STPP)。另外,组合物可以包含有助于实现中性pH组合物的碳酸盐和/或柠檬酸盐,优选柠檬酸盐。其他适合的非磷酸盐助洗剂包括多羧酸及其部分或完全中和盐、单体型多羧酸和羟基羧酸及其盐的均聚物和共聚物。在一些实施例中,上述化合物的盐包括铵盐和/或碱金属盐,即锂盐、钠盐和钾盐,包括钠盐。适合的多元羧酸包括无环的、脂环族的、杂环的和芳香族的羧酸,其中在一些实施例中,它们可以包含至少两个羧基基团,这些羧基基团在每种情况下彼此分离,在某些情况下被不超过两个碳原子分离。

[0212] 本文的洗涤剂组合物可包含至少一种螯合剂。适合的螯合剂包括但不限于铜、铁和/或锰螯合剂及其混合物。在使用至少一种螯合剂的实施例中,该组合物包含以该组合物的重量计从约0.1%至约15%或甚至从约3.0%至约10%的螯合剂。

[0213] 本文的洗涤剂组合物可以包含至少一种沉积助剂。合适的沉积助剂包括但不限于聚乙二醇、聚丙二醇、聚羧酸盐、去污聚合物 (例如聚对苯二甲酸)、粘土例如高岭土、蒙脱石、绿坡缕石、伊利石、膨润土、多水高岭土及其混合物。

[0214] 本文的洗涤剂组合物可以包含一种或多种染料转移抑制剂。适合的聚合物染料转移抑制剂包括但不限于聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮与N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮以及聚乙烯咪唑或其混合物。另外的染料转移抑制剂包括锰酞菁、过氧化物酶、聚乙烯吡咯烷酮聚合物、多胺N-氧化物聚合物、N-乙烯吡咯烷酮和N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯噁唑烷酮和聚乙烯基咪唑和/或其混合物;螯合剂,其实例包括乙二胺四乙酸 (EDTA);二亚乙基三胺五亚甲基膦酸 (DTPMP);羟基乙烷二膦酸 (HEDP);乙二胺N,N'-二琥珀酸 (EDDS);甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA);二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA);丙二胺四乙酸 (PDT A);2-羟基吡啶-N-氧化物 (HPNO)、或甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA);谷氨酸N,N-二乙酰胺 (N,N-二羧基甲基谷氨酸四钠盐 (GLDA);次氨基三乙酸 (NTA);4,5-二羟基间苯二磺酸;柠檬酸及其任何盐;N-羟基乙基乙二胺三乙酸 (HEDTA);三亚乙基四胺六乙酸 (TTHA);N-羟基乙基亚氨基二乙酸 (HEIDA)、二羟基乙基甘氨酸 (DHEG)、乙二胺四丙酸 (EDTP) 及其衍生物,它们可以单独使用或与上述任何一种组合使用。在使用至少一种染料转移抑制剂的实施例中,本文的组合物可以包含以该组合物的重量计从约0.0001%

至约10%、从约0.01%至约5%、或甚至从约0.1%至约3%的该至少一种染料转移抑制剂。

[0215] 本文的洗涤剂组合物可以包含硅酸盐。在这些实施例中的一些,可使用硅酸钠(例如,二硅酸钠、偏硅酸钠和/或晶体硅酸盐)。在一些实施例中,硅酸盐以按该组合物的重量计从约1%至约20%的水平存在。在一些实施例中,硅酸盐以按该组合物的重量计从约5%至约15%的水平存在。

[0216] 本文的洗涤剂组合物可以包含分散剂。适合的水溶性有机材料包括但不限于均聚合或共聚的酸或其盐,其中聚羧酸包括至少两个被不超过两个碳原子彼此分开的羧基自由基。

[0217] 本文的洗涤剂组合物可以另外包含一种或多种酶。酶的实例包括处于任意组合的蛋白酶、纤维素酶、半纤维素酶、过氧化物酶、脂肪分解酶(例如金属脂肪分解酶)、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶(例如芳基酯酶、聚酯酶)、过氧水解酶、角质酶、果胶酶、果胶裂合酶、甘露聚糖酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶(例如胆碱氧化酶、酚氧化酶)、酚氧化酶、脂肪氧合酶、木质素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、苹果酸酶(malanase)、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、金属蛋白酶、阿马多里酶、葡糖淀粉酶、 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、半乳糖苷酶、半乳聚糖酶、过氧化氢酶、角叉菜胶酶、透明质酸酶、角蛋白酶、乳糖酶、木质酶、过氧化物酶、磷酸酶、聚半乳糖醛酸酶、支链淀粉酶、鼠李糖半乳糖醛酸酶、鞣酸酶、转谷氨酰胺酶、木葡聚糖酶、木糖苷酶、金属蛋白酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、植酸酶、异构酶、转移酶和/或淀粉酶。

[0218] 在一些实施例中,洗涤剂组合物可以包含一种或多种酶(例如,本文披露的任何一种),其每一种处于按该组合物的重量计从约0.00001%至约10%的水平,以及按该组合物的重量计的余量的清洁辅助材料。在一些其他实施例中,洗涤剂组合物还可以包含以按该组合物的重量计约0.0001%至约10%、约0.001%至约5%、约0.001%至约2%、或约0.005%至约0.5%的水平的每一种酶。

[0219] 可以包含在本文的洗涤剂组合物中的酶可以使用常规的稳定剂例如多元醇例如丙二醇或甘油;糖或糖醇;乳酸;硼酸或硼酸衍生物(例如芳香族硼酸酯)来稳定。

[0220] 在某些实施例中的洗涤剂组合物除了本文披露的右旋糖酐醚化合物之外还可以包含一种或多种其他类型的聚合物。其他适合的聚合物的实例包括羧基甲基纤维素(CMC)、聚(乙烯基吡咯烷酮)(PVP)、聚乙二醇(PEG)、聚(乙烯醇)(PVA)、聚羧酸酯例如聚丙烯酸酯、马来酸/丙烯酸共聚物、和月桂酰甲基丙烯酸酯/丙烯酸共聚物。

[0221] 本文的洗涤剂组合物可以包含漂白系统。例如,漂白系统可以包含 H_2O_2 源例如过硼酸或过碳酸,其可以与形成过酸的漂白活化剂(例如四乙酰基乙二胺(TAED)或壬酰基氧基苯磺酸酯(NOBS))组合。可替代地,漂白系统可以包含过氧酸(例如,酰胺、酰亚胺或矾类过氧酸等)。还可替代地,漂白系统可以是包含过水解酶的酶促漂白系统,例如向在WO 2005/056783中描述的系统。

[0222] 本文的洗涤剂组合物还可以包含常规的洗涤剂成分,例如织物调理剂、粘土、泡沫促进剂、泡沫抑制剂、抗腐蚀剂、污垢悬浮剂、抗污垢再沉积剂、染料、杀细菌剂、变色抑制剂、荧光增白剂或香料。本文的洗涤剂组合物的pH(在使用浓度的水溶液中测量)通常为中性或碱性(例如,pH为约7.0至约11.0)。

[0223] 据信,如果需要,本文的右旋糖酐醚化合物可以作为抗再沉积剂和/或粘土污垢去

除剂包含在洗涤剂组合物例如织物护理组合物中(在某些方面,可以任选地将这样的试剂表征为白度维持剂)。其他合适的抗再沉积和/或粘土污垢去除剂的实例包括聚乙氧基兼性离子表面活性剂、丙烯酸或甲基丙烯酸与丙烯酸或甲基丙烯酸-环氧乙烷缩合物的水溶性共聚物(例如,美国专利号3719647)、纤维素衍生物例如羧基甲基纤维素和羟基丙基纤维素(例如美国专利号3597416和3523088)、以及包含非离子烷基聚乙氧基表面活性剂、聚乙氧基烷基季阳离子表面活性剂和脂肪酰胺表面活性剂的混合物(例如美国专利号4228044)。其他适合的抗再沉积和粘土污垢去除剂的非限制性实例披露在美国专利号4597898和4891160,以及国际专利申请公开号W095/32272中,其全部通过引用结合在此。

[0224] 可以适用于本文披露的目的的洗涤剂组合物的特定形式披露在例如US20090209445A1、US20100081598A1、US7001878B2、EP1504994B1、W02001085888A2、W02003089562A1、W02009098659A1、W02009098660A1、W02009112992A1、W02009124160A1、W02009152031A1、W02010059483A1、W02010088112A1、W02010090915A1、W02010135238A1、W02011094687A1、W02011094690A1、W02011127102A1、W02011163428A1、W02008000567A1、W02006045391A1、W02006007911A1、W02012027404A1、EP1740690B1、W02012059336A1、US6730646B1、W02008087426A1、W02010116139A1、和W02012104613A1中,其全部通过引用结合在此。

[0225] 本文的衣物洗涤剂组合物可以任选地是重垢型(通用)衣物洗涤剂组合物。示例性重垢型衣物洗涤剂组合物包含清洁表面活性剂(10%-40%wt/wt),包括阴离子清洁表面活性剂(选自以下组:直链或支链或无规链、取代或未取代的烷基硫酸盐、烷基磺酸盐、烷基烷氧基化硫酸盐、烷基磷酸盐、烷基膦酸盐、烷基羧酸盐和/或其混合物)和任选地非离子表面活性剂(选自以下组:直链或支链或无规链、取代或未取代的烷基烷氧基化醇,例如C8-C18烷基乙氧基化醇和/或C6-C12烷基苯酚烷氧基化物),其中阴离子清洁表面活性剂(具有从6.0至9的亲水指数(HIc))与非离子清洁表面活性剂的重量比大于1:1。适合的清洁表面活性剂还包括阳离子清洁表面活性剂(选自以下组:烷基吡啶化合物、烷基季铵化合物、烷基季磷化合物、烷基三元硫化合物和/或其混合物);兼性离子和/或两性清洁表面活性剂(选自一组链烷醇胺磺基甜菜碱);两性表面活性剂;半极性非离子表面活性剂;及其混合物。

[0226] 本文的洗涤剂例如重垢型衣物洗涤剂组合物可以任选地包含表面活性增强聚合物,该表面活性增强聚合物由以下各项组成:两亲烷氧基化油脂清洁聚合物(选自以下组:具有支链亲水和疏水特性的烷氧基化聚合物,例如在0.05wt%-10wt%范围内的烷氧基化聚亚烷基胺)和/或无规接枝聚合物(典型地由亲水主链和一个或多个疏水侧链构成,该亲水主链包含选自下组的单体,该组由以下各项组成:不饱和的C1-C6羧酸、醚、醇、醛、酮、酯、糖单元、烷氧基单元、马来酸酐、饱和的多元醇(例如甘油)及其混合物;该一个或多个疏水侧链选自下组,该组由以下各项组成:C4-C25烷基基团、聚丙烯、聚丁烯、饱和的C1-C6单羧酸的乙烯酯,丙烯酸或甲基丙烯酸的C1-C6烷基酯及其混合物)。

[0227] 本文的洗涤剂例如重垢型衣物洗涤剂组合物可以任选地包括另外的聚合物,例如去污聚合物(包括阴离子封端的聚酯(例如SRP1);包含至少一种选自糖、二羧酸、多元醇及其组合的单体单元的处于无规或嵌段构型的聚合物;基于乙二醇对苯二甲酸酯的聚合物及其处于无规或嵌段构型的共聚物,例如REPEL-0-TEX SF、SF-2 AND SRP6、TEXCARE SRA100、SRA300、SRN100、SRN170、SRN240、SRN300 AND SRN325、MARLOQUEST SL);本文的一种或多种

抗再沉积剂(0.1wt%至10wt%),包括羧酸酯聚合物,例如包含至少一种选自丙烯酸、马来酸(或马来酸酐)、富马酸、衣康酸、乌头酸、中康酸、柠康酸、亚甲基丙二酸及其任何混合物的聚合物;乙烯基吡咯烷酮均聚物;和/或聚乙二醇,分子量范围为从500至100,000Da);以及聚合羧酸酯(例如,马来酸酯/丙烯酸酯无规共聚物或聚丙烯酸酯均聚物)。

[0228] 本文的洗涤剂例如重垢型衣物洗涤剂组合物可以任选地进一步包括饱和或不饱和和脂肪酸,优选饱和或不饱和的C12-C24脂肪酸(0wt%至10wt%);除了本文披露的右旋糖酐醚合物外的沉积助剂(其实例包括多糖;纤维素聚合物;聚联丙烯二甲基卤化铵(DADMAC));和DAD MAC与乙烯基吡咯烷酮、丙烯酰胺、咪唑、咪唑啉卤化物及其混合物的共聚物(处于无规或嵌段构型);阳离子瓜尔胶、阳离子淀粉、阳离子聚丙烯酰胺及其混合物)。

[0229] 本文的洗涤剂例如重型衣物洗涤剂组合物可以任选地进一步包括染料转移抑制剂,其实例包括锰酞菁、过氧化物酶、聚乙烯基吡咯烷酮聚合物、多胺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、聚乙烯基噁唑烷酮和聚乙烯基咪唑和/或其混合物;螯合剂,其实例包括乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五亚甲基膦酸(DTPMP)、羟基乙烷二膦酸(HEDP)、乙二胺N,N'-二琥珀酸(EDDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、丙二胺四乙酸(PDTA)、2-羟基吡啶-N-氧化物(HPNO)、或甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、谷氨酸N,N-二乙酸酸(N,N-二羧基甲基谷氨酸四钠盐(GLDA)、次氨基三乙酸(NTA)、4,5-二羟基间苯二磺酸、柠檬酸及其任何盐、N-羟基乙基乙二胺三乙酸(HEDTA)、三亚乙基四胺六乙酸(TTHA)、N-羟基乙基亚氨基二乙酸(HEIDA)、二羟基乙基甘氨酸(DHEG)、乙二胺四丙酸(EDTP)及其衍生物。

[0230] 本文的洗涤剂例如重垢型衣物洗涤剂组合物可以任选地包括基于硅酮或脂肪酸的泡沫抑制剂;调色染料、钙和镁阳离子、视觉信号传导成分、止泡剂(0.001wt%至约4.0wt%)、和/或结构剂/增稠剂(0.01wt%至5wt%),该结构剂/增稠剂选自下组,该组由以下各项组成:甘油二酸酯和甘油三酸酯、乙烯乙二醇硬脂酸酯、微晶纤维素、超细纤维素、生物聚合物、黄原胶、结冷胶及其混合物)。在某些实施例中,除了一种或多种右旋糖酐醚化合物之外,这样的结构剂/增稠剂将包含在洗涤剂中。结构剂(structurant)也可以称为结构试剂(structural agent)。

[0231] 例如,本文的洗涤剂可以呈重垢型干/固体衣物洗涤剂组合物的形式。这种洗涤剂可以包括:(i)清洁表面活性剂,例如本文披露的任何阴离子清洁表面活性剂、本文披露的任何非离子清洁表面活性剂、本文披露的任何阳离子清洁表面活性剂、本文披露的任何两性离子和/或两性清洁表面活性剂、任何两性表面活性剂、任何半极性非离子表面活性剂及其混合物;(ii)助洗剂,例如任何无磷酸盐助洗剂(例如,在0wt%至小于10wt%范围内的沸石助洗剂)、任何磷酸盐助洗剂(例如,在0wt%至小于10wt%范围内的三聚磷酸钠)、柠檬酸、柠檬酸盐和次氨基三乙酸、任何硅酸盐(例如,在0wt%至小于10wt%的范围内的硅酸钠或硅酸钾或偏硅酸钠);任何碳酸盐(例如,在0wt%至小于80wt%的范围内的碳酸钠和/或碳酸氢钠)及其混合物;(iii)漂白剂,例如任何光漂白剂(例如磺化锌酞菁、磺化铝酞菁、咕吨染料及其混合物);任何疏水或亲水性漂白活化剂(例如十二烷酰氧基苯磺酸盐、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、腈季铵盐及其混合物);任何过氧化氢源(例如,无机过氧水合物盐,其实例包括过硼酸盐、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐或过硅酸盐的单或

四水合钠盐)；任何预先形成的亲水和/或疏水过酸(例如过羧酸和盐、过碳酸和盐、过碘酸和盐、过氧单硫酸和盐、及其混合物)；和/或(iv)任何其他组分例如漂白催化剂(例如，亚胺漂白促进剂，其实例包括亚胺阳离子和聚阴离子、亚胺兼性离子、改性胺、改性氧化胺、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、环状糖酐及其混合物)和含金属的漂白催化剂(例如铜、铁、钛、钆、钼或锰阳离子以及辅助金属阳离子(例如锌或铝)和螯合(例如EDTA、乙二胺四(亚甲基膦酸))。

[0232] 本文披露的组合物可以是呈餐具洗涤剂组合物的形式。餐具洗涤剂的实例包括自动餐具洗涤剂(典型地用于餐具洗涤机中)和洗手餐具洗涤剂。餐具洗涤剂组合物可以是例如处于本文披露的任何干或液体/水性形式。可以包括在餐具洗涤剂组合物的某些实施例中的组分包括例如一种或多种磷酸盐；基于氧或氯的漂白剂；非离子表面活性剂；碱性盐(例如偏硅酸盐、碱金属氢氧化物、碳酸钠)；本文披露的任何活性酶；抗腐蚀剂(如硅酸钠)；消泡剂；减缓陶瓷中釉和图案的脱去的添加剂；香料；抗结块剂(在颗粒洗涤剂中)；淀粉(在基于片剂的洗涤剂中)；凝胶化剂(在基于液体/凝胶洗涤剂中)；和/或砂(粉末洗涤剂)。

[0233] 餐具洗涤剂例如自动餐具洗涤机洗涤剂或液体餐具洗涤剂可以包括(i)非离子表面活性剂，包括任何乙氧基化非离子表面活性剂、醇烷氧基化表面活性剂、环氧封端的聚(氧基烷基化)醇、或以0wt%至10wt%的量存在的氧化胺表面活性剂；(ii)约5wt%-60wt%范围内的助洗剂，包括任何磷酸盐助洗剂(例如单磷酸盐、二磷酸盐、三聚磷酸盐、其他低聚多磷酸盐、三聚磷酸钠-STPP)、任何无磷酸盐助洗剂(例如基于氨基酸的化合物，包括甲基-甘氨酸-二乙酸[MGDA]及其盐或衍生物、谷氨酸-N,N-二乙酸[GLDA]及其盐或衍生物、亚氨基二琥珀酸(IDS)及其盐或衍生物、羧基甲基菊粉及其盐或其衍生物、次氨基三乙酸[NTA]、二亚乙基三胺五乙酸[DTPA]、B-丙氨酸二乙酸[B-ADA]及其盐)、多元羧酸的均聚物和共聚物及其部分或完全中和的盐、在0.5wt%至50wt%范围内的单体多元羧酸和羟基羧酸及其盐、或在约0.1wt%至约50wt%范围内的磺化/羧化聚合物；(iii)在约0.1wt%至约10wt%范围内的干燥助剂(例如，聚酯，特别是阴离子聚酯(任选地与具有有利于缩聚的3至6个官能团-典型地酸、醇或酯官能团的另外的单体一起)，聚碳酸酯-、聚氨酯-和/或聚脲-聚有机硅氧烷化合物或其前体化合物，特别是反应性环状碳酸酯和尿素类型)；(iv)从约1wt%至约20wt%范围内的硅酸盐(例如硅酸钠或硅酸钾，例如二硅酸钠、偏硅酸钠和结晶页硅酸盐)；(v)无机漂白剂(例如，过氧水合物盐例如过硼酸盐、过碳酸盐、过磷酸盐、过硫酸盐和过硅酸盐)和/或有机漂白剂(例如有机过氧酸例如二酰基-和四酰基过氧化物，特别是二过氧十二烷二酸、二过氧十四烷二酸和二过氧十六烷二酸)；(vi)漂白活化剂(例如，在从约0.1wt%至约10wt%范围内的有机过酸前体)和/或漂白催化剂(例如，锰三氮环壬烷及相关络合物；Co、Cu、Mn和Fe双吡啶胺及相关络合物；以及五胺乙酸钴(III)及相关络合物)；(vii)在从约0.1wt%至5wt%范围内的金属护理剂(例如苯并三唑、金属盐和络合物、和/或硅酸盐)；和/或(viii)本文披露的任何活性酶(范围为从约0.01mg至5.0mg活性酶/克自动餐具洗涤剂组合物)、和酶稳定剂组分(例如，寡糖、多糖和无机二价金属盐)。

[0234] 据信，许多可商购的洗涤剂配制品可以适合于包括本文披露的右旋糖酐醚化合物。实例包括PUREX[®] ULTRAPACKS(汉高公司(Henkel))、FINISH[®] QUANTUM(利洁时公司(Reckitt Benckiser))、CLOROX[™] 2 PACKS(可洛罗克斯公司(Clorox))、OXICLEAN MAX

FORCE POWER PAKS (切迟杜威公司 (Church&Dwight))、TIDE[®] STAIN RELEASE、CASCADE[®] ACTIONPACS、和TIDE[®] PODS[™] (宝洁公司 (Procter&Gamble))。

[0235] 本文披露的组合物可以是例如处于口腔护理组合物的形式。口腔护理组合物的实例包括提供某种形式的口腔护理 (例如, 治疗或预防空洞 [龋齿]、牙龈炎、斑块、牙垢和/或牙周病) 的洁牙剂、牙膏、漱口水、口腔清洗剂、口香糖、可食用条 (edible strip)、以及牙齿乳膏/凝胶。口腔护理组合物还可以用于治疗“口腔表面”, 其涵盖口腔内的任何软或硬表面, 包括以下表面: 舌头、硬和软腭、颊粘膜、牙龈和牙齿表面的表面。本文的“牙齿表面”是天然牙齿的表面或人造牙列 (包括例如牙冠、盖、填料、桥、义齿或牙科植入物) 的硬表面。

[0236] 本文的口腔护理组合物可以包含例如约0.01-15.0wt% (例如, 约0.1wt%-10wt%或约0.1wt%-5.0wt%、约0.1wt%-2.0wt%) 的一种或多种本文披露的右旋糖酐醚化合物。包含在口腔护理组合物中的一种或多种右旋糖酐醚化合物有时可以作为可用于赋予该组合物所希望的稠度和/或口感的增稠剂和/或分散剂在其中提供。还可以在本文的口腔护理组合物中提供一种或多种其他增稠剂或分散剂, 例如像羧基乙烯聚合物、角叉菜胶 (例如, L-角叉菜胶)、天然树胶 (例如, 梧桐树胶 (karaya)、黄原胶、阿拉伯胶、黄芪胶)、胶体硅酸镁铝、或胶体二氧化硅。

[0237] 本文的口腔护理组合物可以是例如牙膏或其他洁牙剂。此类组合物以及本文的任何其他口腔护理组合物可以另外包含但不限于一种或多种防龋剂、抗微生物剂或抗菌剂、抗结石或牙垢控制剂、表面活性剂、研磨料、pH调节剂、泡沫调节剂、湿润剂、食用香料、甜味剂、颜料/着色剂、增白剂和/或其他合适的组分。可以添加一种或多种右旋糖酐醚化合物的口腔护理组合物的实例披露于美国专利申请公开号2006/0134025、2002/0022006和2008/0057007中, 其通过引用结合在此。

[0238] 本文的防龋剂可以是口服可接受的氟离子源。氟离子的合适来源包括例如氟化物、单氟磷酸盐和氟硅酸盐以及胺氟化物, 包括奥拉氟 (N'-十八烷基三甲胺二胺-N,N,N'-三(2-乙醇)-二氢氟化物)。例如, 防龋剂能以向组合物提供总共约100-20000ppm、约200-5000ppm或约500-2500ppm氟离子的量存在。在氟化钠是氟离子的唯一来源的口腔护理组合物中, 例如约0.01-5.0wt%、约0.05-1.0wt%或约0.1wt%-0.5wt%氟化钠的量可以存在于组合物中。

[0239] 适合用于本文的口腔护理组合物的抗微生物剂或抗菌剂包括例如酚类化合物 (例如4-烯丙基儿茶酚; 对羟基苯甲酸酯, 例如对羟基苯甲酸苄酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯; 2-苄基苯酚; 丁基化羟基苯甲醚; 丁基化羟基甲苯; 辣椒素; 香芹酚; 木焦油醇; 丁子香酚; 愈创木酚; 卤代双酚例如六氯苯酚 (hexachlorophene) 和溴氯苯酚 (bromochlorophene); 4-己基间苯二酚; 8-羟基喹啉及其盐; 水杨酸酯例如水杨酸薄荷酯、水杨酸甲酯和水杨酸苯酯; 苯酚; 焦儿茶酚; N-水杨酰苯胺; 百里酚; 卤代二苯醚化合物, 例如三氯生和三氯生单磷酸盐); 铜 (II) 化合物 (例如铜 (II) 氯化物、氟化物、硫酸盐和氢氧化物); 锌离子源 (例如锌乙酸盐、柠檬酸盐、葡糖酸盐、甘氨酸盐、氧化物和硫酸盐); 邻苯二甲酸及其盐 (例如邻苯二甲酸镁单钾); 双辛氢啶; 奥替尼啶; 血根碱; 苯扎氯铵; 溴化度灭芬; 烷基吡啶氯化物 (例如十六烷基吡啶氯化物、十四烷基吡啶氯化物、N-十四烷基-4-乙基吡啶氯化物); 碘; 磺酰胺类; 二双胍类 (例如, 阿立西定、

氯己定、氯己定二葡萄糖酸盐)；氮杂环己烷衍生物(例如，地莫匹醇、辛哌醇)；木兰提取物、葡萄籽提取物、迷迭香提取物、薄荷醇、香叶醇、柠檬醛、桉油精；抗生素(例如，沃格孟汀、阿莫西林、四环素、多西环素、米诺环素、甲硝哒唑、新霉素、卡那霉素、克林霉素)和/或美国专利5776435中披露的任何抗菌剂，其为通过引用结合在此。一种或多种抗微生物剂可以任选地以约0.01-10wt% (例如，0.1wt%-3wt%) 存在，例如在所披露的口腔护理组合物中。

[0240] 适合用于本文的口腔护理组合物的抗结石或牙垢控制剂包括例如磷酸盐和多磷酸盐(例如焦磷酸盐)、聚氨基丙磺酸(AMPS)、柠檬酸锌三水合物、多肽(例如聚天冬氨酸和聚谷氨酸)、聚烯烴磺酸盐、聚烯烴磷酸盐、二膦酸盐(例如氮杂环烷-2,2-二膦酸盐，例如氮杂环庚烷-2,2-二膦酸)、N-甲基氮杂环戊烷-2,3-二膦酸、乙烷-1-羟基-1,1-二膦酸(EHDP)、乙烷-1-氨基-1,1-二膦酸盐和/或膦酰基链烷羧酸及其盐(例如，它们的碱金属盐和铵盐)。有用的无机磷酸盐和多磷酸盐包括例如一元、二元和三元磷酸钠；三聚磷酸钠；四聚磷酸盐；焦磷酸单钠、二钠、三钠和四钠；焦磷酸二氢二钠；三偏磷酸钠；六偏磷酸钠；或钠被钾或铵代替的这些中的任何一种。在某些实施例中，其他有用的抗结石剂包括阴离子多羧酸盐聚合物(例如丙烯酸、甲基丙烯酸和马来酸酐的聚合物或共聚物，例如聚乙烯基甲基醚/马来酸酐共聚物)。其他有用的抗结石剂包括螯合剂，例如羟基羧酸(例如，柠檬酸、富马酸、苹果酸、戊二酸、和草酸及其盐)和氨基多羧酸(例如，EDTA)。一种或多种抗结石或牙垢控制剂可以任选地以约0.01-50wt% (例如，约0.05-25wt%或约0.1wt%-15wt%) 存在，例如在所披露的口腔护理组合物中。

[0241] 适合用于本文的口腔护理组合物的表面活性剂可以是例如阴离子、非离子或两性的。适合的阴离子表面活性剂包括但不限于 C_{8-20} 烷基硫酸盐的水溶性盐、 C_{8-20} 脂肪酸磺化单酸甘油酯、肌氨酸盐和牛磺酸盐。阴离子表面活性剂的实例包括月桂基硫酸钠、椰子单甘油酯磺酸钠、月桂基肌氨酸钠、月桂基羟乙基磺酸钠、聚乙二醇单十二醚羧酸钠和十二烷基苯磺酸钠。适合的非离子表面活性剂包括但不限于泊洛沙姆、聚氧乙烯脱水山梨糖醇酯、脂肪醇乙氧基化物、烷基酚乙氧基化物、叔胺氧化物、叔膦氧化物和二烷基亚砷。适合的两性表面活性剂包括但不限于具有阴离子基团例如羧酸根、硫酸根、磺酸根、磷酸根或膦酸根的 C_{8-20} 脂肪族仲胺和叔胺的衍生物。适合的两性表面活性剂的实例是椰油酰胺丙基甜菜碱。一种或多种表面活性剂任选地以约0.01-10wt% (例如，约0.05-5.0wt%或约0.1wt%-2.0wt%) 的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。

[0242] 适合用于本文的口腔护理组合物的研磨料可以包括例如二氧化硅(例如硅胶、水合二氧化硅、沉淀二氧化硅)、氧化铝、不溶性磷酸盐、碳酸钙和树脂研磨料(例如，脲-甲醛缩合物产品)。可用作研磨料的不溶性磷酸酯的实例是正磷酸盐、聚偏磷酸盐和焦磷酸盐，并且包括正磷酸二钙二水合物、焦磷酸钙、焦磷酸 β -钙、磷酸三钙、聚偏磷酸钙和不溶性聚偏磷酸钠。一种或多种研磨料任选地以约5-70wt% (例如，约10-56wt%或约15-30wt%) 的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。在某些实施例中，研磨料的平均粒径为约0.1-30微米(例如约1-20微米或约5-15微米)。

[0243] 在某些实施例中，口腔护理组合物可以包含至少一种pH调节剂。可以选择这样的试剂将组合物的pH酸化、制成更碱性或缓冲至约2-10的pH范围(例如，pH范围为约2-8、3-9、4-8、5-7、6-10或7-9)。可用于本文的pH调节剂的实例包括但不限于羧酸、磷酸和磺酸；酸性盐(例如柠檬酸一钠、柠檬酸二钠、苹果酸一钠)；碱金属氢氧化物(例如氢氧化钠、碳酸盐例

如碳酸钠、碳酸氢盐、倍半碳酸钠)；硼酸盐；硅酸盐；磷酸盐(例如，磷酸一钠、磷酸三钠、焦磷酸盐)；以及咪唑。

[0244] 适合用于本文的口腔护理组合物的泡沫调节剂可以是例如聚乙二醇(PEG)。高分子量PEG是适合的,包括例如平均分子量为约200000-7000000(例如约500000-5000000或约1000000-2500000)的那些。一种或多种PEG任选地以约0.1wt%-10wt%(例如,约0.2wt%-5.0wt%或约0.25wt%-2.0wt%)的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。

[0245] 在某些实施例中,口腔护理组合物可以包含至少一种湿润剂。在某些实施例中,湿润剂可以是多元醇,例如甘油、山梨糖醇、木糖醇或低分子量PEG。最适合的湿润剂也可以用作本文的甜味剂。一种或多种湿润剂任选地以约1.0-70wt%(例如,约1.0-50wt%、约2-25wt%、或约5-15wt%)的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。

[0246] 天然的或人造的甜味剂可以任选地包含在本文的口腔护理组合物中。适合的甜味剂的实例包括右旋糖、蔗糖、麦芽糖、糊精、转化糖、甘露糖、木糖、核糖、果糖、左旋糖、半乳糖、玉米糖浆(例如高果糖玉米糖浆或玉米糖浆固体)、部分水解的淀粉、氢化淀粉水解产物、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、麦芽糖醇、异麦芽糖醇、阿斯巴甜、纽甜、糖精及其盐、基于二肽的强甜味剂和环磺酸盐。一种或多种甜味剂任选地以约0.005-5.0wt%的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。

[0247] 天然的或人造的食用香料可以任选地包含在本文的口腔护理组合物中。适合的食用香料的实例包括香草醛；鼠尾草；马郁兰；欧芹油；留兰香油；肉桂油；冬青油(水杨酸甲酯)；胡椒薄荷油；丁香油；月桂油；茴香油；桉树油；柑橘油；水果油；香精,例如源自于柠檬、橙子、酸橙、葡萄柚、杏、香蕉、葡萄、苹果、草莓、樱桃或菠萝的那些；源自于豆类和坚果的香料,如咖啡、可可豆、可乐、花生或杏仁；以及吸附和包封的食用香料。还涵盖在本文的食用香料中的是在口中提供香味和/或其他感官效果的成分,包括冷却或加温效果。此类成分包括但不限于薄荷醇、乙酸薄荷酯、乳酸薄荷酯、樟脑、桉树油、桉油精、茴香脑、丁子香酚、肉桂、噁烷酮(oxanone)、紫罗兰酮(Irisone)®、羟甲基茴香脑、麝香草酚、芳樟醇、苯甲醛、肉桂醛、N-乙基-对薄荷烷-3-甲酰胺、N,2,3-三甲基-2-异丙基丁酰胺、3-(1-薄荷氧基)-丙烷-1,2-二醇、肉桂醛甘油缩醛(CGA)和薄荷酮甘油缩醛(MGA)。一种或多种食用香料任选地以约0.01-5.0wt%(例如,约0.1wt%-2.5wt%)的总量存在于例如所披露的口腔护理组合物中。

[0248] 在某些实施例中,口腔护理组合物可以包含至少一种碳酸氢盐。可以使用任何口服可接受的碳酸氢盐,包括例如碱金属碳酸氢盐例如碳酸氢钠或碳酸氢钾、和碳酸氢铵。例如,一种或多种碳酸氢盐任选地以约0.1wt%-50wt%(例如,约1-20wt%)的总量存在于所披露的口腔护理组合物中。

[0249] 在某些实施例中,口腔护理组合物可以包含至少一种增白剂和/或着色剂。适合的增白剂是过氧化物化合物,例如在美国专利号8540971中披露的任何一种,其通过引用结合在此。本文中,适合的着色剂包括例如赋予特定光泽或反射率的颜料、染料、色淀和试剂,例如珠光剂。用于本文的着色剂的具体实例包括滑石；云母；碳酸镁；碳酸钙；硅酸镁；硅酸镁铝；二氧化硅；二氧化钛；氧化锌；红色、黄色、棕色、黑色铁氧化物；亚铁氰化铁铵；锰紫；群青；钛云母；以及氯氧化铋。例如,一种或多种着色剂任选地以约0.001-20wt%(例如,约0.01-10wt%或约0.1wt%-5.0wt%)的总量存在于所披露的口腔护理组合物中。

[0250] 可任选地包括在本文的口腔组合物中的另外的组分包括例如一种或多种酶(上文)、维生素和抗粘剂。可用于本文的维生素的实例包括维生素C、维生素E、维生素B5和叶酸。适合的抗粘剂的实例包括对羟基苯甲酸甲酯(solbrol)、无花果蛋白酶和群体感应抑制剂。

[0251] 本披露还涉及增加水性组合物的粘度的方法。该方法包括使本文披露的至少一种右旋糖酐醚化合物与水性组合物接触。与接触步骤之前的水性组合物的粘度相比,该方法中的接触步骤导致水性组合物的粘度增加。例如,本文披露的任何水状胶体和水性溶液可以使用该方法生产或改性。

[0252] 本文的水性组合物可以是例如水(例如去离子水)、水性溶液或水状胶体。在约20-25℃下测量的在接触步骤之前的水性组合物的粘度可以为例如约0-10000cPs(或在0-10000cPs之间的任何整数)。由于在某些实施例中水性组合物可以是水状胶体及类似物,因此应当显而易见的是,该方法可以用于增加已经粘稠的水性组合物的粘度。

[0253] 在某些实施例中,使本文的右旋糖酐醚与水性组合物接触增加了水性组合物的粘度。粘度的这种增加可以是与接触步骤之前的水性组合物的粘度相比,例如,增加至少约1%、10%、100%、1000%、100000%、或1000000%(或在1%和1000000%之间的任何整数)。应当显而易见的是,当在接触步骤之前水性组合物具有很少至没有粘度时,可以使用所披露的方法获得非常大百分比的粘度增加。可以例如通过比较经该方法(即,在接触步骤之后)获得的水性组合物的粘度与在方法之前(即,在接触步骤之前)存在的水性组合物的粘度来确定粘度的增加。

[0254] 在某些实施例中,使本文的右旋糖酐醚与水性组合物接触增加了水性组合物的剪切稀化行为或剪切增稠行为。因此,在这些实施例中,右旋糖酐醚在流变学上改变了水性组合物。剪切稀化行为或剪切增稠行为的增加可以是,与在接触步骤之前的水性组合物的剪切稀化行为或剪切增稠行为相比,例如,至少约1%、10%、100%、1000%、100000%或1000000%(或在1%和1000000%之间的任何整数)的增加。应当显而易见的是,当在接触步骤之前水性组合物具有很少至没有流变行为时,可以使用所披露的方法获得非常大百分比的流变改性。

[0255] 增加水性组合物粘度的方法中的接触步骤可以通过本领域已知的任何手段在水性组合物中混合或溶解目前披露的任何右旋糖酐醚化合物来进行。例如,可以手动或用机器(例如,工业混合器或搅拌器、轨道振摇器、搅拌金属板、均化器、超音波样品震碎机、珠磨机)进行混合或溶解。在某些实施例中,混合或溶解可以包括均化步骤。如果需要,均化(以及任何其他类型的混合)可以进行约5至60秒、5至30秒、10至60秒、10至30秒、5至15秒、或10至15秒(或在5秒和60秒之间的任何整数)或更长的时间段,以将右旋糖酐醚与水性组合物混合。例如,可以在约5000至30000rpm、10000至30000rpm、15000至30000rpm、15000至25000rpm、或20000rpm(或在5000rpm和30000rpm之间的任何整数)下使用均化器。

[0256] 在将本文的右旋糖酐醚化合物与水性组合物混合或溶解于其中后,可以将所得水性组合物过滤、或不将其过滤。例如,可以将用均化步骤制备的水性组合物过滤或不过滤。

[0257] 上述方法的某些实施例可以用于制备本文所披露的水性组合物,例如食物产品(例如,糕点糖果例如糖果填料)、药物产品(例如赋形剂)、家用产品(例如,衣物洗涤剂、织物柔软剂、餐具洗涤剂)、个人护理产品(例如,含水洁牙剂例如牙膏)、或工业产品。

[0258] 本披露还涉及一种处理材料的方法。该方法包括使材料与包含本文披露的至少一种右旋糖酐醚化合物的水性组合物接触。

[0259] 在某些实施例中,在本文的接触方法中与水性组合物接触的材料可以包含织物。本文的织物可以包含天然纤维、合成纤维、半合成纤维或其任何组合。本文的半合成纤维使用已经化学衍生化的天然存在的材料生产,该材料的实例是人造丝。本文的织物类型的非限制性实例包括由以下制成的织物:(i) 纤维质纤维例如棉花(例如、绒面呢、帆布、有条纹或格子花纹的布、雪尼尔、印花棉布、灯芯绒、大花帘布、锦缎、牛仔布、法兰绒、条纹棉布、提花织物、编织物、马特拉斯织物、牛津布、高级密织棉布、府绸、褶裥(plissé)、棉缎、泡泡纱、透明薄织物、毛巾布、斜纹织物、天鹅绒)、人造丝(例如粘胶、莫代尔、莱赛尔纤维)、亚麻布和天丝棉®;(ii) 蛋白质纤维例如丝、羊毛和相关的哺乳动物纤维;(iii) 合成纤维例如聚酯、丙烯酸、尼龙等;(iv) 黄麻、亚麻、苧麻、椰壳纤维、木棉、剑麻、赫纳昆纤维、马尼拉麻、大麻和桉麻的长植物纤维;以及(v) (i) - (iv) 的织物的任意组合。包含纤维类型(例如天然和合成)的组合的织物包括例如具有棉纤维和聚酯的那些。包含一种或多种本文的织物的材料/物品包括例如服装、窗帘、帷帘、室内装饰品、地毯、床上用品、浴室用单巾类织物、桌布、睡袋、帐篷、汽车内饰等。包括天然和/或合成纤维的其他材料包括例如无纺布、垫料、纸和泡沫。

[0260] 与织物接触的水性组合物可以是例如织物护理组合物(例如衣物洗涤剂、织物柔软剂)。因此,如果在处理方法中使用织物护理组合物,则在某些实施例中该处理方法可以被认为是织物护理方法或洗衣方法。预期本文的织物护理组合物将影响以下织物护理益处(即,表面实质性效果)中的一种或多种:去皱、减皱、抗皱、织物磨损降低、织物耐磨性、织物起球减少、延长织物寿命、织物颜色维护、织物褪色减少、染料转移减少、织物颜色恢复、织物污渍减少、织物污垢释放、织物形状保持、织物光滑度增强、织物上污渍抗再沉积、衣物抗变灰、改进的织物手感(fabric hand)/质感(handle)和/或织物收缩减少。

[0261] 本文中用于进行织物护理方法或洗衣方法的条件(例如,时间、温度、洗涤/漂洗体积)的实例披露于W0 1997/003161和美国专利号4794661、4580421和5945394中,其通过引用结合在此。在其他实例中,包含织物的材料可以与本文的水性组合物接触:(i) 持续至少约5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、或120分钟;(ii) 在至少约10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C、60°C、65°C、70°C、75°C、80°C、85°C、90°C、或95°C的温度下(例如,对于衣物洗涤或漂洗:约15°C-30°C的“冷”温度、约30°C-50°C的“温”温度、约50°C-95°C的“热”温度);(iii) 在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12(例如约2-12或约3-11的pH范围)的pH下;(iv) 在至少约0.5wt%、1.0wt%、1.5wt%、2.0wt%、2.5wt%、3.0wt%、3.5wt%、或4.0wt%的盐(例如NaCl)浓度下;或(i) - (iv)的任意组合。

[0262] 例如,织物护理方法或洗衣方法中的接触步骤可以包括任何洗涤、浸泡和/或漂洗步骤。在又进一步的实施例中与材料或织物接触可以通过本领域已知的任何手段进行,例如溶解、混合、振摇、喷雾、处理、浸渍、冲洗、浇注或浇入、结合、涂色、涂覆、施加、粘贴和/或将本文的有效量的右旋糖酐醚化合物与织物或材料进行连通。在又进一步的实施例中,接触可以用于处理织物以提供表面实质性效果。如本文所使用的,术语“织物手感”(fabric hand)或“质感”(handle)是指个人对于织物的可能是身体、生理、心理、社会或其任何组合的触觉感觉反应。在一个实施例中,织物手感可以使用用于测量相对手感值的PhabrOmeter®

系统来测量(获自加利福尼亚州戴维斯的Nu Cybertek有限公司(Nu Cybertek, Inc. Davis, CA)(美国纺织化学家和染色家协会(American Association of Textile Chemists and Colorists)(AATCC测试方法“202-2012,纺织品的相对手感值:仪器方法(202-2012, Relative Hand Value of Textiles: Instrumental Method”))。)

[0263] 在处理包含织物的材料的某些实施例中,水性组合物的一种或多种右旋糖酐醚化合物组分吸附到织物上。据信这种特征使得本文的右旋糖酐醚化合物可用作所披露的织物护理组合物中的抗再沉积剂和/或抗变灰剂(除了它们的粘度改性作用)。本文的抗再沉积剂或抗变灰剂有助于防止污渍被去除后该污渍再沉积在洗涤水中的衣物上。进一步预期将一种或多种本文的右旋糖酐醚化合物吸附到织物上增强了织物的机械性能。

[0264] 将右旋糖酐醚化合物吸附到本文的织物上可以使用例如比色技术(例如,杜布瓦(Dubois)等人,1956,分析化学(Anal. Chem.) 28:350-356; Zemljic等人,2006,兰精报道(Lenzinger Berichte) 85:68-76;两者都通过引用结合在此),或本领域已知的任何其他方法来测量。

[0265] 可以在上述处理方法中接触的其他材料包括可以用餐具洗涤剂(例如自动餐具洗涤剂或手洗餐具洗涤剂)处理的表面。此类材料的实例包括由陶瓷材料、瓷器、金属、玻璃、塑料(例如聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯等)和木材制成的餐具、玻璃制品、盆、盘状器皿、烘烤盘、炊具和扁平的餐具(这里统称为“食具”(tableware))。因此,在某些实施例中,处理方法可以被认为是例如餐具洗涤方法或食具洗涤方法。在美国专利号8575083中披露了用于进行餐具洗涤或食具洗涤方法的条件(例如,时间、温度、洗涤体积)的实例,其通过引用结合在此。在其他实例中,食具物品可以在适当的一组条件下与本文的水性组合物接触,例如以上披露的关于与含织物材料接触的任何一种。

[0266] 可以在上述处理方法中接触的其他材料包括口腔表面,例如在口腔内的任何软或硬表面,包括以下各项的表面:舌头、硬和软腭、颊粘膜、牙龈和牙齿表面(例如,天然牙齿或人造牙列(例如牙冠、盖、填料、桥、义齿或牙科植入物)的硬表面)。因此,在某些实施例中,处理方法可以被认为是例如口腔护理方法或牙齿护理方法。用于使口腔表面与本文的水性组合物接触的条件(例如时间、温度)应当适合于进行此类接触的预期目的。在处理方法中接触的其他表面还包括皮肤、毛发或指甲等皮肤系统的表面。

[0267] 因此,本披露的某些实施例涉及包含本文的右旋糖酐醚化合物的材料(例如织物)。这样的材料可以按照例如本文披露的材料处理方法来制备。在某些实施例中,如果化合物被吸附到材料的表面或以其他方式与材料的表面接触,则该材料可以包含右旋糖酐醚化合物。

[0268] 本文处理材料的方法的某些实施例进一步包括干燥步骤,其中材料在与水性组合物接触后被干燥。干燥步骤可以在接触步骤之后直接进行,或者在可以紧跟在接触步骤之后的一个或多个附加步骤之后进行(例如,在本文的水性组合物中洗涤后,例如在水中漂洗之后干燥织物)。可以通过本领域已知的几种方法中的任何一种,例如空气干燥(例如约20-25°C),或例如在至少约30°C、40°C、50°C、60°C、70°C、80°C、90°C、100°C、120°C、140°C、160°C、170°C、175°C、180°C、或200°C的温度下进行干燥。本文中已经干燥的材料典型地具有包含在其中的少于3wt%、2wt%、1wt%、0.5wt%、或0.1wt%的水。织物是用于进行任选的干燥步骤的优选材料。

[0269] 在本文的处理方法中使用的水性组合物可以是本文(例如在上述实施例中或以下实施例中)披露的任何水性组合物。因此,水性组合物的一种或多种右旋糖酐醚组分可以是本文披露的任何一种或多种。水性组合物的实例包括洗涤剂(例如衣物洗涤剂或餐具洗涤剂)和含水的洁牙剂例如牙膏。

[0270] 本披露还涉及一种用于生产右旋糖酐醚化化合物的方法。该方法包括:在碱性条件下的反应中使右旋糖酐与至少一种包含有机基团的醚化剂接触,其中至少一种有机基团被醚化至右旋糖酐,从而产生如本文披露的右旋糖酐醚化合物。以这种方式生产的右旋糖酐醚化合物具有约0.0025至约3.0的用有机基团的取代度,并且可以任选地进行分离。该方法可以被认为包括醚化反应。

[0271] 在一些实施例中,可以采取以下步骤来准备上述醚化反应。本文披露的右旋糖酐醚化合物在反应中在碱性条件下与至少一种包含有机基团的醚化剂接触。该步骤可以例如通过首先通过使右旋糖酐与溶剂(例如,水或醇)和一种或多种碱性氢氧化物接触来制备碱性条件以提供制剂(例如,溶液,其中右旋糖酐溶于碱性氢氧化物溶液中)。因此,在一些方面,醚化反应的碱性条件可以包含碱性氢氧化物溶液。碱性条件的pH可以为例如至少约11.0、11.2、11.4、11.6、11.8、12.0、12.2、12.4、12.6、12.8或13.0。

[0272] 可以使用各种碱性氢氧化物,例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化锂和/或氢氧化四乙铵。在具有本文的右旋糖酐和溶剂的制剂中碱性氢氧化物的浓度可以为从约1-54wt%、5-50wt%、5-10wt%、10-50wt%、10-40wt%、或10-30wt%(或在1wt%与54wt%之间的任何整数)。可替代地,碱性氢氧化物如氢氧化钠的浓度可以为约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、或30wt%。用于制备碱性条件的碱性氢氧化物可以是在完全水性溶液中或包含一种或多种水溶性有机溶剂如乙醇或异丙醇的水性溶液中。可替代地,如果需要,碱性氢氧化物可以作为固体加入以提供碱性条件。

[0273] 当制备醚化反应时可以任选地包括在溶剂中或用作主要溶剂的各种有机溶剂包括例如醇、丙酮、二噁烷、异丙醇和甲苯。甲苯或异丙醇可以在某些实施例中使用。可以在加入碱性氢氧化物之前或之后加入有机溶剂。在包含右旋糖酐和碱性氢氧化物的制剂中的有机溶剂(例如,异丙醇或甲苯)的浓度可以为至少约10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85或90wt%(或在10wt%与90wt%之间的任何整数)。

[0274] 目前披露的右旋糖酐可以通过溶解和/或混合与溶剂和一种或多种碱性氢氧化物接触。这种溶解和/或混合可以在彼此加入这些组分期间或之后进行。在某些实施例中,右旋糖酐可以在与另一种溶剂和/或碱性氢氧化物混合之前首先溶于水或水性溶液中。

[0275] 在使右旋糖酐、溶剂和一种或多种碱性氢氧化物彼此接触之后,所得组合物可以任选地在环境温度下保持长达14天。如本文所用的术语“环境温度”是指在约15-30°C或20-25°C之间(或在15°C与30°C之间的任何整数)的温度。可替代地,该组合物可以在或不在回流下在从约30°C至约150°C(或在30°C与150°C之间的任何整数)的温度下加热长达约48小时。在某些实施例中,该组合物可以在约70°C下加热约30-60分钟。因此,通过将本文的右旋糖酐化合物、溶剂和一种或多种碱性氢氧化物彼此混合获得的组合物可以例如在约65、66、67、68、69、70、71、72、73、74或75°C下加热约30-90分钟。

[0276] 包含有机基团的醚化剂可以与目前披露的右旋糖酐化合物在本文的生产右旋糖

酞醚化合物的方法中在的碱性条件下的反应中接触。例如,可以将醚化剂加入到如上所述通过使右旋糖酐、溶剂和一种或多种碱性氢氧化物彼此接触而制备的组合物中。可替代地,当制备碱性条件时可以包括醚化剂(例如,醚化剂可与右旋糖酐和溶剂在与碱性氢氧化物溶解/混合之前混合)。一种或多种醚化剂可用于醚化反应中。

[0277] 在某些实施例中,醚化剂可用于将烷基、羟烷基或羧烷基醚化至右旋糖酐。

[0278] 适用于制备烷基右旋糖酐醚化化合物的醚化剂包括例如硫酸二烷基酯、碳酸二烷基酯、烷基卤化物(例如,烷基氯)、碘代烷烃、三氟甲磺酸烷基酯(三氟甲烷磺酸烷基酯)和氟磺酸烷基酯。因此,用于生产甲基右旋糖酐醚的醚化剂的实例包括硫酸二甲酯、碳酸二甲酯、甲基氯、碘代甲烷、三氟甲磺酸甲酯和氟磺酸甲酯。用于生产乙基右旋糖酐醚的醚化剂的实例包括硫酸二乙酯、碳酸二乙酯、乙基氯、碘代乙烷、三氟甲磺酸乙酯和氟磺酸乙酯。用于生产丙基右旋糖酐醚的醚化剂的实例包括硫酸二丙酯、碳酸二丙酯、丙基氯、碘代丙烷、三氟甲磺酸丙酯和氟磺酸丙酯。用于生产丁基右旋糖酐醚的醚化剂的实例包括硫酸二丁酯、碳酸二丁酯、丁基氯、碘代丁烷和三氟甲磺酸丁酯。

[0279] 适用于制备羟烷基右旋糖酐醚化化合物的醚化剂包括例如环氧烷,例如环氧乙烷、环氧丙烷(例如,1,2-环氧丙烷)、环氧丁烷(例如,1,2-环氧丁烷;2,3-环氧丁烷;1,4-环氧丁烷)、或其组合。作为实例,环氧丙烷可用作用于制备羟丙基右旋糖酐的醚化剂,并且环氧乙烷可用作用于制备羟乙基右旋糖酐的醚化剂。可替代地,羟烷基卤化物(例如,羟烷基氯化物)可用作用于制备羟烷基右旋糖酐的醚化剂。羟烷基卤化物的实例包括羟乙基卤化物、羟丙基卤化物(例如,2-羟丙基氯化物、3-羟丙基氯化物)和羟丁基卤化物。可替代地,烯炔氯乙醇可用作用于制备羟烷基右旋糖酐的醚化剂。可以使用的烯炔氯乙醇包括但不限于氯乙醇、氯丙醇、氯丁醇、或这些的组合。

[0280] 适用于制备二羟烷基右旋糖酐醚化化合物的醚化剂包括例如二羟烷基卤化物(例如,二羟烷基氯化物),例如二羟乙基卤化物、二羟丙基卤化物(例如,2,3-二羟丙基氯化物[即3-氯-1,2-丙二醇])、或二羟丁基卤化物。2,3-二羟丙基氯化物可用于制备例如二羟丙基右旋糖酐。

[0281] 适用于制备羧烷基右旋糖酐醚化化合物的醚化剂可包括卤代烷基化物(例如,氯代烷基化物)。卤代烷基化物的实例包括卤代乙酸盐(例如,氯乙酸盐)、3-卤代丙酸盐(例如,3-氯丙酸盐)和4-卤代丁酸盐(例如,4-氯丁酸盐)。例如,氯乙酸盐(一氯乙酸盐)(例如,氯乙酸钠或氯乙酸)可用作醚化剂以制备羧甲基右旋糖酐。

[0282] 本文的醚化剂可以可替代地用于将带正电荷的有机基团醚化至右旋糖酐。这种醚化剂的实例包括硫酸二烷基酯、碳酸二烷基酯、烷基卤化物(例如,烷基氯化物)、碘代烷烃、三氟甲磺酸烷基酯(三氟甲烷磺酸烷基酯)和氟磺酸烷基酯,其中这些试剂中的每一种的一个或多个烷基具有一个或多个用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团,例如三甲基铵)进行的取代。这种醚化剂的其他实例包括硫酸二甲酯、碳酸二甲酯、甲基氯、碘代甲烷、三氟甲磺酸甲酯和氟磺酸甲酯,其中这些试剂中的每一种的一个或多个甲基具有用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团,例如三甲基铵)进行的取代。这种醚化剂的其他实例包括硫酸二乙酯、碳酸二乙酯、乙基氯、碘代乙烷、三氟甲磺酸乙酯和氟磺酸乙酯,其中这些试剂中的每一种的一个或多个乙基具有用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团,例如三甲基铵)进行的取代。这种醚化剂的其他实例包括硫酸二丙酯、碳酸二丙酯、丙基氯、碘代丙烷、三氟甲磺酸

丙酯和氟磺酸丙酯,其中这些试剂中的每一种的一个或多个丙基具有一个或多个用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团,例如三甲基铵)进行的取代。这种醚化剂的其他实例包括硫酸二丁酯、碳酸二丁酯、丁基氯、碘代丁烷和三氟甲磺酸丁酯,其中这些试剂中的每一种的一个或多个丁基具有一个或多个用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团,例如三甲基铵)进行的取代。

[0283] 醚化剂可以是可以用具有带正电荷的有机基团醚化右旋糖酐的醚化剂,其中除了用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团如三甲基铵)进行的取代之外,该带正电荷的有机基团的碳链还具有取代(例如,羟基)。这种醚化剂的实例包括羟烷基卤化物(例如,羟烷基氯化物),例如羟丙基卤化物和羟基丁基卤化物,其中这些试剂中的每一种的末端碳都具有用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团如三甲基铵)进行的取代;一个实例是3-氯-2-羟丙基-三甲基铵。这种醚化剂的其他实例包括环氧烷如环氧丙烷(例如,1,2-环氧丙烷)和环氧丁烷(例如,1,2-环氧丁烷;2,3-环氧丁烷),其中这些试剂中的每一种的末端碳具有用带正电荷的基团(例如,取代的铵基团如三甲基铵)进行的取代。

[0284] 在任何上述醚化剂实例中包含的取代的铵基团可以是伯、仲、叔或季铵基团。仲、叔和季铵基团的实例在结构I中表示,其中 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地表示氢原子或烷基,例如甲基、乙基、丙基或丁基。

[0285] 本文的醚化剂典型地可以作为氟化物、氯化物、溴化物或碘化物盐(其中前述卤化物中的每一种用作阴离子)提供。

[0286] 当生产具有两个或更多个不同有机基团的右旋糖酐醚化合物时,相应地将使用两种或更多种不同的醚化剂。例如,环氧烷和烷基氯二者都可以用作醚化剂来生产烷基羟烷基右旋糖酐醚。本文披露的任何醚化剂可以组合以生产具有两个或更多个不同有机基团的右旋糖酐醚化合物。这样的两种或更多种的醚化剂可以同时或在反应中使用,或可以在反应中顺序地使用。当顺序地使用时,可以任选地在每次添加之间使用下面披露的任何温度处理(例如,加热)步骤。可以选择顺序引入醚化剂以控制每个有机基团的所需的DoS。一般而言,如果醚化剂在醚产物中形成的有机基团处于与待添加的另一有机基团的DoS相比更高的DoS,则将首先使用特定的醚化剂。

[0287] 待与右旋糖酐在碱性条件下的反应中接触的醚化剂的量可以基于所生产的右旋糖酐醚化合物中所需的取代度(DoS)来确定。本文生产的醚化合物的右旋糖酐组分的每个单体单元上的醚取代基团的量可以使用核磁共振(NMR)光谱法测定。右旋糖酐的摩尔取代度(MS)值没有上限。一般而言,醚化剂可以以每摩尔右旋糖酐至少约0.05摩尔的量使用。对于可以使用的醚化剂的量没有上限。

[0288] 可以任选地在碱性条件下使右旋糖酐与醚化剂接触的步骤之后加热本文的反应。反应温度和施加这种温度的时间可以在宽限制内变化。例如,反应可以任选地在环境温度下保持长达14天。可替代地,反应可以在或不在回流下在约25°C至约200°C之间(或在25°C与200°C之间的任何整数)加热。反应时间可以相应地变化:在低温下较多的时间和在高温下较少的时间。

[0289] 在生产右旋糖酐醚(例如,羧甲基右旋糖酐)的某些实施例中,反应可加热至约55°C持续约2-2.5小时。因此,用于制备本文的右旋糖酐醚化合物的反应可以例如加热至约50-60°C(或在50°C与60°C之间的任何整数)持续约1小时至约3小时。例如,醚化剂如卤代烷

基化物(例如,氯烷基化物如氯乙酸盐)可用于这些实施例中。

[0290] 任选地,本文的醚化反应可以被保持在惰性气体下,有或没有加热。如本文所用,术语“惰性气体”是指在一组给定条件下不经历化学反应的气体,例如用于制备本文的反应所披露的那些。

[0291] 本文披露的的所有组分可以同时混合在一起并达到所需的反应温度,此时在搅拌下或无搅拌下保持该温度直到形成所需的右旋糖酐醚化合物。可替代地,如上所述,混合的组分可以在环境温度下静置。本文的用于制备醚化反应的共同方法可任选地表征为提供醚化反应。

[0292] 醚化后,可以中和反应的pH。可以使用一种或多种酸进行反应的中和。如本文所用的术语“中性pH”是指实质上不是酸性或碱性的pH(例如,约6-8,或约6.0、6.2、6.4、6.6、6.8、7.0、7.2、7.4、7.6、7.8或8.0的pH)。可用于此目的的各种酸包括但不限于硫酸、乙酸(例如,冰乙酸)、盐酸、硝酸、任何矿物(无机)酸、任何有机酸、或这些酸的任何组合。

[0293] 在本文的反应中产生的右旋糖酐醚化合物可以任选地用不容易溶解该化合物的液体洗涤一次或多次。通常,用于洗涤右旋糖酐醚产物的溶剂将使其从溶液中沉淀出来。例如,取决于其中的醚化合物的溶解性(其中缺乏溶解性对于洗涤是期望的),右旋糖酐醚通常可以用醇(例如,甲醇、乙醇、丙醇)、丙酮、芳族化合物或这些的任何组合洗涤。一般而言,包含有机溶剂(例如95-100%)如乙醇的溶剂被优选用于洗涤右旋糖酐醚。可以使用例如含有醇(例如,甲醇或乙醇)的水性溶液洗涤右旋糖酐醚产物一次或多次。例如,70-95wt%或90-95%乙醇可用于洗涤产物。在另一个实施例中,右旋糖酐醚产物可以用甲醇:丙酮(例如,60:40)溶液洗涤。

[0294] 在披露的反应中产生的右旋糖酐醚可以任选地被分离。该步骤可以在中和和/或洗涤步骤之前或之后使用漏斗、离心机、压滤机或本领域已知的允许从固体中除去液体的任何其他方法或设备进行。可以使用本领域已知的任何方法,例如真空干燥、空气干燥或冷冻干燥来干燥分离的右旋糖酐醚产物。

[0295] 可以使用右旋糖酐醚产物作为用于进一步改性的起始材料来重复任一个上述醚化反应。该方法可适用于增加有机基团的DoS,和/或向醚产物中加入一种或多种不同的有机基团。此外,该方法可适用于将一个或多个不带正电荷的有机基团,例如烷基(例如,甲基、乙基、丙基、丁基)和/或羟烷基(例如,羟乙基、羟丙基、羟基丁基)加入到阳离子右旋糖酐醚中。

[0296] 可以使用本领域已知的各种物理化学分析例如NMR波谱法和尺寸排阻色谱法(SEC)来确认右旋糖酐醚产物的结构、分子量和DoS。

[0297] 本文披露的右旋糖酐的任何实施例可用于例如醚化反应中。在制备醚化反应的某些方面,右旋糖酐可以以干燥形式或在水性组合物如水性溶液中提供。

[0298] 本文披露的组合物和方法的非限制性实例包括:

[0299] 1. 一种包含右旋糖酐醚化合物的组合物,其中该右旋糖酐醚化合物包含:

[0300] (i) 约87wt%-93wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;

[0301] (ii) 约0.1wt%-1.2wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;

[0302] (iii) 约0.1wt%-0.7wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;

[0303] (iv) 约7.7wt%-8.6wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;

- [0304] (v) 约0.4wt%-1.7wt%在以下位置处连接的葡萄糖：(a) 位置1、2和6，或(b) 位置1、4和6；并且
- [0305] (vi) 约0.0025至约3.0的用至少一种有机基团的取代度 (DoS) ；
- [0306] 其中该右旋糖酐醚化化合物的重均分子量 (Mw) 为约5000万至2亿道尔顿。
- [0307] 2. 如实施例1所述的组合物，其中该右旋糖酐醚化合物包含：
- [0308] (i) 约89.5wt%-90.5wt%在位置1和6处连接的葡萄糖；
- [0309] (ii) 约0.4wt%-0.9wt%在位置1和3处连接的葡萄糖；
- [0310] (iii) 约0.3wt%-0.5wt%在位置1和4处连接的葡萄糖；
- [0311] (iv) 约8.0wt%-8.3wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖；以及
- [0312] (v) 约0.7wt%-1.4wt%在以下位置处连接的葡萄糖：(a) 位置1、2和6，或(b) 位置1、4和6。
- [0313] 3. 如实施例1或2所述的组合物，其中该右旋糖酐醚化合物包含在分支结构内连接在一起的链，其中所述链在长度上相似并且主要包含 α -1,6-糖苷键。
- [0314] 4. 如实施例3所述的组合物，其中所述链的平均长度为约10-50个单体单元。
- [0315] 5. 如实施例1、2、3或4所述的组合物，其中衍生该右旋糖酐醚化化合物的该右旋糖酐的z-平均回转半径为约200-280nm。
- [0316] 6. 如实施例1、2、3、4或5所述的组合物，其中衍生该右旋糖酐醚化化合物的该右旋糖酐是葡萄糖基转移酶的产物，该葡萄糖基转移酶包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13、或SEQ ID NO:17具有至少90%同一性的氨基酸序列。
- [0317] 7. 如实施例1、2、3、4、5或6所述的组合物，其中至少一种有机基团是羧基烷基、烷基或羟基烷基。
- [0318] 8. 如实施例7所述的组合物，其中至少一种有机基团是羧甲基、甲基、乙基、羟丙基、二羟基丙基、或羟乙基。
- [0319] 9. 如实施例1、2、3、4、5或6所述的组合物，其中至少一种有机基团是带正电荷的有机基团。
- [0320] 10. 如实施例9所述的组合物，其中至少一种带正电荷的有机基团包含取代的铵基团。
- [0321] 11. 如实施例10所述的组合物，其中该取代的铵基团是三甲基铵基团。
- [0322] 12. 如实施例9所述的组合物，其中该带正电荷的有机基团是季铵基团。
- [0323] 13. 如实施例9所述的组合物，其中至少一种带正电荷的有机基团包含羟烷基或烷基。
- [0324] 14. 如实施例13所述的组合物，其中该带正电荷的有机基团包含羟烷基和三甲基铵基团。
- [0325] 15. 如实施例1-14中任一项所述的组合物，其中：
- [0326] (i) 该右旋糖酐醚化合物含有一种类型的有机基团，或
- [0327] (ii) 该右旋糖酐醚化合物含有两种或更多种类型的有机基团。
- [0328] 16. 如实施例1-15中任一项所述的组合物，其中该组合物是水性组合物。
- [0329] 17. 如实施例16所述的组合物，其中该组合物具有至少约3cPs的粘度。
- [0330] 18. 如实施例1-17中任一项所述的组合物，其中该组合物呈家用产品、个人护理产

品、药物产品、工业产品或食物产品的形式。

[0331] 19. 如实施例18所述的组合物,其中该组合物是织物护理产品。

[0332] 20. 一种生产右旋糖酐醚化化合物的方法,该方法包括:

[0333] (a) 在碱性条件下的反应中使右旋糖酐与至少一种包含有机基团的醚化剂接触,其中至少一种有机基团被醚化至右旋糖酐,从而产生右旋糖酐醚化合物,其中该右旋糖酐醚化合物具有约0.0025至约3.0的用至少一种有机基团的取代度并且该右旋糖酐醚化合物的重均分子量(Mw)为约5000万至2亿道尔顿,其中该右旋糖酐包含:

[0334] (i) 约87wt%-93wt%在位置1和6处连接的葡萄糖;

[0335] (ii) 约0.1wt%-1.2wt%在位置1和3处连接的葡萄糖;

[0336] (iii) 约0.1wt%-0.7wt%在位置1和4处连接的葡萄糖;

[0337] (iv) 约7.7wt%-8.6wt%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及

[0338] (v) 约0.4wt%-1.7wt%在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1、2和6,或(b) 位置1、4和6;并且

[0339] (b) 任选地,分离步骤(a)中产生的该右旋糖酐醚化合物。

[0340] 21. 一种增加水性组合物的粘度的方法,该方法包括:使如实施例1-15中任一项所述的或如实施例20所生产的右旋糖酐醚化合物与该水性组合物接触,其中与在该接触步骤之前的该水性组合物的粘度相比,该水性组合物的粘度被该右旋糖酐醚化合物增加。

[0341] 22. 一种处理材料的方法,该方法包括:使材料与包含如实施例1-15中任一项所述的或如实施例20所生产的右旋糖酐醚化合物的水性组合物接触。

[0342] 实例

[0343] 本披露在实例1-6和8-12中进一步示例。应该理解,这些实例尽管说明了本文的某些优选方面,但仅是以例证的方式给出的。从上述论述和这些实例中,本领域的技术人员可确定所披露的实施例的必要特征,并且在不脱离其精神和范围的情况下,可进行各种变化和修改以使所披露的实施例适应多种用途和条件。

[0344] 一般方法

[0345] 在枯草芽孢杆菌中克隆和表达葡萄糖基转移酶

[0346] 在实例3-6中使用的每种葡萄糖基转移酶如下进行制备。

[0347] 编码gtf酶的质粒(pZZHB582、pZZHB583、pZZHB584、或pZZHB585,其允许gtf从枯草芽孢杆菌表达和分泌;参见图2A-D)使用Illustra **TempliPhi**[®] 100扩增试剂盒(GE医疗集团生命科学部(GE Healthcare Life Sciences),新泽西州)进行扩增。用扩增产物转化感受态枯草芽孢杆菌细胞(Δ spoIIE、 Δ aprE、 Δ nprE、degUHy32、 Δ scoC、 Δ nprB、 Δ vpr、 Δ epr、 Δ wprA、 Δ mpr、 Δ ispA、 Δ bpr)。将细胞涂板在补充有5ppm氯霉素的卢里亚琼脂(Luria Agar)平板上。将来自转化板的菌落接种到5mL LB培养基中,并在37°C下孵育过夜。然后将来自每个培养物的等分试样(25-50 μ L)转移到含有30mL补充有5ppm氯霉素的格兰特氏(Grant's) II培养基的250mL摇瓶中,并在30°C下振摇(280rpm)孵育24小时。通过以14000rpm离心1小时收获细胞。通过SDS-PAGE针对分泌的gtf产物对上清液进行分析,并进一步对含有20mM Tris(pH 7.5)的溶液进行三次透析,持续共20小时。将透析的样品等分为25mL/50mL锥形离心管,并将这些管成一个角度在-80°C下放置约1小时。一旦样品被冷冻,移开管盖并且用封口膜(PARAFILM)代替,该封口膜用高规格针(high-gauge needle)刺穿

5-10次。根据制造商的说明,在FreeZone[®]冷冻干燥系统(拉布康科公司(Labconco Corp.),密苏里州堪萨斯市(Kansas City,MO))中冻干封口膜覆盖的冷冻样品。

[0348] 葡萄糖基转移酶的储备溶液

[0349] 通过将10mL的分子级H₂O添加到各自含有冻干酶粉末的50mL锥形离心管中针对每种gtf制得酶储备溶液。

[0350] 实例1

[0351] 葡萄糖基转移酶(0768)在大肠杆菌中的表达和活性粗酶裂解物的生产

[0352] 该实例描述了成熟的葡萄糖基转移酶(gtf)酶在大肠杆菌中的表达。产生大肠杆菌表达菌株的粗细胞裂解物,并且在蔗糖存在下显示凝胶产物形成活性。

[0353] 通过全基因组鸟枪法测序,从假肠膜明串珠菌菌株KCTC3652中鉴定出具有1484个氨基酸的推定的含YG重复的水解酶(在基因库中归类于GI编号339480768,但现在具有GI编号497964659)。该推定的葡萄糖基转移酶(本文中称为gtf 0768)属于含有葡聚糖结合结构域的糖基水解酶的GH70家族。通过SIGNALP 4.0程序将gtf 0768的N-末端37个氨基酸区段推导为酶的信号肽(彼得森(Petersen)等人,自然方法(Nature Methods)8:785-786)。gtf 0768的成熟形式由SEQ ID NO:1表示。

[0354] 为了构建用于gtf 0768的细菌表达的质粒,由美国金斯瑞有限公司(GenScript USA Inc.)(新泽西州皮斯卡塔韦(Piscataway,NJ))合成编码gtf的没有信号肽的成熟形式的DNA序列。将合成的序列亚克隆到pET23D+载体的NheI和HindIII位点(Novagen[®];默克集团(Merck KGaA),达姆施塔特,德国)。与野生型成熟(预测)形式的gtf0768(SEQ ID NO:1)相比,由该构建体编码的0768 gtf(SEQ ID NO:2)包括N-末端处的起始甲硫氨酸和3个另外的氨基酸(Ala-Ser-Ala)和C-末端处的6个组氨酸残基(即,SEQ ID NO:1包含在SEQ ID NO:2中)。质粒构建体被测序确认,并且转化到含有氨苄青霉素选择的大肠杆菌BL21 DE3宿主细胞中,得到表达菌株EC0052。

[0355] 将EC0052的细胞和仅含有空的pET23D+载体的对照菌株在含有100μg/mL氨苄青霉素的LB培养基中生长至OD₆₀₀约0.5,然后在37°C下用1mM IPTG诱导3小时,或者可替代地在23°C下诱导过夜。在该诱导期后,细胞通过以4000xg离心10min收集并重悬于pH 6.8的PBS缓冲液中。然后将细胞通过以14,000psi(约96.53MPa)穿越弗细胞压碎器两次来裂解,其后通过以15,000xg离心20min沉淀细胞碎片。将每个粗细胞裂解物的上清液等分并在-80°C下冷冻。

[0356] 通过与蔗糖反应来检查来自EC0052细胞的粗细胞裂解物的活性。使用从含有空载体的细胞制备的细胞裂解物类似地建立对照反应。使用10%(v/v)细胞裂解物,与100g/L蔗糖、10mM柠檬酸钠(pH 5)和1mM CaCl₂一起建立每个蔗糖反应。在37°C下孵育反应数小时后,在已经添加了EC0052细胞裂解物的管中形成一种被认为是右旋糖酐的凝胶样产物。在对照反应中不形成凝胶样产物。HPLC分析证实了在含有EC0052细胞裂解物的反应中消耗了蔗糖,而在对照反应中没有。该结果表明EC0052粗细胞裂解物表达了活性gtf 0768酶,并且该gtf产生了具有高粘度的右旋糖酐产物。

[0357] 因此,包含水、蔗糖和含有SEQ ID NO:1的酶的反应合成了被认为是右旋糖酐的凝胶化产物。该结果表明,gtf 0768可能具有葡萄糖基转移酶活性。该产物可用于制备目前披

露的右旋糖酐醚。

[0358] 实例2

[0359] 蔗糖与Gtf 0768的反应和凝胶化右旋糖酐反应产物的分析

[0360] 该实例描述了包含水、蔗糖和gtf 0768的另一个反应,补充了实例1中提供的结果。而且,该实例提供了由gtf 0768合成的凝胶化产物的配糖键分析,显示该产物是右旋糖酐的一种类型。

[0361] 制备gtf反应的试剂:

[0362] -蔗糖(西格玛(Sigma)产品号S-9378)。

[0363] -磷酸钠缓冲液储备液(200mM)(pH 5.5):相应地,使用磷酸二氢钠一水合物(西格玛(Sigma)产品号S9638)和磷酸氢二钠七水合物(西格玛(Sigma)产品号S9390),在水中制备250mL。

[0364] -Gtf 0768酶溶液(如在实例1中制备的细胞裂解物)。

[0365] 三种gtf反应条件:

[0366] 制备含有2.72g磷酸钠缓冲液储备液(pH 5.5)、100g/L蔗糖和2mL的gtf 0768酶溶液的1000mL反应。将反应在26℃下搅拌持续20小时,并使其变成粘性的。通过在80℃下加热该反应10分钟使gtf酶失活。然后将失活的粘性反应与3升的100%甲醇混合以沉淀粘性产物。形成白色沉淀,然后将其过滤,随后用120mL的100%甲醇洗涤4次。在烘箱中,将固体产物在室温下、真空中干燥72小时。

[0367] 制备含有1.97g磷酸钠缓冲液、300g/L蔗糖和1.45mL的gtf 0768酶溶液的725mL反应物。将反应在26℃下搅拌持续20小时,并使其变成粘性的。通过向反应混合物中添加甲醇使gtf酶失活。然后将失活的反应物与3升的100%甲醇混合以沉淀粘性产物。形成白色沉淀,然后将其过滤,随后用120mL的100%甲醇洗涤4次。在烘箱中,将固体产物在室温下、真空中干燥72小时。

[0368] 制备含有0.544g磷酸钠缓冲液、400g/L蔗糖和0.4mL的gtf 0768酶溶液的200mL反应物。将反应在26℃下搅拌持续20小时,并使其变成粘性的。通过向反应混合物中添加甲醇使gtf酶失活。然后将失活的反应物与3升的100%甲醇混合以沉淀粘性产物。形成白色沉淀,然后将其过滤,随后用120mL的100%甲醇洗涤4次。在烘箱中,将固体产物在室温下、真空中干燥72小时。

[0369] 制备含有0.544g磷酸钠缓冲液、800g/L蔗糖和0.4mL的gtf 0768酶溶液的200mL反应物。将反应在26℃下搅拌持续20小时,并使其变成粘性的。通过向反应混合物中添加甲醇使gtf酶失活。然后将失活的反应物与3升的100%甲醇混合以沉淀粘性产物。形成白色沉淀,然后将其过滤,随后用120mL的100%甲醇洗涤4次。在烘箱中,将固体产物在室温下、真空中干燥72小时。

[0370] 每个反应的样品(100μL)分别在0、2、4和18小时采集。通过在80℃下加热10分钟,在每个样品中使gtf酶失活。然后将每个样品用水稀释10倍,并以14,000rpm离心5分钟,其后将200μL上清液用于HPLC分析以测量反应期间的蔗糖消耗。应用以下HPLC条件分析每个样品:柱(AMINEX HPX-87C碳水化合物柱,300×7.8mm,伯乐公司(Bio-Rad),No.125-0095);洗脱液(水);流速(0.6mL/min);温度(85℃);折光率检测器。样品的HPLC分析显示在0768 gtf反应期间大量的蔗糖消耗(图1,包含100g/L蔗糖的反应)(这个蔗糖消耗发生比使用从

商业来源获得的右旋糖酐蔗糖酶在反应中观察到的蔗糖消耗显著更快-参考实例7)。

[0371] 还使用HPLC来分析包含100g/L蔗糖的的其他产物。通过从起始蔗糖的量中减去反应中剩余的所有其他糖的量来反算聚合物产率。反算的数值与粘性产物干重分析一致。通过使用HPX-87C柱的HPLC(如上所述的HPLC条件)定量蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖和果糖。DP2-7二糖通过以下条件的HPLC定量:柱(AMINEX HPX-42A碳水化合物柱,300×7.8mm,伯乐公司(Bio-Rad),No.125-0097);洗脱液(水);流速(0.6mL/min);温度(85℃);折光率检测器。这些HPLC分析表明,0768 gtf反应的含葡萄糖基的糖产物由91%聚合物产物、1%葡萄糖、6.5%明串珠菌二糖和1.5%DP2-7寡糖组成。

[0372] 通过¹³C NMR测定包含100g/L蔗糖的的反应的凝胶化聚合物产物的配糖键谱图。将如上述制备的干聚合物(25-30mg)在50℃伴随搅拌溶解于1mL的含3wt%LiCl的氘化的DMSO中。使用玻璃移液管,将0.8mL的制剂转移到5-mm NMR管中。使用配备有CPDul冷冻探针的布鲁克皇冠公司(Bruker Avance)(麻萨诸塞州比勒利卡(Billerica,MA))500MHz NMR光谱仪,在125.76MHz的光谱频率下,使用26041.7Hz的光谱窗口获得定量的¹³C NMR光谱。使用华尔兹解耦的逆门控去耦脉冲序列,其中收集时间为0.629秒,脉冲间延迟为5秒,其脉冲为6000。使用2.0Hz的指数乘法对时域数据进行转换。

[0373] NMR结果表明,凝胶化聚合物产物包含约90%的α-1,6-糖苷键、约4-5%的α-1,3-糖苷键、以及约5-6%的α-1,4-糖苷键和α-1,2-糖苷键。聚合物产物的一个或多个主链似乎主要包含α-1,6-糖苷键,而且还包含非常少量的α-1,3-糖苷键和α-1,4-糖苷键。其他α-1,3-糖苷键和α-1,4-糖苷键以及所有α-1,2-糖苷键都似乎处于一个或多个主链的分支中。因此,凝胶化产物似乎是凝胶化右旋糖酐。

[0374] 目前本文推荐不同的方案(不是上述¹³C NMR程序)来确定由gtf 0768生产的右旋糖酐的键谱图。该方案在下面的实例9中披露,实例9显示与本实例中披露的类似的键谱图。

[0375] 通过尺寸排阻色谱法(SEC)确定包含100g/L蔗糖的的反应的凝胶化右旋糖酐产物的数均分子量(M_n)和重均分子量(M_w)。将如上述制备的干聚合物在100℃下振摇过夜以溶解于DMAc和5%LiCl(0.5mg/mL)中。所使用的色谱系统是来沃特斯(Waters)公司(马萨诸塞州米尔福德(Milford,MA))的厄莱恩斯(Alliance)TM2695分离模块,该分离模块与以下三台在线检测器联接:来自沃特斯公司的差示折光计2410、来自怀亚特技术公司(Wyatt Technologies)(加利福尼亚州圣巴巴拉市(Santa Barbara,CA))的HeleosTM8+多角度光散射光度计、以及来自怀亚特的ViscoStarTM差示毛细管粘度计。用于SEC的柱是来自昭和公司(Shodex)(日本)的四个苯乙烯-二乙烯基苯柱和两个线性KD-806M、KD-802和KD-801柱,以改善聚合物分布在低分子量区域的分辨率。流动相为具有0.11%LiCl的DMAc。所使用的色谱条件为:在柱和检测器室中为50℃,样品和注射器室中为40℃,流速为0.5mL/min,注射体积为100μL。用于数据还原的软件包为来自沃特斯公司的因普奥尔(Empower)TM版本3(使用广泛的葡聚糖聚合物标准进行校准)和来自怀亚特公司的阿斯特拉(Astra)[®]版本6(具有柱校准的三重检测方法)。从该程序确定凝胶化右旋糖酐产物的 M_n 为2229400并且 M_w 为5365700。

[0376] 目前本文推荐不同的方案(不是上述SEC程序)来确定由gtf 0768生产的右旋糖酐的分子量。该方案在下面的实例9中披露,表明分子量比本实例中披露的分子量大超过一个数量级。

[0377] 因此,包含水、蔗糖和含有含SEQ ID NO:1的酶的反应合成凝胶化右旋糖酐产物,如通过产物的主要的 α -1,6-糖苷键谱图确定的。下面的实例8披露了该产物的粘度与某些可商购的右旋糖酐的粘度的比较。实例9进一步披露了用包含SEQ ID NO:1的gtf酶生产右旋糖酐、以及右旋糖酐的产率、分子量和键分析。本实例中生产的右旋糖酐可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。

[0378] 实例3

[0379] 葡萄糖基转移酶(2919)的表达及其生产凝胶化右旋糖酐产物的用途

[0380] 本实例描述了在枯草芽孢杆菌中成熟的食窦魏斯氏菌(*Weissella cibaria*)葡萄糖基转移酶(gtf)的表达。而且,该实例显示,当使用的是含有水和蔗糖的反应时,该酶生产可能是右旋糖酐的凝胶化产物。

[0381] 从食窦魏斯氏菌KACC 11862鉴定出葡萄糖基转移酶基因WciGtf1。该基因的核酸序列(基因库登录号NZ_AEKT01000035.1的位置23315至27661)在SEQ ID NO:3中列出,并且编码SEQ ID NO:4的蛋白质序列(基因库登录号ZP_08417432)。WciGtf1蛋白质(SEQ ID NO:4)的N-末端是26个氨基酸的信号肽,如通过SIGNALP 4.0程序(彼得森(Petersen)等人,自然方法(Nature Methods)8:785-786)预测的。这表明WciGtf1(SEQ ID NO:4)是分泌的蛋白质。WciGtf1蛋白质的成熟的分泌的形式在本文中被称为2919gtf,并且在SEQ ID NO:5中列出。

[0382] 将编码2919gtf的核苷酸序列优化,以用于在枯草芽孢杆菌中表达。优化的序列(SEQ ID NO:6)由捷瑞公司(Generay)(中国上海)合成,并且插入到质粒p2JM103BBI中(Vogtentanz等人,蛋白质表达与纯化(Protein Expr.Purif.)55:40-52),得到质粒pZZHB583(图2A)。质粒pZZHB583含有可操作地连接于编码以下各项的序列上的aprE启动子:(i)用于在枯草芽孢杆菌中引导异源蛋白(在这种情况下为2919gtf)分泌的aprE信号序列、(ii)促进分泌的Ala-Gly-Lys、和(iii)2919 gtf(SEQ ID NO:5)(i-iii以氨基至羧基的方向融合)。

[0383] 将质粒pZZHB583转化到枯草芽孢杆菌细胞中进行2919 gtf表达和纯化(参见通用方法)。

[0384] 在室温下在包含100g/L蔗糖、20mM磷酸钠缓冲液(pH 5.5)和6.25mL的酶储备液的250mL反应中确定2919 gtf(SEQ ID NO:5)的活性。将反应在室温、振摇(150rpm)下进行48小时。

[0385] 分别在0、1、3、5、24和48小时时间点从反应中取样品(100 μ L)。通过在80 $^{\circ}$ C下加热每个样品10分钟使酶失活。将样品用水稀释10倍,并以14000rpm离心5分钟。将上清液(200 μ L)用于HPLC分析。

[0386] 使用HPLC确定在gtf反应中的明串珠菌二糖、葡萄糖和果糖的浓度,该HPLC使用配备有置于85 $^{\circ}$ C的恒温柱室中的AMINEX HPX-87C柱(300 \times 7.8mm)的安捷伦公司(Agilent)1260色谱系统和折光率检测器进行。HPLC用Milli-Q[®]水以0.6mL/min进行洗脱。通过与相应的标准进行比较,鉴定出蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖和果糖。它们的浓度基于峰面积标准曲线计算。蔗糖在反应结束时几乎完全消耗。除了粘的右旋糖酐产物外,2919 gtf(SEQ ID NO:5)主要生产果糖(约50%)和少量的明串珠菌二糖(约5%)和葡萄糖(约1%)。

[0387] 通过HPLC分析确定gtf反应中的寡糖(DP2-DP7)的浓度,该HPLC分析使用配备有置

于85℃的恒温柱室中的AMINEX HPX-42A柱(300×7.8mm)的安捷伦公司(Agilent)1260色谱系统和折光率检测器进行。HPLC用Milli-Q®水以0.6mL/min进行洗脱。通过与相应的标准比较鉴定出寡糖的形成。基于标准曲线从峰面积计算寡糖的浓度。2919 gtf (SEQ ID NO:5)在反应结束时生产少量的DP2-DP7寡糖(约3%)。

[0388] 因此,包含水、蔗糖和含有SEQ ID NO:5的酶的反应合成了被认为是右旋糖酐聚合物的凝胶化产物。该产品可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。实验结果表明,gtf 2919可能具有葡萄糖基转移酶活性。

[0389] 实例4

[0390] 葡萄糖基转移酶(2918)的表达及其生产凝胶化右旋糖酐产物的用途

[0391] 本实施例描述了在枯草芽孢杆菌中成熟的发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)葡萄糖基转移酶(gtf)的表达。而且,该实例显示,当使用的是含有水和蔗糖的反应时,该酶生产可能是右旋糖酐的凝胶化产物。

[0392] 从发酵乳杆菌鉴定出葡萄糖基转移酶基因LfeGtf1。该基因的核酸序列(基因库登录号AY697433.1的位置618至5009)在SEQ ID NO:7中列出,并且编码SEQ ID NO:8的蛋白质序列(基因库登录号AAU08008)。在LfeGtf1蛋白质(SEQ ID NO:8)的N-末端是37个氨基酸的信号肽,如通过SIGNALP 4.0程序预测的。这表明LfeGtf1(SEQ ID NO:8)是分泌的蛋白质。LfeGtf1蛋白质的成熟的分泌的形式在本文中被称为2918 gtf,并且在SEQ ID NO:9中列出。

[0393] 将编码2918 gtf的核苷酸序列优化,以用于在枯草芽孢杆菌中表达。优化的序列(SEQ ID NO:10)由捷瑞公司(Generay)(中国上海)合成,并且插入到质粒p2JM103BBI中,得到质粒pZZHB582(图2B)。质粒pZZHB582含有可操作地连接于编码以下各项的序列上的aprE启动子:编码(i)用于在枯草芽孢杆菌中引导异源蛋白(在这种情况下为2918 gtf)分泌的aprE信号序列、(ii)促进分泌的Ala-Gly-Lys、和(iii)2918 gtf(SEQ ID NO:9)(i-iii以氨基至羧基的方向融合)。

[0394] 将质粒pZZHB582转化到枯草芽孢杆菌细胞中进行2918gtf表达和纯化(参见通用方法)。

[0395] 在室温下在包含100g/L蔗糖、20mM磷酸钠缓冲液(pH 5.5)和6.25mL的酶储备液的250mL反应中确定2918 gtf(SEQ ID NO:9)的活性。将反应在室温、振摇(150rpm)下进行6天。

[0396] 分别在0、1、3、5、24、48和144小时时间点从反应中取出样品(100μL)。通过在80℃下加热每个样品10分钟使酶失活。将样品用水稀释10倍,并以14000rpm离心5分钟。将上清液(200μL)用于HPLC分析。

[0397] 使用如实例3中所述的HPLC程序确定gtf反应中蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖、果糖和寡糖(DP2-DP7)的浓度。蔗糖在反应结束时几乎完全消耗。除了粘的右旋糖酐产物外,2918gtf(SEQ ID NO:9)主要生产果糖(约50%)和少量的明串珠菌二糖(约5%)和葡萄糖(约1%)。2918 gtf(SEQ ID NO:9)生产少量的DP2-DP7寡糖(约1%)。

[0398] 因此,包含水、蔗糖和包含SEQ ID NO:9的酶的反应合成了被认为是右旋糖酐聚合物的凝胶化产物。该产品可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。实验结果表明,gtf 2920可能具有葡萄糖基转移酶活性。

[0399] 实例5

[0400] 葡萄糖基转移酶(2920)的表达及其生产凝胶化右旋糖酐产物的用途

[0401] 本实施例描述了在枯草芽孢杆菌中成熟的表兄链球菌(*Streptococcus sobrinus*)葡萄糖基转移酶(gtf)的表达。而且,该实例显示,当使用的是含有水和蔗糖的反应时,该酶生产可能是右旋糖酐的凝胶化产物。

[0402] 从表兄链球菌B13N鉴定出葡萄糖基转移酶基因SsoGtf4。该基因的核酸序列(基因库登录号AY966490的位置198至4718)在SEQ ID NO:11中列出,并且编码SEQ ID NO:12的蛋白质序列(基因库登录号AAX76986)。在SsoGtf4蛋白质(SEQ ID NO:12)的N-末端是41个氨基酸的信号肽,如通过SIGNALP 4.0程序预测的。这表明SsoGtf4(SEQ ID NO:12)是分泌的蛋白质。SsoGtf4蛋白质的成熟的分泌的形式在本文中被称为2920 gtf,并且在SEQ ID NO:13中列出。

[0403] 将编码2920 gtf的核苷酸序列优化,以用于在枯草芽孢杆菌中表达。优化的序列(SEQ ID NO:14)由捷瑞公司(Generay)(中国上海)合成,并且插入到质粒p2JM103BBI中,得到质粒pZZHB584(图2C)。质粒pZZHB584含有可操作地连接于编码以下各项的序列上的aprE启动子:编码(i)用于在枯草芽孢杆菌中引导异源蛋白(在这种情况下为2920 gtf)分泌的aprE信号序列、(ii)促进分泌的Ala-Gly-Lys、和(iii)2920 gtf(SEQ ID NO:13)(i-iii以氨基至羧基的方向融合)。

[0404] 将质粒pZZHB584转化到枯草芽孢杆菌细胞中进行2920gtf表达和纯化(参见通用方法)。

[0405] 在室温下在包含100g/L蔗糖、20mM磷酸钠缓冲液(pH 5.5)和6.25mL的酶储备液的250mL反应中确定2920 gtf(SEQ ID NO:13)的活性。将反应在室温、振摇(150rpm)下进行6天。

[0406] 分别在0、1、3、5、24、48、72和144小时时间点从反应中取出样品(100μL)。通过在80℃下加热每个样品10分钟使酶失活。将样品用水稀释10倍,并以14000rpm离心5分钟。将上清液(200μL)用于HPLC分析。

[0407] 使用如实例3中所述的HPLC程序确定gtf反应中蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖、果糖和寡糖(DP2-DP7)的浓度。蔗糖在反应结束时几乎完全消耗。除了粘的右旋糖酐产物外,2920gtf(SEQ ID NO:13)主要生产果糖(约50%)、明串珠菌二糖(约20%)和少量的葡萄糖(约3%)。2920gtf(SEQ ID NO:13)生产少量的DP2-DP7寡糖(约1%)。

[0408] 因此,包含水、蔗糖和包含SEQ ID NO:13的酶的反应合成了被认为是右旋糖酐聚合物的凝胶化产物。该产品可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。实验结果表明,gtf 2920可能具有葡萄糖基转移酶活性。

[0409] 实例6

[0410] 葡萄糖基转移酶(2921)的表达及其生产凝胶化右旋糖酐产物的用途

[0411] 本实施例描述了在枯草芽孢杆菌中成熟的汗毛链球菌(*Streptococcus downei*)葡萄糖基转移酶(gtf)的表达。而且,该实例显示,当使用的是含有水和蔗糖的反应时,该酶生产可能是右旋糖酐的凝胶化产物。

[0412] 从汗毛链球菌MFe28鉴定出葡萄糖基转移酶基因SdoGtf7。该基因的核酸序列(基因库登录号AB476746的位置16至2375)在SEQ ID NO:15中列出,并且编码SEQ ID NO:16的

蛋白质序列(基因库登录号ZP_08549987.1)。在SdoGtf7蛋白质(SEQ ID NO:16)的N-末端是44个氨基酸的信号肽,如通过SIGNALP 4.0程序预测的。这表明SdoGtf7蛋白质(SEQ ID NO:16)是分泌的蛋白质。SdoGtf7蛋白质的成熟的分泌的形式在本文中被称为2921 gtf,并且在SEQ ID NO:17中列出。

[0413] 将编码2921 gtf的核苷酸序列优化,以用于在枯草芽孢杆菌中表达。优化的序列(SEQ ID NO:18)由捷瑞公司(Generay)(中国上海)合成,并且插入到质粒p2JM103BBI中,得到质粒pZZHB585(图2D)。质粒pZZHB585含有可操作地连接于编码以下各项的序列上的aprE启动子:编码(i)用于在枯草芽孢杆菌中引导异源蛋白(在这种情况下为2921 gtf)分泌的aprE信号序列、(ii)促进分泌的Ala-Gly-Lys、和(iii)2921 gtf(SEQ ID NO:17)(i-iii以氨基至羧基的方向融合)。

[0414] 将质粒pZZHB585转化到枯草芽孢杆菌细胞中进行2921 gtf表达和纯化(参见通用方法)。

[0415] 在室温下在包含100g/L蔗糖、20mM磷酸钠缓冲液(pH 5.5)和6.25mL的酶储备液的250mL反应中确定2921 gtf(SEQ ID NO:17)的活性。将反应在室温、振摇(150rpm)下进行8天。

[0416] 在反应开始时和分别在1、2、3、6、7和8天时间点从反应中取出样品(100 μ L)。通过在80 $^{\circ}$ C下加热每个样品10分钟使酶失活。将样品用水稀释10倍,并以14000rpm离心5分钟。将上清液(200 μ L)用于HPLC分析。

[0417] 使用如实例3中所述的HPLC程序确定gtf反应中蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖、果糖和寡糖(DP2-DP7)的浓度。第8天,约43%蔗糖残留在反应中。除了粘的右旋糖酐产物外,2921 gtf(SEQ ID NO:17)主要生产果糖(约31%)、明串珠菌二糖(约6%)和葡萄糖(约3%)。没有观测到DP2-DP7寡糖的明显生产。

[0418] 因此,包含水、蔗糖和包含SEQ ID NO:17的酶的反应合成了被认为是右旋糖酐聚合物的凝胶化产物。该产品可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。实验结果表明,gtf 2921可能具有葡萄糖基转移酶活性。

[0419] 实例7(比较例)

[0420] 使用可商购的右旋糖酐蔗糖酶生产右旋糖酐

[0421] 该实例描述了在包含水和蔗糖的反应中使用可商购的右旋糖酐蔗糖酶合成右旋糖酐。与实例1-6中合成的凝胶化右旋糖酐产物相比,在实例8中分析了在此生产的右旋糖酐。

[0422] 制备右旋糖酐蔗糖酶反应的试剂:

[0423] -蔗糖(西格玛(Sigma)产品号S-9378)。制备了400g/L储备溶液。

[0424] -磷酸钠缓冲液储备液(200mM)(pH 5.5):相应地,使用磷酸二氢钠一水合物(西格玛(Sigma)产品号S9638)和磷酸氢二钠七水合物(西格玛(Sigma)产品号S9390),在水中制备250mL。

[0425] -右旋糖酐蔗糖酶,冻干粉末, \geq 100单位/mg蛋白质,来自肠膜明串珠菌(西格玛(Sigma)产品号D9909)。

[0426] 制备了含有20mM磷酸钠(pH 5.5)、110g/L蔗糖和来自西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)的10个单位的右旋糖酐蔗糖酶的50mL反应物。当制备反应物时最后添加

右旋糖酐蔗糖酶。将该反应在125-mL加盖的摇瓶中在26℃、振摇(100rpm)下进行7天。反应的样品(100μL)分别在0、3、6、24、48和168小时采集。通过在80℃下加热10分钟,在每个样品中使右旋糖酐蔗糖酶失活。然后将每个样品用水稀释10倍,并以14,000rpm离心5分钟,其后将200μL上清液用于HPLC分析以测量反应期间的蔗糖消耗。

[0427] 应用以下HPLC条件分析每个样品:柱(AMINEX HPX-87C碳水化合物柱,300×7.8mm,伯乐公司(Bio-Rad),No.125-0095);洗脱液(水);流速(0.6mL/min);温度(85℃);折光率检测器。样品的HPLC分析表明在右旋糖酐蔗糖酶反应期间的蔗糖消耗(图3)。值得注意的是,商业右旋糖酐蔗糖酶的蔗糖消耗速率比gtf 0768的蔗糖消耗速率慢得多(实例2)。具体地说,尽管在约17-18小时的反应时间之后gtf 0768消耗大多数蔗糖(图1),但是商业右旋糖酐蔗糖酶在这相同的时间段内仅消耗约20%的蔗糖,并且需要约168小时来消耗所有或大多数蔗糖。

[0428] 还使用HPLC来分析反应的其他产物。通过从起始蔗糖的量中减去反应中剩余的的所有其他糖的量来反算右旋糖酐产率。反算的数值与右旋糖酐干重分析一致。如在实例2中所述,通过HPLC定量蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖、果糖和DP2-7二糖。这些HPLC分析表明,商业右旋糖酐蔗糖酶反应的糖产物由49%右旋糖酐、0.3%蔗糖、44%果糖、1%葡萄糖、5%明串珠菌二糖和1%DP2-7寡糖组成。

[0429] 与实例1-6中合成的凝胶化右旋糖酐产物相比,在实例8中分析了在这个实例中生产的右旋糖酐。

[0430] 实例8

[0431] 右旋糖酐样品的粘度

[0432] 该实例描述了对在实例1-7中生产的右旋糖酐聚合物的粘度以及从商业来源获得的右旋糖酐的粘度进行测量。在各种剪切速率下进行粘度测量。

[0433] 如在实例1-7中所述制备右旋糖酐聚合物样品。具体地,进行酶促反应,其后将聚合物用甲醇沉淀并且用甲醇(100%)洗涤四次,然后干燥。通过向去离子(DI)水中添加适量的聚合物来制备每个样品的溶液(2wt%和/或3wt%)。然后,使用台式涡旋器将每种制剂混合直到聚合物完全在溶解状态。这些样品中的每一个在表2和表3(下文)中称为“在PPT之后”(在沉淀之后)。类似地制备从美国TCI(奥勒冈州波特兰(Portland,OR);目录号D0061)获得的右旋糖酐($M_w=956978$)的2wt%溶液;该右旋糖酐在下文中称为“商业右旋糖酐”。

[0434] 为了确定每一种聚合物溶液在各种剪切速率下的粘度,使用粘度计使每一种溶液经受各种剪切速率,同时将温度在20℃下保持恒定。而且,使从实例1-7中所述的每个酶促反应中直接获得的没有沉淀的聚合物样品经受各种剪切速率(在表2和表3中称为“在PPT之前”)。使用从0-10rpm增加的梯度程序增加剪切速率,并且剪切速率每30秒增加0.17(1/s)。本实验的这些结果在表2中列出。

[0435] 表2

[0436] 某些右旋糖酐溶液在各种剪切速率下的粘度

	在 0.17 rpm 下的粘度 (cPs)	在 1.03 rpm 下的粘度 (cPs)	在 2.62 rpm 下的粘度 (cPs)	在 4.22 rpm 下的粘度 (cPs)
[0437] 右旋糖酐样品 ^a				
Gtf 0768 (SEQ ID NO: 1) 在 PPT 之前 (实例 2, 100 g/L 蔗糖反应)	47976.13	11376.70	12956.11	14390.76
Gtf 0768 (SEQ ID NO: 1) 在 PPT 之后 - 3 wt% (实例 2, 100 g/L 蔗糖反应)		15778.40	6245.31 ^b	4119.58 ^b
Gtf 0768 (SEQ ID NO: 1) 在 PPT 之后 - 2 wt% (实例 2, 100 g/L 蔗糖反应)		4091.84	3417.10	2874.10
Gtf 2918 (SEQ ID NO: 9) 在 PPT 之前 (实例 4)		n/a ^b	n/a ^b	n/a ^b
Gtf 2919 (SEQ ID NO: 5) 在 PPT 之前 (实例 3)		98864	38671	25580
[0438] Gtf 2920 (SEQ ID NO: 13) 在 PPT 之前 (实例 5)		3874.85	4205.66	4119.58 ^b
Gtf 2920 (SEQ ID NO: 13) 在 PPT 之后 - 3 wt% (实例 5)		6168.76	3294.43	2288.24
Gtf 2921 (SEQ ID NO: 17) 在 PPT 之前 (实例 6)		3533.86	2143.72	1748.95
Gtf 2921 (SEQ ID NO: 17) 在 PPT 之后 - 3 wt% (实例 6)		4634.32	2780.4	1984.89
商业右旋糖酐蔗糖酶 在 PPT 之前 (实例 7)	16759.42			

[0439] ^a根据用于合成样品的相应酶列出聚合物样品。

[0440] ^b测量值超出了粘度计的规格界限。

[0441] 还使用粘度计使聚合物样品经受各种更高的剪切速率,同时使温度在20℃下保持恒定。使用从10-250rpm增加的梯度程序增加剪切速率,并且剪切速率每20秒增加7.36 (1/s)。本实验的这些结果在表3中列出。

[0442] 表3

[0443] 某些右旋糖酐溶液在各种剪切速率下的粘度

[0444]	右旋糖酐样品 ^a	在 14.72 rpm 下的粘度 (cPs)	在 102.9 rpm 下的粘度 (cPs)	在 250 rpm 下的粘度 (cPs)
	Gtf 2918 (SEQ ID NO: 9) 在 PPT 之后 - 3 wt%	149.95	69.68	48.97
	(实例 4)			
	Gtf 2919 (SEQ ID NO: 5) 在 PPT 之后 - 3 wt%			
	(实例 3)	80.82	41.23	29.49
	2 wt% 商业右旋糖酐	241.41	105.28	68.88
	商业右旋糖酐蔗糖酶 在 PPT 之后 - 2 wt%			
	(实例 7)	11.09 ^b	10.31 ^b	8.27
[0445]		在 14.11 rpm 下的粘度 (cPs)	在 98.69 rpm 下的粘度 (cPs)	在 162.1 rpm 下的粘度 (cPs)
	Gtf 0768 (SEQ ID NO: 1) 在 PPT 之后 - 2 wt%			
	(实例 2, 400 g/L 蔗糖反应)	49.89	23.61	18.32
	Gtf 0768 (SEQ ID NO: 1) 在 PPT 之后 - 2 wt%			
	(实例 2, 800 g/L 蔗糖反应)	5.44	2.72	1.58

[0446] ^a根据用于合成样品的各自的酶列出聚合物样品。可替代地,分析从商业来源获得的右旋糖酐(“商业右旋糖酐”)。

[0447] ^b测量值超出了粘度计的规格界限。

[0448] 这些数据表明,与商业获得的右旋糖酐和商业获得的右旋糖酐蔗糖酶的右旋糖酐产物的粘度相比,包含SEQ ID NO:1的葡萄糖基转移酶的右旋糖酐产物的溶液在大多数情况下甚至在沉淀和重溶后表现出增加的粘度。该观察似乎也适用于包含SEQ ID NO:5、9、13或17的葡萄糖基转移酶的各自的聚合物产物。

[0449] 还值得注意的是,基于表2-3,随着在gtf 0768反应中的蔗糖的量从800g/L降低至100g/L,右旋糖酐产物的粘度似乎增加。具体地,表3显示包含800g/L和400g/L蔗糖的反应的右旋糖酐产物的粘度分别为5.44cPs和49.89cPs(在14.11rpm/2wt%负载下),并且表2(gtf 0768,2wt%负载)可能显示包含100g/L蔗糖的反应的右旋糖酐产物的粘度为约957cps(在14.11rpm的旋转下外推的指数)。该结果表明右旋糖酐产物的粘度可以通过改变最初提供给反应的蔗糖水平来控制。

[0450] 实例9

[0451] 由Gtf 0768合成的右旋糖酐的进一步生产和分析

[0452] 除了实例2之外,该实例描述了包含水、蔗糖和gtf 0768的另一个反应。而且,该实

例提供了通过gtf0768合成的凝胶化产物的另外的键和分子量分析,显示该产物是右旋糖酐的一种类型。

[0453] 制备gtf反应的试剂:

[0454] -蔗糖(西格玛(Sigma)产品号S-9378)。

[0455] -磷酸钠缓冲液储备液(1M,pH 6.5,泰克诺瓦(Teknova)目录号:S0276)。

[0456] -Gtf 0768酶溶液(如在实例1中制备的细胞裂解物)。

[0457] Gtf反应条件:

[0458] 制备含有20mM磷酸钠缓冲液(缓冲液从1M储备液(pH 6.5)用ddH₂O稀释50倍)、100g/L蔗糖和0.1mL的gtf 0768酶溶液的50mL反应。将反应在26°C下在培养箱振摇器(英诺华公司(Innova),型号4000)中以100rpm振摇43小时;在约24小时后反应变成粘的。

[0459] 通过在80°C下加热该反应10分钟使gtf酶失活。然后将失活的粘性反应与75mL的100%甲醇混合以沉淀粘性产物。形成一份白色沉淀。在小心地倾析上清液后,将白色沉淀用75mL的100%甲醇洗涤两次。将固体产物在45°C下在真空中在烘箱中干燥48小时。

[0460] 反应的样品(1mL)分别在0、0.5、1、2和24小时采集。通过在80°C下加热80分钟,在每个样品中使gtf酶失活。然后将每个样品用无菌水稀释10倍。将500μL的稀释样品转移到离心管过滤器(SPIN-X,0.45-μm尼龙,2.0mL聚丙烯管,科斯塔(Costar)#8170)中,并以12,000rpm在台式离心机中离心60分钟,其后将200μL的溢流液用于HPLC分析以测量反应期间的蔗糖消耗。应用以下HPLC条件分析每个样品:柱(AMINEX HPX-87C碳水化合物柱,300×7.8mm,伯乐公司(Bio-Rad),No.125-0095);洗脱液(水);流速(0.6mL/min);温度(85°C);折光率检测器。样品的HPLC分析显示在0768 gtf反应期间显著的蔗糖消耗。

[0461] 还使用HPLC来分析反应的其他产物。通过从起始蔗糖的量中减去反应中剩余的所有其他糖的量来反算聚合物产率。反算的数值与粘性产物干重分析一致。通过使用HPX-87C柱的HPLC(如上所述的HPLC条件)定量蔗糖、明串珠菌二糖、葡萄糖和果糖。DP2-7寡糖通过以下条件的HPLC定量:柱(AMINEX HPX-42A碳水化合物柱,300×7.8mm,伯乐公司(Bio-Rad),No.125-0097);洗脱液(水);流速(0.6mL/min);温度(85°C);折光率检测器。这些HPLC分析表明,0768 gtf反应的含葡糖基的糖产物由92.3%聚合物产物、1.3%葡萄糖、5.0%明串珠菌二糖和1.4%DP2-7寡糖组成。

[0462] 将上述反应的干右旋糖酐粉末产物(约0.2g)的样品用于分子量分析。分子量通过流动注射色谱法使用来自沃特斯(Waters)公司(马萨诸塞州米尔福德(Milford,MA))的厄莱恩斯(Alliance)TM 2695分离模块来确定,该分离模块与以下三台在线检测器联接:来自沃特斯公司的差示折光计2414、具有来自加利福尼亚州圣巴巴拉市的怀亚特技术公司的准弹性光散射(QELS)检测器的HeleosTM-2 18角多角度光散射(MALS)光度计、和来自怀亚特的ViscoStarTM差示毛细管粘度计。将干的右旋糖酐粉末以0.5mg/mL溶解于含有200ppm NaN₃的水性Tris(三[羟基甲基]氨基甲烷)缓冲液(0.075M)中。通过在50°C下振摇过夜来实现右旋糖酐的溶解。使用来自安捷伦科技公司(Agilent Technologies)(加利福尼亚州圣克拉拉市(Santa Clara,CA))的两个AQUAGEL-OH GUARD柱将右旋糖酐聚合物峰与注射峰分离。该程序的流动基底(mobile base)与右旋糖酐溶剂相同,流速为0.2mL/min,注射体积为0.1mL,并且柱温为30°C。将来自沃特斯公司的因普奥尔(Empower)TM版本3软件用于数据收集,并且将来自怀亚特公司(Wyatt)的阿斯特拉(Astra)TM版本6软件用于多检测器数据缩

减。从该工作确定,右旋糖酐聚合物产物的重均分子量(Mw)为 $1.022(+/-0.025) \times 10^8 \text{g/mol}$ (即概略地1亿道尔顿)(来自MALS分析),z-平均回转半径为243.33(+/-0.42)nm(来自MALS分析),并且z平均流体动力学半径为215nm(来自QELS分析)。从QELS分析还确定,右旋糖酐具有约0.259的粒度分布(PSD)的标准偏差,表明右旋糖酐在流体动力学尺寸方面可能是多分散的。

[0463] 出于配糖键分析目的,除了反应时间为24小时(反应物变粘)之外,如本实例中所述制备50-mL gtf反应物。通过在80°C下加热该反应10分钟使gtf酶失活。然后,将失活的粘性反应置于具有12-14kDa分子量截留值(MWCO)的再生纤维素坚固的透析管(Spectra/Por[®] 4透析管,零件号132706,光谱实验室公司(Spectrum Laboratories, Inc.))中并且在室温下经4L过滤水透析一周以上。在此透析期间每天更换水。然后,如在本实例中所述将透析的粘性反应物沉淀并干燥。提交约0.2g的干燥粉末用于GC/MS键分析。

[0464] 根据Pettolino等人(自然试验方案(Nature Protocols)7:1590-1607,其通过引用结合在此)描述的方法进行键分析。简言之,将干燥的右旋糖酐样品溶解于二甲亚砜(DMSO)或在DMSO中的5%氯化锂中,然后通过依次添加氢氧化钠/DMSO浆液,随后添加碘甲烷将所有游离的羟基甲基化。然后将甲基化聚合物萃取到二氯甲烷中,并在120°C下用水性三氟乙酸(TFA)水解成单体单元。然后从样品中蒸发出TFA,并使用硼氘化钠(其还用氘原子标记还原端)进行还原性开环。然后,通过水解配糖键产生的羟基基团在50°C的温度下通过用乙酰氯和TFA处理来乙酰化。最后,蒸发衍生试剂,将所得的甲基化/乙酰化单体重构在乙腈中,并且使用双氰基丙基氰基丙基苯基聚硅氧烷柱通过质谱气相色谱(GC/MS)进行分析。甲基和乙酰基官能团的相对位置、以及氘标记产生了具有可与已公开的数据库进行比较的独特的保留时间指数和质谱的物质。以这种方式,单体单元的衍生物表明每个单体最初如何连接在右旋糖酐聚合物中以及单体是否是分支点。将分析这些样品(最初溶解于DMSO或DMSO/5%LiCl中的右旋糖酐)的结果提供在表4中。

[0465] 表4

[0466] Gtf 0768右旋糖酐产物的键谱图

样品	右旋糖酐中葡萄糖单体的 Wt%/Mol%				
	3-glc ^a	6-glc ^b	4-glc ^c	3,6-glc ^d	2,6- + 4,6-glc ^e
DMSO	0.4	90.2	0.4	8.3	0.7
DMSO/5% LiCl	0.9	89.3	0.4	8.0	1.4

[0468] ^a在碳位置1和3处连接的葡萄糖单体。

[0469] ^b在碳位置1和6处连接的葡萄糖单体。

[0470] ^c在碳位置1和4处连接的葡萄糖单体。

[0471] ^d在碳位置1、3和6处连接的葡萄糖单体。

[0472] ^e在碳位置1、2和6,或1、4和6处连接的葡萄糖单体。

[0473] 一般来说,表4中的结果表明,上述分析的右旋糖酐产物包括:

[0474] (i) 约87wt%-93wt%仅在位置1和6处连接的葡萄糖;

[0475] (ii) 约0.1wt%-1.2wt%仅在位置1和3处连接的葡萄糖;

[0476] (iii) 约0.1wt%-0.7wt%仅在位置1和4处连接的葡萄糖;

[0477] (iv) 约7.7wt%-8.6wt%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及

[0478] (v) 约0.4wt%-1.7wt%仅在以下位置处连接的葡萄糖:(a) 位置1、2和6,或(b) 位置1、4和6。

[0479] 基于该信息和一些其他研究(数据未显示),预期该产物是支链结构,其中长度为约20DP(平均值)的长链(主要或全部包含 α -1,6-键)彼此迭代分支(例如,一个长链可以是来自另一个长链的分支,该另一个长链反过来可以本身是来自另一个长链的分支,等等)。支链结构也似乎包含来自长链的短分支;这些短链被认为长度为1-3DP,并且主要包括例如 α -1,3-键和 α -1,4-键。右旋糖酐中的分支点,无论是来自从长链分支的另一个长链还是从长链分支的短链,似乎包含没有 α -1,3键、-1,4键或-1,2键而涉及 α -1,6键的葡萄糖。概略地,右旋糖酐的所有分支点中25%分支成长链。

[0480] 因此,包含水、蔗糖和含有SEQ ID NO:1的酶的反应合成了非常大的凝胶化右旋糖酐产物,如通过产物的高Mw和主要的 α -1,6-糖苷键谱图确定的。本实例中生产的右旋糖酐可用于制备目前披露的右旋糖酐醚。

[0481] 实例10

[0482] 右旋糖酐醚衍生物的合成

[0483] 该实例描述了生产如本文生产的右旋糖酐的醚衍生物。具体来说,合成醚衍生物羧甲基右旋糖酐。虽然在本实例中使用实例2中披露的右旋糖酐产物,但是实例9的右旋糖酐产物可类似地用于以下醚化程序中。

[0484] 将1g如实例2中生产的右旋糖酐聚合物加入到配备有用于温度监测的热电偶和连接到再循环浴的冷凝器和磁力搅拌棒的50-mL容量的圆底烧瓶中的20mL异丙醇中。将0.2g氢氧化钠(15%溶液)滴加到该混合物中,然后将其在加热板上加热至25 $^{\circ}$ C。在将温度增加至55 $^{\circ}$ C之前,将混合物搅拌1小时。然后加入氯乙酸钠(0.1g)以提供反应,将该反应在用90%乙酸中和之前在55 $^{\circ}$ C下保持2小时。将如此形成的固体通过真空过滤收集并用乙醇(70%)洗涤四次,在20-25 $^{\circ}$ C下真空干燥,并通过NMR和SEC分析以确定分子量和DoS。所得固体物质被鉴定为具有0.024的DoS的水溶性羧甲基右旋糖酐钠。

[0485] 使用上述方法制备了羧甲基右旋糖酐钠的另一个样品,但是具有如表5所描绘的一些改变。

[0486] 表5

[0487] 由酶促生产的右旋糖酐制备的羧甲基右旋糖酐钠的DoS

产物样品名称	右旋糖酐底物	氢氧化钠(15%)	氯乙酸钠	反应时间	DoS
109	0.66 g	2.64 g	1.64 g	5 小时	0.88

[0489] 因此,制备并分离右旋糖酐醚衍生物羧甲基右旋糖酐钠。

[0490] 实例11

[0491] 阳离子右旋糖酐醚衍生物的合成

[0492] 该实例描述了合成如本文生产的右旋糖酐的阳离子醚衍生物。具体地说,合成季铵右旋糖酐醚、三甲基铵羟丙基右旋糖酐。虽然在本实例中使用实例2中披露的右旋糖酐产物,但是实例9的右旋糖酐产物可类似地用于以下醚化程序中。

[0493] 将1g如实例2中生产的右旋糖酐聚合物加入到配备有用于温度监测的热电偶和连接到再循环浴的冷凝器和磁力搅拌棒的50-mL容量的圆底烧瓶中的10mL异丙醇中。将1.8g氢氧化钠(15%溶液)滴加到该制剂中,然后将其在加热板上加热至25℃。在将温度增加至55℃之前,将该制剂搅拌1小时。然后加入3-氯-2-羟丙基-三甲基氯化铵(0.7g)以提供反应,将该反应在用90%乙酸中和之前在55℃下保持6小时。将如此形成的固体(三甲基铵羟丙基右旋糖酐)通过真空过滤收集并用乙醇(95%)洗涤四次,在20-25℃下真空干燥,并通过NMR和SEC分析以确定分子量和DoS(0.51)。

[0494] 按照上述方法合成了三甲基铵羟丙基右旋糖酐醚的附加样品,但具有某些方法变化。具体而言,使用不同量的醚化剂(3-氯-2-羟丙基-三甲基氯化铵)。表6列出了这些方法变化和所得到的季铵右旋糖酐醚产物的DoS测量值。

[0495] 表6

[0496] 由酶促生产的右旋糖酐制备的季铵羟丙基右旋糖酐的DoS

样品产物名称	醚化剂量	反应时间 ^a	DoS
236-2	1 g	6 小时	0.354
236-3	2 g	6 小时	0.516

[0498] ^a反应时间是从添加醚化剂的时间到反应中和的时间测量的。

[0499] 因此,制备并分离季铵右旋糖酐醚衍生物三甲基铵羟丙基右旋糖酐。

[0500] 实例12

[0501] 右旋糖酐醚在各种织物上的吸附

[0502] 该实例披露了如何在不同类型的织物上测试本文的右旋糖酐醚衍生物(例如上面生产的那些)的吸附度。

[0503] 首先,制备校准曲线,这些校准曲线可用于确定右旋糖酐醚在织物表面上的相对吸附水平。

[0504] 使用直接红80和甲苯胺蓝0染料制造已知浓度(ppm)的溶液。使用LAMOTTE SMART2色度计在520或620nm处测量这些溶液的吸光度。绘制吸收信息以便可将其用于确定暴露于织物样品的溶液的染料浓度。表7和表8中提供了每个校准曲线的浓度和吸光度。

[0505] 表7

[0506] 直接红80染料校准曲线数据

染料浓度(ppm)	平均吸光度在 520 nm 处
25	0.823333333
22.5	0.796666667
20	0.666666667
15	0.51
10	0.37
5	0.2

[0508] 表8

[0509] 甲苯胺蓝0染料校准曲线数据

	染料浓度 (ppm)	平均吸光度 在 620 nm 处
[0510]	12.5	1.41
	10	1.226666667
	7	0.88
	5	0.676666667
	3	0.44
	1	0.166666667

[0511] 这些校准曲线可用于确定右旋糖酐醚在织物表面上的相对吸附水平,例如通过遵循以下方法。

[0512] 制造了0.07wt%或0.25wt%的右旋糖酐醚化合物在去离子水中的溶液。将每种溶液分成具有不同浓度的化合物的几个等份(表9)。加入其他组分,如酸(稀盐酸)或碱(氢氧化钠)以改变pH,或NaCl盐。

[0513] 表9

[0514] 在织物吸附研究中有用的右旋糖酐醚化合物溶液

	NaCl 的 量 (g)	溶液的量 (g)	化合物浓度 (wt%)	最终 pH
[0515]	0	15	0.07	约 7
	0.15	14.85	0.0693	约 7
	0.3	14.7	0.0686	约 7
	0.45	14.55	0.0679	约 7

[0516]	0	9.7713	0.0683	约 3
	0	9.7724	0.0684	约 5
	0	10.0311	0.0702	约 9
	0	9.9057	0.0693	约 11
	0	15	0.25	约 7
	0.15	14.85	0.2475	约 7
	0.3	14.7	0.245	约 7
	0.45	14.55	0.2425	约 7
	0	9.8412	0.2459	约 3
	0	9.4965	0.2362	约 5
	0	9.518	0.2319	约 9
	0	9.8811	0.247	约 11

[0517] 将四种不同织物类型(印花棉布、聚酯、65:35聚酯/印花棉布、漂白棉)切成0.17g的片。将每片置于48孔细胞培养板中的2-mL孔中。将每种织物样品暴露于1mL每一种上述化合物溶液(表9)(对于每种织物测试,包括没有化合物的对照溶液)。使织物样品在化合物溶液中静置至少30分钟。将织物样品从化合物溶液中除去并在去离子水中冲洗至少1分钟以

除去任何未结合的化合物。然后将织物样品在60℃下干燥至少30分钟,直到达到恒定的干燥度。将织物样品在干燥后称重并单独置于干净的48孔细胞培养板中的2-mL孔中。然后将织物样品暴露于1mL 250ppm直接红80染料溶液或250ppm甲苯胺蓝染料溶液。将样品留在染料溶液中持续至少15分钟。将每个织物样品从染料溶液中除去,之后将染料溶液稀释10倍。

[0518] 与对照样品相比,测量稀释溶液的吸光度。视情况而定,基于上述针对直接红80和/或甲苯胺蓝染料创建的校准曲线,计算吸附到织物上的右旋糖酐醚化化合物的相对量度。具体地,与对照物(未暴露于化合物的织物)相比,暴露于醚化化合物的织物样品的UV吸光度的差值代表了吸附到织物上的化合物的相对量度。UV吸光度的该差值也可以表示为结合到织物的染料的数量(超过结合到对照物的染料的数量),其是使用校准曲线计算的(即,UV吸光度转化为ppm染料)。正值表示与结合到对照织物的染料量相比是过量的染料量,而负值表示小于结合到对照织物的染料量的染料量。正值将反映吸附到织物表面的右旋糖酐醚化合物。

[0519] 据信该测定将证明本文披露的右旋糖酐醚化合物可以在不同的盐和pH条件下吸附到各种类型的织物上。这种吸附将表明右旋糖酐醚化合物在用于织物护理的清洁剂中是有用的(例如,作为抗再沉积剂)。

[0001]	序列表
[0002]	<110> E.I.内穆尔杜邦公司
[0003]	Nambiar, Rakesh
[0004]	Paullin, Jayme
[0005]	<120> 凝胶化右旋糖酐醚
[0006]	<130> CL6423
[0007]	<150> US 62/142,654
[0008]	<151> 2015-04-03
[0009]	<150> US 62/142,658
[0010]	<151> 2015-04-03
[0011]	<160> 18
[0012]	<170> PatentIn版本3.5
[0013]	<210> 1
[0014]	<211> 1447
[0015]	<212> PRT
[0016]	<213> 假肠膜明串珠菌
[0017]	<220>
[0018]	<221> 尚未归类的特征
[0019]	<222> (1) .. (1447)
[0020]	<223> 成熟0768 gtf
[0021]	<400> 1
[0022]	Asp Gln Asn Val Asn Asp Pro Ser Val Ala Thr Thr Thr Gln Asn Val
[0023]	1 5 10 15
[0024]	Val Thr Asp Gln Asp Thr Ser Ile Asp Ala Ser Val Ala Thr Thr Val
[0025]	20 25 30
[0026]	Asn Pro Asn Leu Asp Asp Thr Gln Ala Asp Asn Thr Asn Ile Gln Thr
[0027]	35 40 45
[0028]	Pro Thr Asp Gln Asn Asp Glu Ser Lys Asp Thr Thr Pro Lys Val Glu
[0029]	50 55 60
[0030]	Thr Gly Asp Thr Thr Asn Ser Gln Ser Thr Glu Ala Gln Glu Thr Thr
[0031]	65 70 75 80
[0032]	Ala Gln Thr Asn Asn Asp Val Glu Thr Pro Gln Asn Ser Asp Ala Ala
[0033]	85 90 95
[0034]	Ile Glu Thr Gly Leu Leu Thr Thr Asn Asn Gln Ile Arg Tyr Val Asn
[0035]	100 105 110
[0036]	Pro Asp Gly Thr Val Leu Thr Gly Ala Tyr Lys Thr Ile Asn Gly Asn
[0037]	115 120 125
[0038]	Thr Tyr Tyr Phe Asp Asp Asp Ser Gly Val Ala Leu Val Gly Leu His
[0039]	130 135 140
[0040]	Lys Ile Gly Asp Thr Leu Lys Gly Phe Ser Leu Asn Gly Val Gln Val
[0041]	145 150 155 160

[0042]	Lys Gly Asp Tyr Leu Thr Ala Ala Asn Gly Asp Lys Tyr Tyr Phe Asp
[0043]	165 170 175
[0044]	Ser Asn Gly Asn Ala Val Ser Gly Val Gln Gln Ile Asn Gly Lys Thr
[0045]	180 185 190
[0046]	Tyr Tyr Phe Asp Ser Thr Gly Lys Leu Met Lys Gly Tyr Thr Ala Val
[0047]	195 200 205
[0048]	Leu Asn Gly Val Val Thr Phe Phe Asn Ser Thr Thr Gly Glu Ala Asp
[0049]	210 215 220
[0050]	Asn Thr Asp Ala Ser Thr Ile Lys Thr Gly Val Thr Ile Asp Asn Ser
[0051]	225 230 235 240
[0052]	Asp Tyr Thr Val His Asn Ala Ala Tyr Asp Asn Thr Ala Ala Ser Phe
[0053]	245 250 255
[0054]	Asp Asn Ile Asn Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Lys
[0055]	260 265 270
[0056]	Glu Ile Leu Glu Asn Gly Glu Ser Trp Arg Pro Ser Thr Ala Glu Asp
[0057]	275 280 285
[0058]	Lys Arg Pro Ile Leu Ile Thr Trp Gln Pro Asp Ile Val Thr Glu Val
[0059]	290 295 300
[0060]	Asn Tyr Leu Asn Met Met Ala Ala Asn Gly Leu Leu Ser Ile Asn Ala
[0061]	305 310 315 320
[0062]	Pro Phe Thr Thr Ala Ser Asp Leu Ala Ile Met Asn Asp Ala Val Arg
[0063]	325 330 335
[0064]	Ala Val Gln Lys Asn Ile Glu Met Arg Ile Ser Gln Glu Lys Ser Thr
[0065]	340 345 350
[0066]	Asp Trp Leu Lys Ala Leu Met Thr Gln Phe Ile Asn Thr Gln Pro Gln
[0067]	355 360 365
[0068]	Trp Asn Glu Val Ser Glu Ser Pro Ser Asn Asp His Leu Gln Gly Gly
[0069]	370 375 380
[0070]	Ala Leu Thr Tyr Val Asn Ser Pro Leu Thr Pro Asp Ala Asn Ser Asn
[0071]	385 390 395 400
[0072]	Phe Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Ser Gly Thr Thr Arg
[0073]	405 410 415
[0074]	Tyr Asp Thr Asp Lys Ser Lys Gly Gly Phe Glu Leu Leu Leu Ala Asn
[0075]	420 425 430
[0076]	Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Gln Leu Asn Trp
[0077]	435 440 445
[0078]	Leu Tyr Tyr Leu Met Asn Phe Gly Ser Ile Thr Ala Asn Asp Pro Thr
[0079]	450 455 460
[0080]	Ala Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asp Ala
[0081]	465 470 475 480
[0082]	Asp Leu Leu Gln Ile Ala Ser Asp Tyr Phe Lys Leu Ala Tyr Gly Thr
[0083]	485 490 495

[0084]	Ser Leu Ser Asp Thr Asn Ala Asn Gln His Leu Ser Ile Leu Glu Asp
[0085]	500 505 510
[0086]	Trp Ser Ala Asn Asp Ala Glu Tyr Met Ser Lys Thr Gly Ser Asn Gln
[0087]	515 520 525
[0088]	Leu Thr Met Asp Thr Tyr Thr Gln Gln Gln Leu Leu Phe Ser Leu Thr
[0089]	530 535 540
[0090]	Lys Gln Val Gly Asn Arg Ala Asp Met Arg Arg Phe Leu Glu Tyr Phe
[0091]	545 550 555 560
[0092]	Met Ile Asn Arg Ala Asn Asp Ser Thr Glu Asn Val Ala Thr Pro Asn
[0093]	565 570 575
[0094]	Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala
[0095]	580 585 590
[0096]	Thr Ile Ile Lys Asp Leu His Pro Asp Val Val Asn Ser Leu Ala Pro
[0097]	595 600 605
[0098]	Thr Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ala Phe Ala Val Tyr Asn Ala Asp Met
[0099]	610 615 620
[0100]	Asn Arg Val Asp Lys Gln Tyr Thr Gln Tyr Asn Met Pro Ser Ala Tyr
[0101]	625 630 635 640
[0102]	Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Thr Ile Pro Arg Val Tyr Tyr Gly
[0103]	645 650 655
[0104]	Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Met Gly Thr Gln Thr Pro Tyr
[0105]	660 665 670
[0106]	Tyr Asp Ala Ile Val Asn Leu Leu Gln Ser Arg Val Lys Tyr Val Ala
[0107]	675 680 685
[0108]	Gly Gly Gln Ser Met Ala Val Asp Gln His Asp Ile Leu Thr Ser Val
[0109]	690 695 700
[0110]	Arg Tyr Gly Lys Asn Leu Ala Asp Ala Asn Ala Thr Ser Asp Asp Leu
[0111]	705 710 715 720
[0112]	Thr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Gly Val Ile Val Ser Asn Asn Pro Asn
[0113]	725 730 735
[0114]	Leu Ser Leu Ala Ser Gly Glu Thr Val Val Leu His Met Gly Ile Ala
[0115]	740 745 750
[0116]	His Ala Asn Gln Val Tyr Arg Glu Ile Leu Glu Thr Thr Asp Asn Gly
[0117]	755 760 765
[0118]	Ile Ala Asn Asn Thr Asp Ile Phe Lys Thr Thr Asp Ser Asn Gly Asp
[0119]	770 775 780
[0120]	Leu Ile Phe Thr Ala Ser Glu Ile His Gly Tyr Ser Asn Val Gln Val
[0121]	785 790 795 800
[0122]	Ser Gly Phe Leu Ser Val Trp Ala Pro Lys Asp Ala Thr Asp Asp Gln
[0123]	805 810 815
[0124]	Asp Val Arg Thr Ala Ala Ser Glu Ser Thr Ser Asn Asp Gly Asn Thr
[0125]	820 825 830

[0126]	Leu His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Asn Leu Ile Tyr Glu Gly Phe		
[0127]		835	840 845
[0128]	Ser Asn Phe Gln Ser Thr Pro Gln Ser Glu Ser Glu Phe Ala Asn Val		
[0129]		850	855 860
[0130]	Lys Ile Ala Ala Asn Val Asn Leu Phe Lys Ser Trp Gly Val Thr Ser		
[0131]		865	870 875 880
[0132]	Phe Gln Met Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr Asp Thr Ser Phe Leu		
[0133]		885	890 895
[0134]	Asp Ser Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu		
[0135]		900	905 910
[0136]	Gly Phe Glu Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Thr Asp Gln Gln Leu Arg Asp		
[0137]		915	920 925
[0138]	Ala Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly Ile Gln Ala Met Ala Asp Phe		
[0139]		930	935 940
[0140]	Val Pro Asp Gln Ile Tyr Asn Leu Pro Gln Thr Glu Leu Val Ser Val		
[0141]		945	950 955 960
[0142]	Ser Arg Thr Asp Ser Leu Gly Asn Gln Ser Ala Asn Ser Asn Ala Ala		
[0143]		965	970 975
[0144]	Asn Val Leu Tyr Val Ser His Thr Val Gly Gly Gly Glu Tyr Gln Ser		
[0145]		980	985 990
[0146]	Lys Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Ala Ile Ile Lys Ser Lys Tyr Pro Ser		
[0147]		995	1000 1005
[0148]	Leu Phe Lys Thr Ile Gln Val Ser Thr Gly Leu Pro Ile Asp Asp		
[0149]		1010	1015 1020
[0150]	Ser Thr Lys Ile Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Phe Asn Gly Ser		
[0151]		1025	1030 1035
[0152]	Asn Ile Gln Gly Arg Gly Phe Gly Tyr Val Leu Ser Asp Gly Gly		
[0153]		1040	1045 1050
[0154]	Thr Gln Asn Tyr Phe Lys Val Ile Ser Asn Ser Thr Asp Asp Asp		
[0155]		1055	1060 1065
[0156]	Phe Leu Pro Asn Gln Leu Thr Gly Lys Pro Thr Met Thr Gly Phe		
[0157]		1070	1075 1080
[0158]	Glu Gln Thr Ser Lys Gly Ile Val Tyr Tyr Ser Lys Ser Gly Ile		
[0159]		1085	1090 1095
[0160]	Gln Ala Lys Asn Gln Phe Val Lys Asp Asp Val Ser Gly Asn Tyr		
[0161]		1100	1105 1110
[0162]	Tyr Tyr Phe Asn Lys Asn Gly Leu Met Thr Val Gly Ser Lys Thr		
[0163]		1115	1120 1125
[0164]	Ile Asn Gly Lys Asn Tyr Met Phe Leu Pro Asn Gly Val Glu Leu		
[0165]		1130	1135 1140
[0166]	Arg Gly Ser Phe Leu Gln Thr Ala Asp Gly Thr Val Asn Tyr Tyr		
[0167]		1145	1150 1155

[0168]	Ala Thr Asn Gly Ala Gln Val Gln Asp Ser Tyr Val Thr Asp Thr		
[0169]	1160	1165	1170
[0170]	Glu Gly Asn Ser Tyr Tyr Phe Asp Gly Asp Gly Glu Met Val Thr		
[0171]	1175	1180	1185
[0172]	Gly Thr Tyr Thr Val Asp Gly His Ala Gln Tyr Phe Asp Val Asn		
[0173]	1190	1195	1200
[0174]	Gly Val Gln Thr Lys Gly Ala Ile Ile Thr Leu Gly Gly Val Gln		
[0175]	1205	1210	1215
[0176]	Arg Tyr Tyr Gln Ala Gly Asn Gly Asn Leu Ala Thr Asn Gln Tyr		
[0177]	1220	1225	1230
[0178]	Val Ser Tyr Asn Asn Ser Trp Tyr Tyr Ala Asn Thr Lys Gly Glu		
[0179]	1235	1240	1245
[0180]	Leu Val Thr Gly Val Gln Ser Ile Asn Gly Asn Val Gln Tyr Phe		
[0181]	1250	1255	1260
[0182]	Ala Ser Asn Gly Gln Gln Ile Lys Gly Gln Ile Val Val Thr Gly		
[0183]	1265	1270	1275
[0184]	Asn Gln Lys Ser Tyr Tyr Asp Ala Asn Thr Gly Asn Leu Ile Lys		
[0185]	1280	1285	1290
[0186]	Asn Asp Phe Leu Thr Pro Asp Gln Gly Lys Thr Trp Tyr Tyr Ala		
[0187]	1295	1300	1305
[0188]	Asp Gln Asp Gly Asn Leu Val Val Gly Ala Gln Glu Val Asn Gly		
[0189]	1310	1315	1320
[0190]	His Lys Leu Tyr Phe Asp Asp Asn Gly Ile Gln Ile Lys Asp Gln		
[0191]	1325	1330	1335
[0192]	Ile Ile Ser Asn Asp Gly Gln Gln Tyr Tyr Tyr Gln Gly Gly Asn		
[0193]	1340	1345	1350
[0194]	Gly Asp Leu Val Thr Asn Arg Tyr Ile Ser Tyr Asn Asp Ser Trp		
[0195]	1355	1360	1365
[0196]	Tyr Tyr Ala Asp Ala Thr Gly Val Leu Val Thr Gly Gln Gln Ile		
[0197]	1370	1375	1380
[0198]	Ile Asn Gly Glu Thr Gln Tyr Phe Arg Thr Asp Gly Arg Gln Val		
[0199]	1385	1390	1395
[0200]	Lys Gly Gln Ile Ile Ala Asp Gly Asp Lys Gln His Tyr Tyr Asp		
[0201]	1400	1405	1410
[0202]	Ala Asp Ser Gly Asn Leu Val Lys Asn Asn Phe Val Thr Val Asp		
[0203]	1415	1420	1425
[0204]	Gln Gly Lys Thr Trp Tyr Tyr Ala Asp Gln Asp Gly Asn Leu Ser		
[0205]	1430	1435	1440
[0206]	Leu Val Asp Arg		
[0207]	1445		
[0208]	<210> 2		
[0209]	<211> 1457		

[0210] <212> PRT
 [0211] <213> 人工序列
 [0212] <220>
 [0213] <223> 0768 gtf成熟蛋白质,具有起始密码子和其他增加的序列
 [0214] <400> 2
 [0215] Met Ala Ser Ala Asp Gln Asn Val Asn Asp Pro Ser Val Ala Thr Thr
 [0216] 1 5 10 15
 [0217] Thr Gln Asn Val Val Thr Asp Gln Asp Thr Ser Ile Asp Ala Ser Val
 [0218] 20 25 30
 [0219] Ala Thr Thr Val Asn Pro Asn Leu Asp Asp Thr Gln Ala Asp Asn Thr
 [0220] 35 40 45
 [0221] Asn Ile Gln Thr Pro Thr Asp Gln Asn Asp Glu Ser Lys Asp Thr Thr
 [0222] 50 55 60
 [0223] Pro Lys Val Glu Thr Gly Asp Thr Thr Asn Ser Gln Ser Thr Glu Ala
 [0224] 65 70 75 80
 [0225] Gln Glu Thr Thr Ala Gln Thr Asn Asn Asp Val Glu Thr Pro Gln Asn
 [0226] 85 90 95
 [0227] Ser Asp Ala Ala Ile Glu Thr Gly Leu Leu Thr Thr Asn Asn Gln Ile
 [0228] 100 105 110
 [0229] Arg Tyr Val Asn Pro Asp Gly Thr Val Leu Thr Gly Ala Tyr Lys Thr
 [0230] 115 120 125
 [0231] Ile Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Asp Asp Ser Gly Val Ala Leu
 [0232] 130 135 140
 [0233] Val Gly Leu His Lys Ile Gly Asp Thr Leu Lys Gly Phe Ser Leu Asn
 [0234] 145 150 155 160
 [0235] Gly Val Gln Val Lys Gly Asp Tyr Leu Thr Ala Ala Asn Gly Asp Lys
 [0236] 165 170 175
 [0237] Tyr Tyr Phe Asp Ser Asn Gly Asn Ala Val Ser Gly Val Gln Gln Ile
 [0238] 180 185 190
 [0239] Asn Gly Lys Thr Tyr Tyr Phe Asp Ser Thr Gly Lys Leu Met Lys Gly
 [0240] 195 200 205
 [0241] Tyr Thr Ala Val Leu Asn Gly Val Val Thr Phe Phe Asn Ser Thr Thr
 [0242] 210 215 220
 [0243] Gly Glu Ala Asp Asn Thr Asp Ala Ser Thr Ile Lys Thr Gly Val Thr
 [0244] 225 230 235 240
 [0245] Ile Asp Asn Ser Asp Tyr Thr Val His Asn Ala Ala Tyr Asp Asn Thr
 [0246] 245 250 255
 [0247] Ala Ala Ser Phe Asp Asn Ile Asn Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp
 [0248] 260 265 270
 [0249] Tyr Arg Pro Lys Glu Ile Leu Glu Asn Gly Glu Ser Trp Arg Pro Ser
 [0250] 275 280 285
 [0251] Thr Ala Glu Asp Lys Arg Pro Ile Leu Ile Thr Trp Gln Pro Asp Ile

[0252]	290	295	300
[0253]	Val Thr Glu Val Asn Tyr Leu Asn Met Met Ala Ala Asn Gly Leu Leu		
[0254]	305	310	315 320
[0255]	Ser Ile Asn Ala Pro Phe Thr Thr Ala Ser Asp Leu Ala Ile Met Asn		
[0256]		325	330 335
[0257]	Asp Ala Val Arg Ala Val Gln Lys Asn Ile Glu Met Arg Ile Ser Gln		
[0258]		340	345 350
[0259]	Glu Lys Ser Thr Asp Trp Leu Lys Ala Leu Met Thr Gln Phe Ile Asn		
[0260]		355	360 365
[0261]	Thr Gln Pro Gln Trp Asn Glu Val Ser Glu Ser Pro Ser Asn Asp His		
[0262]		370	375 380
[0263]	Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Tyr Val Asn Ser Pro Leu Thr Pro Asp		
[0264]		385	390 395 400
[0265]	Ala Asn Ser Asn Phe Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Ser		
[0266]		405	410 415
[0267]	Gly Thr Thr Arg Tyr Asp Thr Asp Lys Ser Lys Gly Gly Phe Glu Leu		
[0268]		420	425 430
[0269]	Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu		
[0270]		435	440 445
[0271]	Gln Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met Asn Phe Gly Ser Ile Thr Ala		
[0272]		450	455 460
[0273]	Asn Asp Pro Thr Ala Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp		
[0274]		465	470 475 480
[0275]	Asn Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Ile Ala Ser Asp Tyr Phe Lys Leu		
[0276]		485	490 495
[0277]	Ala Tyr Gly Thr Ser Leu Ser Asp Thr Asn Ala Asn Gln His Leu Ser		
[0278]		500	505 510
[0279]	Ile Leu Glu Asp Trp Ser Ala Asn Asp Ala Glu Tyr Met Ser Lys Thr		
[0280]		515	520 525
[0281]	Gly Ser Asn Gln Leu Thr Met Asp Thr Tyr Thr Gln Gln Gln Leu Leu		
[0282]		530	535 540
[0283]	Phe Ser Leu Thr Lys Gln Val Gly Asn Arg Ala Asp Met Arg Arg Phe		
[0284]		545	550 555 560
[0285]	Leu Glu Tyr Phe Met Ile Asn Arg Ala Asn Asp Ser Thr Glu Asn Val		
[0286]		565	570 575
[0287]	Ala Thr Pro Asn Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln		
[0288]		580	585 590
[0289]	Thr Val Ile Ala Thr Ile Ile Lys Asp Leu His Pro Asp Val Val Asn		
[0290]		595	600 605
[0291]	Ser Leu Ala Pro Thr Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ala Phe Ala Val Tyr		
[0292]		610	615 620
[0293]	Asn Ala Asp Met Asn Arg Val Asp Lys Gln Tyr Thr Gln Tyr Asn Met		

[0294]	625	630	635	640
[0295]	Pro Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Thr Ile Pro Arg			
[0296]		645	650	655
[0297]	Val Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Met Gly Thr			
[0298]		660	665	670
[0299]	Gln Thr Pro Tyr Tyr Asp Ala Ile Val Asn Leu Leu Gln Ser Arg Val			
[0300]		675	680	685
[0301]	Lys Tyr Val Ala Gly Gly Gln Ser Met Ala Val Asp Gln His Asp Ile			
[0302]		690	695	700
[0303]	Leu Thr Ser Val Arg Tyr Gly Lys Asn Leu Ala Asp Ala Asn Ala Thr			
[0304]	705	710	715	720
[0305]	Ser Asp Asp Leu Thr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Gly Val Ile Val Ser			
[0306]		725	730	735
[0307]	Asn Asn Pro Asn Leu Ser Leu Ala Ser Gly Glu Thr Val Val Leu His			
[0308]		740	745	750
[0309]	Met Gly Ile Ala His Ala Asn Gln Val Tyr Arg Glu Ile Leu Glu Thr			
[0310]		755	760	765
[0311]	Thr Asp Asn Gly Ile Ala Asn Asn Thr Asp Ile Phe Lys Thr Thr Asp			
[0312]		770	775	780
[0313]	Ser Asn Gly Asp Leu Ile Phe Thr Ala Ser Glu Ile His Gly Tyr Ser			
[0314]	785	790	795	800
[0315]	Asn Val Gln Val Ser Gly Phe Leu Ser Val Trp Ala Pro Lys Asp Ala			
[0316]		805	810	815
[0317]	Thr Asp Asp Gln Asp Val Arg Thr Ala Ala Ser Glu Ser Thr Ser Asn			
[0318]		820	825	830
[0319]	Asp Gly Asn Thr Leu His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Asn Leu Ile			
[0320]		835	840	845
[0321]	Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln Ser Thr Pro Gln Ser Glu Ser Glu			
[0322]		850	855	860
[0323]	Phe Ala Asn Val Lys Ile Ala Ala Asn Val Asn Leu Phe Lys Ser Trp			
[0324]	865	870	875	880
[0325]	Gly Val Thr Ser Phe Gln Met Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr Asp			
[0326]		885	890	895
[0327]	Thr Ser Phe Leu Asp Ser Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp			
[0328]		900	905	910
[0329]	Arg Tyr Asp Leu Gly Phe Glu Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Thr Asp Gln			
[0330]		915	920	925
[0331]	Gln Leu Arg Asp Ala Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly Ile Gln Ala			
[0332]		930	935	940
[0333]	Met Ala Asp Phe Val Pro Asp Gln Ile Tyr Asn Leu Pro Gln Thr Glu			
[0334]	945	950	955	960
[0335]	Leu Val Ser Val Ser Arg Thr Asp Ser Leu Gly Asn Gln Ser Ala Asn			

[0336]		965		970		975
[0337]	Ser Asn Ala Ala Asn Val Leu Tyr Val Ser His Thr Val Gly Gly Gly					
[0338]		980		985		990
[0339]	Glu Tyr Gln Ser Lys Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Ala Ile Ile Lys Ser					
[0340]		995		1000		1005
[0341]	Lys Tyr Pro Ser Leu Phe Lys Thr Ile Gln Val Ser Thr Gly Leu					
[0342]		1010		1015		1020
[0343]	Pro Ile Asp Asp Ser Thr Lys Ile Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr					
[0344]		1025		1030		1035
[0345]	Phe Asn Gly Ser Asn Ile Gln Gly Arg Gly Phe Gly Tyr Val Leu					
[0346]		1040		1045		1050
[0347]	Ser Asp Gly Gly Thr Gln Asn Tyr Phe Lys Val Ile Ser Asn Ser					
[0348]		1055		1060		1065
[0349]	Thr Asp Asp Asp Phe Leu Pro Asn Gln Leu Thr Gly Lys Pro Thr					
[0350]		1070		1075		1080
[0351]	Met Thr Gly Phe Glu Gln Thr Ser Lys Gly Ile Val Tyr Tyr Ser					
[0352]		1085		1090		1095
[0353]	Lys Ser Gly Ile Gln Ala Lys Asn Gln Phe Val Lys Asp Asp Val					
[0354]		1100		1105		1110
[0355]	Ser Gly Asn Tyr Tyr Tyr Phe Asn Lys Asn Gly Leu Met Thr Val					
[0356]		1115		1120		1125
[0357]	Gly Ser Lys Thr Ile Asn Gly Lys Asn Tyr Met Phe Leu Pro Asn					
[0358]		1130		1135		1140
[0359]	Gly Val Glu Leu Arg Gly Ser Phe Leu Gln Thr Ala Asp Gly Thr					
[0360]		1145		1150		1155
[0361]	Val Asn Tyr Tyr Ala Thr Asn Gly Ala Gln Val Gln Asp Ser Tyr					
[0362]		1160		1165		1170
[0363]	Val Thr Asp Thr Glu Gly Asn Ser Tyr Tyr Phe Asp Gly Asp Gly					
[0364]		1175		1180		1185
[0365]	Glu Met Val Thr Gly Thr Tyr Thr Val Asp Gly His Ala Gln Tyr					
[0366]		1190		1195		1200
[0367]	Phe Asp Val Asn Gly Val Gln Thr Lys Gly Ala Ile Ile Thr Leu					
[0368]		1205		1210		1215
[0369]	Gly Gly Val Gln Arg Tyr Tyr Gln Ala Gly Asn Gly Asn Leu Ala					
[0370]		1220		1225		1230
[0371]	Thr Asn Gln Tyr Val Ser Tyr Asn Asn Ser Trp Tyr Tyr Ala Asn					
[0372]		1235		1240		1245
[0373]	Thr Lys Gly Glu Leu Val Thr Gly Val Gln Ser Ile Asn Gly Asn					
[0374]		1250		1255		1260
[0375]	Val Gln Tyr Phe Ala Ser Asn Gly Gln Gln Ile Lys Gly Gln Ile					
[0376]		1265		1270		1275
[0377]	Val Val Thr Gly Asn Gln Lys Ser Tyr Tyr Asp Ala Asn Thr Gly					

[0378]	1280	1285	1290
[0379]	Asn Leu Ile Lys Asn Asp Phe Leu Thr Pro Asp Gln Gly Lys Thr		
[0380]	1295	1300	1305
[0381]	Trp Tyr Tyr Ala Asp Gln Asp Gly Asn Leu Val Val Gly Ala Gln		
[0382]	1310	1315	1320
[0383]	Glu Val Asn Gly His Lys Leu Tyr Phe Asp Asp Asn Gly Ile Gln		
[0384]	1325	1330	1335
[0385]	Ile Lys Asp Gln Ile Ile Ser Asn Asp Gly Gln Gln Tyr Tyr Tyr		
[0386]	1340	1345	1350
[0387]	Gln Gly Gly Asn Gly Asp Leu Val Thr Asn Arg Tyr Ile Ser Tyr		
[0388]	1355	1360	1365
[0389]	Asn Asp Ser Trp Tyr Tyr Ala Asp Ala Thr Gly Val Leu Val Thr		
[0390]	1370	1375	1380
[0391]	Gly Gln Gln Ile Ile Asn Gly Glu Thr Gln Tyr Phe Arg Thr Asp		
[0392]	1385	1390	1395
[0393]	Gly Arg Gln Val Lys Gly Gln Ile Ile Ala Asp Gly Asp Lys Gln		
[0394]	1400	1405	1410
[0395]	His Tyr Tyr Asp Ala Asp Ser Gly Asn Leu Val Lys Asn Asn Phe		
[0396]	1415	1420	1425
[0397]	Val Thr Val Asp Gln Gly Lys Thr Trp Tyr Tyr Ala Asp Gln Asp		
[0398]	1430	1435	1440
[0399]	Gly Asn Leu Ser Leu Val Asp Arg His His His His His His		
[0400]	1445	1450	1455
[0401]	<210> 3		
[0402]	<211> 4347		
[0403]	<212> DNA		
[0404]	<213> 食窦魏斯氏菌		
[0405]	<400> 3		
[0406]	atgtacaagt ccgaaagtt ttggtagct gccggtgett tgtttgttgg gctggcattc 60		
[0407]	gctgtaaca cgcagctga tactgtatta ccaagtgaac aacgtgcaac ggagacgaca 120		
[0408]	cagacgacac agaccagtga agacacgtcc gccactaaga cgccggcattc ggcgtcgact 180		
[0409]	tcaagctcag tcaatgttga cacgagtgc ctgcctgaca gttcaagtac ggtagttgat 240		
[0410]	agtacaagtg caagtcaag cgtagtgagt gatagcgtcg ctgtgccaga tactggatca 300		
[0411]	caatttacga gttcgtcagg gtcaatgtca tcatcatttg ttaagtcac actagcggca 360		
[0412]	acaactagtg atgcttctgg cagtcagtcg gcggcgggta ctagcgaac cgttagttcg 420		
[0413]	gtggccacga gtagttcagc atcttcagtg acaacagcca caagcgaatc agcagtgata 480		
[0414]	agcagcggcg tgtcagatgg ttaccatgat gaaggtgggtg attgggtcta ttatcgagct 540		
[0415]	ggaaaaaagt tagtcggtcg acaaacgatt gatacgtttg cggtttactt tgacgccgat 600		
[0416]	ggcaacaag tcaagggtga ttggcgtgaa agtgatggta accgtgcgta ttatgatgga 660		
[0417]	caagaaggac gagcattaac gcaaacgaa gcagtcaatg gcgttatcta cggttttaat 720		
[0418]	caaagcggct atcaaatcaa gaatgatttc ggccaaacag cgaatcgaga tacgtattat 780		
[0419]	ttcgacgcac aaggtcatgt tgtcacggga atccaaacaa ttgcaacaa ggtttatgat 840		

[0420]	tttgatgagc aaggtcgaat gctgaaaggc attgccacgt cagttgatga caagatgatg	900
[0421]	tattttgatg atcaaacagg tgttggacaa cggctgatc atcctgaatt caaccctgaa	960
[0422]	acggaaccgg ttctgacga caatatcaaa cataatgcag cacatggtac gacaccagca	1020
[0423]	gattttgatt cgatggctgg ctacctgacg gctgatactt ggtatcgccc aaccgatatt	1080
[0424]	ttggaaaatg gtgagacgtg gcgcgaatcg caaccaactg aatttcgacc actgttagca	1140
[0425]	acttggtagc caacaaaaca aactcaggcc gattacgtga actacatgaa tcacgcatta	1200
[0426]	gatatgtcaa atgcaagtgt gtcagctgcc gattcagaag ccacgctaac tgcggcaacc	1260
[0427]	gatgctattc aagcggcctg tgagcaccaa attacggtgc gccaatcaac ggcttggtta	1320
[0428]	cgtgaattaa tggccgcgtt tgttgtgaca cagccacagt ggaataaac cagtgaagat	1380
[0429]	gttaatgatg atcatttga aggtggggcg ctaacattg agaataacgg cgacacagac	1440
[0430]	gctaattcgg attatcgct catgaatcgc acgccaacaa atcagactgg tgaacgcttg	1500
[0431]	tatcacattg atgactcgt tggcggttac gaattattgc tggcaaatga cgttgacaat	1560
[0432]	tcaaatccac aagttcaggc agaacaattg aattggttgt actacttgat gcattttggg	1620
[0433]	gatattacag ctgatgatcc ggatgcaaat tttgatgcca tacggattga tgcggtcgat	1680
[0434]	aatgtcgaat ctgatttact tcaactagca gctcagatt tccgtgatgc ctatggcatg	1740
[0435]	gccacgactg acgcgacatc aaataagcat ctttcaatac ttgaggattg gagccataac	1800
[0436]	gatccggcgt atatgcaagc acacggcaat gatcaattaa cgatggatga ttatatgcac	1860
[0437]	acacagttga tttggtcatt aaccaagcca gaggcacaac gtggcaccat ggcacgctt	1920
[0438]	atggacttct atctcaccaa ccgtgctaata gatgatacag aaaacacggc gcaacctagt	1980
[0439]	tactcgtttg tgcgtgcca tgatagcgaa gtgcaaacag tcattgctga aatcgtgacg	2040
[0440]	aagctacatc cagaagcagg aaacgggtta atgcctacgg aagaacaaat ggcagaagcg	2100
[0441]	tttaagattt acaatgcgga ccaaaagaag gccgttaaaa cttacacgca ctacaatatg	2160
[0442]	ccatctgcat acgccatgct gttaacgaac aaggatgta ttccacgaat ttactatggt	2220
[0443]	gacttgatac ctgacgatgg gcaattcatg gcgacaaaat caccctattt tgatgcgatt	2280
[0444]	tcggctatgt tacaagcgcg cacgaagatg gtagctggtg gacaaacgat ggcggttgac	2340
[0445]	cagcacgacg tcttgactag cgttcggtt ggtaagggtg ccatgacggc cagtgattta	2400
[0446]	ggaaatgctg agactcggac tgagggtgtg ggattaatta ttagcaacaa cccaaagtg	2460
[0447]	caattgggac aacaagataa cgtggtgta cacatgggac ttgcgcacgc gaatcaagca	2520
[0448]	ttccgagcag ttgtactaac gaccgcgacc ggattaacca ttataatga cgatgatget	2580
[0449]	ccaattcgtt ataccgataa taagggtgat ttaattttca ataaccatga cgtatatggc	2640
[0450]	gtgttgaatc cacaagtgtc aggcttcttg gcaatgtggg tgccaactgg tgcaccagcg	2700
[0451]	aaccaggatg cgcatctac tgcgtcaacc aacagttcaa cggatggatc tgcctacat	2760
[0452]	tctaattcgg ctttagatag tcaagtcatc tttgaatcat tttcgaattt ccaggctatg	2820
[0453]	ccaacaagcc atgacacgta caccaacgtt gtgttagcca atcatgctga ccagttacac	2880
[0454]	gattggggaa taacttcggt acagttagcg ccacaatacc ggtcttcaac cgacggaacc	2940
[0455]	ttttggatg cgattattca aatggctat gccttcaactg accgttatga tttagggtt	3000
[0456]	ggtacgcaa ctaagtatgg ggatgatac gatttgcgga acgtcatcaa agcattgcat	3060
[0457]	gcaaatggca tgcaagtaat ggctgatttt gtgccggtc aattgtatac attaccaggt	3120
[0458]	aaggaattgg tacaagtcac ccgaacaaac aatatgggtg agccagatac acactctgac	3180
[0459]	atccaacata ttttatatgt gacgagcact cggggtggcg gtgagtatca gaaacagtac	3240
[0460]	ggtggtgagt tccttgagcg gttacgtcgc ctctaccctg atttatttac gacacgtcaa	3300
[0461]	atttcaaccg gacaaacat tgatgattca gtaaaaatta aagaatggtc agctaagtat	3360

[0462]	ttgaatggta ccgcaattca aggccgtgga gctggctatg tgctacgtga taatggtaca	3420
[0463]	aatgcttatt acaaggtgac ggcaaatgac ggtaatgtga acttaccaaa gcaattactc	3480
[0464]	ggacaaccag tgatgaccgg attctatcac gaggcagatg gttatcattt tgaaacattg	3540
[0465]	agtggtagct cggccaaaga tgccttcatt atgggtgacg atggggcgct gtattatfff	3600
[0466]	gatgatcagg gcgtcatggt aacgggtaag caacgtgtgc accaagacca gtatfffcttc	3660
[0467]	ctaccaaacg gtattgctct gacggatgcg tttgtacaaa gtgcggatgg tcaacgtcag	3720
[0468]	tactatgata aaacaggtcg cctggtcatt aatcaatatg tgactgacca ccaagcaaat	3780
[0469]	gcgttcgggg ttgatgcaga cggtaacgtt gttcgtaacc aagctfffac tgttgacggc	3840
[0470]	catgaacaat atfftcggcac aaacgggtgc caagcgaag cagtgtcatc tcgaactgac	3900
[0471]	gataatcagg cacggtacta cgaagccaat agtggtaatc tcgtgaagca acagfffatt	3960
[0472]	cttgatacag atggacattg gttgtacgcc gatgctgcag gagacttggc acgcggacaa	4020
[0473]	attacggffg gccaaagacac gttgtatfff gatgataata atcatcaggt aaaagatgat	4080
[0474]	fffgtctatg atactaacgg tgtgcattat fffaatggca caacaggcgc tgaaatcaaa	4140
[0475]	caagattacg cgtffcatga tggcaaatgg tactatfffat atgattffgg acgaatggta	4200
[0476]	accgfffagc agcgtattaa tggtagtatc cgctatfffat atgctaattg tgtgcaacta	4260
[0477]	aaggffggta ccgtgaccga tccactaacg caccaaacgt acactfffga tgcgcaaac	4320
[0478]	ggtgffggta cgtffgtgac gfffataa	4347
[0479]	<210> 4	
[0480]	<211> 1448	
[0481]	<212> PRT	
[0482]	<213> 食窦魏斯氏菌	
[0483]	<400> 4	
[0484]	Met Tyr Lys Ser Gly Lys Phe Trp Val Ala Ala Gly Ala Leu Phe Val	
[0485]	1 5 10 15	
[0486]	Gly Leu Ala Phe Ala Gly Asn Thr Gln Ala Asp Thr Val Leu Pro Ser	
[0487]	20 25 30	
[0488]	Glu Gln Arg Ala Thr Glu Thr Thr Gln Thr Thr Gln Thr Ser Glu Asp	
[0489]	35 40 45	
[0490]	Thr Ser Ala Thr Lys Thr Pro Ala Ser Ala Ser Thr Ser Ser Ser Val	
[0491]	50 55 60	
[0492]	Asn Val Asp Thr Ser Asp Leu Pro Asp Ser Ser Ser Thr Val Val Asp	
[0493]	65 70 75 80	
[0494]	Ser Thr Ser Ala Ser Ala Ser Val Val Ser Asp Ser Val Ala Val Pro	
[0495]	85 90 95	
[0496]	Asp Thr Gly Ser Gln Phe Thr Ser Ser Ser Gly Ser Met Ser Ser Ser	
[0497]	100 105 110	
[0498]	Phe Val Lys Ser Ser Leu Ala Ala Thr Thr Ser Asp Ala Ser Gly Ser	
[0499]	115 120 125	
[0500]	Gln Ser Ala Ala Val Thr Ser Ala Thr Val Ser Ser Val Ala Thr Ser	
[0501]	130 135 140	
[0502]	Ser Ser Ala Ser Ser Val Thr Thr Ala Thr Ser Glu Ser Ala Val Ile	
[0503]	145 150 155 160	

[0504]	Ser Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp Glu Gly Gly Asp Trp Val
[0505]	165 170 175
[0506]	Tyr Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Val Gly Arg Gln Thr Ile Asp Thr
[0507]	180 185 190
[0508]	Phe Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys Gln Val Lys Gly Asp Trp
[0509]	195 200 205
[0510]	Arg Glu Ser Asp Gly Asn Arg Ala Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Arg
[0511]	210 215 220
[0512]	Ala Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly Val Ile Tyr Gly Phe Asn
[0513]	225 230 235 240
[0514]	Gln Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe Gly Gln Thr Ala Asn Arg
[0515]	245 250 255
[0516]	Asp Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His Val Val Thr Gly Ile Gln
[0517]	260 265 270
[0518]	Thr Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp Glu Gln Gly Arg Met Leu
[0519]	275 280 285
[0520]	Lys Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys Met Met Tyr Phe Asp Asp
[0521]	290 295 300
[0522]	Gln Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His Pro Glu Phe Asn Pro Glu
[0523]	305 310 315 320
[0524]	Thr Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys His Asn Ala Ala His Gly
[0525]	325 330 335
[0526]	Thr Thr Pro Ala Asp Phe Asp Ser Met Ala Gly Tyr Leu Thr Ala Asp
[0527]	340 345 350
[0528]	Thr Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu Asn Gly Glu Thr Trp Arg
[0529]	355 360 365
[0530]	Glu Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu Leu Ala Thr Trp Trp Pro
[0531]	370 375 380
[0532]	Thr Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn Tyr Met Asn His Ala Leu
[0533]	385 390 395 400
[0534]	Asp Met Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Thr Leu
[0535]	405 410 415
[0536]	Thr Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Ala Val Glu His Gln Ile Thr
[0537]	420 425 430
[0538]	Val Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu Leu Met Ala Ala Phe Val
[0539]	435 440 445
[0540]	Val Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser Glu Asp Val Asn Asp Asp
[0541]	450 455 460
[0542]	His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu Asn Asn Gly Asp Thr Asp
[0543]	465 470 475 480
[0544]	Ala Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Thr
[0545]	485 490 495

[0546]	Gly Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser Leu Gly Gly Tyr Glu Leu
[0547]	500 505 510
[0548]	Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Gln Val Gln Ala Glu
[0549]	515 520 525
[0550]	Gln Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met His Phe Gly Asp Ile Thr Ala
[0551]	530 535 540
[0552]	Asp Asp Pro Asp Ala Asn Phe Asp Ala Ile Arg Ile Asp Ala Val Asp
[0553]	545 550 555 560
[0554]	Asn Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Leu Ala Ala Gln Tyr Phe Arg Asp
[0555]	565 570 575
[0556]	Ala Tyr Gly Met Ala Thr Thr Asp Ala Thr Ser Asn Lys His Leu Ser
[0557]	580 585 590
[0558]	Ile Leu Glu Asp Trp Ser His Asn Asp Pro Ala Tyr Met Gln Ala His
[0559]	595 600 605
[0560]	Gly Asn Asp Gln Leu Thr Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile
[0561]	610 615 620
[0562]	Trp Ser Leu Thr Lys Pro Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe
[0563]	625 630 635 640
[0564]	Met Asp Phe Tyr Leu Thr Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr
[0565]	645 650 655
[0566]	Ala Gln Pro Ser Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln
[0567]	660 665 670
[0568]	Thr Val Ile Ala Glu Ile Val Thr Lys Leu His Pro Glu Ala Gly Asn
[0569]	675 680 685
[0570]	Gly Leu Met Pro Thr Glu Glu Gln Met Ala Glu Ala Phe Lys Ile Tyr
[0571]	690 695 700
[0572]	Asn Ala Asp Gln Lys Lys Ala Val Lys Thr Tyr Thr His Tyr Asn Met
[0573]	705 710 715 720
[0574]	Pro Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Val Ile Pro Arg
[0575]	725 730 735
[0576]	Ile Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Gln Phe Met Ala Thr
[0577]	740 745 750
[0578]	Lys Ser Pro Tyr Phe Asp Ala Ile Ser Ala Met Leu Gln Ala Arg Thr
[0579]	755 760 765
[0580]	Lys Tyr Val Ala Gly Gly Gln Thr Met Ala Val Asp Gln His Asp Val
[0581]	770 775 780
[0582]	Leu Thr Ser Val Arg Phe Gly Lys Gly Ala Met Thr Ala Ser Asp Leu
[0583]	785 790 795 800
[0584]	Gly Asn Ala Glu Thr Arg Thr Glu Gly Val Gly Leu Ile Ile Ser Asn
[0585]	805 810 815
[0586]	Asn Pro Lys Leu Gln Leu Gly Gln Gln Asp Asn Val Val Leu His Met
[0587]	820 825 830

[0588]	Gly Leu Ala His Ala Asn Gln Ala Phe Arg Ala Val Val Leu Thr Thr
[0589]	835 840 845
[0590]	Ala Thr Gly Leu Thr Ile Tyr Asn Asp Asp Ala Pro Ile Arg Tyr
[0591]	850 855 860
[0592]	Thr Asp Asn Lys Gly Asp Leu Ile Phe Asn Asn His Asp Val Tyr Gly
[0593]	865 870 875 880
[0594]	Val Leu Asn Pro Gln Val Ser Gly Phe Leu Ala Met Trp Val Pro Thr
[0595]	885 890 895
[0596]	Gly Ala Pro Ala Asn Gln Asp Ala Arg Ser Thr Ala Ser Thr Asn Ser
[0597]	900 905 910
[0598]	Ser Thr Asp Gly Ser Ala Tyr His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Gln
[0599]	915 920 925
[0600]	Val Ile Phe Glu Ser Phe Ser Asn Phe Gln Ala Met Pro Thr Ser His
[0601]	930 935 940
[0602]	Asp Thr Tyr Thr Asn Val Val Leu Ala Asn His Ala Asp Gln Leu His
[0603]	945 950 955 960
[0604]	Asp Trp Gly Ile Thr Ser Val Gln Leu Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser
[0605]	965 970 975
[0606]	Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ala Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe
[0607]	980 985 990
[0608]	Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Gly Phe Gly Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Asp
[0609]	995 1000 1005
[0610]	Asp Thr Asp Leu Arg Asn Val Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly
[0611]	1010 1015 1020
[0612]	Met Gln Val Met Ala Asp Phe Val Pro Asp Gln Leu Tyr Thr Leu
[0613]	1025 1030 1035
[0614]	Pro Gly Lys Glu Leu Val Gln Val Thr Arg Thr Asn Asn Met Gly
[0615]	1040 1045 1050
[0616]	Glu Pro Asp Thr His Ser Asp Ile Gln His Ile Leu Tyr Val Thr
[0617]	1055 1060 1065
[0618]	Ser Thr Arg Gly Gly Gly Glu Tyr Gln Lys Gln Tyr Gly Gly Glu
[0619]	1070 1075 1080
[0620]	Phe Leu Glu Arg Leu Arg Ala Leu Tyr Pro Asp Leu Phe Thr Thr
[0621]	1085 1090 1095
[0622]	Arg Gln Ile Ser Thr Gly Gln Thr Ile Asp Asp Ser Val Lys Ile
[0623]	1100 1105 1110
[0624]	Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Leu Asn Gly Thr Ala Ile Gln Gly
[0625]	1115 1120 1125
[0626]	Arg Gly Ala Gly Tyr Val Leu Arg Asp Asn Gly Thr Asn Ala Tyr
[0627]	1130 1135 1140
[0628]	Tyr Lys Val Thr Ala Asn Asp Gly Asn Val Asn Leu Pro Lys Gln
[0629]	1145 1150 1155

[0630]	Leu Leu Gly Gln Pro Val Met Thr Gly Phe Tyr His Glu Ala Asp
[0631]	1160 1165 1170
[0632]	Gly Tyr His Phe Glu Thr Leu Ser Gly Thr Ser Ala Lys Asp Ala
[0633]	1175 1180 1185
[0634]	Phe Ile Met Gly Asp Asp Gly Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Asp Gln
[0635]	1190 1195 1200
[0636]	Gly Val Met Val Thr Gly Lys Gln Arg Val His Gln Asp Gln Tyr
[0637]	1205 1210 1215
[0638]	Phe Phe Leu Pro Asn Gly Ile Ala Leu Thr Asp Ala Phe Val Gln
[0639]	1220 1225 1230
[0640]	Ser Ala Asp Gly Gln Arg Gln Tyr Tyr Asp Lys Thr Gly Arg Leu
[0641]	1235 1240 1245
[0642]	Val Ile Asn Gln Tyr Val Thr Asp His Gln Ala Asn Ala Phe Arg
[0643]	1250 1255 1260
[0644]	Val Asp Ala Asp Gly Asn Val Val Arg Asn Gln Ala Leu Thr Val
[0645]	1265 1270 1275
[0646]	Asp Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Thr Asn Gly Val Gln Ala Lys
[0647]	1280 1285 1290
[0648]	Ala Val Leu Ile Arg Thr Asp Asp Asn Gln Ala Arg Tyr Tyr Glu
[0649]	1295 1300 1305
[0650]	Ala Asn Ser Gly Asn Leu Val Lys Gln Gln Phe Ile Leu Asp Thr
[0651]	1310 1315 1320
[0652]	Asp Gly His Trp Leu Tyr Ala Asp Ala Ala Gly Asp Leu Ala Arg
[0653]	1325 1330 1335
[0654]	Gly Gln Ile Thr Val Gly Gln Asp Thr Leu Tyr Phe Asp Asp Asn
[0655]	1340 1345 1350
[0656]	Asn His Gln Val Lys Asp Asp Phe Val Tyr Asp Thr Asn Gly Val
[0657]	1355 1360 1365
[0658]	His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr Gly Ala Glu Ile Lys Gln Asp Tyr
[0659]	1370 1375 1380
[0660]	Ala Phe His Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Phe Asp Asp Leu Gly Arg
[0661]	1385 1390 1395
[0662]	Met Val Thr Gly Leu Gln Arg Ile Asn Gly Glu Tyr Arg Tyr Phe
[0663]	1400 1405 1410
[0664]	Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu Lys Gly Gly Thr Val Thr Asp Pro
[0665]	1415 1420 1425
[0666]	Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr Phe Asp Ala Gln Thr Gly Val Gly
[0667]	1430 1435 1440
[0668]	Thr Leu Val Thr Phe
[0669]	1445
[0670]	<210> 5
[0671]	<211> 1422

[0672] <212> PRT
 [0673] <213> 食窦魏斯氏菌
 [0674] <220>
 [0675] <221> 尚未归类的特征
 [0676] <222> (1) .. (1422)
 [0677] <223> 成熟2919 gtf
 [0678] <400> 5
 [0679] Asp Thr Val Leu Pro Ser Glu Gln Arg Ala Thr Glu Thr Thr Gln Thr
 [0680] 1 5 10 15
 [0681] Thr Gln Thr Ser Glu Asp Thr Ser Ala Thr Lys Thr Pro Ala Ser Ala
 [0682] 20 25 30
 [0683] Ser Thr Ser Ser Ser Val Asn Val Asp Thr Ser Asp Leu Pro Asp Ser
 [0684] 35 40 45
 [0685] Ser Ser Thr Val Val Asp Ser Thr Ser Ala Ser Ala Ser Val Val Ser
 [0686] 50 55 60
 [0687] Asp Ser Val Ala Val Pro Asp Thr Gly Ser Gln Phe Thr Ser Ser Ser
 [0688] 65 70 75 80
 [0689] Gly Ser Met Ser Ser Ser Phe Val Lys Ser Ser Leu Ala Ala Thr Thr
 [0690] 85 90 95
 [0691] Ser Asp Ala Ser Gly Ser Gln Ser Ala Ala Val Thr Ser Ala Thr Val
 [0692] 100 105 110
 [0693] Ser Ser Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Ser Ser Val Thr Thr Ala Thr
 [0694] 115 120 125
 [0695] Ser Glu Ser Ala Val Ile Ser Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp
 [0696] 130 135 140
 [0697] Glu Gly Gly Asp Trp Val Tyr Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Val Gly
 [0698] 145 150 155 160
 [0699] Arg Gln Thr Ile Asp Thr Phe Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys
 [0700] 165 170 175
 [0701] Gln Val Lys Gly Asp Trp Arg Glu Ser Asp Gly Asn Arg Ala Tyr Tyr
 [0702] 180 185 190
 [0703] Asp Gly Gln Glu Gly Arg Ala Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly
 [0704] 195 200 205
 [0705] Val Ile Tyr Gly Phe Asn Gln Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe
 [0706] 210 215 220
 [0707] Gly Gln Thr Ala Asn Arg Asp Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His
 [0708] 225 230 235 240
 [0709] Val Val Thr Gly Ile Gln Thr Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp
 [0710] 245 250 255
 [0711] Glu Gln Gly Arg Met Leu Lys Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys
 [0712] 260 265 270
 [0713] Met Met Tyr Phe Asp Asp Gln Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His

[0714]	275	280	285
[0715]	Pro Glu Phe Asn Pro Glu Thr Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys		
[0716]	290	295	300
[0717]	His Asn Ala Ala His Gly Thr Thr Pro Ala Asp Phe Asp Ser Met Ala		
[0718]	305	310	315 320
[0719]	Gly Tyr Leu Thr Ala Asp Thr Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu		
[0720]		325	330 335
[0721]	Asn Gly Glu Thr Trp Arg Glu Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu		
[0722]		340	345 350
[0723]	Leu Ala Thr Trp Trp Pro Thr Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn		
[0724]		355	360 365
[0725]	Tyr Met Asn His Ala Leu Asp Met Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Ala		
[0726]		370	375 380
[0727]	Asp Ser Glu Ala Thr Leu Thr Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Ala		
[0728]		385	390 395 400
[0729]	Val Glu His Gln Ile Thr Val Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu		
[0730]		405	410 415
[0731]	Leu Met Ala Ala Phe Val Val Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser		
[0732]		420	425 430
[0733]	Glu Asp Val Asn Asp Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu		
[0734]		435	440 445
[0735]	Asn Asn Gly Asp Thr Asp Ala Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg		
[0736]		450	455 460
[0737]	Thr Pro Thr Asn Gln Thr Gly Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser		
[0738]		465	470 475 480
[0739]	Leu Gly Gly Tyr Glu Leu Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn		
[0740]		485	490 495
[0741]	Pro Gln Val Gln Ala Glu Gln Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met His		
[0742]		500	505 510
[0743]	Phe Gly Asp Ile Thr Ala Asp Asp Pro Asp Ala Asn Phe Asp Ala Ile		
[0744]		515	520 525
[0745]	Arg Ile Asp Ala Val Asp Asn Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Leu Ala		
[0746]		530	535 540
[0747]	Ala Gln Tyr Phe Arg Asp Ala Tyr Gly Met Ala Thr Thr Asp Ala Thr		
[0748]		545	550 555 560
[0749]	Ser Asn Lys His Leu Ser Ile Leu Glu Asp Trp Ser His Asn Asp Pro		
[0750]		565	570 575
[0751]	Ala Tyr Met Gln Ala His Gly Asn Asp Gln Leu Thr Met Asp Asp Tyr		
[0752]		580	585 590
[0753]	Met His Thr Gln Leu Ile Trp Ser Leu Thr Lys Pro Glu Ala Gln Arg		
[0754]		595	600 605
[0755]	Gly Thr Met Ala Arg Phe Met Asp Phe Tyr Leu Thr Asn Arg Ala Asn		

[0756]	610	615	620
[0757]	Asp Asp Thr Glu Asn Thr Ala Gln Pro Ser Tyr Ser Phe Val Arg Ala		
[0758]	625	630	635 640
[0759]	His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala Glu Ile Val Thr Lys Leu		
[0760]		645	650 655
[0761]	His Pro Glu Ala Gly Asn Gly Leu Met Pro Thr Glu Glu Gln Met Ala		
[0762]		660	665 670
[0763]	Glu Ala Phe Lys Ile Tyr Asn Ala Asp Gln Lys Lys Ala Val Lys Thr		
[0764]		675	680 685
[0765]	Tyr Thr His Tyr Asn Met Pro Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn		
[0766]		690	695 700
[0767]	Lys Asp Val Ile Pro Arg Ile Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp		
[0768]		705	710 715 720
[0769]	Gly Gln Phe Met Ala Thr Lys Ser Pro Tyr Phe Asp Ala Ile Ser Ala		
[0770]		725	730 735
[0771]	Met Leu Gln Ala Arg Thr Lys Tyr Val Ala Gly Gly Gln Thr Met Ala		
[0772]		740	745 750
[0773]	Val Asp Gln His Asp Val Leu Thr Ser Val Arg Phe Gly Lys Gly Ala		
[0774]		755	760 765
[0775]	Met Thr Ala Ser Asp Leu Gly Asn Ala Glu Thr Arg Thr Glu Gly Val		
[0776]		770	775 780
[0777]	Gly Leu Ile Ile Ser Asn Asn Pro Lys Leu Gln Leu Gly Gln Gln Asp		
[0778]		785	790 795 800
[0779]	Asn Val Val Leu His Met Gly Leu Ala His Ala Asn Gln Ala Phe Arg		
[0780]		805	810 815
[0781]	Ala Val Val Leu Thr Thr Ala Thr Gly Leu Thr Ile Tyr Asn Asp Asp		
[0782]		820	825 830
[0783]	Asp Ala Pro Ile Arg Tyr Thr Asp Asn Lys Gly Asp Leu Ile Phe Asn		
[0784]		835	840 845
[0785]	Asn His Asp Val Tyr Gly Val Leu Asn Pro Gln Val Ser Gly Phe Leu		
[0786]		850	855 860
[0787]	Ala Met Trp Val Pro Thr Gly Ala Pro Ala Asn Gln Asp Ala Arg Ser		
[0788]		865	870 875 880
[0789]	Thr Ala Ser Thr Asn Ser Ser Thr Asp Gly Ser Ala Tyr His Ser Asn		
[0790]		885	890 895
[0791]	Ala Ala Leu Asp Ser Gln Val Ile Phe Glu Ser Phe Ser Asn Phe Gln		
[0792]		900	905 910
[0793]	Ala Met Pro Thr Ser His Asp Thr Tyr Thr Asn Val Val Leu Ala Asn		
[0794]		915	920 925
[0795]	His Ala Asp Gln Leu His Asp Trp Gly Ile Thr Ser Val Gln Leu Ala		
[0796]		930	935 940
[0797]	Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ala Ile Ile		

[0798]	945	950	955	960
[0799]	Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Gly Phe Gly Thr			
[0800]		965	970	975
[0801]	Pro Thr Lys Tyr Gly Asp Asp Thr Asp Leu Arg Asn Val Ile Lys Ala			
[0802]		980	985	990
[0803]	Leu His Ala Asn Gly Met Gln Val Met Ala Asp Phe Val Pro Asp Gln			
[0804]		995	1000	1005
[0805]	Leu Tyr Thr Leu Pro Gly Lys Glu Leu Val Gln Val Thr Arg Thr			
[0806]		1010	1015	1020
[0807]	Asn Asn Met Gly Glu Pro Asp Thr His Ser Asp Ile Gln His Ile			
[0808]		1025	1030	1035
[0809]	Leu Tyr Val Thr Ser Thr Arg Gly Gly Gly Glu Tyr Gln Lys Gln			
[0810]		1040	1045	1050
[0811]	Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Glu Arg Leu Arg Ala Leu Tyr Pro Asp			
[0812]		1055	1060	1065
[0813]	Leu Phe Thr Thr Arg Gln Ile Ser Thr Gly Gln Thr Ile Asp Asp			
[0814]		1070	1075	1080
[0815]	Ser Val Lys Ile Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Leu Asn Gly Thr			
[0816]		1085	1090	1095
[0817]	Ala Ile Gln Gly Arg Gly Ala Gly Tyr Val Leu Arg Asp Asn Gly			
[0818]		1100	1105	1110
[0819]	Thr Asn Ala Tyr Tyr Lys Val Thr Ala Asn Asp Gly Asn Val Asn			
[0820]		1115	1120	1125
[0821]	Leu Pro Lys Gln Leu Leu Gly Gln Pro Val Met Thr Gly Phe Tyr			
[0822]		1130	1135	1140
[0823]	His Glu Ala Asp Gly Tyr His Phe Glu Thr Leu Ser Gly Thr Ser			
[0824]		1145	1150	1155
[0825]	Ala Lys Asp Ala Phe Ile Met Gly Asp Asp Gly Ala Leu Tyr Tyr			
[0826]		1160	1165	1170
[0827]	Phe Asp Asp Gln Gly Val Met Val Thr Gly Lys Gln Arg Val His			
[0828]		1175	1180	1185
[0829]	Gln Asp Gln Tyr Phe Phe Leu Pro Asn Gly Ile Ala Leu Thr Asp			
[0830]		1190	1195	1200
[0831]	Ala Phe Val Gln Ser Ala Asp Gly Gln Arg Gln Tyr Tyr Asp Lys			
[0832]		1205	1210	1215
[0833]	Thr Gly Arg Leu Val Ile Asn Gln Tyr Val Thr Asp His Gln Ala			
[0834]		1220	1225	1230
[0835]	Asn Ala Phe Arg Val Asp Ala Asp Gly Asn Val Val Arg Asn Gln			
[0836]		1235	1240	1245
[0837]	Ala Leu Thr Val Asp Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Thr Asn Gly			
[0838]		1250	1255	1260
[0839]	Val Gln Ala Lys Ala Val Leu Ile Arg Thr Asp Asp Asn Gln Ala			

[0840]	1265	1270	1275
[0841]	Arg Tyr Tyr Glu Ala Asn Ser Gly Asn Leu Val Lys Gln Gln Phe		
[0842]	1280	1285	1290
[0843]	Ile Leu Asp Thr Asp Gly His Trp Leu Tyr Ala Asp Ala Ala Gly		
[0844]	1295	1300	1305
[0845]	Asp Leu Ala Arg Gly Gln Ile Thr Val Gly Gln Asp Thr Leu Tyr		
[0846]	1310	1315	1320
[0847]	Phe Asp Asp Asn Asn His Gln Val Lys Asp Asp Phe Val Tyr Asp		
[0848]	1325	1330	1335
[0849]	Thr Asn Gly Val His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr Gly Ala Glu Ile		
[0850]	1340	1345	1350
[0851]	Lys Gln Asp Tyr Ala Phe His Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Phe Asp		
[0852]	1355	1360	1365
[0853]	Asp Leu Gly Arg Met Val Thr Gly Leu Gln Arg Ile Asn Gly Glu		
[0854]	1370	1375	1380
[0855]	Tyr Arg Tyr Phe Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu Lys Gly Gly Thr		
[0856]	1385	1390	1395
[0857]	Val Thr Asp Pro Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr Phe Asp Ala Gln		
[0858]	1400	1405	1410
[0859]	Thr Gly Val Gly Thr Leu Val Thr Phe		
[0860]	1415	1420	
[0861]	<210> 6		
[0862]	<211> 4269		
[0863]	<212> DNA		
[0864]	<213> 人工序列		
[0865]	<220>		
[0866]	<223> 2919 gtf,具有异源信号序列		
[0867]	<400> 6		
[0868]	gacacagtcc ttccgtcaga acaaagagcc acggagacga cacagacaac acaaacaage	60	
[0869]	gaagacacaa gcgccacaaa gacgcctgct agcgcttcaa cgagcagctc agtgaacgtg	120	
[0870]	gacacatcag atcttccgga cagctcaagc acgggtggtg attcaacgtc agcctcagca	180	
[0871]	agcgtcgtgt cagactcagt cgctgtccct gatacgggat cacagttcac atcatcaagc	240	
[0872]	ggcagcatgt caagcagctt tgtaaagc tcaactggcag ctacgacgtc agatgcttca	300	
[0873]	ggctcacaaa gcgccgtgt gacatcagca acagtttcaa gcgtggcgac gagctcatca	360	
[0874]	gcgtcatcag ttacaacagc cacgagcga tcagcggta ttagctcagc agttagcgat	420	
[0875]	ggctatcacg atgaaggagg cgattgggtt tactacagag ctggcaaaaa actggttggc	480	
[0876]	agacaaacga ttgatacatt tgccgtttac ttcgatgcag atggaaaaca ggttaaagga	540	
[0877]	gactggagag agtcagacgg aaacagagcg tactatgatg gccaagaagg cagagccctt	600	
[0878]	acgcaaacac aggcagttaa cggagtcac tatggattta atcaatcagg atatcagatt	660	
[0879]	aagaacgatt tcggccagac ggctaacaga gacacgtatt actttgatgc tcaaggacat	720	
[0880]	gtggttacgg gcatccagac aattgcaaat aaagtttatg atttcgatga acaaggaaga	780	
[0881]	atgctgaaag gaattgccac gtcagtcgac gataaaatga tgtatttcga cgaccaaacg	840	

[0882]	ggcgtgggcc aacctgccga ccacctgag tttaatccgg aaacggagcc ggtcccggat	900
[0883]	gacaacatta aacataacgc tgcgcacgga acgacacctg ctgattttga tagcatggcc	960
[0884]	ggatacctta cggcggatac atggtataga cctacagaca ttctggagaa tggcgaaaaca	1020
[0885]	tggagagaaa gccagcctac ggagttcaga ccgcttcttg ccacatggtg gcctacgaaa	1080
[0886]	caaacgcaag cagattatgt taattacatg aaccatgctc tggatatgtc aaatgcgagc	1140
[0887]	gtgagcgtg ccgatagcga ggcaacactt acagccgcga cggatgccat ccaagctgca	1200
[0888]	gtcgaacatc aaattacagt gagacagtca acggcatggc ttagagaact tatggcggca	1260
[0889]	tttgtcgtga cgcaaccga gtggaataaa acatcagagg atgtcaacga cgatcacctg	1320
[0890]	caaggaggag cgcttacatt cgaaaataac ggcgatacgg acgcaaatac cgattacaga	1380
[0891]	cttatgaata gaacgcctac aaaccaaaaca ggagaaagac tttaccacat tgacgactca	1440
[0892]	cttggaggat acgaaactgct tctggccaac gatgttgata acagcaatcc tcaagtgcag	1500
[0893]	gctgagcaac ttaattggct ttattacctg atgcattttg gcgatattac agctgacgac	1560
[0894]	cctgacgcca acttcgacgc gattagaatc gatgcgctcg ataatgtcga cgcagacctt	1620
[0895]	cttcaactgg ctgctcaata tttcagagac gcatacggaa tggcaacaac agacgctaca	1680
[0896]	agcaataaac atctgtcaat tcttgaagac tggtcacata atgatccggc gtacatgcaa	1740
[0897]	gctcatggaa acgatcaact tacgatggat gactatatgc acacacaact tatttggtea	1800
[0898]	ctgacaaaac cggaggctca aagaggaaca atggctagat ttatggactt ttatcttaca	1860
[0899]	aatagagcga acgatgatac agaaaatagc gctcaacctt catattcatt cgtttagagca	1920
[0900]	catgattcag aagttcaaac agtgattgca gaaattgta caaaactgca tcttgaggcg	1980
[0901]	ggcaatggac tgatgccgac agaagagcaa atggcagaag cttttaagat ctataatgcc	2040
[0902]	gatcagaaaa aagcagtga aacatataca cactacaata tgccttcage ttatgcaatg	2100
[0903]	ctgcttacga ataaagacgt cattcctaga atttactatg gagatcttta tacagatgat	2160
[0904]	ggacaattca tggctacaaa gtcaccttat tttgacgcta tcagcgcgat gctgcaagcg	2220
[0905]	agaacgaagt atgtcgcagg cggccagacg atggcagtg atcagcacga cgtgcttaca	2280
[0906]	agcgtgagat ttggcaaagg cgcaatgaca gcacagacc tgggcaatgc agagacaaga	2340
[0907]	acggagggag ttggccttat catttcaaat aatccgaaac tgcaactggg ccagcaggat	2400
[0908]	aacgtcgttc ttcatatggg cctggcgcac gcaaaccagg ctttagagc agttgttctt	2460
[0909]	acaacagcga cgggcctgac aatctacaat gacgatgatg caccgattag atatacagac	2520
[0910]	aataaaggcg acctgatttt caacaacct gatgtctacg gcgtcctgaa cccgcaggtt	2580
[0911]	tcagcttcc tggccatgtg gtttctaca ggcgcacctg ctaaccaaga tgctagatca	2640
[0912]	acagcaagca caaactcacc aacggatggc tcagcatatc attcaaatgc tgcgctggat	2700
[0913]	tcacaagtta ttttcgaatc attctcaaat ttccaagcaa tgccgacgac acatgacaca	2760
[0914]	tacacgaatg tggttctgac caaccagcc gaccagctc acgattgggg cattacatca	2820
[0915]	gtgcagctgg caccgcagta tagaagctca acagacggca cgttctctgga tgcaattatc	2880
[0916]	cagaatggct atgccttcac agatagatac gatcttggct ttggcacacc taaaaatac	2940
[0917]	ggcgacgaca cggatctgag aaatgtgatt aaggcgctc atgccaacgg catgcaggtt	3000
[0918]	atggccgact tcgtcccgga ccaactttat acacttccgg gaaaagagct ggtgcaagtc	3060
[0919]	acgagaacga ataacatggg cgaacctgat acacactcag acattcaaca tattctgtac	3120
[0920]	gttacgtcaa cgagaggcgg aggagaatat caaaaacagt atggcggcga gtttcttgaa	3180
[0921]	agactgagag cactgtaccc tgacctttt acgacaagac aaattagcac aggccaaca	3240
[0922]	attgacgatt cagtgaagat caaagagtgg tcagctaagt acctgaacgg cacagctatc	3300
[0923]	caaggaagag gcgcaggcta tgttctgaga gataatggca caaatgccta ctacaaagtt	3360

[0924]	acagcgaatg atggaaatgt caatcttctt aaacaacttc ttggacagcc ggttatgacg	3420
[0925]	ggcttctacc acgaggccga tggatatcac ttcgagacac tgtcaggaac atcagccaag	3480
[0926]	gatgcgttta tcatgggaga tgacggagcg ctttattact ttgatgacca aggcgttatg	3540
[0927]	gtgacaggaa aacagagagt tcatcaagac cagtacttct ttctgcctaa cggaattgct	3600
[0928]	ctgacagacg cgttcgttca atcagcagac ggacaaagac agtattatga caaacggga	3660
[0929]	agacttgta tcaaccagta tgtgacagat caccaagcta atgcttttag agtcgatgct	3720
[0930]	gatggcaacg tggttagaaa ccaagcactt acagttgatg gacacgaaca atatttcgga	3780
[0931]	acaaatggag tccagcetaa agcggttctg attagaacag atgataatca agcgagatat	3840
[0932]	tacgaagcta actcaggcaa tctggttaag caacaattca ttcttgacac agatggccac	3900
[0933]	tggctgtacg ccatgacagc cggagatctt gctagaggac agattacagt gggacaggat	3960
[0934]	acactgtatt tcgacgataa taaccaccaa gttaaggatg attttgtcta tgatacaaac	4020
[0935]	ggcgttcatt atttcaatgg aacgacagga gctgagatta aacaagatta cgcatttcac	4080
[0936]	gacggcaaat ggtactactt cgatgatctg ggaagaatgg ttacaggact gcaaagaatt	4140
[0937]	aacggcgaat atagatattt tgacgctaag ggcgtccaac ttaagggagg aacagtcacg	4200
[0938]	gacctctta cacatcaaac atatacattt gatgctcaaa caggcgttgg aacgctggtc	4260
[0939]	acgttttga	4269
[0940]	<210> 7	
[0941]	<211> 4392	
[0942]	<212> DNA	
[0943]	<213> 发酵乳杆菌	
[0944]	<400> 7	
[0945]	ttgcaagacg agtcacagaa gtttagaaaa aagatgtata agtccgaaa gttttgggta	60
[0946]	gctgccggtg ctttgtttgt tgggctggca ttcgctggta acgcgagcg agatactgta	120
[0947]	ttaccaagtg aacaacgtgc aacacagacg acacagacga cacagaccag tgaagacacg	180
[0948]	tccgccacta agacgccgcg atcggcgctg acttcaagct cagacaatgt tgacacgagt	240
[0949]	gacctgctg acagtgcaag tgcggtggtt gatagtgcag ttacaagtac aagtacaagt	300
[0950]	gcaagtgtag tgagtgatag cgtcgccgtg ccagatactg gatcacaatt tatgagttcg	360
[0951]	tcagcggcag cgatcatcagc gtttgttaaa ccgtcactaa cgtcaacaac tagtgggtgct	420
[0952]	tccggcagtc agtcatcagc ggtgactagc gcaaacgata gttcgggtgc aactagtagt	480
[0953]	tcagcatctt cagtgacaac agccacaagt gaatcggctg tggtaagcag cgccgtgtca	540
[0954]	gatggttacc atgatgaagg tggtgattgg gtctattatc gagctgggaa aaagttactc	600
[0955]	ggtcgacaaa cgattgatac gtttgcggtt tactttgacg ccgatggcaa acaagtcaag	660
[0956]	ggtgattggc gtgaaagtga tggtaaactg gcgtattatg atgggcaaga aggacgagca	720
[0957]	ttaacgcaaa cgcaagcagt caatggcgtt atctacggtt ttaatcaaaag cggctatcaa	780
[0958]	atcaagaatg atttcggcca aacagcgaat cgagatacgt attatttcga cgcacaaggt	840
[0959]	catgttgta cgggaatcca aacaattgca aacaagttt atgattttga tgagcaaggt	900
[0960]	cgaatgctga aaggcattgc cacgtcagtt gatgacaaga tgatgtattt tgatgatcaa	960
[0961]	acaggtgttg gacaaccggc tgatcatcct gaattcaacc ctgaaacgga accggttctt	1020
[0962]	gacgacaata tcaaacataa tgcagacat ggtacgacac cagaagattt tgattcgatg	1080
[0963]	gctgactacc tgacggctga tacttggtat cgccaaccg atattttgga aaatggtgag	1140
[0964]	acgtggcgcg aatcgcaacc aactgaattt cgaccactgt tagcaacttg gtggccaaca	1200
[0965]	aaacaaacc aggccgatta cgtgaactac atgaatcacg cattagatat ggcaaatgca	1260

[0966]	ggtgtgtcag ctgctgattc agaagccacg ttaactgcgg caaccgatgc tattcaagcg	1320
[0967]	gttgttgagc accaaatcac ggtgcgtcaa tcaacggctt ggttacgtga attaatggcc	1380
[0968]	gcatttgttg tgacacagcc acagtggaat aaaacaagtg aagatgtgaa tgatgatcat	1440
[0969]	ttgcaagggtg gggcattaac atttgaaaat aacggcgaca cagacgctaa ttcggattat	1500
[0970]	cgctcatga accgcacgcc aacaaatcag actggcgaac gcttgtacca cattgatgac	1560
[0971]	tcacttgggtg gttacgaatt attgctggca aatgacgttg acaattcaaa tccacaagtt	1620
[0972]	caggcagaac aattgaattg gttgtactac ttaatgcatt ttggggatat tacagctgat	1680
[0973]	gatccggacg caaatTTTga tgccatacgg attgatgcgg tcgataatgt cgatgctgat	1740
[0974]	ttacttcaac tagcagccca gtatttccgg gatgcctatg gcatggctac aactgacgca	1800
[0975]	acatcaata agcatcttTc aattcttgag gattggagcc ataacgatcc ggcgtatatg	1860
[0976]	caagcacacg gcaatgatca attaacgatg gatgattata tgcacacaca gttgatttgg	1920
[0977]	tcattaacca agcccagagc acaacgcggg accatggcac gctttatgga cttctatctc	1980
[0978]	accaacgtg ctaatgatga tacagaaaac acggcgcaac ctagttactc gtttgtgcgt	2040
[0979]	gcccatgata gcgaagtaca aacagtcatt gctgagatcg tgacgaagct gcatccagaa	2100
[0980]	gcagaaaatg ggttaatgcc tacggaagaa caaatggcag aagcgtttaa gatttacaat	2160
[0981]	gcggaccaa agaagccgt taagacttac acacattaca atatgccatc tgcatacgc	2220
[0982]	atgctgttaa cgaacaagga tgttattcca cgaatttact atggtgactt gtacactgat	2280
[0983]	gatgggcaat tcatggcgac aaaatcacct tattttgatg cgatttcgac catgttacia	2340
[0984]	gcacgcacga agtatgtagc tgggtggacag acgatggcgg ttgaccagca cgacgtcttg	2400
[0985]	actagcgttc ggtttggtaa gggggccatg acggccaatg atttagggga tgctgagacc	2460
[0986]	cggactgagg gtgtgggatt aattattagc aacaaccaa agttgcaatt gggacaacia	2520
[0987]	gacaacgtgg tgttacacat gggacttgcg cacgcgaatc aggcattccg cgcagtcgta	2580
[0988]	ctaacgaccg cgaccggatt aaccatttat aatgacgatg atgctccgat tcgttatacc	2640
[0989]	gataataagg gtgatttaat tttactaac catgacgat atggcgtgtt gaatccacia	2700
[0990]	gtgtcaggct tcttggaat gtgggtgcca actggtgcac cagcgaacca ggatgcgcga	2760
[0991]	tctactgcgt caaccaacat gtcaacggat ggatctgcct accattctaa tgcggctttg	2820
[0992]	gatagtcaag taatcttga atcatttctg aatttccagg ctatgccaac aagtcatgac	2880
[0993]	acatacacca acgttgtgtt agccaatcat gctgaccagt tgcacgattg gggaataact	2940
[0994]	tcggtacagt tagcaccaca ataccggtct tcaaccgac gtacctttt agacgcgatt	3000
[0995]	attcaaaatg gctatgcctt cactgaccgt tatgatttag ggtttggtac gccaaactaa	3060
[0996]	tacgggatg atacggattt gcggaacgtc atcaaagcat tgcattgcaa tggcatgcaa	3120
[0997]	gtaatggctg attttgtgcc ggatcaattg tatacattac caggtaagga attggtacia	3180
[0998]	gtcaccgaa caaacaatat gggtagcca gatagcatt ctgacatcca acatatttta	3240
[0999]	tatgtgacga gcactcgtgg tgggtgtgac tatcagaaac agtacggtgg tgagttcctt	3300
[1000]	gcacgattgc gtgaacgata cccagattta tttacgacac gtcaaattc gaccggacia	3360
[1001]	acaattgatg attcagtaaa aattaaagaa tggtcagcta agtatttgaa tggtagcga	3420
[1002]	attcaaggac gtggagctgg ctatgtgctg cgtgataatg gtacaaatgc ttattacaag	3480
[1003]	gtgacagcaa atgacggtaa tgtgaactta ccaaagcaat tactcggcca accggtgatg	3540
[1004]	accgattct atcacgagc agatggttat cattttgaaa cattgagtgg tacgtcggcc	3600
[1005]	aaagatgcct ttattatggg cgacgatggg gcaactgtatt attttgatga tcagggtgtt	3660
[1006]	atggtaacgg gtaagcaacg tgtgcaccaa gatcagtatt tcttctgccc aaatggtatt	3720
[1007]	gctttgacag atgcttctgt acaaaactgt gatggtcaac gtcagtacta tgataaaaca	3780

[1008]	ggtcgtctgg tcattaatca atatgtgact gaccaccaag cgaatgcgtt ccgggttgat	3840
[1009]	gcagacggta acgttgtccg caatcaagct ttgactgttg acggccatga acaatatttc	3900
[1010]	ggcacaacg gtgtccaagc gaaagcagtg ctcattegaa ctgacgataa tcaggcgcgc	3960
[1011]	tactacgaag ccaatagtgg taatctcgtg aagcaacagt ttattcttga tacagatgga	4020
[1012]	cattggttgt acgcggatgc tgcagtgac ttggcacgcg gacaaattac aattggccaa	4080
[1013]	gacacgttgt attttgatga taataatcac caggtaaaag atgatttcgt ctatgatact	4140
[1014]	aacggtgtgc attattttaa tggcacaaca ggcgctgaaa tcaaacaaga ttacgcgttt	4200
[1015]	catgatggca aatggtacta ttttgatgat ttgggacgaa tggtaacgg cttgcagcgt	4260
[1016]	attaatggtg agtatcgcta ttttgatgct aatggtgtgc aactaaagg cggtaccgtg	4320
[1017]	accgatccac taacgcacca aacgtacact tttgatgcga aaactggtgc tggtacgttg	4380
[1018]	gtgacgattt aa	4392
[1019]	<210> 8	
[1020]	<211> 1463	
[1021]	<212> PRT	
[1022]	<213> 发酵乳杆菌	
[1023]	<400> 8	
[1024]	Met Gln Asp Glu Ser Gln Lys Phe Arg Lys Lys Met Tyr Lys Ser Gly	
[1025]	1 5 10 15	
[1026]	Lys Phe Trp Val Ala Ala Gly Ala Leu Phe Val Gly Leu Ala Phe Ala	
[1027]	20 25 30	
[1028]	Gly Asn Ala Gln Ala Asp Thr Val Leu Pro Ser Glu Gln Arg Ala Thr	
[1029]	35 40 45	
[1030]	Gln Thr Thr Gln Thr Thr Gln Thr Ser Glu Asp Thr Ser Ala Thr Lys	
[1031]	50 55 60	
[1032]	Thr Pro Ala Ser Ala Ser Thr Ser Ser Ser Asp Asn Val Asp Thr Ser	
[1033]	65 70 75 80	
[1034]	Asp Leu Pro Asp Ser Ala Ser Ala Val Val Asp Ser Ala Val Thr Ser	
[1035]	85 90 95	
[1036]	Thr Ser Thr Ser Ala Ser Val Val Ser Asp Ser Val Ala Val Pro Asp	
[1037]	100 105 110	
[1038]	Thr Gly Ser Gln Phe Met Ser Ser Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ala Phe	
[1039]	115 120 125	
[1040]	Val Lys Pro Ser Leu Thr Ser Thr Thr Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln	
[1041]	130 135 140	
[1042]	Ser Ser Ala Val Thr Ser Ala Asn Asp Ser Ser Val Ala Thr Ser Ser	
[1043]	145 150 155 160	
[1044]	Ser Ala Ser Ser Val Thr Thr Ala Thr Ser Glu Ser Ala Val Val Ser	
[1045]	165 170 175	
[1046]	Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp Glu Gly Gly Asp Trp Val Tyr	
[1047]	180 185 190	
[1048]	Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Leu Gly Arg Gln Thr Ile Asp Thr Phe	
[1049]	195 200 205	

[1050]	Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys Gln Val Lys Gly Asp Trp Arg
[1051]	210 215 220
[1052]	Glu Ser Asp Gly Lys Arg Ala Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Arg Ala
[1053]	225 230 235 240
[1054]	Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly Val Ile Tyr Gly Phe Asn Gln
[1055]	245 250 255
[1056]	Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe Gly Gln Thr Ala Asn Arg Asp
[1057]	260 265 270
[1058]	Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His Val Val Thr Gly Ile Gln Thr
[1059]	275 280 285
[1060]	Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp Glu Gln Gly Arg Met Leu Lys
[1061]	290 295 300
[1062]	Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys Met Met Tyr Phe Asp Asp Gln
[1063]	305 310 315 320
[1064]	Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His Pro Glu Phe Asn Pro Glu Thr
[1065]	325 330 335
[1066]	Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys His Asn Ala Ala His Gly Thr
[1067]	340 345 350
[1068]	Thr Pro Glu Asp Phe Asp Ser Met Ala Asp Tyr Leu Thr Ala Asp Thr
[1069]	355 360 365
[1070]	Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu Asn Gly Glu Thr Trp Arg Glu
[1071]	370 375 380
[1072]	Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu Leu Ala Thr Trp Trp Pro Thr
[1073]	385 390 395 400
[1074]	Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn Tyr Met Asn His Ala Leu Asp
[1075]	405 410 415
[1076]	Met Ala Asn Ala Gly Val Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Thr Leu Thr
[1077]	420 425 430
[1078]	Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Val Val Glu His Gln Ile Thr Val
[1079]	435 440 445
[1080]	Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu Leu Met Ala Ala Phe Val Val
[1081]	450 455 460
[1082]	Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser Glu Asp Val Asn Asp Asp His
[1083]	465 470 475 480
[1084]	Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu Asn Asn Gly Asp Thr Asp Ala
[1085]	485 490 495
[1086]	Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Thr Gly
[1087]	500 505 510
[1088]	Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser Leu Gly Gly Tyr Glu Leu Leu
[1089]	515 520 525
[1090]	Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Gln Val Gln Ala Glu Gln
[1091]	530 535 540

[1092]	Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met His Phe Gly Asp Ile Thr Ala Asp
[1093]	545 550 555 560
[1094]	Asp Pro Asp Ala Asn Phe Asp Ala Ile Arg Ile Asp Ala Val Asp Asn
[1095]	565 570 575
[1096]	Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Leu Ala Ala Gln Tyr Phe Arg Asp Ala
[1097]	580 585 590
[1098]	Tyr Gly Met Ala Thr Thr Asp Ala Thr Ser Asn Lys His Leu Ser Ile
[1099]	595 600 605
[1100]	Leu Glu Asp Trp Ser His Asn Asp Pro Ala Tyr Met Gln Ala His Gly
[1101]	610 615 620
[1102]	Asn Asp Gln Leu Thr Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile Trp
[1103]	625 630 635 640
[1104]	Ser Leu Thr Lys Pro Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe Met
[1105]	645 650 655
[1106]	Asp Phe Tyr Leu Thr Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr Ala
[1107]	660 665 670
[1108]	Gln Pro Ser Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr
[1109]	675 680 685
[1110]	Val Ile Ala Glu Ile Val Thr Lys Leu His Pro Glu Ala Gly Asn Gly
[1111]	690 695 700
[1112]	Leu Met Pro Thr Glu Glu Gln Met Ala Glu Ala Phe Lys Ile Tyr Asn
[1113]	705 710 715 720
[1114]	Ala Asp Gln Lys Lys Ala Val Lys Thr Tyr Thr His Tyr Asn Met Pro
[1115]	725 730 735
[1116]	Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Val Ile Pro Arg Ile
[1117]	740 745 750
[1118]	Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Gln Phe Met Ala Thr Lys
[1119]	755 760 765
[1120]	Ser Pro Tyr Phe Asp Ala Ile Ser Thr Met Leu Gln Ala Arg Thr Lys
[1121]	770 775 780
[1122]	Tyr Val Ala Gly Gly Gln Thr Met Ala Val Asp Gln His Asp Val Leu
[1123]	785 790 795 800
[1124]	Thr Ser Val Arg Phe Gly Lys Gly Ala Met Thr Ala Asn Asp Leu Gly
[1125]	805 810 815
[1126]	Asp Ala Glu Thr Arg Thr Glu Gly Val Gly Leu Ile Ile Ser Asn Asn
[1127]	820 825 830
[1128]	Pro Lys Leu Gln Leu Gly Gln Gln Asp Asn Val Val Leu His Met Gly
[1129]	835 840 845
[1130]	Leu Ala His Ala Asn Gln Ala Phe Arg Ala Val Val Leu Thr Thr Ala
[1131]	850 855 860
[1132]	Thr Gly Leu Thr Ile Tyr Asn Asp Asp Asp Ala Pro Ile Arg Tyr Thr
[1133]	865 870 875 880

[1134]	Asp Asn Lys Gly Asp Leu Ile Phe Thr Asn His Asp Val Tyr Gly Val		
[1135]		885	890 895
[1136]	Leu Asn Pro Gln Val Ser Gly Phe Leu Ala Met Trp Val Pro Thr Gly		
[1137]		900	905 910
[1138]	Ala Pro Ala Asn Gln Asp Ala Arg Ser Thr Ala Ser Thr Asn Met Ser		
[1139]		915	920 925
[1140]	Thr Asp Gly Ser Ala Tyr His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Gln Val		
[1141]		930	935 940
[1142]	Ile Phe Glu Ser Phe Ser Asn Phe Gln Ala Met Pro Thr Ser His Asp		
[1143]		945	950 955 960
[1144]	Thr Tyr Thr Asn Val Val Leu Ala Asn His Ala Asp Gln Leu His Asp		
[1145]		965	970 975
[1146]	Trp Gly Ile Thr Ser Val Gln Leu Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr		
[1147]		980	985 990
[1148]	Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ala Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr		
[1149]		995	1000 1005
[1150]	Asp Arg Tyr Asp Leu Gly Phe Gly Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Asp		
[1151]		1010	1015 1020
[1152]	Asp Thr Asp Leu Arg Asn Val Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly		
[1153]		1025	1030 1035
[1154]	Met Gln Val Met Ala Asp Phe Val Pro Asp Gln Leu Tyr Thr Leu		
[1155]		1040	1045 1050
[1156]	Pro Gly Lys Glu Leu Val Gln Val Thr Arg Thr Asn Asn Met Gly		
[1157]		1055	1060 1065
[1158]	Glu Pro Asp Thr His Ser Asp Ile Gln His Ile Leu Tyr Val Thr		
[1159]		1070	1075 1080
[1160]	Ser Thr Arg Gly Gly Gly Asp Tyr Gln Lys Gln Tyr Gly Gly Glu		
[1161]		1085	1090 1095
[1162]	Phe Leu Ala Arg Leu Arg Glu Arg Tyr Pro Asp Leu Phe Thr Thr		
[1163]		1100	1105 1110
[1164]	Arg Gln Ile Ser Thr Gly Gln Thr Ile Asp Asp Ser Val Lys Ile		
[1165]		1115	1120 1125
[1166]	Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Leu Asn Gly Thr Ala Ile Gln Gly		
[1167]		1130	1135 1140
[1168]	Arg Gly Ala Gly Tyr Val Leu Arg Asp Asn Gly Thr Asn Ala Tyr		
[1169]		1145	1150 1155
[1170]	Tyr Lys Val Thr Ala Asn Asp Gly Asn Val Asn Leu Pro Lys Gln		
[1171]		1160	1165 1170
[1172]	Leu Leu Gly Gln Pro Val Met Thr Gly Phe Tyr His Glu Ala Asp		
[1173]		1175	1180 1185
[1174]	Gly Tyr His Phe Glu Thr Leu Ser Gly Thr Ser Ala Lys Asp Ala		
[1175]		1190	1195 1200

[1176]	Phe Ile Met Gly Asp Asp Gly Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Asp Gln		
[1177]	1205	1210	1215
[1178]	Gly Val Met Val Thr Gly Lys Gln Arg Val His Gln Asp Gln Tyr		
[1179]	1220	1225	1230
[1180]	Phe Phe Leu Pro Asn Gly Ile Ala Leu Thr Asp Ala Phe Val Gln		
[1181]	1235	1240	1245
[1182]	Thr Ala Asp Gly Gln Arg Gln Tyr Tyr Asp Lys Thr Gly Arg Leu		
[1183]	1250	1255	1260
[1184]	Val Ile Asn Gln Tyr Val Thr Asp His Gln Ala Asn Ala Phe Arg		
[1185]	1265	1270	1275
[1186]	Val Asp Ala Asp Gly Asn Val Val Arg Asn Gln Ala Leu Thr Val		
[1187]	1280	1285	1290
[1188]	Asp Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Thr Asn Gly Val Gln Ala Lys		
[1189]	1295	1300	1305
[1190]	Ala Val Leu Ile Arg Thr Asp Asp Asn Gln Ala Arg Tyr Tyr Glu		
[1191]	1310	1315	1320
[1192]	Ala Asn Ser Gly Asn Leu Val Lys Gln Gln Phe Ile Leu Asp Thr		
[1193]	1325	1330	1335
[1194]	Asp Gly His Trp Leu Tyr Ala Asp Ala Ala Gly Asp Leu Ala Arg		
[1195]	1340	1345	1350
[1196]	Gly Gln Ile Thr Ile Gly Gln Asp Thr Leu Tyr Phe Asp Asp Asn		
[1197]	1355	1360	1365
[1198]	Asn His Gln Val Lys Asp Asp Phe Val Tyr Asp Thr Asn Gly Val		
[1199]	1370	1375	1380
[1200]	His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr Gly Ala Glu Ile Lys Gln Asp Tyr		
[1201]	1385	1390	1395
[1202]	Ala Phe His Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Phe Asp Asp Leu Gly Arg		
[1203]	1400	1405	1410
[1204]	Met Val Thr Gly Leu Gln Arg Ile Asn Gly Glu Tyr Arg Tyr Phe		
[1205]	1415	1420	1425
[1206]	Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu Lys Gly Gly Thr Val Thr Asp Pro		
[1207]	1430	1435	1440
[1208]	Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Gly		
[1209]	1445	1450	1455
[1210]	Thr Leu Val Thr Ile		
[1211]	1460		
[1212]	<210> 9		
[1213]	<211> 1426		
[1214]	<212> PRT		
[1215]	<213> 发酵乳杆菌		
[1216]	<220>		
[1217]	<221> 尚未归类的特征		

[1218] <222> (1) .. (1426)
 [1219] <223> 成熟2918 gtf
 [1220] <400> 9
 [1221] Asp Thr Val Leu Pro Ser Glu Gln Arg Ala Thr Gln Thr Thr Gln Thr
 [1222] 1 5 10 15
 [1223] Thr Gln Thr Ser Glu Asp Thr Ser Ala Thr Lys Thr Pro Ala Ser Ala
 [1224] 20 25 30
 [1225] Ser Thr Ser Ser Ser Asp Asn Val Asp Thr Ser Asp Leu Pro Asp Ser
 [1226] 35 40 45
 [1227] Ala Ser Ala Val Val Asp Ser Ala Val Thr Ser Thr Ser Thr Ser Ala
 [1228] 50 55 60
 [1229] Ser Val Val Ser Asp Ser Val Ala Val Pro Asp Thr Gly Ser Gln Phe
 [1230] 65 70 75 80
 [1231] Met Ser Ser Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ala Phe Val Lys Pro Ser Leu
 [1232] 85 90 95
 [1233] Thr Ser Thr Thr Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Ser Ser Ala Val Thr
 [1234] 100 105 110
 [1235] Ser Ala Asn Asp Ser Ser Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Ser Ser Val
 [1236] 115 120 125
 [1237] Thr Thr Ala Thr Ser Glu Ser Ala Val Val Ser Ser Ala Val Ser Asp
 [1238] 130 135 140
 [1239] Gly Tyr His Asp Glu Gly Gly Asp Trp Val Tyr Tyr Arg Ala Gly Lys
 [1240] 145 150 155 160
 [1241] Lys Leu Leu Gly Arg Gln Thr Ile Asp Thr Phe Ala Val Tyr Phe Asp
 [1242] 165 170 175
 [1243] Ala Asp Gly Lys Gln Val Lys Gly Asp Trp Arg Glu Ser Asp Gly Lys
 [1244] 180 185 190
 [1245] Arg Ala Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Arg Ala Leu Thr Gln Thr Gln
 [1246] 195 200 205
 [1247] Ala Val Asn Gly Val Ile Tyr Gly Phe Asn Gln Ser Gly Tyr Gln Ile
 [1248] 210 215 220
 [1249] Lys Asn Asp Phe Gly Gln Thr Ala Asn Arg Asp Thr Tyr Tyr Phe Asp
 [1250] 225 230 235 240
 [1251] Ala Gln Gly His Val Val Thr Gly Ile Gln Thr Ile Ala Asn Lys Val
 [1252] 245 250 255
 [1253] Tyr Asp Phe Asp Glu Gln Gly Arg Met Leu Lys Gly Ile Ala Thr Ser
 [1254] 260 265 270
 [1255] Val Asp Asp Lys Met Met Tyr Phe Asp Asp Gln Thr Gly Val Gly Gln
 [1256] 275 280 285
 [1257] Pro Ala Asp His Pro Glu Phe Asn Pro Glu Thr Glu Pro Val Pro Asp
 [1258] 290 295 300
 [1259] Asp Asn Ile Lys His Asn Ala Ala His Gly Thr Thr Pro Glu Asp Phe

[1260]	305	310	315	320
[1261]	Asp Ser Met Ala Asp Tyr Leu Thr Ala Asp Thr Trp Tyr Arg Pro Thr			
[1262]		325	330	335
[1263]	Asp Ile Leu Glu Asn Gly Glu Thr Trp Arg Glu Ser Gln Pro Thr Glu			
[1264]		340	345	350
[1265]	Phe Arg Pro Leu Leu Ala Thr Trp Trp Pro Thr Lys Gln Thr Gln Ala			
[1266]		355	360	365
[1267]	Asp Tyr Val Asn Tyr Met Asn His Ala Leu Asp Met Ala Asn Ala Gly			
[1268]		370	375	380
[1269]	Val Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Thr Leu Thr Ala Ala Thr Asp Ala			
[1270]	385	390	395	400
[1271]	Ile Gln Ala Val Val Glu His Gln Ile Thr Val Arg Gln Ser Thr Ala			
[1272]		405	410	415
[1273]	Trp Leu Arg Glu Leu Met Ala Ala Phe Val Val Thr Gln Pro Gln Trp			
[1274]		420	425	430
[1275]	Asn Lys Thr Ser Glu Asp Val Asn Asp Asp His Leu Gln Gly Gly Ala			
[1276]		435	440	445
[1277]	Leu Thr Phe Glu Asn Asn Gly Asp Thr Asp Ala Asn Ser Asp Tyr Arg			
[1278]		450	455	460
[1279]	Leu Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Thr Gly Glu Arg Leu Tyr His			
[1280]	465	470	475	480
[1281]	Ile Asp Asp Ser Leu Gly Gly Tyr Glu Leu Leu Ala Asn Asp Val			
[1282]		485	490	495
[1283]	Asp Asn Ser Asn Pro Gln Val Gln Ala Glu Gln Leu Asn Trp Leu Tyr			
[1284]		500	505	510
[1285]	Tyr Leu Met His Phe Gly Asp Ile Thr Ala Asp Asp Pro Asp Ala Asn			
[1286]		515	520	525
[1287]	Phe Asp Ala Ile Arg Ile Asp Ala Val Asp Asn Val Asp Ala Asp Leu			
[1288]		530	535	540
[1289]	Leu Gln Leu Ala Ala Gln Tyr Phe Arg Asp Ala Tyr Gly Met Ala Thr			
[1290]	545	550	555	560
[1291]	Thr Asp Ala Thr Ser Asn Lys His Leu Ser Ile Leu Glu Asp Trp Ser			
[1292]		565	570	575
[1293]	His Asn Asp Pro Ala Tyr Met Gln Ala His Gly Asn Asp Gln Leu Thr			
[1294]		580	585	590
[1295]	Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile Trp Ser Leu Thr Lys Pro			
[1296]		595	600	605
[1297]	Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe Met Asp Phe Tyr Leu Thr			
[1298]		610	615	620
[1299]	Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr Ala Gln Pro Ser Tyr Ser			
[1300]	625	630	635	640
[1301]	Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala Glu Ile			

[1302]		645		650		655
[1303]	Val Thr Lys Leu His Pro Glu Ala Gly Asn Gly Leu Met Pro Thr Glu					
[1304]		660		665		670
[1305]	Glu Gln Met Ala Glu Ala Phe Lys Ile Tyr Asn Ala Asp Gln Lys Lys					
[1306]		675		680		685
[1307]	Ala Val Lys Thr Tyr Thr His Tyr Asn Met Pro Ser Ala Tyr Ala Met					
[1308]		690		695		700
[1309]	Leu Leu Thr Asn Lys Asp Val Ile Pro Arg Ile Tyr Tyr Gly Asp Leu					
[1310]		705		710		715
[1311]	Tyr Thr Asp Asp Gly Gln Phe Met Ala Thr Lys Ser Pro Tyr Phe Asp					
[1312]		725		730		735
[1313]	Ala Ile Ser Thr Met Leu Gln Ala Arg Thr Lys Tyr Val Ala Gly Gly					
[1314]		740		745		750
[1315]	Gln Thr Met Ala Val Asp Gln His Asp Val Leu Thr Ser Val Arg Phe					
[1316]		755		760		765
[1317]	Gly Lys Gly Ala Met Thr Ala Asn Asp Leu Gly Asp Ala Glu Thr Arg					
[1318]		770		775		780
[1319]	Thr Glu Gly Val Gly Leu Ile Ile Ser Asn Asn Pro Lys Leu Gln Leu					
[1320]		785		790		795
[1321]	Gly Gln Gln Asp Asn Val Val Leu His Met Gly Leu Ala His Ala Asn					
[1322]		805		810		815
[1323]	Gln Ala Phe Arg Ala Val Val Leu Thr Thr Ala Thr Gly Leu Thr Ile					
[1324]		820		825		830
[1325]	Tyr Asn Asp Asp Asp Ala Pro Ile Arg Tyr Thr Asp Asn Lys Gly Asp					
[1326]		835		840		845
[1327]	Leu Ile Phe Thr Asn His Asp Val Tyr Gly Val Leu Asn Pro Gln Val					
[1328]		850		855		860
[1329]	Ser Gly Phe Leu Ala Met Trp Val Pro Thr Gly Ala Pro Ala Asn Gln					
[1330]		865		870		875
[1331]	Asp Ala Arg Ser Thr Ala Ser Thr Asn Met Ser Thr Asp Gly Ser Ala					
[1332]		885		890		895
[1333]	Tyr His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Gln Val Ile Phe Glu Ser Phe					
[1334]		900		905		910
[1335]	Ser Asn Phe Gln Ala Met Pro Thr Ser His Asp Thr Tyr Thr Asn Val					
[1336]		915		920		925
[1337]	Val Leu Ala Asn His Ala Asp Gln Leu His Asp Trp Gly Ile Thr Ser					
[1338]		930		935		940
[1339]	Val Gln Leu Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr Asp Gly Thr Phe Leu					
[1340]		945		950		955
[1341]	Asp Ala Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu					
[1342]		965		970		975
[1343]	Gly Phe Gly Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Asp Asp Thr Asp Leu Arg Asn					

[1344]		980		985		990										
[1345]	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	His	Ala	Asn	Gly	Met	Gln	Val	Met	Ala	Asp	Phe
[1346]			995						1000							1005
[1347]	Val	Pro	Asp	Gln	Leu	Tyr	Thr	Leu	Pro	Gly	Lys	Glu	Leu	Val	Gln	
[1348]			1010						1015							1020
[1349]	Val	Thr	Arg	Thr	Asn	Asn	Met	Gly	Glu	Pro	Asp	Thr	His	Ser	Asp	
[1350]			1025						1030							1035
[1351]	Ile	Gln	His	Ile	Leu	Tyr	Val	Thr	Ser	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Asp	
[1352]			1040						1045							1050
[1353]	Tyr	Gln	Lys	Gln	Tyr	Gly	Gly	Glu	Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Arg	Glu	
[1354]			1055						1060							1065
[1355]	Arg	Tyr	Pro	Asp	Leu	Phe	Thr	Thr	Arg	Gln	Ile	Ser	Thr	Gly	Gln	
[1356]			1070						1075							1080
[1357]	Thr	Ile	Asp	Asp	Ser	Val	Lys	Ile	Lys	Glu	Trp	Ser	Ala	Lys	Tyr	
[1358]			1085						1090							1095
[1359]	Leu	Asn	Gly	Thr	Ala	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Ala	Gly	Tyr	Val	Leu	
[1360]			1100						1105							1110
[1361]	Arg	Asp	Asn	Gly	Thr	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Lys	Val	Thr	Ala	Asn	Asp	
[1362]			1115						1120							1125
[1363]	Gly	Asn	Val	Asn	Leu	Pro	Lys	Gln	Leu	Leu	Gly	Gln	Pro	Val	Met	
[1364]			1130						1135							1140
[1365]	Thr	Gly	Phe	Tyr	His	Glu	Ala	Asp	Gly	Tyr	His	Phe	Glu	Thr	Leu	
[1366]			1145						1150							1155
[1367]	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Lys	Asp	Ala	Phe	Ile	Met	Gly	Asp	Asp	Gly	
[1368]			1160						1165							1170
[1369]	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Asp	Gln	Gly	Val	Met	Val	Thr	Gly	Lys	
[1370]			1175						1180							1185
[1371]	Gln	Arg	Val	His	Gln	Asp	Gln	Tyr	Phe	Phe	Leu	Pro	Asn	Gly	Ile	
[1372]			1190						1195							1200
[1373]	Ala	Leu	Thr	Asp	Ala	Phe	Val	Gln	Thr	Ala	Asp	Gly	Gln	Arg	Gln	
[1374]			1205						1210							1215
[1375]	Tyr	Tyr	Asp	Lys	Thr	Gly	Arg	Leu	Val	Ile	Asn	Gln	Tyr	Val	Thr	
[1376]			1220						1225							1230
[1377]	Asp	His	Gln	Ala	Asn	Ala	Phe	Arg	Val	Asp	Ala	Asp	Gly	Asn	Val	
[1378]			1235						1240							1245
[1379]	Val	Arg	Asn	Gln	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	His	Glu	Gln	Tyr	Phe	
[1380]			1250						1255							1260
[1381]	Gly	Thr	Asn	Gly	Val	Gln	Ala	Lys	Ala	Val	Leu	Ile	Arg	Thr	Asp	
[1382]			1265						1270							1275
[1383]	Asp	Asn	Gln	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Glu	Ala	Asn	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	
[1384]			1280						1285							1290
[1385]	Lys	Gln	Gln	Phe	Ile	Leu	Asp	Thr	Asp	Gly	His	Trp	Leu	Tyr	Ala	

[1386]	1295	1300	1305	
[1387]	Asp Ala Ala Gly Asp Leu Ala Arg Gly Gln Ile Thr Ile Gly Gln			
[1388]	1310	1315	1320	
[1389]	Asp Thr Leu Tyr Phe Asp Asp Asn Asn His Gln Val Lys Asp Asp			
[1390]	1325	1330	1335	
[1391]	Phe Val Tyr Asp Thr Asn Gly Val His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr			
[1392]	1340	1345	1350	
[1393]	Gly Ala Glu Ile Lys Gln Asp Tyr Ala Phe His Asp Gly Lys Trp			
[1394]	1355	1360	1365	
[1395]	Tyr Tyr Phe Asp Asp Leu Gly Arg Met Val Thr Gly Leu Gln Arg			
[1396]	1370	1375	1380	
[1397]	Ile Asn Gly Glu Tyr Arg Tyr Phe Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu			
[1398]	1385	1390	1395	
[1399]	Lys Gly Gly Thr Val Thr Asp Pro Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr			
[1400]	1400	1405	1410	
[1401]	Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Gly Thr Leu Val Thr Ile			
[1402]	1415	1420	1425	
[1403]	<210> 10			
[1404]	<211> 4281			
[1405]	<212> DNA			
[1406]	<213> 人工序列			
[1407]	<220>			
[1408]	<223> 2918 gtf,具有异源信号序列			
[1409]	<400> 10			
[1410]	gatacagtgc tgcctagcga gcaaagagca acacagacga cacaacaac gcagacatca	60		
[1411]	gaggatacga gcgcgacgaa gacaccgga agcgcacaa cgtcaagcag cgataacgtg	120		
[1412]	gatacgtcag atcttccgga tagcgccagc gcagttgtcg attcagcggg tacatcaaca	180		
[1413]	agcacgtcag cctcagtggg gagcgatagc gttgcagtcc cggatacggg atcacaattt	240		
[1414]	atgtcatcat cagctcctgc gagcagcgcg tttgttaaac ctagecctac gtcaacgacg	300		
[1415]	tcaggagcga gcggctcaca gagctcagca gtgacaagcg ccaatgattc aagcgtcgtc	360		
[1416]	acaagctcat cagcttcac agttacgaca gcaacaagcg agtcagccgt tgtctcaagc	420		
[1417]	gcggtctcag acggctatca tgacgaagga ggagattggg tttactacag agcaggaaaa	480		
[1418]	aaactgcttg gaagacagac aattgatac tttgctgttt actttgatgc tgacggaaaa	540		
[1419]	caagtgaaag gcgactggag agaatcagat ggaaagagag cgtattatga tggacaagaa	600		
[1420]	ggaagagccc ttacgcaaac gcaagccgtt aatggagtga tctatggatt caatcaatca	660		
[1421]	ggataccaga tcaaaaacga ttttgccag acagcgaaca gagatacata ctacttcgac	720		
[1422]	gcacaaggcc atgtggttac aggcatcaa acaatcgcga ataaagtta tgacttcgat	780		
[1423]	gaacaaggca gaatgcttaa aggaattgcc acatcagtcg atgacaagat gatgtatatt	840		
[1424]	gacgatcaaa caggcgtggg acaacctgca gatcacctg agtttaacce ggaaacagaa	900		
[1425]	ccggtgcctg acgataacat caagcataat gcagcccacg gcacaacacc tgaagatttt	960		
[1426]	gatagcatgg cggactatct gacagctgat acatggtata gacctacaga tattctggag	1020		
[1427]	aatggagaaa catggagaga gagccaaccg acggaattta gaccgctgct ggcaacgtgg	1080		

[1428]	tggcctacaa aacagacaca agcagattat gtgaactata tgaaccacgc acttgacatg	1140
[1429]	gctaattgctg gcgttagcgc tgcggattca gaggcaacac ttacagcggc tacggatgcc	1200
[1430]	attcaggetg ttgttagca ccaattacg gttagacaaa gcacggcctg gcttagagaa	1260
[1431]	cttatggcgg cttttgtgt tacacaacct caatggaata agacgagcga agatgtcaat	1320
[1432]	gatgatcacc ttcaaggagg cgactgaca tttgagaata acggagacac agatgcaaat	1380
[1433]	agcattata gacttatgaa tagaacaccg acaaatcaaa cgggcgagag actttatcat	1440
[1434]	attgatgact cactgggagg ctacgagctg cttcttgcaa acgatgtgga caactcaaac	1500
[1435]	ccgcaggttc aggcggaaca acttaactgg ctttactatc ttatgcattt cggagatatt	1560
[1436]	acagccgatg acccgatgc taactttgac gcgatcagaa ttgacgccgt tgataatgtc	1620
[1437]	gacgctgacc tgcttcagct tgctgccccaa tacttttagag atgcatatgg aatggccaca	1680
[1438]	acagacgcca cgagcaataa acaccttca atccttgagg attggagcca taacgatcct	1740
[1439]	gcttatatgc aggccatgg aatgaccag cttacaatgg atgactacat gcacacacaa	1800
[1440]	ctgatttggc cactgacgaa accggaagca caaagaggaa cgatggcaag atttatggac	1860
[1441]	ttttatctta caaatagagc taacgatgat acagaaaaca cagcgaacc ttcatattca	1920
[1442]	ttgttagag cacacgactc agaagtgcag acagttattg cagaaattgt tacgaaactt	1980
[1443]	caccggagg caggcaacgg ctttatgcct acggaggaac agatggcaga ggcgtttaag	2040
[1444]	atctacaatg cagacacaaa gaaagcggc aaaacatata cacactataa catgccttca	2100
[1445]	gcctacgcta tgctgctgac aaataaggat gtgattccta gaatctacta cggcgatctt	2160
[1446]	tacacggacg acggccagtt catggcaaca aagtcaccgt atttcgatgc aatttcaaca	2220
[1447]	atgctgcaag caagaacaaa atatgttga ggcggacaaa cgatggcggc tgaccaacat	2280
[1448]	gatgtcctga cgagcgtgag atttggcaaa ggcgcgatga cagcaaatga ccttgagac	2340
[1449]	gcgaaacga gaacagaggc cgtgggactg atcatcagca acaaccctaa gctgcaactg	2400
[1450]	ggacagcagg ataactggc cttcatatg ggcctggcac acgcgaatca ggctttcaga	2460
[1451]	gcagtcgtgc ttacaacagc cacaggactg acgatctaca acgacgatga cgctcctatt	2520
[1452]	agatatacgg acaataaggc cgacctgatc tttacgaatc acgatgttta cggcgttctg	2580
[1453]	aaccgcagg ttagcggctt ctttgcctatg tgggttccga cgggcgcacc tgccaatcaa	2640
[1454]	gacgcaagaa gcacggcttc aacgaatatg tcaacggatg gatcagetta tcattcaaac	2700
[1455]	gcagctctgg attcacaagt tatctttgag tcathtagca actttcaagc aatgccgaca	2760
[1456]	tcacacgata catacacgaa tgttgcctt gcaaacatg cagaccaact tcacgattgg	2820
[1457]	ggaattacgt cagtgcaact tgcaccgcaa tatagatcaa gcacagacgg aacgtttctg	2880
[1458]	gatgcaatta ttcaaatgg atatgcttt acagatagat atgatcttgg ctttgaaca	2940
[1459]	cctacgaagt acggcgacga cacggacctg agaaatgtga tcaaagccct tcatgcaaac	3000
[1460]	ggcatgcaag tcatggcaga tttgttccct gatcaactgt acacacttcc gggcaagaa	3060
[1461]	ctggttcaag tgacaagaac aaataacatg ggcgaaccgg atacacacag cgatattcaa	3120
[1462]	cacatcctgt atgttacatc aacaagagga ggcggagact atcagaaaca atatggcggc	3180
[1463]	gaatttctgg ctagacttag agaaagatac ccggacctt ttacgacgag acaaatagc	3240
[1464]	acaggccaaa caattgacga cagcgttaag attaaggagt ggtcagcga atatctgaac	3300
[1465]	ggcacagcaa ttcaaggcag aggcgctggc tatgttctga gagataatgg aacgaatgca	3360
[1466]	tactataaag ttacggccaa tgatggaac gtcaatctc ctaagcaact gctgggccag	3420
[1467]	ccggttatga caggcttcta tcacgaagca gacggctacc acttcgagac actgtcaggc	3480
[1468]	acatcagcca aggacgatt tatcatggga gatgatggcg cactgtacta tttcgatgac	3540
[1469]	caaggcgtga tggttacagg aaaacaaaga gttcatcagg atcaatactt ttttctgccg	3600

[1470]	aatggcatcg ctctgacgga cgctttcggt caaacagctg atggacagag acagtactac	3660
[1471]	gataaaacag gcagactggt tattaaccaa tatgtgacag accatcaggc gaatgccttc	3720
[1472]	agagttgatg cggacggaaa tgtcgttaga aaccaagcac ttacagtgga cggacatgaa	3780
[1473]	cagtatttcg gcacgaacgg agtgcaggca aaagcagttc tgattagaac ggacgataat	3840
[1474]	caagcgagat attatgaggc aaattcaggc aatctggtga aacaacaatt tatccttgac	3900
[1475]	acagatggcc actggctgta cgcagacgca gcaggcagtc ttgctagagg ccagattaca	3960
[1476]	atcgccagg atacgtgta ttttgatgat aacaatcacc aagttaaaga tgacttcggt	4020
[1477]	tatgatacga atggagtcca ttactttaat ggcacaacag gagcagagat taaacaagat	4080
[1478]	tacgattcc atgacggcaa atggtactac ttcgacgacc tgggaagaat ggtcacggga	4140
[1479]	cttcaaagaa ttaatggaga gtatagatac tttgacgca acggcgtcca actgaaagga	4200
[1480]	ggcacagtga cggatcctct gacacatcaa acatatacat ttgatgcaaa aacgggagcc	4260
[1481]	ggcacgcttg ttacaatttg a	4281
[1482]	<210> 11	
[1483]	<211> 4521	
[1484]	<212> DNA	
[1485]	<213> 表兄链球菌	
[1486]	<400> 11	
[1487]	atgaaagaa aattgcatta caaattacac aaggtaaaaa aacagtgggt aacgattgcc	60
[1488]	gttgctctg ctggtttggc tagcattggt ggtgctggtt cattaagcca aactgtttct	120
[1489]	gccgatgact tagccaagga acaagctcgc gctagtcaac aaaaggcagc agccaatcag	180
[1490]	aatgaggacg aagtggcttc tgatgcagct gatactgcta gtgcaaaagc gacttccgaa	240
[1491]	aaagaagttg tccaatcttc tgatacaaat tcagaaacta accaagttga aactaaagat	300
[1492]	caagctagcg ctaaggaaag tgctgacgca gtagccaagc aagcaccaca agctggccct	360
[1493]	gcaaccacta gccaggttgc aagctcagaa agcagctctg tagcgcctag caaggaagct	420
[1494]	gataaggcag ctgctggatc agttagccaa aatgaagaag aagcagccct atcgcttgcc	480
[1495]	aatattaaaa agattgatgg taagtattac tatgttatgg cagacggttc ttataagaag	540
[1496]	aactttgcca ttacagtga tggtaaatg ctttactttg atgccaaaac aggtgccctg	600
[1497]	tcttcaacct ctacctatc tttcagtcaa ggtttgacac caattgtttc tgattttctca	660
[1498]	gtcaacaaca aggttttcca tttcttgtaa aagagttttg aattggttga tggctatttg	720
[1499]	acagctgaaa gctggtaccg tctgctaag attcttgaaa atggtaaac ttgggttgat	780
[1500]	tctaaagaaa ctgacctag cccagttctg atgagctggt ggccaacaa ggatacgsaa	840
[1501]	gttgctacc ttaactacat gagcaaggca cttggtggca aggaagaatt cacaactgaa	900
[1502]	acctccaat tgacctgaa tacagccgct gagttgattc aagctaaaat tgaagctcgc	960
[1503]	gtttctaaag aacaaggaac aaagtggtg cgtgaagcta tggcagcctt cgttgctacc	1020
[1504]	caatctcgtt ggaataagga cagcgaacaa tacgataagg ctgaccacct gcaaggcgga	1080
[1505]	gccctgctct ataccaataa caacttgaca gagtgggcaa attcaaacctg gcgctgctt	1140
[1506]	aaccgtacc caactcgtca agatggtaaa acccattact ctaaggctga caaataggt	1200
[1507]	ggttatgaat tctcttggc caacgacgtg gataacteta acccagctgt tcaagcgaa	1260
[1508]	atgctcaacc aatccacta cctcatgaac tggggtgaaa ttgtgatggg tgataagaat	1320
[1509]	gccaactttg atggtattcg tgtcgtgcc gtggataacg tcaatgcaga tactctgcaa	1380
[1510]	ctctacacca actactttaa ttctgtttat ggtgtcaaca agtctgaagc ccaagccctg	1440
[1511]	gctcacatct cagtcttggg agcatggtct tacaatgata atgactataa ccaagacacc	1500

[1512]	aacggggctg ccctggctat ggacaatggt ctacgctttt ccctgcttta taccttgacc	1560
[1513]	cgtccgatca atgaacggac acctggtatg tcaacctga ttaaatecaga atatggtttg	1620
[1514]	actgaccgga ctaagaatga taagtatgga gatacccaac catcttatgt ttttgttcgg	1680
[1515]	gcgcatgact cagaagtga aaccgttatt gcacaaatca tcaaggaaaa aattgatcca	1740
[1516]	acaaccgatg gtttcacctt caccttgac caattgaaac aggcctttga aatctacaac	1800
[1517]	aaggatatga atagtgttaa caagcactat acccactata atatcccagc agcctacgct	1860
[1518]	gtcatgttgt ctaatatgga atccgtaacc cgggtttact atggtgacct cttcaccgat	1920
[1519]	gatggtcaat acatggcacc taaatctcca tattatgatg ccatcaacac tctcttgccg	1980
[1520]	gctcgcattc gttacgcagc cgggtgtcaa attatggaac acaattccta caaacatca	2040
[1521]	gcagccatga aggcagctca tccagatgct ggtaatgtcc ttggtaacag cgaagtcttg	2100
[1522]	gtatcggttc gtttcggta agatgtcatg tctgccgatg atatgactgg tggtaagctg	2160
[1523]	gctaagacct ctggtatgtt caccctgatt tctaacaacc ctgaattgga attggatgtc	2220
[1524]	aatgaagaaa tcaaggtaa cgttggtaaa atccatgctg gccaaacctc ccgtcccttg	2280
[1525]	ctttgacaa ctgataaggg tctgcaaaag tatctcaatg attctgatac caagttgacc	2340
[1526]	aagattgctg acaaggatgg tttcattacc ttcaaggta gcgaaatcaa gggttacaaa	2400
[1527]	caagtcgaag tcaatggtta cctctcagtt tgggtaccag ttggtgctaa ggctgacc	2460
[1528]	gacattcgtg tggcccctt aacagcggct aagggtgaaa aggccaaagc ttacacagct	2520
[1529]	agccaagctt tggaatcga attaactac gaaggtctct caaacttcca agattttgtt	2580
[1530]	caaaaagatt cccaatacac caacaagaag attgctgaaa atactgacct cttcaaggct	2640
[1531]	tgggtgttta cctcatttga aatggacca caatacgttt cagcaaccga tggaacctc	2700
[1532]	ctgatttcta tcattgaaaa cggttatgcc ttcaccgacc gttatgacct tgccatgagc	2760
[1533]	aagaacaata aatacgttc taaggaagat ttggccaacg ccctcaaggc cttcacgca	2820
[1534]	gctggtattc aagccattgc tgactgggta ccagacaaa tttaccaact gcctggtgaa	2880
[1535]	gaagttgtta ccgctagccg gtttgacaac tacggtcgtg tgaaagttga ccaaccacta	2940
[1536]	gttgaaaaac tttatctggc caacaccaag agctcaggaa aagatttcca agctaaatac	3000
[1537]	ggtggtgaat tcttagcaga actgcaaaag aaatatcctg aaatgttcac gactaagatg	3060
[1538]	atttcaactg gtaaaacct tgatccatct gtcaaattga aagaatggc tgctaagtac	3120
[1539]	ttcaacggaa ccaacgtcct tgatcgtggt acggactata tctcagtgga tgaaggatct	3180
[1540]	ggtaaatact ttaccgtcaa tgaaaaagg gacttcttac ctgectcatt gactggtaat	3240
[1541]	aaggatgcca agactggtt ctacaacgat ggtaaggca ttgtttacta cacaaccgcc	3300
[1542]	ggtaacaagg ctagatcagc cttcgtaca gaagcagga atacctatta cttcgactac	3360
[1543]	accggccata tggtaacagg ccctaactgt attaacacta aattctatta cttcttgcca	3420
[1544]	aatggtatca tgcttaagga tgctattaag caggatgaaa aaggctgctc cgtatactac	3480
[1545]	ggtaagactg gtgttatgta caagggtggc cgcgataatg aatggttcgc catgacagac	3540
[1546]	tctaagggtc aaatgcgtt ccgtcacttt gacaggtacg gcttcatgct tatcggtttg	3600
[1547]	gtaacctca accaaaatgt tcagtattat gatgaaaatg gtttccaagt taaagggtgaa	3660
[1548]	tttgaaccg atcaggatgg acaaacctgt tacttcgacc aaggttcagg taacttggtt	3720
[1549]	aagggacaat tectcaacaa ggatggcaac tggtaactacc ttgatgacca agggctagtt	3780
[1550]	gctaaaggag ctgagacaat taaaggtcaa aagctttact ttgacacaaa aaccgggtgc	3840
[1551]	caagttaaag gggattttgt aacggataaa gatggcaata cttctttta cagtggagat	3900
[1552]	actggcgatt taatccttgg tcagttcttc tcaactggaa ataacgcttg gttctatgct	3960
[1553]	gatgaaaatg gtcatgtcgc taaggagct aagactatca gaggtcagaa gctctacttt	4020

[1554]	gatacaaaaa caggtcagca agctaagga cgctttatcc gtgatgacaa gggggttcgt	4080
[1555]	tactatgatg ctgacacagg taccttggtg accaacgctt tccttgaaac taaggctggt	4140
[1556]	tctaaccaat ggtattacat gggagcagat ggttatgctg tcaaggggaa ccagaccata	4200
[1557]	aaaaatcagc acatgtatgt tgatgctgaa actggccaac aagctaagg aattatagtg	4260
[1558]	acagatgcca atggtcgcaa gtatttctat gatactttta ctggcagtcg tgttgtaaac	4320
[1559]	caatttgttt tggtaaatgg aaattgggat ttctttggtt atgatggagc tgcagtaaca	4380
[1560]	ggtttccatg atatcaagg acaacacctt tacttcaatt ccgatggaac acaggccaaa	4440
[1561]	gggactacgg taaaaattgg caatcgcagc tataccttg atgctcacac tggtagctg	4500
[1562]	acatctgttc attatggctg a	4521
[1563]	<210> 12	
[1564]	<211> 1506	
[1565]	<212> PRT	
[1566]	<213> 表兄链球菌	
[1567]	<400> 12	
[1568]	Met Glu Arg Lys Leu His Tyr Lys Leu His Lys Val Lys Lys Gln Trp	
[1569]	1 5 10 15	
[1570]	Val Thr Ile Ala Val Ala Ser Ala Gly Leu Ala Ser Ile Val Gly Ala	
[1571]	20 25 30	
[1572]	Gly Ser Leu Ser Gln Thr Val Ser Ala Asp Asp Leu Ala Lys Glu Gln	
[1573]	35 40 45	
[1574]	Ala Ala Ala Ser Gln Gln Lys Ala Ala Ala Asn Gln Asn Glu Asp Glu	
[1575]	50 55 60	
[1576]	Val Ala Ser Asp Ala Ala Asp Thr Ala Ser Ala Lys Ala Thr Ser Glu	
[1577]	65 70 75 80	
[1578]	Lys Glu Val Val Gln Ser Ser Asp Thr Asn Ser Glu Thr Asn Gln Val	
[1579]	85 90 95	
[1580]	Glu Thr Lys Asp Gln Ala Ser Ala Lys Glu Ser Ala Asp Ala Val Ala	
[1581]	100 105 110	
[1582]	Lys Gln Ala Pro Gln Ala Gly Pro Ala Thr Thr Ser Gln Val Ala Ser	
[1583]	115 120 125	
[1584]	Ser Glu Ser Ser Ser Val Ala Pro Ser Lys Glu Ala Asp Lys Ala Ala	
[1585]	130 135 140	
[1586]	Ala Gly Ser Val Ser Gln Asn Glu Glu Glu Ala Ala Leu Ser Leu Ala	
[1587]	145 150 155 160	
[1588]	Asn Ile Lys Lys Ile Asp Gly Lys Tyr Tyr Tyr Val Met Ala Asp Gly	
[1589]	165 170 175	
[1590]	Ser Tyr Lys Lys Asn Phe Ala Ile Thr Val Asp Gly Gln Met Leu Tyr	
[1591]	180 185 190	
[1592]	Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser Ser Thr Ser Thr Tyr Ser Phe	
[1593]	195 200 205	
[1594]	Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser Asp Phe Ser Val Asn Asn Lys	
[1595]	210 215 220	

[1596]	Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe Glu Leu Val Asp Gly Tyr Leu
[1597]	225 230 235 240
[1598]	Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala Lys Ile Leu Glu Asn Gly Lys
[1599]	245 250 255
[1600]	Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp Leu Arg Pro Val Leu Met Ser
[1601]	260 265 270
[1602]	Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val Ala Tyr Leu Asn Tyr Met Ser
[1603]	275 280 285
[1604]	Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Thr Thr Glu Thr Ser Gln Leu
[1605]	290 295 300
[1606]	Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile Gln Ala Lys Ile Glu Ala Arg
[1607]	305 310 315 320
[1608]	Val Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp Leu Arg Glu Ala Met Ala Ala
[1609]	325 330 335
[1610]	Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Asn Lys Asp Ser Glu Gln Tyr Asp
[1611]	340 345 350
[1612]	Lys Ala Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Leu Tyr Thr Asn Asn Asn
[1613]	355 360 365
[1614]	Leu Thr Glu Trp Ala Asn Ser Asn Trp Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro
[1615]	370 375 380
[1616]	Thr Arg Gln Asp Gly Lys Thr His Tyr Ser Lys Ala Asp Lys Tyr Gly
[1617]	385 390 395 400
[1618]	Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Val
[1619]	405 410 415
[1620]	Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile His Tyr Leu Met Asn Trp Gly
[1621]	420 425 430
[1622]	Glu Ile Val Met Gly Asp Lys Asn Ala Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val
[1623]	435 440 445
[1624]	Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp Thr Leu Gln Leu Tyr Thr Asn
[1625]	450 455 460
[1626]	Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn Lys Ser Glu Ala Gln Ala Leu
[1627]	465 470 475 480
[1628]	Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp Ser Tyr Asn Asp Asn Asp Tyr
[1629]	485 490 495
[1630]	Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu Ala Met Asp Asn Gly Leu Arg
[1631]	500 505 510
[1632]	Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg Pro Ile Asn Glu Arg Thr Pro
[1633]	515 520 525
[1634]	Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Glu Tyr Gly Leu Thr Asp Arg Thr
[1635]	530 535 540
[1636]	Lys Asn Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln Pro Ser Tyr Val Phe Val Arg
[1637]	545 550 555 560

[1638]	Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala Gln Ile Ile Lys Glu
[1639]	565 570 575
[1640]	Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe Thr Phe Thr Leu Asp Gln Leu
[1641]	580 585 590
[1642]	Lys Gln Ala Phe Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Met Asn Ser Val Asn Lys
[1643]	595 600 605
[1644]	His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala Ala Tyr Ala Val Met Leu Ser
[1645]	610 615 620
[1646]	Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr Tyr Gly Asp Leu Phe Thr Asp
[1647]	625 630 635 640
[1648]	Asp Gly Gln Tyr Met Ala Ser Lys Ser Pro Tyr Tyr Asp Ala Ile Asn
[1649]	645 650 655
[1650]	Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr Ala Ala Gly Gly Gln Ile Met
[1651]	660 665 670
[1652]	Glu His Asn Ser Tyr Lys Pro Ser Ala Ala Met Lys Ala Ala His Pro
[1653]	675 680 685
[1654]	Asp Ala Gly Asn Val Leu Gly Asn Ser Glu Val Leu Val Ser Val Arg
[1655]	690 695 700
[1656]	Phe Gly Gln Asp Val Met Ser Ala Asp Asp Met Thr Gly Gly Lys Leu
[1657]	705 710 715 720
[1658]	Ala Lys Thr Ser Gly Met Phe Thr Leu Ile Ser Asn Asn Pro Glu Leu
[1659]	725 730 735
[1660]	Glu Leu Asp Val Asn Glu Glu Ile Lys Val Asn Val Gly Lys Ile His
[1661]	740 745 750
[1662]	Ala Gly Gln Ala Tyr Arg Pro Leu Leu Leu Thr Thr Asp Lys Gly Leu
[1663]	755 760 765
[1664]	Gln Lys Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Thr Lys Leu Thr Lys Ile Ala Asp
[1665]	770 775 780
[1666]	Lys Asp Gly Phe Ile Thr Phe Lys Gly Ser Glu Ile Lys Gly Tyr Lys
[1667]	785 790 795 800
[1668]	Gln Val Glu Val Asn Gly Tyr Leu Ser Val Trp Val Pro Val Gly Ala
[1669]	805 810 815
[1670]	Lys Ala Asp Gln Asp Ile Arg Val Ala Pro Ser Thr Ala Ala Lys Gly
[1671]	820 825 830
[1672]	Glu Lys Ala Lys Thr Tyr Thr Ala Ser Gln Ala Leu Glu Ser Gln Leu
[1673]	835 840 845
[1674]	Ile Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln Asp Phe Val Gln Lys Asp Ser
[1675]	850 855 860
[1676]	Gln Tyr Thr Asn Lys Lys Ile Ala Glu Asn Thr Asp Leu Phe Lys Ala
[1677]	865 870 875 880
[1678]	Trp Gly Val Thr Ser Phe Glu Met Ala Pro Gln Tyr Val Ser Ala Thr
[1679]	885 890 895

[1680]	Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ser Ile Ile Glu Asn Gly Tyr Ala Phe Thr
[1681]	900 905 910
[1682]	Asp Arg Tyr Asp Leu Ala Met Ser Lys Asn Asn Lys Tyr Gly Ser Lys
[1683]	915 920 925
[1684]	Glu Asp Leu Ala Asn Ala Leu Lys Ala Leu His Ala Ala Gly Ile Gln
[1685]	930 935 940
[1686]	Ala Ile Ala Asp Trp Val Pro Asp Gln Ile Tyr Gln Leu Pro Gly Lys
[1687]	945 950 955 960
[1688]	Glu Val Val Thr Ala Ser Arg Val Asp Asn Tyr Gly Arg Val Lys Val
[1689]	965 970 975
[1690]	Asp Gln Pro Leu Val Glu Lys Leu Tyr Leu Ala Asn Thr Lys Ser Ser
[1691]	980 985 990
[1692]	Gly Lys Asp Phe Gln Ala Lys Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Ala Glu Leu
[1693]	995 1000 1005
[1694]	Gln Lys Lys Tyr Pro Glu Met Phe Thr Thr Lys Met Ile Ser Thr
[1695]	1010 1015 1020
[1696]	Gly Lys Thr Ile Asp Pro Ser Val Lys Leu Lys Glu Trp Ser Ala
[1697]	1025 1030 1035
[1698]	Lys Tyr Phe Asn Gly Thr Asn Val Leu Asp Arg Gly Thr Asp Tyr
[1699]	1040 1045 1050
[1700]	Ile Leu Ser Asp Glu Gly Thr Gly Lys Tyr Phe Thr Val Asn Glu
[1701]	1055 1060 1065
[1702]	Lys Gly Asp Phe Leu Pro Ala Ser Leu Thr Gly Asn Lys Asp Ala
[1703]	1070 1075 1080
[1704]	Lys Thr Gly Phe Tyr Asn Asp Gly Lys Gly Ile Val Tyr Tyr Thr
[1705]	1085 1090 1095
[1706]	Thr Ala Gly Asn Lys Ala Arg Ser Ala Phe Val Thr Glu Ala Gly
[1707]	1100 1105 1110
[1708]	Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Thr Gly His Met Val Thr Gly Pro
[1709]	1115 1120 1125
[1710]	Asn Val Ile Asn Thr Lys Phe Tyr Tyr Phe Leu Pro Asn Gly Ile
[1711]	1130 1135 1140
[1712]	Met Leu Lys Asp Ala Ile Lys Gln Asp Glu Lys Gly Arg Ser Val
[1713]	1145 1150 1155
[1714]	Tyr Tyr Gly Lys Thr Gly Val Met Tyr Lys Gly Gly Arg Asp Asn
[1715]	1160 1165 1170
[1716]	Glu Trp Phe Ala Met Thr Asp Ser Lys Gly Gln Met Arg Phe Arg
[1717]	1175 1180 1185
[1718]	His Phe Asp Arg Tyr Gly Phe Met Ser Ile Gly Leu Val Thr Ile
[1719]	1190 1195 1200
[1720]	Asn Gln Asn Val Gln Tyr Tyr Asp Glu Asn Gly Phe Gln Val Lys
[1721]	1205 1210 1215

[1722]	Gly Glu Phe Val Thr Asp Gln Asp Gly Gln Thr Arg Tyr Phe Asp
[1723]	1220 1225 1230
[1724]	Gln Gly Ser Gly Asn Leu Val Lys Gly Gln Phe Leu Asn Lys Asp
[1725]	1235 1240 1245
[1726]	Gly Asn Trp Tyr Tyr Leu Asp Asp Gln Gly Leu Val Ala Lys Gly
[1727]	1250 1255 1260
[1728]	Ala Gln Thr Ile Lys Gly Gln Lys Leu Tyr Phe Asp Thr Lys Thr
[1729]	1265 1270 1275
[1730]	Gly Val Gln Val Lys Gly Asp Phe Val Thr Asp Lys Asp Gly Asn
[1731]	1280 1285 1290
[1732]	Thr Phe Phe Tyr Ser Gly Asp Thr Gly Asp Leu Ile Leu Gly Gln
[1733]	1295 1300 1305
[1734]	Phe Phe Ser Thr Gly Asn Asn Ala Trp Phe Tyr Ala Asp Glu Asn
[1735]	1310 1315 1320
[1736]	Gly His Val Ala Lys Gly Ala Lys Thr Ile Arg Gly Gln Lys Leu
[1737]	1325 1330 1335
[1738]	Tyr Phe Asp Thr Lys Thr Gly Gln Gln Ala Lys Gly Arg Phe Ile
[1739]	1340 1345 1350
[1740]	Arg Asp Asp Lys Gly Val Arg Tyr Tyr Asp Ala Asp Thr Gly Thr
[1741]	1355 1360 1365
[1742]	Leu Val Thr Asn Ala Phe Leu Glu Thr Lys Ala Gly Ser Asn Gln
[1743]	1370 1375 1380
[1744]	Trp Tyr Tyr Met Gly Ala Asp Gly Tyr Ala Val Lys Gly Asn Gln
[1745]	1385 1390 1395
[1746]	Thr Ile Lys Asn Gln His Met Tyr Phe Asp Ala Glu Thr Gly Gln
[1747]	1400 1405 1410
[1748]	Gln Ala Lys Gly Ile Ile Val Thr Asp Ala Asn Gly Arg Lys Tyr
[1749]	1415 1420 1425
[1750]	Phe Tyr Asp Thr Phe Thr Gly Ser Arg Val Val Asn Gln Phe Val
[1751]	1430 1435 1440
[1752]	Leu Val Asn Gly Asn Trp Tyr Phe Phe Gly Tyr Asp Gly Ala Ala
[1753]	1445 1450 1455
[1754]	Val Thr Gly Phe His Asp Ile Lys Gly Gln His Leu Tyr Phe Asn
[1755]	1460 1465 1470
[1756]	Ser Asp Gly Thr Gln Ala Lys Gly Thr Thr Val Lys Ile Gly Asn
[1757]	1475 1480 1485
[1758]	Arg Ser Tyr Thr Phe Asp Ala His Thr Gly Glu Leu Thr Ser Val
[1759]	1490 1495 1500
[1760]	His Tyr Gly
[1761]	1505
[1762]	<210> 13
[1763]	<211> 1465

[1764] <212> PRT
 [1765] <213> 表兄链球菌
 [1766] <220>
 [1767] <221> 尚未归类的特征
 [1768] <222> (1) .. (1465)
 [1769] <223> 成熟2920 gtf
 [1770] <400> 13
 [1771] Asp Asp Leu Ala Lys Glu Gln Ala Ala Ala Ser Gln Gln Lys Ala Ala
 [1772] 1 5 10 15
 [1773] Ala Asn Gln Asn Glu Asp Glu Val Ala Ser Asp Ala Ala Asp Thr Ala
 [1774] 20 25 30
 [1775] Ser Ala Lys Ala Thr Ser Glu Lys Glu Val Val Gln Ser Ser Asp Thr
 [1776] 35 40 45
 [1777] Asn Ser Glu Thr Asn Gln Val Glu Thr Lys Asp Gln Ala Ser Ala Lys
 [1778] 50 55 60
 [1779] Glu Ser Ala Asp Ala Val Ala Lys Gln Ala Pro Gln Ala Gly Pro Ala
 [1780] 65 70 75 80
 [1781] Thr Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Glu Ser Ser Ser Val Ala Pro Ser
 [1782] 85 90 95
 [1783] Lys Glu Ala Asp Lys Ala Ala Ala Gly Ser Val Ser Gln Asn Glu Glu
 [1784] 100 105 110
 [1785] Glu Ala Ala Leu Ser Leu Ala Asn Ile Lys Lys Ile Asp Gly Lys Tyr
 [1786] 115 120 125
 [1787] Tyr Tyr Val Met Ala Asp Gly Ser Tyr Lys Lys Asn Phe Ala Ile Thr
 [1788] 130 135 140
 [1789] Val Asp Gly Gln Met Leu Tyr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser
 [1790] 145 150 155 160
 [1791] Ser Thr Ser Thr Tyr Ser Phe Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser
 [1792] 165 170 175
 [1793] Asp Phe Ser Val Asn Asn Lys Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe
 [1794] 180 185 190
 [1795] Glu Leu Val Asp Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala
 [1796] 195 200 205
 [1797] Lys Ile Leu Glu Asn Gly Lys Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp
 [1798] 210 215 220
 [1799] Leu Arg Pro Val Leu Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val
 [1800] 225 230 235 240
 [1801] Ala Tyr Leu Asn Tyr Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe
 [1802] 245 250 255
 [1803] Thr Thr Glu Thr Ser Gln Leu Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile
 [1804] 260 265 270
 [1805] Gln Ala Lys Ile Glu Ala Arg Val Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp

[1806]	275	280	285
[1807]	Leu Arg Glu Ala Met Ala Ala Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Asn		
[1808]	290	295	300
[1809]	Lys Asp Ser Glu Gln Tyr Asp Lys Ala Asp His Leu Gln Gly Gly Ala		
[1810]	305	310	315
[1811]	Leu Leu Tyr Thr Asn Asn Asn Leu Thr Glu Trp Ala Asn Ser Asn Trp		
[1812]		325	330
[1813]	Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Arg Gln Asp Gly Lys Thr His Tyr		335
[1814]		340	345
[1815]	Ser Lys Ala Asp Lys Tyr Gly Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp		
[1816]		355	360
[1817]	Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile		
[1818]		370	375
[1819]	His Tyr Leu Met Asn Trp Gly Glu Ile Val Met Gly Asp Lys Asn Ala		
[1820]		385	390
[1821]	Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp		
[1822]		405	410
[1823]	Thr Leu Gln Leu Tyr Thr Asn Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn		
[1824]		420	425
[1825]	Lys Ser Glu Ala Gln Ala Leu Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp		
[1826]		435	440
[1827]	Ser Tyr Asn Asp Asn Asp Tyr Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu		
[1828]		450	455
[1829]	Ala Met Asp Asn Gly Leu Arg Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg		
[1830]		465	470
[1831]	Pro Ile Asn Glu Arg Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Glu		
[1832]		485	490
[1833]	Tyr Gly Leu Thr Asp Arg Thr Lys Asn Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln		
[1834]		500	505
[1835]	Pro Ser Tyr Val Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val		
[1836]		515	520
[1837]	Ile Ala Gln Ile Ile Lys Glu Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe		
[1838]		530	535
[1839]	Thr Phe Thr Leu Asp Gln Leu Lys Gln Ala Phe Glu Ile Tyr Asn Lys		
[1840]		545	550
[1841]	Asp Met Asn Ser Val Asn Lys His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala		
[1842]		565	570
[1843]	Ala Tyr Ala Val Met Leu Ser Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr		
[1844]		580	585
[1845]	Tyr Gly Asp Leu Phe Thr Asp Asp Gly Gln Tyr Met Ala Ser Lys Ser		
[1846]		595	600
[1847]	Pro Tyr Tyr Asp Ala Ile Asn Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr		

[1848]	610	615	620
[1849]	Ala Ala Gly Gly Gln Ile Met Glu His Asn Ser Tyr Lys Pro Ser Ala		
[1850]	625	630	635 640
[1851]	Ala Met Lys Ala Ala His Pro Asp Ala Gly Asn Val Leu Gly Asn Ser		
[1852]		645	650 655
[1853]	Glu Val Leu Val Ser Val Arg Phe Gly Gln Asp Val Met Ser Ala Asp		
[1854]		660	665 670
[1855]	Asp Met Thr Gly Gly Lys Leu Ala Lys Thr Ser Gly Met Phe Thr Leu		
[1856]		675	680 685
[1857]	Ile Ser Asn Asn Pro Glu Leu Glu Leu Asp Val Asn Glu Glu Ile Lys		
[1858]	690	695	700
[1859]	Val Asn Val Gly Lys Ile His Ala Gly Gln Ala Tyr Arg Pro Leu Leu		
[1860]	705	710	715 720
[1861]	Leu Thr Thr Asp Lys Gly Leu Gln Lys Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Thr		
[1862]		725	730 735
[1863]	Lys Leu Thr Lys Ile Ala Asp Lys Asp Gly Phe Ile Thr Phe Lys Gly		
[1864]		740	745 750
[1865]	Ser Glu Ile Lys Gly Tyr Lys Gln Val Glu Val Asn Gly Tyr Leu Ser		
[1866]		755	760 765
[1867]	Val Trp Val Pro Val Gly Ala Lys Ala Asp Gln Asp Ile Arg Val Ala		
[1868]	770	775	780
[1869]	Pro Ser Thr Ala Ala Lys Gly Glu Lys Ala Lys Thr Tyr Thr Ala Ser		
[1870]	785	790	795 800
[1871]	Gln Ala Leu Glu Ser Gln Leu Ile Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln		
[1872]		805	810 815
[1873]	Asp Phe Val Gln Lys Asp Ser Gln Tyr Thr Asn Lys Lys Ile Ala Glu		
[1874]		820	825 830
[1875]	Asn Thr Asp Leu Phe Lys Ala Trp Gly Val Thr Ser Phe Glu Met Ala		
[1876]		835	840 845
[1877]	Pro Gln Tyr Val Ser Ala Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ser Ile Ile		
[1878]	850	855	860
[1879]	Glu Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Ala Met Ser Lys		
[1880]	865	870	875 880
[1881]	Asn Asn Lys Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Leu Ala Asn Ala Leu Lys Ala		
[1882]		885	890 895
[1883]	Leu His Ala Ala Gly Ile Gln Ala Ile Ala Asp Trp Val Pro Asp Gln		
[1884]		900	905 910
[1885]	Ile Tyr Gln Leu Pro Gly Lys Glu Val Val Thr Ala Ser Arg Val Asp		
[1886]		915	920 925
[1887]	Asn Tyr Gly Arg Val Lys Val Asp Gln Pro Leu Val Glu Lys Leu Tyr		
[1888]	930	935	940
[1889]	Leu Ala Asn Thr Lys Ser Ser Gly Lys Asp Phe Gln Ala Lys Tyr Gly		

[1890]	945	950	955	960
[1891]	Gly Glu Phe Leu Ala Glu Leu Gln Lys Lys Tyr Pro Glu Met Phe Thr			
[1892]		965	970	975
[1893]	Thr Lys Met Ile Ser Thr Gly Lys Thr Ile Asp Pro Ser Val Lys Leu			
[1894]		980	985	990
[1895]	Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Phe Asn Gly Thr Asn Val Leu Asp Arg			
[1896]		995	1000	1005
[1897]	Gly Thr Asp Tyr Ile Leu Ser Asp Glu Gly Thr Gly Lys Tyr Phe			
[1898]		1010	1015	1020
[1899]	Thr Val Asn Glu Lys Gly Asp Phe Leu Pro Ala Ser Leu Thr Gly			
[1900]		1025	1030	1035
[1901]	Asn Lys Asp Ala Lys Thr Gly Phe Tyr Asn Asp Gly Lys Gly Ile			
[1902]		1040	1045	1050
[1903]	Val Tyr Tyr Thr Thr Ala Gly Asn Lys Ala Arg Ser Ala Phe Val			
[1904]		1055	1060	1065
[1905]	Thr Glu Ala Gly Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Thr Gly His Met			
[1906]		1070	1075	1080
[1907]	Val Thr Gly Pro Asn Val Ile Asn Thr Lys Phe Tyr Tyr Phe Leu			
[1908]		1085	1090	1095
[1909]	Pro Asn Gly Ile Met Leu Lys Asp Ala Ile Lys Gln Asp Glu Lys			
[1910]		1100	1105	1110
[1911]	Gly Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Lys Thr Gly Val Met Tyr Lys Gly			
[1912]		1115	1120	1125
[1913]	Gly Arg Asp Asn Glu Trp Phe Ala Met Thr Asp Ser Lys Gly Gln			
[1914]		1130	1135	1140
[1915]	Met Arg Phe Arg His Phe Asp Arg Tyr Gly Phe Met Ser Ile Gly			
[1916]		1145	1150	1155
[1917]	Leu Val Thr Ile Asn Gln Asn Val Gln Tyr Tyr Asp Glu Asn Gly			
[1918]		1160	1165	1170
[1919]	Phe Gln Val Lys Gly Glu Phe Val Thr Asp Gln Asp Gly Gln Thr			
[1920]		1175	1180	1185
[1921]	Arg Tyr Phe Asp Gln Gly Ser Gly Asn Leu Val Lys Gly Gln Phe			
[1922]		1190	1195	1200
[1923]	Leu Asn Lys Asp Gly Asn Trp Tyr Tyr Leu Asp Asp Gln Gly Leu			
[1924]		1205	1210	1215
[1925]	Val Ala Lys Gly Ala Gln Thr Ile Lys Gly Gln Lys Leu Tyr Phe			
[1926]		1220	1225	1230
[1927]	Asp Thr Lys Thr Gly Val Gln Val Lys Gly Asp Phe Val Thr Asp			
[1928]		1235	1240	1245
[1929]	Lys Asp Gly Asn Thr Phe Phe Tyr Ser Gly Asp Thr Gly Asp Leu			
[1930]		1250	1255	1260
[1931]	Ile Leu Gly Gln Phe Phe Ser Thr Gly Asn Asn Ala Trp Phe Tyr			

[1932]	1265	1270	1275
[1933]	Ala Asp Glu Asn Gly His Val Ala Lys Gly Ala Lys Thr Ile Arg		
[1934]	1280	1285	1290
[1935]	Gly Gln Lys Leu Tyr Phe Asp Thr Lys Thr Gly Gln Gln Ala Lys		
[1936]	1295	1300	1305
[1937]	Gly Arg Phe Ile Arg Asp Asp Lys Gly Val Arg Tyr Tyr Asp Ala		
[1938]	1310	1315	1320
[1939]	Asp Thr Gly Thr Leu Val Thr Asn Ala Phe Leu Glu Thr Lys Ala		
[1940]	1325	1330	1335
[1941]	Gly Ser Asn Gln Trp Tyr Tyr Met Gly Ala Asp Gly Tyr Ala Val		
[1942]	1340	1345	1350
[1943]	Lys Gly Asn Gln Thr Ile Lys Asn Gln His Met Tyr Phe Asp Ala		
[1944]	1355	1360	1365
[1945]	Glu Thr Gly Gln Gln Ala Lys Gly Ile Ile Val Thr Asp Ala Asn		
[1946]	1370	1375	1380
[1947]	Gly Arg Lys Tyr Phe Tyr Asp Thr Phe Thr Gly Ser Arg Val Val		
[1948]	1385	1390	1395
[1949]	Asn Gln Phe Val Leu Val Asn Gly Asn Trp Tyr Phe Phe Gly Tyr		
[1950]	1400	1405	1410
[1951]	Asp Gly Ala Ala Val Thr Gly Phe His Asp Ile Lys Gly Gln His		
[1952]	1415	1420	1425
[1953]	Leu Tyr Phe Asn Ser Asp Gly Thr Gln Ala Lys Gly Thr Thr Val		
[1954]	1430	1435	1440
[1955]	Lys Ile Gly Asn Arg Ser Tyr Thr Phe Asp Ala His Thr Gly Glu		
[1956]	1445	1450	1455
[1957]	Leu Thr Ser Val His Tyr Gly		
[1958]	1460	1465	
[1959]	<210> 14		
[1960]	<211> 4398		
[1961]	<212> DNA		
[1962]	<213> 人工序列		
[1963]	<220>		
[1964]	<223> 2920 gtf,具有异源信号序列		
[1965]	<400> 14		
[1966]	gatgacctgg cgaaggaaca agcagccgcc tcacagcaaa aagcagcggc taaccagaat 60		
[1967]	gaagacgaag ttgcatcaga tgcagccgat acagctagcg ccaaagccac gtcagagaaa 120		
[1968]	gaagtggttc agtcaagcga taaaactca gaaacaaatc aggttgagac gaaagaccaa 180		
[1969]	gcatcagcta aggagagcgc agacgcagtc gcgaaacaag ctctcaagc aggaccggca 240		
[1970]	acaacgtcac aggtcgccag ctacagagac agcagcgtgg caccgagcaa ggaggctgac 300		
[1971]	aaggctgccg caggctcagt ctacagaac gaggaggagg cagcccttc acttgccaac 360		
[1972]	atcaagaaga ttgacgaaa atactattac gttatggcgg atggaagcta caagaaaaac 420		
[1973]	tttgcgatta cggttgatgg acagatgctt tactttgacg caaaaacagg cgcactttca 480		

[1974]	tcaacgagca cgtatagctt ttcacaaggc ctgacgccga ttgtctcaga ctttagcgtg	540
[1975]	aacaataagg ctttcgattc atcagaaaag tcatttgaac ttgtggacgg ctacctgaca	600
[1976]	gccgaaagct ggtacagacc ggccaaaatc ctggaaaacg gaaagacgtg ggtcgactca	660
[1977]	aaagaaacag atcttagacc tgtcctgatg tcatgggtgc cgaacaaaga cacacaagtc	720
[1978]	gcatacttga attacatgtc aaaagctctg ggaggcaaag aagagtttac gacagagaca	780
[1979]	tcacaactga cactgaatac agcggcagaa cttatccagg cgaagatcga agctagagtg	840
[1980]	agcaaagagc agggcacaaa atggctgaga gaagcaatgg cagcatttgt ggcgacgcaa	900
[1981]	tcaagatgga ataaagattc agagcaatat gataaagcag atcatcttca aggcggagct	960
[1982]	ctgctgtaca caaacaacaa cttacagaa tgggctaatt caaattggag actgcttaat	1020
[1983]	agaacaccga cgagacagga tggaaaaaca cattactcaa aggcagataa gtatggcgga	1080
[1984]	tatgagtttc tgctggctaa tgatgtcgat aactcaaatc cggttgtcca agctgaaatg	1140
[1985]	cttaaccaa ttattatct tatgaattgg ggcgaaattg ttatgggcga taagaatgct	1200
[1986]	aacttcgacg gaatcagagt tgatgcagtt gacaacgta atgcagatac actgcagctt	1260
[1987]	tatacaaatt actttaatag cgtttatgga gtcaacaagt cagaagcaca ggcccttgca	1320
[1988]	catatttcag tccttgaggc atggctatat aatgataacg actataatca ggatacgaat	1380
[1989]	ggcgacgac ttgcgatgga taatggcctg agattctcac ttctgtatac gcttacaaga	1440
[1990]	ccgattaatg aaagaacgcc tggcatgagc aactgatta agagcgaata cggactgacg	1500
[1991]	gatagaacga aaaacgacaa gtacggcgac acgcaaccta gctatgtctt cgtagagca	1560
[1992]	catgatagcg aggttcaaac ggttatgcc caaattatca aggagaaaat cgatcctaca	1620
[1993]	acagatggct ttacatttac gctggatcaa ctgaagcaag ctttcgaaat ctataacaag	1680
[1994]	gacatgaact cagtgaataa gcactacag cattacaata ttctgtctgc atacgctgtt	1740
[1995]	atgctgagca acatggaaag cgtgacaaga gtgtactacg gcgacctttt tacggatgac	1800
[1996]	ggccagtata tggcaagcaa gtcacctat tatgatgcta tcaatacact tcttagagcg	1860
[1997]	agaattagat acgccgctgg aggacaaatc atggaacata attcatataa gccgagcgcc	1920
[1998]	gcaatgaaag ctgcacacc ggacgccggc aacgtcctgg gcaattcaga ggtcctggtc	1980
[1999]	tcagtgatg tgcgcaaga cgtgatgtca gcagatgata tgacaggcgg aaaacttgcg	2040
[2000]	aaaacatcag gcatgtttac gcttattagc aataaccgg aactggaact tgacgttaat	2100
[2001]	gaggagatca aagtgaatgt gggcaaatc catgctggac aagcttatag accgcttctg	2160
[2002]	cttacaacag ataaggact tcagaagtac cttaatgatt cagacacaaa actgacgaag	2220
[2003]	atcgctgaca aagacggatt cattacattc aaaggatcag aaattaagg ctataaaca	2280
[2004]	gttagggtta atggctacct ttcagtttg gttccggtg gcgctaaagc agaccaagat	2340
[2005]	attagagttg ccccgagcac agccgcaaaa ggagaaaagg ctaaaacgta tacagcatca	2400
[2006]	caggtcttg aatcacagct tatctatgaa ggcttctcaa actttcaaga ctttgttcaa	2460
[2007]	aaagatagcc aatatacga taagaaaatt gcagagaaca cagacctgtt taaagcatgg	2520
[2008]	ggagttacgt cattcgagat ggctcctcaa tatgttagcg caacggatgg cacattcctg	2580
[2009]	gattcaatca ttgaaaacgg ctatgcatc acagacagat acgacctgc tatgagcaag	2640
[2010]	aataacaaat atggatcaaa agaggatctg gctaacgcac ttaaggcact tcacgcagct	2700
[2011]	ggcattcaag ctattgcgga ttgggtgctt gaccaaatct accaactgcc gggcaaagag	2760
[2012]	gttgtgacag ccagcagagt ggataactat ggcagagtta aggtggacca gccgcttgtc	2820
[2013]	gagaagctgt atctggcga tacgaaatca tcaggaaaag atttccaggc taagtacggc	2880
[2014]	ggagagttcc ttgcggagct gcagaagaaa taccgggaga tgttcacgac aaaaatgatc	2940
[2015]	agcacaggaa agacaatcga cccgtcagtg aagctgaaag agtggtcagc caagtacttc	3000

[2016]	aatggaacga acgtgctgga tagaggcaca gactatattc ttagcgatga gggaacggga	3060
[2017]	aagtatttca cagtcaacga gaagggcgat ttcctgcctg cgagccttac aggcaacaag	3120
[2018]	gatgccaaaa caggtttta caatgacgga aaaggaattg tttactacac aacagctgga	3180
[2019]	aacaaggcta gaagcgcgtt cgtgacagag gctggcaaca catactatit cgactatacg	3240
[2020]	ggccacatgg tgacaggacc gaatgttata aacacgaagt tctattactt tcttcctaac	3300
[2021]	ggcatcatgc tgaaggacgc aattaagcaa gatgaaaagg gaagaagcgt ttattacggc	3360
[2022]	aagacaggag ttatgtacaa gggcggcaga gataacgaat ggtttgcaat gacagactca	3420
[2023]	aaggacaga tgagatttag acatttcgat agatatggct tcatgtcaat tggacttgtt	3480
[2024]	acaatcaacc agaatttca atactatgat gagaatggct ttcaggtgaa aggcgaattt	3540
[2025]	gtcacagatc aggatggaca aacgagatac ttcgaccaag gctcaggcaa tcttgtaaa	3600
[2026]	ggacagtttc ttaacaaaga tggaaattgg tattatctgg atgatcaagg actggttgc	3660
[2027]	aaaggagctc aaacgattaa aggcaaaaa ctgtattttg atacgaagac gggcgtgcag	3720
[2028]	gttaaggag attttgtgac ggacaaggac ggcaatacat tcttctatag cggagatacg	3780
[2029]	ggagatctga ttctgggaca attcttttca acgggcaata atgcatgggt ttatgcggac	3840
[2030]	gagaacggac acgtcgccaa aggcgcaaaa acaatcagag gacagaagct ttacttcgat	3900
[2031]	acaaaaacgg gacaacaagc caagggcaga ttcacagag acgacaagg agtcagatac	3960
[2032]	tacgatgcag acacgggac actggttaca aacgcattc tggagacgaa ggcgggaagc	4020
[2033]	aatcagtgg actacatgg cgctgatgga tatgccgtga agggaaacca gacgatcaag	4080
[2034]	aaccagcata tgtacttga cgctgaaaca ggacagcaag ctaagggaat catcgttacg	4140
[2035]	gacgcgaacg gcagaaaata cttctatgac acgtttacgg gctcaagagt tgtaataca	4200
[2036]	ttcgttctg tgaacggaaa ctggtacttt tttggatac atggagcagc agttacagga	4260
[2037]	ttcacgata tcaaggcca acatctttat ttcaactcag acggaacgca agcgaaggc	4320
[2038]	acgacagtta agatcgaaa tagaagctac acattcgacg cacacacagg cgagcttaca	4380
[2039]	tcagtccatt acggatga	4398
[2040]	<210> 15	
[2041]	<211> 4360	
[2042]	<212> DNA	
[2043]	<213> 汗毛链球菌	
[2044]	<400> 15	
[2045]	atgattttca tggaaagaaa attacattac aaattacaca aggtcaagaa gcagtgggtg	60
[2046]	accatcgctg tcgcctctgc tggtttgcc agcgtagtcg gtgctggctc cttgagccaa	120
[2047]	accgtttctg ctgacgatct tgctaaggac caagcggcag cgactgagca aaaggcatca	180
[2048]	gccaatcagg aaaaagaaga agtagtttct gatcaggttg acacgaccag tgccaaagca	240
[2049]	acctctgaga aggaagtgc tcaagcttcg gacactagtt cagaagccaa ccaagttcca	300
[2050]	gccaagaag aaaagaaggc tgaaaaggca gctgctcctg cgacagcgac accagctcca	360
[2051]	cagactggtg caaaaaacag ccaaacagct agttcagaag caccagcgac aagcaatcaa	420
[2052]	gcaagtgaga cagctgaaac tggctgctta agccaaaaag aagaagcagc agttctttcg	480
[2053]	cttgataata tcaagaagat tgatggaaag tattactatg ttatggcaga cggctcttat	540
[2054]	aagaagaact ttgccattac tgttgatggg caaatgcttt actttgatgc caaaacaggt	600
[2055]	gcctgtctt caacctctac ctattcttct agtcaaggtt tgacaccaat tgtttctgat	660
[2056]	ttctcagtc acaataaggc tttcgattct tctgaaaaga gttttgaact ggtagatggt	720
[2057]	tacctgacag ctgaaagctg gtaccgtcct gctaagattc ttgaaaatgg caagacctgg	780

[2058]	gtggactcca aagaaactga ccttcgtcca gttctcatga gctggtggcc aaacaaggat	840
[2059]	accecaagttg cctacctcaa ctatatgtcc aaggcgcttg gtggcaagga agagtttaca	900
[2060]	acagaaacct ctcaaacac cttgaataca gctgctgagt tgattcaaac caagattgaa	960
[2061]	gctcgtattdt ctaaggaaca agggaccaa tggcttcgtg aagctatggc tgcttttgta	1020
[2062]	gcgactcagt ctcgttggag ttacgctagt gagcaatttg ataaaaacga ccacttgcaa	1080
[2063]	ggtggtgctc tcctttatac taataataaa ttgacceaat gggcagattc taactatcgt	1140
[2064]	ttgcttaacc gcaccctac ccgacaggat ggcaagctc attattctaa agctgacgaa	1200
[2065]	tacggtggtt acgaattcct cttggcta atgacgtgata actccaacc agtcgttcaa	1260
[2066]	gcgaaatgc tcaaccaa cactacctg atgaactggg gctctattgt catgaatgac	1320
[2067]	aaggatgcca actttgatgg tatccgtgtg gatgcggtg ataatgtcaa tgcggatacc	1380
[2068]	ctgcaactct aactaacta ttttaattcg gtttatggtg tcaacaagtc agaagccaa	1440
[2069]	gccctagctc acatttcagt attagaagct tggctttata atgataatga ctataacca	1500
[2070]	gataccaatg gtgcggcctt ggctatggac aatggtctac gcttctcct gctttatacc	1560
[2071]	ctgacacgct cacttaatga gcgactcct ggtatgtcaa cttgattaa gtcacaatat	1620
[2072]	ggtttgactg accggaccaa ggatgacaag tatggcgata ctacagccatc ctatgtcttt	1680
[2073]	gttcgggctc atgactcaga agtgcaaac gttattgcgc aatcatcaa gaaaaaatt	1740
[2074]	gatccaacga ctgatggctt taccttcacc ttggaccaat tgaacaggc ctttgacatc	1800
[2075]	tacaataagg atatgaatag tgttgataag cactataacc actacaatat tccagcagcc	1860
[2076]	tacgctgta tggttgcaa catggaatca gtaactcggg ttactatgg agacctcttt	1920
[2077]	accgatgatg gtcaatacat ggaaaccaag tctccttact acgatgctat caatacctc	1980
[2078]	cttagggccc ggattcgta cgcgctggt ggtcaaacca tggaaacaa ttctataag	2040
[2079]	gcatcagcag ctatgaaagc taaaaatcct gatagtggta gtgtgcttg caacagcgaa	2100
[2080]	gttctgtct ctgttcgttt tggcaagat gtgatgtctg ctgacgatat gactggtggt	2160
[2081]	aagctggcta aaacctctgg tatgttcagc ctgatttcca acaacctga attagaattg	2220
[2082]	gatgccaatg aagaaatcag ggtcaatggt ggtaagattc atgctggtca aacctaccgt	2280
[2083]	ccattgcttt tgacaaccga taagggtctg caaaagtacc tcaatgatc tgatactaag	2340
[2084]	ctgaccaagg ttgccgataa ggatggttat atcacctca agggcagtg aatcaagggc	2400
[2085]	tacaagcagg ttgaagtcaa tggttacctt tctgtttggg taccagtcgg cgcaaaggca	2460
[2086]	gatcaagata ttcgtgtggc agcttcaact aaggttaatg gtaaggatga caagacttat	2520
[2087]	acagctagtc aagccttaga atcacaatta atctacgaag gtttctcaa cttccaagat	2580
[2088]	ttcgttaaga aggactcca atataccaat aagaagattg ctgaaaatac cgacctcttt	2640
[2089]	aaggcctggg gcgtgacctc atttgaaatg gcgccacaat acgtttccgc aactgatggt	2700
[2090]	accttctgg attctattat tgaaaatggt tatgccttca ccgaccgta tgaccttgc	2760
[2091]	atgagcaaga acaacaagta cggttctaa gaagacttg ccaatgctct taaggcctc	2820
[2092]	cacgctgctg gtatccaagc tatcgcagac tgggttcag accaaattta ccaactcca	2880
[2093]	ggtaaggaag tggtaactgc aagtcgtgtt gataactatg gccgtgtaa gattgacaa	2940
[2094]	ccattggttg aaaaacttta cttggccaat accaagagct caggaaaaga cttccaggt	3000
[2095]	aaatattggtg gtgaattctt agaagacctg caaaagcaat acctgaaat gtttaccgt	3060
[2096]	aagatgattt caaccgtaa aaccattgat ccatctgtca aattgaagga atggtcagct	3120
[2097]	aagtacttga acggaacaaa tgttctgggt cgtggtacag actatgtcct cagcagatgaa	3180
[2098]	ggaactggca aatacttcac tgttaatgaa aagggtgact tcctaccagc agccctgaca	3240
[2099]	ggtgataggg aagccaagac tggtttctac aatgatggtg agggaatgac ctactataca	3300

[2142]	145	150	155	160
[2143]	Leu Asp Asn Ile Lys Lys Ile Asp Gly Lys Tyr Tyr Tyr Val Met Ala			
[2144]		165	170	175
[2145]	Asp Gly Ser Tyr Lys Lys Asn Phe Ala Ile Thr Val Asp Gly Gln Met			
[2146]		180	185	190
[2147]	Leu Tyr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser Ser Thr Ser Thr Tyr			
[2148]		195	200	205
[2149]	Ser Phe Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser Asp Phe Ser Val Asn			
[2150]		210	215	220
[2151]	Asn Lys Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe Glu Leu Val Asp Gly			
[2152]		225	230	235
[2153]	Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala Lys Ile Leu Glu Asn			
[2154]		245	250	255
[2155]	Gly Lys Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp Leu Arg Pro Val Leu			
[2156]		260	265	270
[2157]	Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val Ala Tyr Leu Asn Tyr			
[2158]		275	280	285
[2159]	Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Thr Thr Glu Thr Ser			
[2160]		290	295	300
[2161]	Gln Thr Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile Gln Thr Lys Ile Glu			
[2162]		305	310	315
[2163]	Ala Arg Ile Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp Leu Arg Glu Ala Met			
[2164]		325	330	335
[2165]	Ala Ala Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Ser Tyr Ala Ser Glu Gln			
[2166]		340	345	350
[2167]	Phe Asp Lys Asn Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Leu Tyr Thr Asn			
[2168]		355	360	365
[2169]	Asn Lys Leu Thr Gln Trp Ala Asp Ser Asn Tyr Arg Leu Leu Asn Arg			
[2170]		370	375	380
[2171]	Thr Pro Thr Arg Gln Asp Gly Lys Pro His Tyr Ser Lys Ala Asp Glu			
[2172]		385	390	395
[2173]	Tyr Gly Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn			
[2174]		405	410	415
[2175]	Pro Val Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile His Tyr Leu Met Asn			
[2176]		420	425	430
[2177]	Trp Gly Ser Ile Val Met Asn Asp Lys Asp Ala Asn Phe Asp Gly Ile			
[2178]		435	440	445
[2179]	Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp Thr Leu Gln Leu Tyr			
[2180]		450	455	460
[2181]	Thr Asn Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn Lys Ser Glu Ala Gln			
[2182]		465	470	475
[2183]	Ala Leu Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp Ser Tyr Asn Asp Asn			

[2184]		485		490		495
[2185]	Asp Tyr Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu Ala Met Asp Asn Gly					
[2186]		500		505		510
[2187]	Leu Arg Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg Pro Leu Asn Glu Arg					
[2188]		515		520		525
[2189]	Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Gln Tyr Gly Leu Thr Asp					
[2190]		530		535		540
[2191]	Arg Thr Lys Asp Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln Pro Ser Tyr Val Phe					
[2192]		545		550		555
[2193]	Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala Gln Ile Ile					
[2194]		565		570		575
[2195]	Lys Lys Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe Thr Phe Thr Leu Asp					
[2196]		580		585		590
[2197]	Gln Leu Lys Gln Ala Phe Asp Ile Tyr Asn Lys Asp Met Asn Ser Val					
[2198]		595		600		605
[2199]	Asp Lys His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala Ala Tyr Ala Val Met					
[2200]		610		615		620
[2201]	Leu Ser Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr Tyr Gly Asp Leu Phe					
[2202]		625		630		635
[2203]	Thr Asp Asp Gly Gln Tyr Met Glu Thr Lys Ser Pro Tyr Tyr Asp Ala					
[2204]		645		650		655
[2205]	Ile Asn Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr Ala Ala Gly Gly Gln					
[2206]		660		665		670
[2207]	Thr Met Glu His Asn Ser Tyr Lys Ala Ser Ala Ala Met Lys Ala Lys					
[2208]		675		680		685
[2209]	Asn Pro Asp Ser Gly Ser Val Leu Gly Asn Ser Glu Val Leu Val Ser					
[2210]		690		695		700
[2211]	Val Arg Phe Gly Gln Asp Val Met Ser Ala Asp Asp Met Thr Gly Gly					
[2212]		705		710		715
[2213]	Lys Leu Ala Lys Thr Ser Gly Met Phe Ser Leu Ile Ser Asn Asn Pro					
[2214]		725		730		735
[2215]	Glu Leu Glu Leu Asp Ala Asn Glu Glu Ile Arg Val Asn Val Gly Lys					
[2216]		740		745		750
[2217]	Ile His Ala Gly Gln Thr Tyr Arg Pro Leu Leu Leu Thr Thr Asp Lys					
[2218]		755		760		765
[2219]	Gly Leu Gln Lys Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Thr Lys Leu Thr Lys Val					
[2220]		770		775		780
[2221]	Ala Asp Lys Asp Gly Tyr Ile Thr Phe Lys Gly Ser Glu Ile Lys Gly					
[2222]		785		790		795
[2223]	Tyr Lys Gln Val Glu Val Asn Gly Tyr Leu Ser Val Trp Val Pro Val					
[2224]		805		810		815
[2225]	Gly Ala Lys Ala Asp Gln Asp Ile Arg Val Ala Ala Ser Thr Lys Val					

[2226]		820		825		830
[2227]	Asn Gly Lys Asp Asp Lys Thr Tyr Thr Ala Ser Gln Ala Leu Glu Ser					
[2228]		835		840		845
[2229]	Gln Leu Ile Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln Asp Phe Val Lys Lys					
[2230]		850		855		860
[2231]	Asp Ser Gln Tyr Thr Asn Lys Lys Ile Ala Glu Asn Thr Asp Leu Phe					
[2232]		865		870		875
[2233]	Lys Ala Trp Gly Val Thr Ser Phe Glu Met Ala Pro Gln Tyr Val Ser					
[2234]		885		890		895
[2235]	Ala Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ser Ile Ile Glu Asn Gly Tyr Ala					
[2236]		900		905		910
[2237]	Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Ala Met Ser Lys Asn Asn Lys Tyr Gly					
[2238]		915		920		925
[2239]	Ser Lys Glu Asp Leu Ala Asn Ala Leu Lys Ala Leu His Ala Ala Gly					
[2240]		930		935		940
[2241]	Ile Gln Ala Ile Ala Asp Trp Val Pro Asp Gln Ile Tyr Gln Leu Pro					
[2242]		945		950		955
[2243]	Gly Lys Glu Val Val Thr Ala Ser Arg Val Asp Asn Tyr Gly Arg Val					
[2244]		965		970		975
[2245]	Lys Ile Asp Gln Pro Leu Val Glu Lys Leu Tyr Leu Ala Asn Thr Lys					
[2246]		980		985		990
[2247]	Ser Ser Gly Lys Asp Phe Gln Ala Lys Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Glu					
[2248]		995		1000		1005
[2249]	Asp Leu Gln Lys Gln Tyr Pro Glu Met Phe Thr Ala Lys Met Ile					
[2250]		1010		1015		1020
[2251]	Ser Thr Gly Lys Thr Ile Asp Pro Ser Val Lys Leu Lys Glu Trp					
[2252]		1025		1030		1035
[2253]	Ser Ala Lys Tyr Leu Asn Gly Thr Asn Val Leu Gly Arg Gly Thr					
[2254]		1040		1045		1050
[2255]	Asp Tyr Val Leu Ser Asp Glu Gly Thr Gly Lys Tyr Phe Thr Val					
[2256]		1055		1060		1065
[2257]	Asn Glu Lys Gly Asp Phe Leu Pro Ala Ala Leu Thr Gly Asp Arg					
[2258]		1070		1075		1080
[2259]	Glu Ala Lys Thr Gly Phe Tyr Asn Asp Gly Lys Gly Met Thr Tyr					
[2260]		1085		1090		1095
[2261]	Tyr Thr Thr Ala Gly Asn Lys Ala Lys Ser Ala Phe Val Thr Val					
[2262]		1100		1105		1110
[2263]	Ala Gly Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Thr Gly Tyr Met Val Thr					
[2264]		1115		1120		1125
[2265]	Gly Pro Asn Thr Ile Asn Ser Lys Phe Tyr Tyr Phe Leu Pro Asn					
[2266]		1130		1135		1140
[2267]	Gly Val Met Leu Lys Asp Ala Ile Lys Gln Asp Glu Leu Gly Arg					

[2268]	1145	1150	1155
[2269]	Ser Val Tyr Tyr Gly Lys Thr Gly Thr Met Tyr Lys Ala Thr Asp		
[2270]	1160	1165	1170
[2271]	Lys Ser Gln Trp Phe Ala Met Thr Asp Ser Lys Gly Gln Gln Arg		
[2272]	1175	1180	1185
[2273]	Phe Arg His Phe Asp Arg Phe Gly Ile Met Ser Val Gly Leu Val		
[2274]	1190	1195	1200
[2275]	Thr Ile Asn Gly Ser Val Gln Tyr Tyr Asp Glu Glu Gly Phe Gln		
[2276]	1205	1210	1215
[2277]	Val Lys Gly Glu Phe Val Thr Asp Lys Asp Gly Gln Thr Arg Tyr		
[2278]	1220	1225	1230
[2279]	Phe Asp Glu Gly Ser Gly Asn Leu Val Lys Asp Arg Phe Leu Asn		
[2280]	1235	1240	1245
[2281]	Lys Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Leu Asp Asp Lys Gly Leu Leu Val		
[2282]	1250	1255	1260
[2283]	Lys Gly Ala Gln Thr Ile Lys Gly Gln Lys Leu Tyr Phe Asp Thr		
[2284]	1265	1270	1275
[2285]	Lys Thr Gly Ala Gln Val Lys Gly Asp Phe Val Ala Asp Lys Asp		
[2286]	1280	1285	1290
[2287]	Gly Asn Leu Thr Phe Tyr Ser Gly Asp Ser Gly Gln Met Val Gln		
[2288]	1295	1300	1305
[2289]	Ser Asp Phe Phe Ser Thr Gly Asn Asn Ala Trp Phe Tyr Ala Asp		
[2290]	1310	1315	1320
[2291]	Glu Asn Gly His Val Ala Lys Gly Ala Lys Thr Ile Arg Gly Gln		
[2292]	1325	1330	1335
[2293]	Lys Leu Tyr Phe Asp Thr Lys Thr Gly Gln Gln Ala Lys Gly Arg		
[2294]	1340	1345	1350
[2295]	Phe Ile Arg Asp Asp Lys Gly Val Arg Tyr Tyr Asp Ala Asp Thr		
[2296]	1355	1360	1365
[2297]	Gly Ala Leu Val Thr Asn Ala Phe Leu Glu Thr Lys Ala Gly Ser		
[2298]	1370	1375	1380
[2299]	Asn Gln Trp Tyr Tyr Met Gly Ala Asp Gly Tyr Ala Val Lys Gly		
[2300]	1385	1390	1395
[2301]	Asn Gln Thr Ile Lys Asn Gln His Met Tyr Phe Asp Ala Glu Thr		
[2302]	1400	1405	1410
[2303]	Gly Gln Gln Ala Lys Gly Ile Ile Val Thr Asp Ala Asn Gly Arg		
[2304]	1415	1420	1425
[2305]	Lys Tyr Phe Tyr Asp Thr Phe Thr Gly Ser Arg Val Val Asn Gln		
[2306]	1430	1435	1440
[2307]	Phe Val Leu Val Asn Gly Asn Trp Tyr Phe		
[2308]	1445	1450	
[2309]	<210> 17		

[2310]	<211>	1409
[2311]	<212>	PRT
[2312]	<213>	汗毛链球菌
[2313]	<220>	
[2314]	<221>	尚未归类的特征
[2315]	<222>	(1) .. (1409)
[2316]	<223>	成熟2921 gtf
[2317]	<400>	17
[2318]	Asp Asp Leu Ala Lys Asp Gln Ala Ala Ala Thr Glu Gln Lys Ala Ser	
[2319]	1	5 10 15
[2320]	Ala Asn Gln Glu Lys Glu Glu Val Val Ser Asp Gln Val Asp Thr Thr	
[2321]		20 25 30
[2322]	Ser Ala Lys Ala Thr Ser Glu Lys Glu Val Ala Gln Ala Ser Asp Thr	
[2323]		35 40 45
[2324]	Ser Ser Glu Ala Asn Gln Val Pro Ala Gln Glu Glu Lys Lys Ala Glu	
[2325]		50 55 60
[2326]	Lys Ala Ala Ala Pro Ala Thr Ala Thr Pro Ala Pro Gln Thr Gly Ala	
[2327]		65 70 75 80
[2328]	Lys Asn Ser Gln Thr Ala Ser Ser Glu Ala Pro Ala Thr Ser Asn Gln	
[2329]		85 90 95
[2330]	Ala Ser Glu Thr Ala Glu Thr Gly Ala Leu Ser Gln Lys Glu Glu Ala	
[2331]		100 105 110
[2332]	Ala Val Leu Ser Leu Asp Asn Ile Lys Lys Ile Asp Gly Lys Tyr Tyr	
[2333]		115 120 125
[2334]	Tyr Val Met Ala Asp Gly Ser Tyr Lys Lys Asn Phe Ala Ile Thr Val	
[2335]		130 135 140
[2336]	Asp Gly Gln Met Leu Tyr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser Ser	
[2337]		145 150 155 160
[2338]	Thr Ser Thr Tyr Ser Phe Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser Asp	
[2339]		165 170 175
[2340]	Phe Ser Val Asn Asn Lys Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe Glu	
[2341]		180 185 190
[2342]	Leu Val Asp Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala Lys	
[2343]		195 200 205
[2344]	Ile Leu Glu Asn Gly Lys Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp Leu	
[2345]		210 215 220
[2346]	Arg Pro Val Leu Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val Ala	
[2347]		225 230 235 240
[2348]	Tyr Leu Asn Tyr Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Thr	
[2349]		245 250 255
[2350]	Thr Glu Thr Ser Gln Thr Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile Gln	
[2351]		260 265 270

[2352]	Thr Lys Ile Glu Ala Arg Ile Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp Leu
[2353]	275 280 285
[2354]	Arg Glu Ala Met Ala Ala Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Ser Tyr
[2355]	290 295 300
[2356]	Ala Ser Glu Gln Phe Asp Lys Asn Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu
[2357]	305 310 315 320
[2358]	Leu Tyr Thr Asn Asn Lys Leu Thr Gln Trp Ala Asp Ser Asn Tyr Arg
[2359]	325 330 335
[2360]	Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Arg Gln Asp Gly Lys Pro His Tyr Ser
[2361]	340 345 350
[2362]	Lys Ala Asp Glu Tyr Gly Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp Val
[2363]	355 360 365
[2364]	Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile His
[2365]	370 375 380
[2366]	Tyr Leu Met Asn Trp Gly Ser Ile Val Met Asn Asp Lys Asp Ala Asn
[2367]	385 390 395 400
[2368]	Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp Thr
[2369]	405 410 415
[2370]	Leu Gln Leu Tyr Thr Asn Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn Lys
[2371]	420 425 430
[2372]	Ser Glu Ala Gln Ala Leu Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp Ser
[2373]	435 440 445
[2374]	Tyr Asn Asp Asn Asp Tyr Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu Ala
[2375]	450 455 460
[2376]	Met Asp Asn Gly Leu Arg Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg Pro
[2377]	465 470 475 480
[2378]	Leu Asn Glu Arg Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Gln Tyr
[2379]	485 490 495
[2380]	Gly Leu Thr Asp Arg Thr Lys Asp Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln Pro
[2381]	500 505 510
[2382]	Ser Tyr Val Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile
[2383]	515 520 525
[2384]	Ala Gln Ile Ile Lys Lys Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe Thr
[2385]	530 535 540
[2386]	Phe Thr Leu Asp Gln Leu Lys Gln Ala Phe Asp Ile Tyr Asn Lys Asp
[2387]	545 550 555 560
[2388]	Met Asn Ser Val Asp Lys His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala Ala
[2389]	565 570 575
[2390]	Tyr Ala Val Met Leu Ser Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr Tyr
[2391]	580 585 590
[2392]	Gly Asp Leu Phe Thr Asp Asp Gly Gln Tyr Met Glu Thr Lys Ser Pro
[2393]	595 600 605

[2394]	Tyr Tyr Asp Ala Ile Asn Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr Ala
[2395]	610 615 620
[2396]	Ala Gly Gly Gln Thr Met Glu His Asn Ser Tyr Lys Ala Ser Ala Ala
[2397]	625 630 635 640
[2398]	Met Lys Ala Lys Asn Pro Asp Ser Gly Ser Val Leu Gly Asn Ser Glu
[2399]	645 650 655
[2400]	Val Leu Val Ser Val Arg Phe Gly Gln Asp Val Met Ser Ala Asp Asp
[2401]	660 665 670
[2402]	Met Thr Gly Gly Lys Leu Ala Lys Thr Ser Gly Met Phe Ser Leu Ile
[2403]	675 680 685
[2404]	Ser Asn Asn Pro Glu Leu Glu Leu Asp Ala Asn Glu Glu Ile Arg Val
[2405]	690 695 700
[2406]	Asn Val Gly Lys Ile His Ala Gly Gln Thr Tyr Arg Pro Leu Leu Leu
[2407]	705 710 715 720
[2408]	Thr Thr Asp Lys Gly Leu Gln Lys Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Thr Lys
[2409]	725 730 735
[2410]	Leu Thr Lys Val Ala Asp Lys Asp Gly Tyr Ile Thr Phe Lys Gly Ser
[2411]	740 745 750
[2412]	Glu Ile Lys Gly Tyr Lys Gln Val Glu Val Asn Gly Tyr Leu Ser Val
[2413]	755 760 765
[2414]	Trp Val Pro Val Gly Ala Lys Ala Asp Gln Asp Ile Arg Val Ala Ala
[2415]	770 775 780
[2416]	Ser Thr Lys Val Asn Gly Lys Asp Asp Lys Thr Tyr Thr Ala Ser Gln
[2417]	785 790 795 800
[2418]	Ala Leu Glu Ser Gln Leu Ile Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln Asp
[2419]	805 810 815
[2420]	Phe Val Lys Lys Asp Ser Gln Tyr Thr Asn Lys Lys Ile Ala Glu Asn
[2421]	820 825 830
[2422]	Thr Asp Leu Phe Lys Ala Trp Gly Val Thr Ser Phe Glu Met Ala Pro
[2423]	835 840 845
[2424]	Gln Tyr Val Ser Ala Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ser Ile Ile Glu
[2425]	850 855 860
[2426]	Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Ala Met Ser Lys Asn
[2427]	865 870 875 880
[2428]	Asn Lys Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Leu Ala Asn Ala Leu Lys Ala Leu
[2429]	885 890 895
[2430]	His Ala Ala Gly Ile Gln Ala Ile Ala Asp Trp Val Pro Asp Gln Ile
[2431]	900 905 910
[2432]	Tyr Gln Leu Pro Gly Lys Glu Val Val Thr Ala Ser Arg Val Asp Asn
[2433]	915 920 925
[2434]	Tyr Gly Arg Val Lys Ile Asp Gln Pro Leu Val Glu Lys Leu Tyr Leu
[2435]	930 935 940

[2436]	Ala Asn Thr Lys Ser Ser Gly Lys Asp Phe Gln Ala Lys Tyr Gly Gly			
[2437]	945	950	955	960
[2438]	Glu Phe Leu Glu Asp Leu Gln Lys Gln Tyr Pro Glu Met Phe Thr Ala			
[2439]		965	970	975
[2440]	Lys Met Ile Ser Thr Gly Lys Thr Ile Asp Pro Ser Val Lys Leu Lys			
[2441]		980	985	990
[2442]	Glu Trp Ser Ala Lys Tyr Leu Asn Gly Thr Asn Val Leu Gly Arg Gly			
[2443]		995	1000	1005
[2444]	Thr Asp Tyr Val Leu Ser Asp Glu Gly Thr Gly Lys Tyr Phe Thr			
[2445]		1010	1015	1020
[2446]	Val Asn Glu Lys Gly Asp Phe Leu Pro Ala Ala Leu Thr Gly Asp			
[2447]		1025	1030	1035
[2448]	Arg Glu Ala Lys Thr Gly Phe Tyr Asn Asp Gly Lys Gly Met Thr			
[2449]		1040	1045	1050
[2450]	Tyr Tyr Thr Thr Ala Gly Asn Lys Ala Lys Ser Ala Phe Val Thr			
[2451]		1055	1060	1065
[2452]	Val Ala Gly Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Thr Gly Tyr Met Val			
[2453]		1070	1075	1080
[2454]	Thr Gly Pro Asn Thr Ile Asn Ser Lys Phe Tyr Tyr Phe Leu Pro			
[2455]		1085	1090	1095
[2456]	Asn Gly Val Met Leu Lys Asp Ala Ile Lys Gln Asp Glu Leu Gly			
[2457]		1100	1105	1110
[2458]	Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Lys Thr Gly Thr Met Tyr Lys Ala Thr			
[2459]		1115	1120	1125
[2460]	Asp Lys Ser Gln Trp Phe Ala Met Thr Asp Ser Lys Gly Gln Gln			
[2461]		1130	1135	1140
[2462]	Arg Phe Arg His Phe Asp Arg Phe Gly Ile Met Ser Val Gly Leu			
[2463]		1145	1150	1155
[2464]	Val Thr Ile Asn Gly Ser Val Gln Tyr Tyr Asp Glu Glu Gly Phe			
[2465]		1160	1165	1170
[2466]	Gln Val Lys Gly Glu Phe Val Thr Asp Lys Asp Gly Gln Thr Arg			
[2467]		1175	1180	1185
[2468]	Tyr Phe Asp Glu Gly Ser Gly Asn Leu Val Lys Asp Arg Phe Leu			
[2469]		1190	1195	1200
[2470]	Asn Lys Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Leu Asp Asp Lys Gly Leu Leu			
[2471]		1205	1210	1215
[2472]	Val Lys Gly Ala Gln Thr Ile Lys Gly Gln Lys Leu Tyr Phe Asp			
[2473]		1220	1225	1230
[2474]	Thr Lys Thr Gly Ala Gln Val Lys Gly Asp Phe Val Ala Asp Lys			
[2475]		1235	1240	1245
[2476]	Asp Gly Asn Leu Thr Phe Tyr Ser Gly Asp Ser Gly Gln Met Val			
[2477]		1250	1255	1260

[2478]	Gln Ser Asp Phe Phe Ser Thr Gly Asn Asn Ala Trp Phe Tyr Ala
[2479]	1265 1270 1275
[2480]	Asp Glu Asn Gly His Val Ala Lys Gly Ala Lys Thr Ile Arg Gly
[2481]	1280 1285 1290
[2482]	Gln Lys Leu Tyr Phe Asp Thr Lys Thr Gly Gln Gln Ala Lys Gly
[2483]	1295 1300 1305
[2484]	Arg Phe Ile Arg Asp Asp Lys Gly Val Arg Tyr Tyr Asp Ala Asp
[2485]	1310 1315 1320
[2486]	Thr Gly Ala Leu Val Thr Asn Ala Phe Leu Glu Thr Lys Ala Gly
[2487]	1325 1330 1335
[2488]	Ser Asn Gln Trp Tyr Tyr Met Gly Ala Asp Gly Tyr Ala Val Lys
[2489]	1340 1345 1350
[2490]	Gly Asn Gln Thr Ile Lys Asn Gln His Met Tyr Phe Asp Ala Glu
[2491]	1355 1360 1365
[2492]	Thr Gly Gln Gln Ala Lys Gly Ile Ile Val Thr Asp Ala Asn Gly
[2493]	1370 1375 1380
[2494]	Arg Lys Tyr Phe Tyr Asp Thr Phe Thr Gly Ser Arg Val Val Asn
[2495]	1385 1390 1395
[2496]	Gln Phe Val Leu Val Asn Gly Asn Trp Tyr Phe
[2497]	1400 1405
[2498]	<210> 18
[2499]	<211> 4230
[2500]	<212> DNA
[2501]	<213> 人工序列
[2502]	<220>
[2503]	<223> 2921 gtf,具有异源信号序列
[2504]	<400> 18
[2505]	gatgatctgg caaaggacca agcggctgcc acggaacaga aggcattcagc gaatcaagaa 60
[2506]	aaggaggaag ttgtttcaga tcaagttgat acgacaagcg ccaaagcaac gtcagaaaaa 120
[2507]	gagtggtcac aggctagcga tacatcatca gaggccaacc aggttccggc ccaagaggaa 180
[2508]	aagaaagccg agaaggccgc agcacctgcg acagctacgc cggcaccgca aacgggagcc 240
[2509]	aaaaatagcc aaacagcctc aagcgaggca ccggctacat caaatcaagc atcagaaacg 300
[2510]	gcggaacag gcgcaactgtc acaaaaaggaa gaagcagctg tcctttcact tgataatatac 360
[2511]	aaaaagattg acgaaaata ctactatggt atggctgatg gatcatataa gaaaaacttt 420
[2512]	gcgattacag tcgatggcca aatgctgtat tttgatgcaa aaacaggagc tctttcaagc 480
[2513]	acatcaacat attcattttc acaaggcctg acaccgattg ttagcgactt cttagtcaat 540
[2514]	aacaaggcat ttgatagcag cgagaaatca ttcgaacttg tggatggata tcttacggcc 600
[2515]	gagagctggt acagaccggc aaaaattctg gagaatggaa agacgtgggt tgattcaaaa 660
[2516]	gagacggacc ttagaccggt gctgatgtca tgggtggccga ataaggatac gcaggttggc 720
[2517]	tacctgaact atatgtcaaa agcacttggc ggcaaagagg agtttacaac ggagacatca 780
[2518]	caaacgacac ttaacacggc tgctgaactt atccagacga agatcgaggc aagaattagc 840
[2519]	aaagaacaag gaacgaagtg gcttagagaa gctatggccg catttgttgc tacgcagtca 900

[2520]	agatggcat atgcgtcaga gcagttcgaat aaaaacgatc accttcaagg cggagcactt	960
[2521]	ctgtacacaa ataataagct gacacaatgg gctgactcaa actatagact gcttaacaga	1020
[2522]	acgcctacga gacaggatgg aaaacctcat tacagcaaag cagacagata tggaggctat	1080
[2523]	gagttcctgc ttgcaaatga cgtcgataac tcaaatccgg tggttcaggc agagatgctt	1140
[2524]	aatcaaattc actatcttat gaactggggc tcaattgta tgaatgataa ggacgcgaat	1200
[2525]	ttcgaatgaa ttagagtga tgcggttgac aatgttaatg cggacacact tcaactgtat	1260
[2526]	acgaattact ttaactcagt ttacggcgtt aacaaatcag aagctcaggc acttgctcat	1320
[2527]	atcagcgttc ttgaagcatg gagctacaac gacaatgatt acaatcagga tacaatggc	1380
[2528]	gctgcactgg ccatggataa tggacttaga ttcagcctc tttacacact gacaagaccg	1440
[2529]	cttaacgaga gaacacctgg catgtcaaca cttattaagt cacaatattg ccttacagac	1500
[2530]	agaacaaaag acgataagta cggcgacacg caaccgcat acgtgtttgt tagagctcac	1560
[2531]	gacagcgaag ttcaaacagt tattgctcag attattaaga agaaaattga tccgacaaca	1620
[2532]	gacggattca catttacct ggaccaactt aaacaagcct tcgatatcta taacaaagat	1680
[2533]	atgaatagcg ttgataaaca ttacacgac tacaatattc ctgcagcata cgctgtcatg	1740
[2534]	ctgtcaaaaa tggaatcagt tacaagagtc tattatggcg acctgtttac agatgacggc	1800
[2535]	caatatattg aaacaaaatc accgtactat gacgccatta atacactget gagagccaga	1860
[2536]	atcagatatg cagctggcgg acaacaatg gaacacaaca gctataaggc gtcagctgcg	1920
[2537]	atgaaggcga aaaacctga tagcggctca gtccttgca attcagaagt tctggttagc	1980
[2538]	gtagatttg gacaagatgt gatgagcgt gacgatatga caggaggcaa acttgctaag	2040
[2539]	acgtcaggaa tgttctact gatttcaaat aatccggaac tggacttga cgctaatgaa	2100
[2540]	gagatcagag tgaatgttg aaaaatccat gccggccaaa cgtacagacc tcttctgctt	2160
[2541]	acgacagata agggcctgca aaagtatctt aatgactcag acacgaaact tacgaaggtt	2220
[2542]	gcagataaag atggctatat tacatttaag ggctcagaga ttaaaggcta taacaggtt	2280
[2543]	gaagttaatg gctacctgag cgtctgggtg ccggttgcg ctaaagcaga ccaagacatc	2340
[2544]	agagtcgag cttcaacaaa agtcaatgga aaggatgata agacgtacac ggcaagccaa	2400
[2545]	gcacttgagt cacagcttat ttacgaggc ttctcaaatt tccaagattt cgtaagaaa	2460
[2546]	gattcacaat atacaataa gaaaatcgcg gaaaatacag atcttttcaa agcatggggc	2520
[2547]	gttacatcat ttgaaatggc gcctcagtat gttagcga cagatggcac atttctggat	2580
[2548]	agcattatcg agaatggata tgcatttac gatagatatg acctggccat gtcaaaaaac	2640
[2549]	aacaaatagc gatcaaaaga ggatcttctt aatgcctta aagctctgca cgcagctggc	2700
[2550]	attcaagcca ttgcgattg gtttctgat caaatctacc aacttctg caaggaggtt	2760
[2551]	gttacagcat caagagtcga caattacggc agagtgaaga tcgaccaacc tctggtgaa	2820
[2552]	aagctgtatc tggtaaacac aaagagctca ggcaaagatt ttcaggcgaa atatggcgga	2880
[2553]	gaatttcttg aagacctgca gaaacagtat cctgaaatgt ttacagcgaa aatgatttca	2940
[2554]	acaggaaaa cgattgatcc tagcgttaa cttaggagt ggtcagccaa atacctgaat	3000
[2555]	ggaacaaacg tgctgggaag aggcacagat tatgttctt cagatgaggg aacgggcaaa	3060
[2556]	tactttacgg tcaatgagaa aggcgattc ctgccgctg cacttacagg cgatagagaa	3120
[2557]	gcaaagacag gattctataa tgacggcaaa ggcatgacgt attacacaac ggccggaaat	3180
[2558]	aaggcgaaga gcgcgttctg tacagtggcg ggcaacacat actactttga ttatacggga	3240
[2559]	tatatggtta caggacctaa tacaattaac agcaagttt actatttct tccaatggc	3300
[2560]	gttatgctga aggatgcaat taagcaggat gaacttgaa gatcagtcta ctatggcaaa	3360
[2561]	acgggaacaa tgtataaggc aacggataaa tcacagtggc tcgcatgac agatagcaag	3420

[2562]	ggacaacaga gattcagaca ttttgataga ttcggaatca tgagcgttgg acttgtcacg	3480
[2563]	attaatggaa gcgtccagta ttacgacgaa gaaggcttc aagttaagg agagttcgtg	3540
[2564]	acggacaaag atggacagac gagatatttt gacgaggaa gcggcaacct ggtaaggac	3600
[2565]	agattcctga acaaggacgg aaagtgtat taccttgacg ataaggact gcttgtcaag	3660
[2566]	ggagctcaaa caatcaagg ccagaaactt tatttcgata caaaaacagg agcgcaagtc	3720
[2567]	aaaggagact ttgtggctga taaggatgga aacctgacgt tttatagcgg cgattcagga	3780
[2568]	caaatggtgc agtcagactt ctttagcaca ggcaacaatg catggtttta tgcagatgaa	3840
[2569]	aacggacatg ttgcaaaagg cgcgaagaca atcagaggcc aaaaactgta cttcgacacg	3900
[2570]	aagacgggac agcaggccaa gggcagattc attagagatg acaaaggcgt gagatactat	3960
[2571]	gatgcagaca caggcgact ggtcacaat gctttcctgg aaacgaaggc tggctcaaat	4020
[2572]	cagtgttact acatgggagc cgatggatac gcggtgaagg gcaaccagac gatcaagaat	4080
[2573]	cagcacatgt actttgacgc ggagacgggc caacaagcta agggcatcat cgtcacagat	4140
[2574]	gcaaatggca gaaagtactt ctatgacacg ttcacgggca gcagagttgt taaccaattt	4200
[2575]	gttctggtga acggcaattg gtacttttga	4230

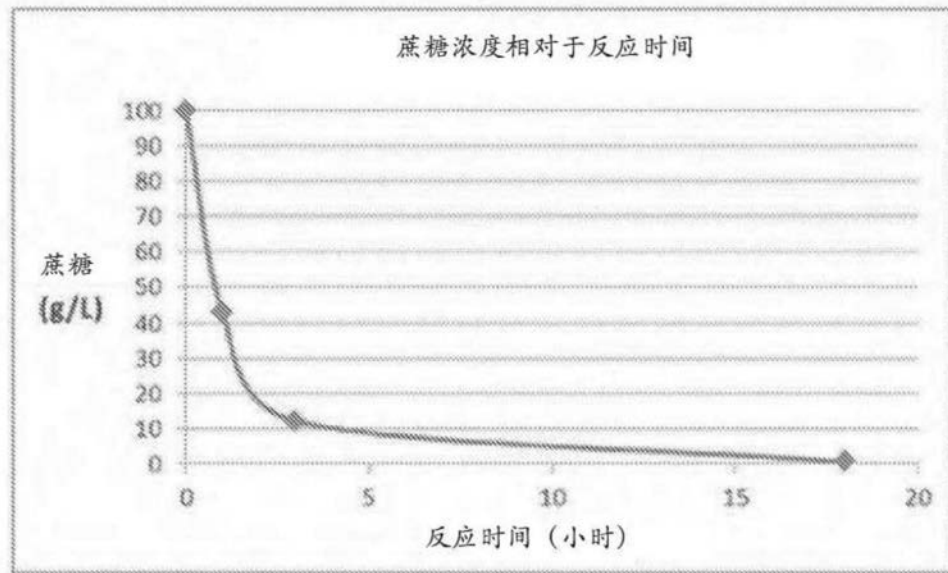


图1

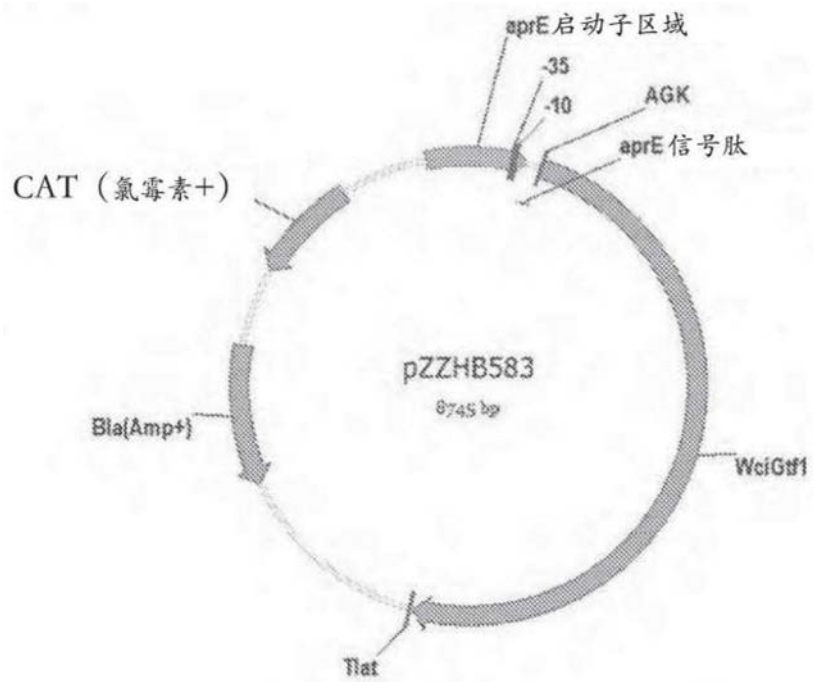


图2A

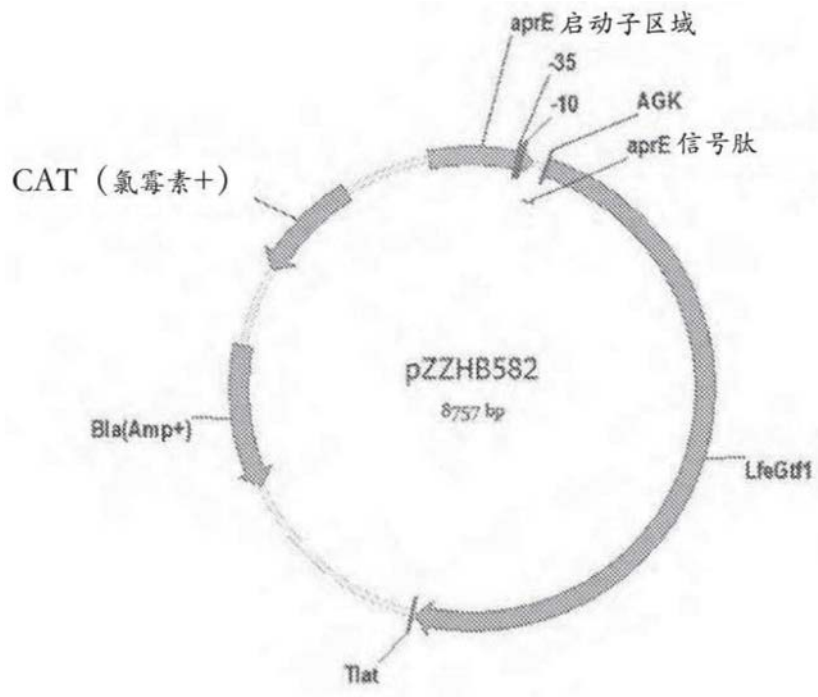


图2B

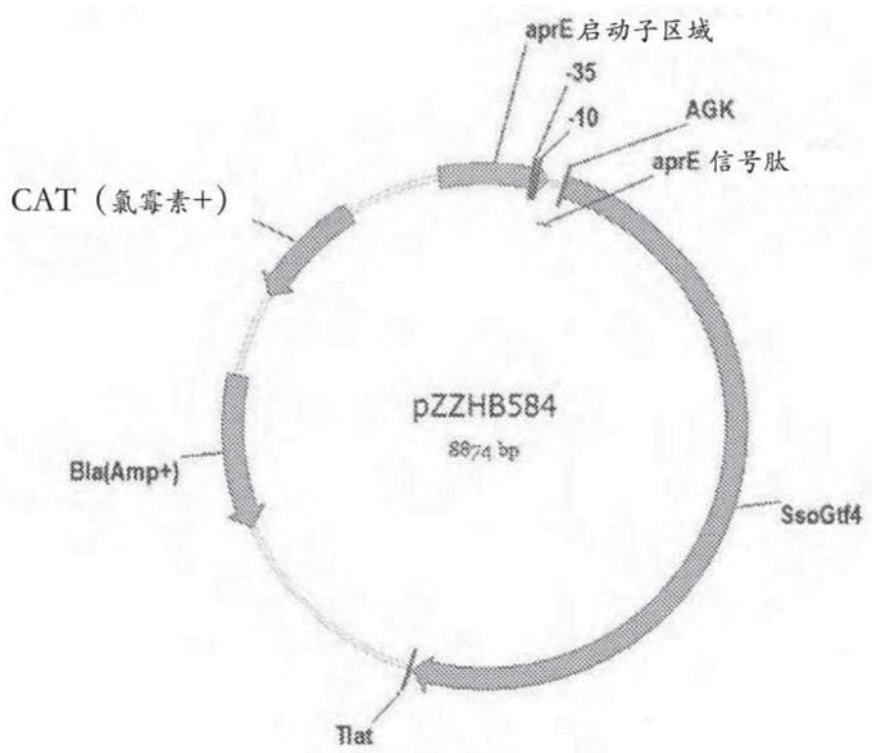


图2C

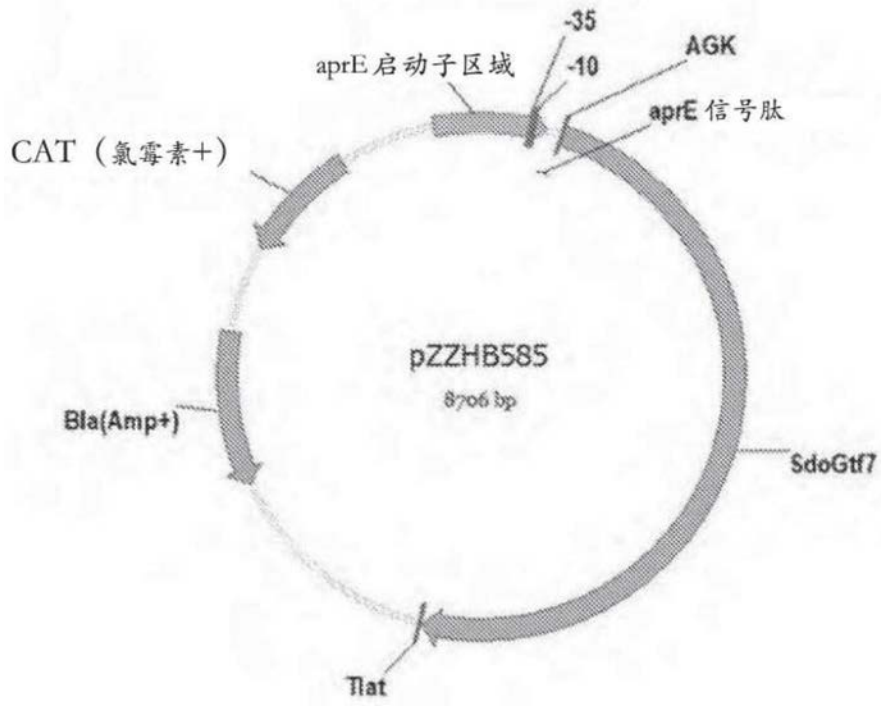


图2D

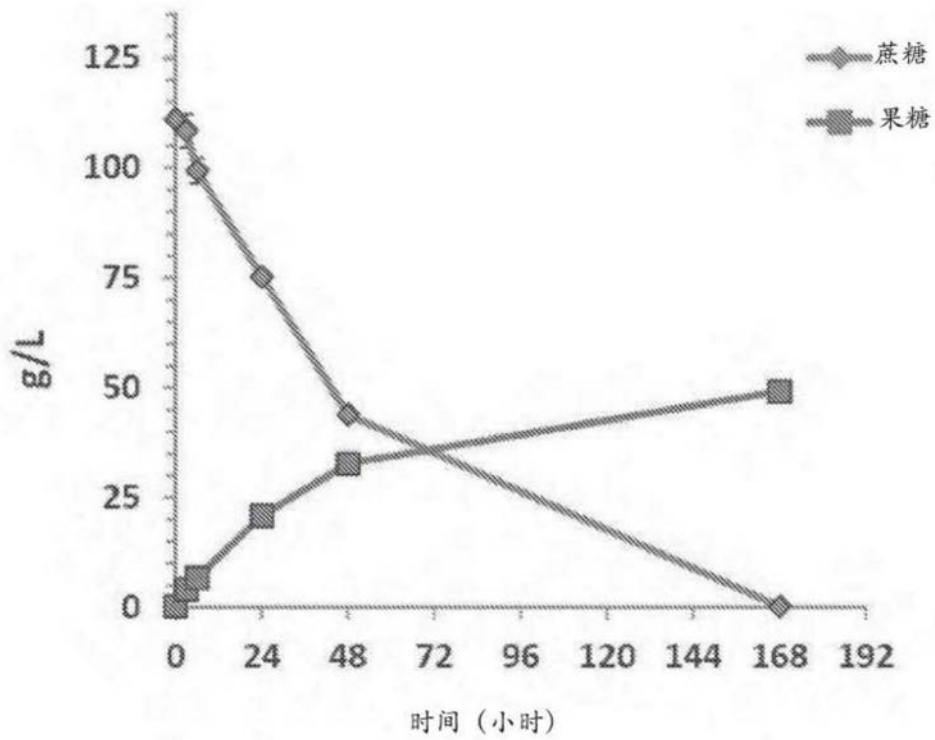


图3