



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102814080 A

(43) 申请公布日 2012. 12. 12

(21) 申请号 201210152687. 1

(22) 申请日 2007. 02. 13

(30) 优先权数据

60/773, 067 2006. 02. 13 US

(62) 分案原申请数据

200780013392. 3 2007. 02. 13

(71) 申请人 唐纳森公司

地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 M·S·辛德勒 V·E·卡雷西

M·A·戈金斯

(74) 专利代理机构 北京同恒源知识产权代理有

限公司 11275

代理人 王维绮

(51) Int. Cl.

B01D 39/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 38 页

序列表 61 页

(54) 发明名称

包括细纤维和反应、吸附或吸收颗粒的过滤网

(57) 摘要

本发明的组件可以包括细纤维层, 形成多薄层网或基质, 具有分散在细纤维层中的生物活性颗粒材料, 包括细胞, 酶或微生物。流动通过本发明组件的流体可以具有分散或溶解在流体中的任何材料, 与纳米纤维层内的生物活性颗粒起反应, 被纳米纤维层内的生物活性颗粒吸收或吸附。本发明的组件可用于处理或净化流体流。本发明的组件可以与生物反应器系统, 生物人造器官, 或培养容器结合使用。

1. 一种用于生物反应器的生长介质,包括基片和两个或多个基本连续的细纤维网络,层压以形成多薄层基质,其中,每个纤维层包括厚度为大约 25nm- 大约 2000nm,密实度为 70% 或以下分散在所述纤维层中的生物活性颗粒,并且所述纤维包括直径为大约 10nm- 大约 1000nm。

2. 根据权利要求 1 所述的生长介质,其中,所述纳米纤维包括非细胞毒性聚合物。

3. 根据权利要求 2 所述的生长介质,其中,所述聚合物是生物可降解的。

4. 根据权利要求 2 所述的生长介质,其中,所述聚合物是水不溶性的。

5. 根据权利要求 2 所述的生长介质,其中,所述聚合物是聚酯。

6. 根据权利要求 5 所述的生长介质,其中,所述聚酯是聚 ϵ -己内酯,聚甘醇酸酯,或聚乳酸酯。

7. 根据权利要求 5 所述的生长介质,其中,所述聚合物是聚酰胺。

8. 根据权利要求 5 所述的生长介质,其中,所述聚酰胺是尼龙。

9. 根据权利要求 1 所述的生长介质,其中,所述生物活性颗粒包括细胞,微生物,酶,生物活性分子,或其混合物。

10. 根据权利要求 9 所述的生长介质,其中,所述细胞是原核细胞或真核细胞。

包括细纤维和反应、吸附或吸收颗粒的过滤网

[0001] 本申请是以美国公司 Donaldson Company, Inc., 和美国公民 Melvin S. Schindler 和 Mark A. Gogins, 及土耳其公民 Veli Kalayci 的名义作为 PCT 国际申请于 2007 年 2 月 13 日提出的, 前者被指定为除美国之外所有国家的申请人, 而后者仅被指定为在美国的申请人, 并且本申请要求申请日为 2006 年 2 月 13 日的美国临时专利申请序列号 60/773, 067 的优先权。

背景技术

[0002] 聚合物网可以通过挤压, 熔融纺丝, 干法工艺和湿法成形工艺等制成。已经证实聚合物网可以用作细胞培养和组织培养用途的基片。例如, 参见 U. S. 20050095695 和 W02006/094076。生物反应器目前提供了生产工业化学制品, 处理和除去污染废水, 和制造高价值药物, 生物制品, 和小分子的有效手段。生物反应器一般划分为四种不同的类型(搅拌罐式, 气升式, 中空纤维式和固定床式) 并且能够以批量或连续的模式工作。分离的酶, 催化分子(有机和无机), 微生物, 动物细胞, 或植物细胞通常被用作生物反应器内的功能助剂。细胞或微生物通常在悬浮液中培养或固定在表面或颗粒上。当细胞或微生物被固定至表面时, 细胞增殖, 细胞密度, 培养物稳定性, 按比例增加的潜力, 和产量是最高的, 而由于剪切应力造成的细胞损伤是最低的。当纯化的酶被系留至生物反应器的表面时, 存在类似的操作优势。与溶液中的酶活性相比, 所需要的酶的数量减少, 而酶的稳定性和产物形成增加。另外, 培养物 / 酶的固定化显著改进了产物分离过程的时间和成本。

[0003] 考虑到上述因素, 在优化参数下使生物反应器的产量和反应速度最大化的最重要的变量是产生的细胞或微生物的质量(对于基于培养物的生物反应器) 或功能性酶的数量(对于基于酶的生物反应器)。上述考虑因素导致了开发具有 3 维结构的纤维基质, 它具有高表面对体积之比, 高空穴空间, 和低压力降, 以及高传质效率。尽管现有的纤维状和中空纤维反应器与标准的固定床反应器相比已获得了某种水平的效率和性能, 行业中仍相当需要纤维状反应器, 在等同的反应器覆盖区内具有改进的催化和连接表面密度。

发明内容

[0004] 本发明的网, 基片, 或结构可以包括基本连续的细纤维或纳米纤维, 层压以形成多薄层基质, 包含本发明的颗粒。颗粒形式的生物活性, 反应性, 吸收性或吸附性纤维间隔或隔离装置可以与纤维团结合, 或以其他方式分散在纤维团中。本发明的网包括纤维网或层, 和粘接至纤维的纤维隔离装置或纤维间隔装置, 它能够以生物活性, 反应性, 吸收性或吸附性结构的形式使用。

[0005] 在某些实施例中, 本发明的网, 基片或结构用作生物反应器的生长介质。细纤维或纳米纤维层包括非细胞毒性的, 非生物可降解的或生物可降解的聚合物, 和生物活性颗粒, 它包括细胞, 微生物, 酶, 生物活性分子, 或其混合物。在各方面, 本发明的生物反应器可用于过滤或纯化流体流, 包括废水流。在其他方面, 本发明的生物反应器被用于将纤维素生物转化成乙醇, 用于废水处理中的生物薄膜形成, 或用于纤维素生物质的生物加工, 或用于生

产高价值药物,抗体或小分子,如具有治疗活性的抗体或重组多肽。

[0006] 在其他实施例中,本发明的网,基片或结构可用作培养容器。在各方面,细纤维层和 / 或颗粒层用作基片,用于细胞的增殖和分化。在其他实施例中,本发明的网,基片或结构可用作生物人造器官。

具体实施方式

[0007] 本发明涉及聚合组合物,以细纤维的形式,如微纤维,纳米纤维,以纤维网的形式,或纤维垫,与颗粒一起使用。纤维网或纤维垫可形成为高密度多薄层层叠或基质。在某些实施例中,本发明的网包括基本连续的纤维或纳米纤维相和分散在纤维团中的纤维隔离装置。在本发明的多个方面,纤维隔离装置可以包括网中的颗粒相。颗粒可以在网的表面上,表面产物中或遍及网内形成的空穴空间中找到。所述网的纤维相可以形成大体单个连续层,可以包含在多个独立定义的层中或可以形成无定形的纤维团,具有颗粒包含相,遍及所述网,围绕颗粒和内部网表面随机形成包含空间。

[0008] 术语“细纤维”表示纤维的纤维尺寸或直径为 0.001- 小于 5 微米或大约 0.001- 小于 2 微米,并在某些情况,直径为 0.001-0.5 微米。可以采用多种方法来制造细纤维。Chung 等,美国专利号 6,743,273 ;Kahlbaugh 等,美国专利号 5,423,892 ;McLead,美国专利号 3,878,014 ;Barris,美国专利号 4,650,506 ;Prentice,美国专利号 3,676,242 ;Lohkamp 等,美国专利号 3,841,953 ;和 Butin 等,美国专利号 3,849,241 ;美国专利公开号 20050095695,和 W006/094076,所有这些在此被结合入本文参考的文献,披露了多种细纤维生产技术。本发明的细纤维通常电纺丝在基片上。基片可以是可渗透的或不可渗透的材料。在过滤应用中,无纺过滤介质可用作基片。在其他应用中,纤维可以纺丝在不渗透的层上,并且可被取出用于下游加工。在所述应用中,纤维可以纺丝在金属桶或箔上。基片可以包括膨胀的 PTFE 层或 Teflon® 层。所述层可用于多种用途,它可以提供过滤和来自活性颗粒的活性。在一个实施例中,基片包括薄膜。薄膜可以是水溶性的或水不溶性的,生物可降解的或生物可溶解的。在一个实施例中,薄膜是非细胞毒性的。在一个实施例中,薄膜包括聚乙烯醇,聚氯三氟乙烯,聚苯乙烯,聚甲基戊烯,或聚环烯烃。

[0009] 对于本发明,术语“介质”包括一种结构,该结构包括网,它包括基本连续的细纤维团和分散在纤维中的本发明的隔离或间隔装置。在本文中,术语“介质”表示本发明的网,包括细纤维和分散的颗粒结合本文所披露的某些活性或惰性类型的基片。术语“生长介质”或“培养介质”包括一结构,它包括多薄层层叠或基质,包括基本连续的纤维团,它可用作生长表面,即支持细胞或组织生长的合成表面。生物活性颗粒分散在多薄层基质中。

[0010] 术语“元件”表示本发明的“介质”或“生长介质”与其他部件的组合,包括(例如)圆柱体或平板结构形式的滤芯部件。在本文中,术语“网”包括基本连续的或不间断的细纤维相。在一个实施例中,所述网包括间隔颗粒相。对于过滤和纯化应用,连续网对于阻碍运动相中装载的颗粒杂质的通过是需要的。可以组合单个网,两个网或多个网,以制成本发明的多薄层叠层或基质。

[0011] 在很多应用中,特别是涉及较高流速的应用,使用另一类型的过滤介质,有时一般称之为“深度”介质。通常的深度介质包括较厚缠绕的纤维材料。深度介质一般根据它的孔隙度,密度或百分比固体含量定义。例如,2-3% 的密实度介质是这样的纤维深度介质垫,

设置使得大约 2-3% 的总体积包括纤维材料(固体),其余部分是空气或气体空间。

[0012] 所述网能够以下述方式纺成,以便将活性颗粒或活性隔离装置分散到纤维中。优选的活性颗粒或间隔装置包括生物活性,吸收或吸附颗粒。所述颗粒可以分散在含有聚合物的溶液中,或所述颗粒可以是包括纤维网的复合物中的凝胶相。在纤维网或纳米纤维网络是生物反应器系统的生长介质的部分时,颗粒包括生物活性颗粒。生物活性颗粒可以通过接种,或通过分散在纤维网或纳米纤维网络中,被添加到多薄层基质。颗粒可以在形成期间被添加到所述网或者在形成之后添加。当电纺丝时,所述网通过大量相互连接的纳米纤维或细纤维与分散在纤维网内纤维网表面上的活性隔离或间隔装置或颗粒来表征。在纤维网内,间隔颗粒在相互连接的纤维结构内形成空穴空间,降低密实度并增大运动流体流动。本发明还包括通过形成细纤维团,同时添加或纺丝后添加间隔颗粒到纤维层中,而形成网。在所述实施例中,颗粒散步在整个纤维材料团。最后,本发明涉及在全部完成的网或层上形成纺丝层,并然后在将所述网整合入可用的制品之前将活性颗粒添加到所述网的表面。随后的处理包括层压,压延,压缩或其他工艺,可以将颗粒整合入并通过纤维网。在形成网时同时添加颗粒到网中或者在形成后添加到网中的一个优点在颗粒是溶剂可溶性颗粒时可获得。在溶液中溶解可溶性颗粒会导致材料整合入纤维中,而不能保持颗粒作为独立相在网中。在形成之后将颗粒添加到网中,使溶剂可溶性材料保持它的颗粒形式。

[0013] 材料网还可以具有梯度结构。在本文中,术语“梯度”表示所述网的某些构成(密度,密实度,纤维尺寸等)从所述网的一个表面到所述网的相对表面不同。梯度可以由活性颗粒量的变化,活性和惰性颗粒的不同比例,或颗粒的其他不同来表征。梯度还可以根据纤维重量或数量的变化来表征。梯度通过在形成网时在网内连续形成或多或少的纤维或者或多或少的颗粒而形成。另外,间隔装置或颗粒的浓度可以具有梯度特征,其中,每单位体积颗粒材料的大小、重量或数量从所述网的一个表面到另一个表面显著增加或减少。在一个实施例中,本发明的介质能够以过滤器结构中单个细纤维网或系列细纤维网的形式使用。

[0014] 本发明的一个方面提供了网,包括纤维结构,具有基本连续的细纤维网络层和生物活性颗粒,或纤维网络,包括生物活性基片。细纤维可以是纳米纤维。纳米纤维网络的厚度大约为单个纳米纤维的直径或更大。在一个实施例中,一个或多个纳米纤维的网络形成纤维结构。在本文中,术语“网络”表示空间中随机或定向分布的纳米纤维,受控制以形成相互连接的网络,纤维间的间距选择以优选增强细胞或组织的活性化。网络在纤维间具有小的空间,形成网络中的孔或通道。在一个实施例中,纤维间距包括大约 20nm- 大约 2000nm,大约 100nm- 大约 1500nm,大约 100nm- 大约 1000nm,大约 100nm- 大约 800nm,大约 100nm- 大约 600nm,或大约 50nm- 大约 600nm。优选孔度允许细胞穿透和 / 或移动通过单层纳米纤维网络。不同的孔或通道大小可用于不同的用途。在一个实施例中,孔或通道可具有直径为大约 20nm- 大约 1000nm,大约 20nm- 大约 2000nm,大约 0.01- 大约 10 微米,大约 0.01- 大约 25 微米,或大约 2- 大约 10 微米。

[0015] 网络可以包括单层纳米纤维,通过连续的纳米纤维形成的单层,多层纳米纤维,通过连续的纳米纤维形成的多层,或垫。网络可以是非织造物或网。网络的厚度为大约单个纳米纤维的直径到大约 250 μ m。网络的物理特性包括,但不限于,质地结构,如表面粗糙度,峰高度,峰深度,总体粗糙度,峰之间的间距,或峰计数,伸长率,褶皱度,粘合性,孔隙度,密实度,弹性,几何形状,互连性,表面对体积之比,纤维直径,纤维可溶性 / 不可溶性,亲水性

/ 疏水性, 纤丝密度, 和纤维取向, 可以利用已知的方法工程改造成理想的参数。

[0016] 在一个实施例中, 纳米纤维网络包括小于大约 250 μm 的厚度。在一个实施例中, 厚度包括大约 150 μm - 大约 250 μm 。在一个实施例中, 厚度包括大约 50 μm - 大约 100 μm 。在一个实施例中, 厚度包括大约 10 μm - 大约 50 μm 。在一个实施例中, 厚度包括大约 5 μm - 大约 10 μm 。在一个实施例中, 厚度包括大约 30nm- 大约 5000nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 3000nm- 大约 5000nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 1000nm- 大约 2000nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 1000nm- 大约 1500nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 30nm- 大约 2000nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 100nm- 大约 1000nm。在一个实施例中, 厚度包括大约 500nm- 大约 1500nm。

[0017] 生长基片的物理特性, 如粘合性, 孔隙度, 密实度, 弹性, 几何形状, 互连性, 表面对体积之比, 可溶性 / 不可溶性, 亲水性 / 疏水性, 和密度可以工程改造成理想的参数。例如, 纳米纤丝表面的纳米外形的物理和几何特性可以工程改造成模拟细胞外基质 (ECM) 或基底膜 BM 的纳米外形。在一个实施例中, 纳米纤维网络包括大约 100%- 大约 500% 的伸长率。在一个实施例中, 纳米纤维网络的拉伸模量小于大约 300Mpa。在一个实施例中, 拉伸模量小于大约 200MPa。在一个实施例中, 拉伸模量小于大约 100Mpa。在一个实施例中, 拉伸模量小于大约 50Mpa。在一个实施例中, 拉伸模量小于大约 10Mpa。在一个实施例中, 拉伸模量为大约 10-200MPa, 大约 10-100MPa, 大约 10-50MPa, 或大约 2-10Mpa。另外, 通过层叠具有选定的物理和 / 或化学特性的生长表面, 可以构造促进特定细胞或组织的细胞活性的纳米和微环境。在一个实施例中, 纳米纤维网络包括纤维直径为大约 30nm- 大约 1200nm, 平均纤维间间距为大约 100nm- 大约 2000nm, 密实度为大约 70% 或以下。

[0018] 纤维结构可以包括一个或多个纤维网络, 层压以形成多薄层基质。在一个实施例中, 多薄层基质包括间隔物。间隔物可以用作支撑结构, 或基片。间隔物提供足够的开口, 以允许细胞穿透并结合到纳米纤维网络层。间隔物可以是水溶性或水不溶性的, 多孔或无孔的, 生物可降解或生物可溶解的。优选间隔物是生物相容性的。生物活性分子可以被吸收, 吸附, 连接, 结合, 或系留到间隔物, 如本文所述。细纤维可以包括微纤维或其他细纤维, 或活性或惰性颗粒, 如本文所述。微纤维可以是非织造物或网。

[0019] 生物活性颗粒可以分散在纤维相内。说到分散, 是指生物活性颗粒粘附到纤维, 连接到纤维, 结合到纤维, 系留到纤维, 固定在网内的空穴空间中, 或在部分穿透网的凹穴中, 形成网表面的空间。所述网在生物反应器应用中, 包括生物加工和生物转换应用, 可以用作生长表面, 培养表面, 催化表面, 或连接表面, 或用作介质, 用于过滤用途, 如亲和层析法, 或废水处理或净化用途。对于用在生物反应器系统中的高密度多薄层层叠或基质, 每一层的厚度, 层之间的距离, 和纤维表面的孔隙度可以调节, 以满足特定应用, 细胞, 微生物, 酶, 或其他生物活性分子的要求。在一个实施例中, 每一层的厚度包括大约 0.25- 大约 1.0 微米, 层之间的距离包括大约 1.0-2.0 微米, 平均孔度包括大约 0.2- 大约 1.0 微米。

[0020] 生物活性颗粒可以是细胞, 微生物, 酶, 或其他生物活性分子。细胞可以是动物细胞, 植物细胞, 昆虫细胞, 细菌细胞, 酵母细胞, 或真菌细胞。可用于本发明的系统和方法的动物细胞包括干细胞, 体细胞, 定向干细胞, 分化细胞, 或肿瘤细胞。细胞可以是鼠或人细胞。可用于本发明的系统和方法的细胞示例包括, 但不限于, 造骨细胞, 成肌细胞, 神经细胞, 纤维原细胞, 胶质细胞, 生殖细胞, 干细胞, 肝细胞, 软骨细胞, 角化细胞, 平滑肌细胞, 心

肌细胞, 结缔组织细胞, 神经胶质细胞, 上皮细胞, 内皮细胞, 激素分泌细胞, 神经元, 和淋巴细胞, 如 B 细胞, T 细胞, 巨噬细胞, 和嗜中性粒细胞。在一个实施例中, 细胞是 CHO 细胞。干细胞的例子包括, 但不限于, 胚胎干细胞, 间质干细胞, 骨髓干细胞, 羊膜和脐带干细胞。干细胞可以是哺乳动物干细胞。在一个实施例中, 干细胞是人类或鼠科干细胞。在一个实施例中, 干细胞是胚胎干细胞。

[0021] 昆虫细胞的例子包括, 但不限于, 细胞系诸如果蝇 (*Drosophila*) S2, 草地贪夜蛾 (*Spodoptera*) Sf9 和 Sf21, 粉纹夜蛾 (*Trichoplusia*) Tn5, 来自家蚕 (*Bombyx mori*) (蚕) 的细胞, 和来自天幕毛虫 (*Malacosoma disstria*) (毛虫) 的细胞等。

[0022] 植物细胞的例子包括, 但不限于, 薄壁组织细胞, 厚角细胞, 厚壁组织细胞, 木质部细胞(即运输水份细胞), 韧皮部细胞, 根细胞, 根毛细胞, 叶细胞, 栅栏细胞, 保卫细胞, 和愈伤组织细胞等。

[0023] 细菌细胞的例子包括, 但不限于, 革兰氏阳性细菌, 如放线菌, 厚壁菌门(梭菌, 链球菌, 葡萄球菌, 芽孢杆菌, 棒状杆菌, 李斯特氏菌菌属) 等, 革兰氏阴性细菌, 如奈瑟氏菌, 布兰汉氏菌, 弧菌, 螺旋菌, 肠杆菌(包括大肠埃希氏菌和变形杆菌), 假单胞菌等菌属, 来自诸如异常球菌-栖热菌, 沙门氏菌, 志贺氏菌, 沙雷氏菌, 和弯曲菌等菌属的细胞。

[0024] 真菌细胞的例子包括, 但不限于, 来自诸如皮肤真菌(例如, 犬小孢子菌和其他小孢子菌属; 和发癣菌, 如红色毛癣菌, 和须癣毛癣菌), 光滑球拟酵母, 絮状表皮癣菌, 糠秕马拉色菌(环状糠疹癣菌 (*Pityrosporon orbiculare*), 或卵状糠疹癣菌 (*P. ovale*)), 新型隐球菌, 曲霉菌属(包括烟曲霉, 构巢曲霉, 和其他曲霉菌属), 接合菌属(例如, 根霉属, 毛霉属), 巴西副球孢子菌, 皮炎芽生菌, 荚膜组织胞浆菌, 粗球孢子菌, 和申克孢子丝菌等有机体的细胞。生物活性颗粒可以是酵母细胞。酵母细胞的例子包括白念珠菌, 热带念珠菌, 或其他念珠菌属, 酵母菌属, 如酿酒酵母菌, 巴氏酵母, 贝氏酵母 (*S. bayanum*) 等。

[0025] 细胞可以来自天然来源, 遗传工程, 或通过任何其他方式生产。可以使用任何天然来源的真核细胞或原核细胞。在一个实施例中, 天然来源是哺乳动物。在一个实施例中, 哺乳动物是人。

[0026] 细胞可以工程改造成表达一个或多个基因, 抑制一个或多个基因的表达, 或两者。可用于本发明的系统和方法的遗传工程细胞的例子是被工程改造的细胞, 以形成或分泌一个或多个需要的生物活性分子, 包括抗体和重组蛋白, 具有治疗活性。在一个实施例中, 细胞是杂交瘤细胞, 生成单克隆抗体。术语“抗体”是以最广义的含义使用的, 并且特别包括单个单克隆抗体(包括激动剂和拮抗剂抗体), 具有多表位专一性的抗体组合物, 亲和成熟抗体, 人源化抗体, 嵌合抗体, 单链抗原结合分子, 如单体, 以及抗原结合片段或多肽(例如, Fab, F(ab')₂, scFv, 和 Fv), 它表现需要的生物学活性。

[0027] 生物活性分子的例子包括生长因子, 分化因子, 抗体, 和激素。抗体可以是单克隆的。抗体可以是嵌合或人源化的。激素的例子包括胰岛素, 人生长因子, 促红细胞生成素, 促甲状腺激素, 雌激素, 或孕酮。细胞可以被工程改造以生成抗原, 用于疫苗。细胞可以被工程改造以生成生物活性分子, 抑制或刺激炎症, 促进愈合, 抑制免疫排斥, 提供激素置换, 取代神经传递素, 抑制或破坏癌细胞, 促进细胞生长, 抑制或刺激血管的形成, 扩增组织, 以及促进或诱导皮肤, 滑液, 腱, 软骨, 韧带, 骨骼, 肌肉, 器官, 硬脑膜, 血管, 骨髓, 和细胞外基质的补充或置换。

[0028] 遗传工程可以涉及,例如,采用标准的重组方法在细胞中添加或从细胞中除去遗传物质,改变现有的遗传物质,或两者。细胞被转染或以其他方法工程改造以表达基因的实施例可以暂时或永久性地使用转染的基因,或两者。基因序列可以是全或部分长度,克隆或自然产生的。

[0029] 在本文中,术语“生物活性分子”表示对细胞或组织有影响的分子。该术语包括维生素,盐,电解液,氨基酸,肽,多肽,蛋白,碳水化合物,脂质,多糖,核酸,核苷酸,多核苷酸,糖蛋白,脂蛋白,糖脂,粘多糖,蛋白多糖,生长因子,分化因子,激素,神经传递素,信息素,抑素,前列腺素,免疫球蛋白,单核因子和其他细胞因子,保湿剂,矿物质,电和磁反应物质,感光材料,热敏材料,抗氧化剂,可被代谢为细胞能量源的分子,抗原,和可导致细胞或生理反应的任何分子。可以使用分子的任意组合,以及这些分子的刺激剂或拮抗剂。粘多糖包括糖蛋白,蛋白聚糖,和透明质酸。多糖包括纤维素,淀粉,藻酸,壳聚糖,或透明质酸。细胞因子包括,但不限于,心营养素,基质细胞衍生的因子,巨噬细胞衍生的趋化因子(MDC),黑素瘤生长刺激活性(MGSA),巨噬细胞炎性蛋白 1 α (MIP-1 α), 2, 3 α , 3 β , 4 和 5, 白介素(IL) 1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, TNF- α , 和 TNF- β 。可用于本发明的免疫球蛋白包括,但不限于, IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, 及其混合物。氨基酸,肽,多肽,和蛋白可以包括任意大小和复杂性的任何类型的所述分子,以及所述分子的组合。例子包括,但不限于,结构蛋白,酶,和肽激素。

[0030] 术语生物活性分子还包括纤维蛋白,粘着蛋白,粘附化合物,靶向化合物,生长抑制剂,和分化抑制剂。纤维蛋白包括胶原和弹性蛋白。粘附/去粘附化合物包括纤维连接蛋白,层粘连蛋白,凝血栓蛋白和固生蛋白(tenascin)C。粘着蛋白包括肌动蛋白,纤维蛋白,纤维蛋白原,纤连蛋白,玻璃粘连蛋白,层粘连蛋白,钙粘着蛋白,选择蛋白,细胞内粘连分子 1, 2, 和 3, 和细胞基质粘连受体包括,但不限于整合蛋白如 $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_1\beta_2$, $\alpha_2\beta_3$, 和 $\alpha_6\beta_4$ 。生长抑制剂包括骨髓基质细胞衍生的生长抑制剂, p21 (WAF1/Cip1) 细胞周期抑制剂, 和紫杉醇。分化抑制剂包括凝血栓蛋白和 Nogo-A。

[0031] 术语生物活性分子还包括瘦素,白血病抑制因子(LIF), RGD 肽,肿瘤坏死因子 α 和 β , 内皮抑素,血管抑素,凝血栓蛋白,成骨蛋白-1,骨形态形成蛋白 2 和 7,骨粘连蛋白,生长调节素状肽,骨钙素,干扰素 α , 干扰素 α A, 干扰素 β , 干扰素 γ , 干扰素 1 α , 和白介素 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17 和 18。

[0032] 在本文中,术语“生长因子”表示促进细胞或组织增殖的生物活性分子。可用于本发明的生长因子包括,但不限于,转化生长因子- α (TGF- α), 转化生长因子- β (TGF- β), 血小板衍生的生长因子包括 AA, AB 和 BB 异构体(PDGF), 成纤维细胞生长因子(FGF), 包括 FGF 酸性异构体 1 和 2, FGF 碱性形式 2, 和 FGF 4, 8, 9 和 10, 神经生长因子(NGF) 包括 NGF 2.5s, NGF 7.0s 和 β NGF 和神经营养素, 大脑衍生的神经营养因子, 软骨衍生的因子, 骨生长因子(BGF), 碱性成纤维细胞生长因子, 胰岛素状生长因子(IGF), 血管内皮生长因子(VEGF), EG-VEGF, VEGF 相关的蛋白, Bv8, VEGF-E, 粒细胞集落刺激因子(G-CSF), 胰岛素样生长因子(IGF) I 和 II, 肝细胞生长因子, 神经胶质神经营养生长因子(GDNF), 干细胞因子(SCF), 角化细胞生长因子(KGF), 转化生长因子(TGF), 包括 TGFs α , β , β 1, β 2, 和 β 3, 骨骼生长因子, 骨基质衍生的生长因子, 和骨衍生的生长因子及其混合物。某些生长因子还可以促进细胞或组织的分化。例如, TGF 可以促进细胞或组织的生长和/或分化。某

些优选的生长因子包括 VEGF, NGFs, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, FGFb, FGFa, 和 BGF。

[0033] 在本文中,术语“分化因子”表示促进细胞分化的生物活性分子。该术语包括,但不限于,神经营养因子,集落刺激因子(CSF),或转化生长因子。CSF 包括粒细胞-CSF,巨噬细胞-CSF,粒细胞-巨噬细胞-CSF,促红细胞生成素,和 IL-3。某些分化因子还可以促进细胞或组织的生长。例如,TGF 和 TL-3 可以促进细胞的分化和 / 或生长。

[0034] 在一个实施例中,生长因子和 / 或分化因子由细纤维层释放。生长因子或分化因子的释放速度由纤维层的降解或溶解速度确定。

[0035] 在本文中,术语“粘附化合物”表示通过形成局部粘附复合体到纤维表面构成粘附化合物,促进细胞连接的生物活性分子。粘附化合物的例子包括,但不限于,纤维连接蛋白,玻璃连接蛋白,层粘蛋白,或其片段。

[0036] 在本文中,术语“靶向化合物”表示用作信号分子,诱导细胞的募集和 / 或连接到纤维构成靶向化合物的生物活性分子。靶向化合物以及它们的同源受体的例子包括粘肽,包括由纤维连接蛋白和整合蛋白衍生的 RGD 肽,生长因子包括 EGF 和 EGF 受体,以及激素包括胰岛素和胰岛素受体。

[0037] 本发明的纤维结构或基片还可以包括分散在纤维层中的活性和 / 或惰性颗粒。本发明的颗粒材料具有能够改进本发明的介质和层的活性特性和过滤或净化特性的尺寸。材料可以由不同可用的材料制成,这些材料是惰性的,反应性的,吸收性的,或吸附性的。在采用细胞或微生物的生物加工和生物转化用途中,活性或惰性颗粒优选是非细胞毒性的。材料可以是对通过网的运动相和夹带的颗粒或溶解的化学杂质载荷呈基本惰性或材料可以与流体,流体的溶解部分或流体中的颗粒载荷相互作用。颗粒的某些或全部可以是惰性的。优选的颗粒是活性,生物活性,反应性,吸收或吸附材料。对于本发明来说,术语“惰性”表示网中的材料不与流体或颗粒载荷发生显著的化学反应,或不以任何明显的数量明显物理吸收或吸附将流体或颗粒载荷的部分到颗粒上。在这种“惰性”模式下,颗粒只是改变纤维层和包括一个或多个纤维层的介质的物理参数。所述颗粒可用作隔离装置或占据空间。惰性颗粒可以利用传统方法用酶或其他生物活性分子包衣。在一个实施例中,惰性颗粒是聚合球。

[0038] 在本说明书中,术语“活性颗粒”是指吸附,吸收或反应颗粒。对于本专利申请,术语“吸附”表示主动吸附并积聚流体流中的材料到颗粒表面上的颗粒。术语“吸收”表示颗粒具有将来自流体流的材料积聚在颗粒的内部或空穴空间或空间中的能力。“化学反应”表示颗粒具有与流体流中的材料起反应并且化学改变颗粒的特征和流体流中材料的化学特征的能力。

[0039] 利用多种添加技术,将本发明的活性颗粒添加到本发明的元件的任意层上。本发明的颗粒可以包括惰性颗粒,包涂有或以其他方式连接到细胞,微生物,酶或生物活性分子,或者与活性或生物活性颗粒结合。本发明的颗粒可以在纤维纺丝期间整合入细纤维层,如本申请其他地方所讨论的。另外,本发明的活性颗粒可以溶解或分散到含水或非水或混合的含水液体中,并且应用于本发明的可用元件的任意层。

[0040] 当使用与流体或颗粒载荷相互作用的活性颗粒时,颗粒除了改变介质或层的物理特性之外,还可以与运动流体或颗粒载荷的部分起反应或吸收或吸附运动流体或颗粒载荷,以改变穿过网的材料。本文所披露技术的主要目的是改进层的处理特性,以提高介质或

层的物理结构的生物活性 / 反应性 / 吸收 / 吸附能力或寿命, 并根据需要改进净化方法的过滤性能。在很多所述用途中, 可以使用惰性颗粒, 活性颗粒, 和生物活性颗粒的组合。

[0041] 颗粒可以采用不同的规则几何形状或无定形结构。所述形状可以包括无定形或随机形状, 成团, 球体, 圆盘, 椭圆形, 长椭圆形, 十字形形状, 杆状, 空心杆状或圆柱体, 条状, 三维十字形状具有多个颗粒形式伸入空间, 空心球体, 非规则形状, 立方体, 具有多个面、角和内部空间的实体棱柱。本发明的非球形颗粒的纵横比(颗粒的最小尺寸与主要或最大尺寸的比率)可以在大约 1 : 2- 大约 1 : 10 的范围内, 优选大约 1 : 2- 大约 1 : 8。

[0042] 本发明的颗粒是非相互作用惰性颗粒, 或生物活性颗粒, 构成本发明的多薄层纳米纤维基质的部分。不与运动流体或夹带的颗粒相相互作用的颗粒包括有机和无机材料。有机颗粒可以用下述材料制成: 聚苯乙烯或苯乙烯共聚物膨胀的或其他形式的, 尼龙或尼龙共聚物, 聚烯烃聚合物包括聚乙烯, 聚丙烯, 乙烯, 烯烃共聚物, 丙烯酸共聚物, 丙烯酸聚合物和共聚物包括聚甲基丙烯酸甲酯和聚丙烯腈。另外, 颗粒可以包括纤维素材料和纤维素衍生物球。所述球可以由纤维素或纤维素衍生物诸如甲基纤维素, 乙基纤维素, 羟甲基纤维素, 羟乙基纤维素和其他材料制成。另外, 颗粒可以包括硅藻土, 沸石, 滑石, 粘土, 硅酸盐, 熔融二氧化硅, 玻璃珠, 陶瓷珠, 金属颗粒, 金属氧化物等。用于本发明的颗粒通过平均大小在大约 0.01-510 微米的范围表征。尽管使用了亚微米活性颗粒, 本发明适用于平均大小高达 100 微米的细微粒。在任何情况, 活性颗粒的平均大小会是颗粒平均大小的大约 0.01-0.0001 的范围。因此, 活性颗粒的较大平均大小需要颗粒的较大平均大小。颗粒包括碳颗粒, 如活性炭, 离子交换树脂 / 球, 沸石颗粒, 硅藻土, 氧化铝颗粒如活性氧化铝, 聚合颗粒包括, 例如, 苯乙烯单体, 和吸收颗粒, 如商用的超强吸收颗粒。

[0043] 特别合适的吸收 / 吸附颗粒是低密度、多孔颗粒, 并且具有孔和凹穴, 包括表面凹穴, 直径的范围在 1-100 微米, 并由较小孔相互连接。所述孔和凹穴有利提供内表面, 用于沉积, 特别是平均大小在大约 0.01-10 微米范围内的细微粒的单层沉积, 随后用于可接触固定化的细微粒。1cm³ 的所述颗粒提供总共大约 75-1,500m² 的可用表面。碳颗粒能够以锉削分割的活性碳的形式使用。所述活性碳可以与其他反应性吸收性或吸附性物质结合, 所述物质可以与碳表面混合或吸附在碳表面上。可以使用的其他形式的活性碳包括碳纳米管, 纳米颗粒, 纳米线, 纳米碳绳或较大的晶格或结构, 其中, 单独元件包括碳纳米管。所述纳米颗粒, 如巴克球(buckyballs), 较小的纳米管(或其纳米管的部分), 纳米绳等可以整合在纳米管的内部空间中或整合在纳米结构的碳原子晶格中。其他原子, 分子或成分可将结构或功能添加到纳米颗粒材料。

[0044] 本发明的颗粒可以是光活性, 磁性或传导性的。光活性颗粒包括金属氧化物颗粒, 如催化 TiO₂ 颗粒。本发明元件中的纤维或层也可以是光活性, 磁性或传导性的。所述催化层, 当受到 UV 光照射时, 可以引起催化剂和包埋在运动相中的材料之间的化学反应, 并且可以除去材料或将材料从有毒或有害的材料变成良性材料。环境光可以通常是足够发光能量的来源, 以便为元件中的 TiO₂ 获得催化效果。如果环境条件不足以获得活性, 元件可以与单独的 UV 光源一起使用。荧光 UV 光源是已知的, 并且可以或者用作单独的照射源, 或者可以整合入元件, 以提供相当量的 UV 辐射到 TiO₂ 上。用作本发明的颗粒或纳米纤维层的磁性材料包括铁蛋白。本发明的颗粒可以是磁性的, 例如, 铁蛋白。

[0045] 小分子, 低聚物和聚合材料可用于本发明。小分子通常的分子量为小于大约 500,

并通常由单个可识别的分子单元构成,并且通常所述单元在分子结构中不重复。低聚物结构通常具有略大一些的分子量,但通常在结构中具有 2-10 个重复分子单元。聚合物单元通常具有明显更大的分子量,并且通常在聚合物结构上具有明显大于 10 个重复单元。低聚物和聚合物结构之间的差别并非总是明确的;不过,随着结构中重复单元数量的增加,材料趋向于在性质上更聚合。

[0046] 颗粒可以是单分散或多分散的。在单分散颗粒中,大部分颗粒的直径或主要尺寸是类似的。例如,单分散颗粒的一个例子具有 80%-90% 的颗粒在大约 0.8 ± 0.5 微米或大约 1 ± 0.25 微米的范围内。在多分散材料中,颗粒有相当部分的颗粒具有不同的直径。多分散材料可以是两种单分散材料的混合或具有相当量的颗粒材料在(例如) 0.1-10 或 0.01-100 微米的大范围内存在的材料。

[0047] 球体或其他形状可以是多种不同的物理形式,包括实心 and 空心形式。颗粒可以具有大体球形或略微椭圆形的球形结构。球体可以是实心的或者具有大量内部空穴空间。球体的壳厚度可以在大约 0.05- 大约 500 微米的范围内,而球体可以在大约 0.5- 大约 5000 微米的范围内。可以使用的其他圆形结构包括简单的螺旋管形结构,螺旋形或螺旋状结构,或互锁连接型的链结构。

[0048] 本发明的颗粒还可以包括生物活性或反应性吸收或吸附纤维状结构,具有预定的长度和直径。所述纤维的纵横比通常为大约 1- 大约 10 : 1,纤维直径通常在直径上大于结构的细纤维。颗粒纤维与细纤维的直径比通常为大约 0.5- 大约 5000 : 1。可以使用多种其他规则的形状包括圆柱形,空心圆柱形,十字形结构,三维十字形结构,和 I 型梁结构等。颗粒还可以是不规则的形状,使得颗粒具有相对明确的主要和次要尺寸,但具有明显不规则性质的外表面。很多无定形的有机和无机颗粒可以具有不规则形状,但可以具有提供颗粒材料的间隔特性的尺寸。根据球体的物理形式和化学性质,球体的尺寸可以通过二次加工处理,如超强吸收性,溶剂膨胀,热膨胀,孔隙度变化等。从 Expancel® 获得的微球体可以进行热处理,以便极大膨胀微球体的体积。细纤维和微球体复合介质可以按照本发明生产,随后进行二次处理, - 不局限于加热 -, 复合介质的结构能够以受控方式进行调整,例如对于 Expancel® 的情况,根据所施加的热和温度的水平,可以控制微球体的膨胀程度。例如,通过膨胀微球体,结构的厚度和松解度可以提高,并因此可以需要的方式改变过滤特性。应当理解,微球体的物理特性的所述改变应当由细纤维的弹性适应,因为纤维在微球体膨胀时会拉伸。根据微球体变化的可逆性,还可以形成膨松有弹性的结构,并随后使结构皱缩 / 收缩,以形成致密 / 紧凑的过滤结构。

[0049] 本发明的颗粒材料和细纤维层还可用作基片,用于培养有机物和酶。所述材料是无毒的和生物相容性的材料,被设计用作支架和三维空间组织者。基片可以是任何表面,提供对纳米纤维的沉积网络的结构支撑。基片可以包括玻璃或塑料。优选塑料是非细胞毒性的。基片可以是薄膜或培养容器。基片可以是水溶性或水不溶性的。水溶性的基片优选是聚乙烯醇薄膜。基片可以是多孔的或无孔的。基片的孔隙度由细胞渗透性确定。细胞能够穿透多孔的基片,但是不能穿透无孔的基片。基片可以是生物可降解的和 / 或生物可溶解的。优选基片是生物相容性的。

[0050] 基片可以包括一种或多种生物活性分子,或颗粒。优选的一种生物活性分子是肽,多肽,脂类,碳水化合物,多糖,氨基酸,或它们的杂交分子。基片可以包括一种或多种醇,

醛,氨基,羧基,巯基或光敏化官能团。优选光敏化基团是碳烯或氮烯。基片可以包括一种或多种生长因子和 / 或分化因子。基片可以释放一种或多种生长因子和 / 或分化因子。释放速度由基片的溶解或降解速度确定。

[0051] 基片可以包括一种或多种生物活性分子的颗粒,构成培养容器。在本文中,术语“培养容器”表示用于容纳培养细胞或组织的介质的容器。培养容器可以是玻璃或塑料的。优选塑料是非细胞毒性的。术语培养容器包括,但不限于,单管和多管培养板,有腔室和多腔室的培养玻片,杯,烧瓶,管,瓶子,滚瓶,转瓶,灌流室,和发酵罐。

[0052] 本发明的网可以用于生物反应器用途和过滤或流体净化用途,作为表面介质或深度介质,具有细纤维的连续网,通过以颗粒形式存在的反应性,吸收性,吸附性,或生物活性间隔或隔离装置进行改性,与介质中的纤维结合,提供过滤效率,过滤渗透性,深度载荷,通过最小压力降增加表征的延长的使用寿命,或其组合。生物活性,反应性,吸收性或吸附性间隔或隔离装置导致纤维网获得一种结构,其中,纤维团或网部分具有降低的密实度,结构内分离的纤维或分离的网部分,以及增大的纤维层深度,而没有增加网中的聚合物量或纤维数量。纤维网的反应性,吸附性,吸收性,或生物活性部分可以与通过纤维层的运动流体中的反应性化学物质起反应或者运动流体的所述化学成分可以被纤维层的吸收或吸附部分吸收或吸附。活性或生物活性颗粒可以与惰性颗粒一起使用,只要颗粒的活性得以保持。在过滤应用中,所得到的结构获得改进的过滤特性,结合对增大压力降的抗性,改进的渗透性,改进的效率,以及从通过纤维层的运动流体流中除去颗粒状非反应性载荷和反应性气体或颗粒载荷的能力。对于本发明的过滤应用,“流体流”表示可能含有颗粒的液体流。颗粒可以从流体流中滤出,或者颗粒可以被本发明的颗粒材料吸附,吸收或与本发明的颗粒材料起反应。

[0053] 本发明的细纤维 / 纳米纤维层可以由多种聚合物种类制成。可用作本发明纤维聚合物组合物的聚合材料包括加聚物和缩聚物材料,如聚烯烃,聚缩醛,聚酰胺,聚酯,纤维素醚和酯,聚硫化亚烃,聚芳撑氧,聚砜,改性的聚砜聚合物及其混合物。属于上述属类的优选材料包括聚乙烯,聚丙烯,聚(氯乙烯),聚甲基丙烯酸甲酯(和其他丙烯酸树脂),聚苯乙烯,及其共聚物(包括 ABA 型嵌段共聚物),聚(偏二氟乙烯),聚(偏二氯乙烯),聚乙烯醇,以交联和非交联形式以不同水解度(80%-99.5%)。优选的加聚物倾向于玻璃状的(玻璃转化温度(T_g) 大于室温)。对于聚氯乙烯和聚甲基丙烯酸甲酯,聚苯乙烯聚合物组合物或合金或低结晶度的聚偏二氟乙烯和聚乙烯醇材料是这样的。一类的聚酰胺缩聚物是尼龙材料。术语“尼龙”是所有长链合成聚酰胺的属名。通常,尼龙命名包括一系列数字,如,尼龙-6,6,表示原材料是 C₆ 二胺和 C₆ 二酸(第一个数字表示 C₆ 二胺,而第二数字表示 C₆ 二羧酸化合物)。尼龙可以通过在存在少量水的情况下 ε-己内酰胺的缩聚作用制备。该反应形成尼龙-6(由环内酰胺制成-又被称作 ε-氨基己酸),它是线性聚酰胺。另外,还涉及尼龙共聚物。共聚物可以通过在反应混合物中结合不同的二胺化合物,不同的二酸化合物和不同的环内酰胺结构,然后形成在聚酰胺结构中具有随机定位的单体材料的尼龙。例如,尼龙 6,6-6,10 材料是由环己二胺和二酸的 C₆ 和 C₁₀ 混合制成。尼龙 6,6-6,6,10 是通过 ε-氨基己酸,环己二胺以及 C₆ 和 C₁₀ 二酸材料的混合的共聚作用制成的。

[0054] 嵌段共聚物也可用于本发明的方法中。对于所述共聚物,溶剂溶胀剂的选择是重要的。所选择的溶剂是这样的,使得两种嵌段都能溶解在溶剂中。一个例子是 ABA(苯乙

烯-EP-苯乙烯)或AB(苯乙烯-EP)聚合物在二氯甲烷溶剂中。如果一种成分不可溶于溶剂中,它会形成凝胶。所述嵌段共聚物的例子是Kraton[®]类型的苯乙烯-b-丁二烯和苯乙烯-b-氢化丁二烯(乙烯丙烯),Pebax[®]类型的ε-己内酰胺-b-环氧乙烷,Sympatex[®]聚酯-b-环氧乙烷和环氧乙烷和异氰酸酯的聚氨酯。可用于本发明方法的生物相容性聚合物包括,例如,聚酯,聚(ε-己内酯),聚甘醇酸,聚乳酸,聚酰胺,尼龙,及其混合物或组合。

[0055] 加聚物如聚偏二氟乙烯,间规聚苯乙烯,偏二氟乙烯和六氟丙烯的共聚物,聚乙烯醇,聚乙酸乙烯酯,非晶形加聚物,如聚(丙烯腈)及其与丙烯酸和异丁烯酸酯的共聚物,聚苯乙烯,聚(氯乙烯)及其各种共聚物,聚(甲基丙烯酸甲酯)及其各种共聚物,能够相对容易地进行溶液纺丝,因为它们在低压和低温下可溶解。不过,高度结晶的聚合物,如聚乙烯和聚丙烯需要高温、高压溶剂,如果要对它们进行溶液纺丝的话。因此,聚乙烯和聚丙烯的溶液纺丝是非常困难的。静电溶液纺丝是制成纳米纤维和微纤维的一种方法。

[0056] 本发明该层所用的聚氨酯(PU)聚醚可以是脂族或芳族聚氨酯,取决于所用的异氰酸酯,并且可以是聚醚聚氨酯或聚酯聚氨酯。具有良好物理特性的聚醚氨基甲酸乙酯可以通过熔融聚合羟基封端的聚醚或聚酯中间体和具有脂族或芳族(MDI)二异氰酸酯的扩链剂来制备。羟基封端的聚醚的烯化氧重复单元包括2-10个碳原子,并且重量平均分子量为至少1000。扩链剂是基本不分支的乙二醇,具有2-20个碳原子。扩链剂的量为0.5-小于2摩尔/每摩尔羟基封端的聚醚。优选的,聚醚聚氨酯是热塑性的,并且熔点为大约140°C-250°C或以上(例如,150°C-250°C),优选180°C或以上。

[0057] 在第一模式下,本发明的聚氨酯聚合物可以只是通过结合二-,三-或更高官能度的芳族或脂族异氰酸酯化合物和可以包括聚酯多元醇或聚醚多元醇的多元醇化合物来制备。多元醇中活性氢原子与异氰酸酯基团之间的反应以直接的方式形成了加成聚氨酯聚合物材料。OH:NCO的比率通常为大约1:1,在完成的聚合物中留下很少或没有未反应的异氰酸酯。在任何未反应的异氰酸酯化合物中,利用异氰酸酯反应化合物可以清除反应性。在第二模式下,聚氨酯聚合物能够以逐步的方式由异氰酸酯封端的预聚物材料合成。聚氨酯可以由异氰酸酯封端的聚醚或聚酯制成。异氰酸酯封端的多元醇预聚物可以用芳族或脂族二羟基化合物进行扩链。术语“异氰酸酯封端的聚醚或聚氨酯”总体是指预聚物,它包括多元醇,已经与二异氰酸酯化合物(即,包括至少两个异氰酸酯(-NCO)基团的化合物)反应。在优选的形式中,预聚物的官能度为2.0或以上,平均分子量为大约250-10,000或600-5000,并且被制备成基本不含未反应的单体异氰酸酯化合物。术语“未反应的异氰酸酯化合物”是指含有游离单体的脂族或芳族异氰酸酯的化合物,即,结合预聚物的制备用作原材料,并且在预聚物组合物中保持不反应的二异氰酸酯化合物。

[0058] 在本文中,术语“多元醇”一般是指具有一个以上羟基(-OH)基团的聚合化合物,优选脂族聚合(聚醚或聚酯)化合物,它用羟基基团在每一端封端。扩链剂是双官能和/或三官能化合物,具有的分子量为62-500,优选脂族二醇具有2-14个碳原子,例如,乙二醇,1,6-己二醇,二乙二醇,二丙二醇,和尤其是1,4-丁二醇。不过,同样合适的是对苯二酸的二酯,二醇具有2-4个碳原子,例如,对苯二酸二-乙二醇或1,4-丁二醇,氢醌的羟基亚烷基醚,例如,1,4-二(B-羟乙基)-氢醌,(环)脂族二胺,例如,异佛乐酮-二胺,乙二胺,1,2-,1,3-丙二胺,N-甲基-1,3-丙二胺,N,N'-二甲基-乙烯-二胺,和芳族二胺,例如,2,4-和2,6-二苯乙烯-二胺,和第一邻-二-,三-和/或四-烷基-取代的4,4'-二氨

基二苯甲烷。还可以使用上述扩链剂的混合物。优选的多元醇是聚酯,聚醚,聚碳酸酯或其混合物。多种多元醇化合物可用于制备预聚物。在优选的实施例中,多元醇可以包括聚合二醇包括,例如,聚醚二醇和聚酯二醇及其混合物或共聚物。优选的聚合二醇是聚醚二醇,更优选是聚烷撑醚二醇。示例的聚烷撑聚醚二醇包括,例如,聚乙烯醚二醇,聚丙烯醚二醇,聚四甲基醚二醇(PTMEG)和聚六亚甲基醚二醇及其混合物或共聚物。聚烷撑醚二醇中优选的是PTMEG。聚酯二醇中优选的是,例如,聚己二酸丁二醇酯二醇和聚己二酸乙二醇酯二醇及其混合物或共聚物。其他聚醚多元醇可以通过使在烷撑基中具有2-4个碳原子的一种或多种烯化氧与其内包含两个结合的活性氢原子的起始分子反应来制备。下面提到的是烯化氧的例子:环氧乙烷,1,2-环氧丙烷,表氯醇和1,2-和2,3-环氧丁烷。优选使用环氧乙烷,环氧丙烷和1,2-环氧丙烷和环氧乙烷的混合物。烯化氧可以单独使用,交替连续或以混合物的形式使用。起始分子包括,例如:水,氨基醇,如N-烷基二乙醇胺,例如N-甲基-二乙醇胺,和二醇,如乙二醇,1,3-丙二醇,1,4-丁二醇和1,6-己二醇。还可以使用起始分子的混合物。合适的聚醚多元醇还是四氢呋喃的含有羟基的聚合产物。合适的聚酯多元醇可以,例如通过具有2-12个碳原子,优选4-6个碳原子的二羧酸,和多元醇制备。合适的二羧酸包括,例如:脂族二羧酸,如琥珀酸,戊二酸,己二酸,辛二酸,壬二酸和癸二酸,以及芳族二羧酸,如邻苯二甲酸,间苯二甲酸和对苯二甲酸。二羧酸可以单独使用或以混合物形式使用,例如,以琥珀酸,戊二酸和己二酸的混合物的形式。对于聚酯多元醇的制备来说,使用相应的二羧酸衍生物,如在醇基中具有1-4个碳原子的羧酸二酯,羧酸酐或羧酸氯化物,来代替二羧酸可能是有利的。多元醇的例子包括具有2-10,优选2-6个碳原子的二醇,如乙二醇,二乙二醇,1,4-丁二醇,1,5-戊二醇,1,6-己二醇,1,10-癸二醇,2,2-二甲基-1,3-丙二醇,1,3-丙二醇和二丙二醇。根据需要的特性,多元醇可以单独使用,或者可选地彼此混合使用。同样合适的是碳酸与上述二醇的酯,特别是具有4-6个碳原子的二醇,如1,4-丁二醇和/或1,6-己二醇, ω -羟基羧酸的缩聚产物,例如 ω -羟基己酸,并优选内酯的聚合产物,例如可选替代的 ϵ -己内酯。上述优选用作聚酯多元醇乙二醇聚己二酸,1,4-丁二醇聚己二酸,乙二醇-1,4-丁二醇聚己二酸,1,6-己二醇新戊基二醇聚己二酸,1,6-己二醇-1,4-丁二醇聚己二酸和聚己内酯。聚酯多元醇的分子量为600-5000。

[0059] 用于获得聚合物或预聚物的多元醇的平均分子量数量在大约800-大约3500的范围内,以及其内的所有组合和亚组合。更优选的,多元醇的平均分子量数量在大约1500-大约2500的范围内,更优选的是数量平均分子量为大约2000。

[0060] 预聚物中的多元醇可以用异氰酸酯化合物封端或可以与热塑性聚氨酯(TPU)完全起反应。有多种二异氰酸酯化合物可用于制备本发明的预聚物。一般来说,二异氰酸酯化合物可以是芳族或脂族,优选芳族二异氰酸酯化合物。合适的有机二异氰酸酯包括,例如,脂族,环脂族,芳脂族,杂环和芳族二异氰酸酯,例如,参见Justus Liebigs Annalen der Chemie., 562, 75-136页。合适的芳族二异氰酸酯化合物的例子包括二苯基甲烷二异氰酸酯,二甲苯二异氰酸酯,甲苯二异氰酸酯,亚苯基二异氰酸酯,和萘二异氰酸酯及其混合物。合适的脂族二异氰酸酯化合物的例子包括双环己基甲烷二异氰酸酯和环己烷二异氰酸酯及其混合物。二异氰酸酯化合物中优选的是MDI,至少部分是由于它的一般商用性,和高度的安全性,以及它一般与扩链剂的理想反应性(下文将更全面地讨论)。除了上述示例之外,其他二异氰酸酯化合物对于本领域普通技术人员来说在掌握了本说明书之后是显而

易见的。下面披露的是具体例子：脂族二异氰酸酯，如环己烷二异氰酸酯，环脂族二异氰酸酯，如异佛乐酮二异氰酸酯，1,4-环己烷二异氰酸酯，1-甲基-2,4-和-2,6-环己烷二异氰酸酯以及相应的同质异构混合物，4,4'-,2,4'-和2,2'-双环己基甲烷二异氰酸酯以及相应的同质异构混合物，和优选芳族二异氰酸酯，如2,4-二苯乙烯二异氰酸酯，2,4-和2,6-二苯乙烯二异氰酸酯的混合物，4,4'-,2,4'-和2,2'-二苯甲烷二异氰酸酯，2,4'-和4,4'-二苯甲烷二异氰酸酯的混合物，氨基甲酸乙酯改性的液体4,4'-和/或2,4'-二苯甲烷二异氰酸酯，4,4'-二异氰酸二苯乙烷-(1,2)和1,5-亚萘基二异氰酸酯。优选使用1,6-环己烷二异氰酸酯，异佛乐酮二异氰酸酯，双环己基甲烷二异氰酸酯，二苯基甲烷二异氰酸酯同质异构混合物，具有4,4'-二苯基甲烷二异氰酸酯的含量大于96wt. %，尤其是4,4'-二苯基甲烷二异氰酸酯和1,5-亚萘基二异氰酸酯。

[0061] 为了制备TPUs，链延长成分可选地在存在催化剂，辅助物质和/或添加剂的条件下起反应，用量是NCO基团对所有NCO-反应基团总和的当量比，特别是低分子量二醇/三醇和多元醇的OH基团，为0.9 : 1.0-1.2 : 1.0，优选0.95 : 1.0-1.10 : 1.0。合适的催化剂，尤其是加速二异氰酸酯的NCO基团和二醇成分的羟基基团之间的反应的催化剂，是现有技术已知的传统叔胺，例如，三乙胺，二甲基环己胺，N-甲基吗啡啉，N,N'-二甲基-哌嗪，2-(二甲氨基乙氧基)-乙醇，和二氮杂二环-(2,2,2)-辛烷等，以及特别是有有机金属化合物，如钛酸酯，铁化合物，锡化合物，例如，二乙酸锡，二异辛酸锡，二月桂酸锡或脂族羧酸的锡二烷基盐，如二乙酸二丁基锡，或二丁基二月桂酸锡等。催化剂通常的用量为0.0005-0.1份/100份多羟基化合物。除了催化剂之外，还可以将辅助物质和/或添加剂整合入链延长成分。可提到的例子有润滑剂，防结块剂，抑制剂，抗水解、光、热、和脱色的稳定剂，耐火剂，着色剂，色素，无机和/或有机填料和增强剂。增强剂特别是纤维增强材料，例如，无机纤维，是按照现有技术制备的，并且还能够以一定大小提供。

[0062] 可以整合入PU的其他材料是热塑性材料，例如，聚碳酸酯和丙烯腈-丁二烯苯乙烯三元共聚物，特别是ABS。同样可以使用其他弹性体，例如，橡胶，乙烯-乙酸乙烯酯聚合物，苯乙烯-丁二烯共聚物和其他PU。同样适合整合的有商用增塑剂，例如，磷酸盐，邻苯二甲酸酯，己二酸，癸二酸酯。本发明的PU可以连续生产。可以使用已知的带式工艺或挤压工艺。成分可以同时，即一次注射或连续，即通过预聚物工艺进行计量。在这种情况下，预聚物可以分批或连续地导入挤压机的第一部分，或它可以在设置在上游的单独预聚物装置中制备。优选使用挤压工艺，可选地结合预聚物反应器。

[0063] 纤维可以由传统方法制成，并且可以通过对聚氨酯PU或混合的聚醚氨基甲酸乙酯和添加剂进行熔融纺丝制成。熔融纺丝是公知的工艺，其中，聚合物通过挤压熔融，通过纺丝头进入空气，通过冷却固化，并且通过将纤维卷绕在收集装置上进行收集。通常，纤维在大约150°C - 大约300°C的聚合物温度下进行熔融纺丝。

[0064] 聚合材料已被制作成无纺织物和纺织品，纤维和微纤维。聚合材料提供产品稳定性所需要的物理特性。所述材料在光照、潮湿、高温或其他不利环境影响下不会发生尺寸的显著变化，发生分子量下降，变得少柔性或发生应力断裂，或物理损伤。本发明涉及改进的聚合材料，它可以在面对诸如环境光照的入射电磁辐射，热，潮湿和其他物理挑战时保持物理特性。

[0065] 我们业已发现，以聚合物混合物，合金形式或交联化合物结合的结构形成包括两

种或两种以上聚合材料的聚合物组合物是十分有利的。我们相信,所述聚合物组合物通过改变聚合物属性,如改进聚合物链的柔性或链流动性,增加总体分子量以及通过形成聚合材料的网络提供强化,来改进物理特性。

[0066] 在这种构思的一个实施例中,两种相关或不相关的聚合材料可以混合,以便获得有利的特性。例如,高分子量聚氯乙烯可以与低分子量聚氯乙烯混合。类似地,高分子量尼龙材料可以与低分子量尼龙材料混合。另外,总聚合属类的不同物类可以混合。例如,高分子量苯乙烯材料可以与低分子量、高冲击强度聚苯乙烯混合。尼龙-6材料可以与尼龙共聚物,如尼龙-6,6-6,6,10共聚物混合。另外,具有低水解度的聚乙烯醇,如80%-87%水解的聚乙烯醇可以与水解度为98-99.9%和以上的完全或超强水解的聚乙烯醇混合。上述所有混合的材料可以利用合适的交联机理进行交联。尼龙可以利用能与酰胺键中的氮原子起反应的交联剂进行交联。聚乙烯醇材料可以利用羟基反应性材料,如单醛,如甲醛,尿素,三聚氰胺-甲醛树脂及其类似物,硼酸和其他无机化合物,二醛,二酸,氨基甲酸乙酯,环氧树脂和其他已知的交联剂进行交联。交联技术是公知和理解的现象,其中,交联试剂反应并形成聚合物链之间的共价键,以显著改进分子量,耐化学性,总体强度或对机械降解的抗性。

[0067] 我们业已发现,添加材料可以显著改进细纤维形式的聚合材料的特性。通过使用添加材料,可以明显改进对热,潮湿,冲击,机械应力和其他负面环境影响的耐受性。我们业已发现,在处理本发明的微纤维材料时,添加材料可以改进疏油特性,疏水特性,并且表现出有助于改进材料的化学稳定性。我们相信,微纤维形式的本发明的细纤维通过使用这些疏油和疏水添加剂得以改进,因为这些添加剂形成保护性涂层,烧蚀表面或渗透表面至某种深度,以改进聚合材料的性质。我们相信,所述材料的重要特征是存在强疏水性基团,它优选还具有疏油特征。强疏水性基团包括碳氟化合物基团,疏水的碳氢化合物表面活性剂或块和实质碳氢化合物低聚组合物。所述材料以组合物制造,该组合物的部分分子倾向于与聚合材料相容,通常提供与聚合物的物理键或结合,而强疏水或疏油基团,由于添加剂与聚合物的结合,形成位于表面上的保护性表面层或与聚合物表面层形成合金或混合。对于具有10%添加剂含量的0.2-微米纤维,计算的表面厚度为大约50 Å,如果添加剂已向表面迁移的话。相信会发生迁移,这是由于块体材料中疏油或疏水基团的不相容性质。50 Å的厚度似乎是保护性涂层的合理厚度。对于0.05-微米直径的纤维,50 Å的厚度对应20%的质量。对于2微米厚的纤维,50 Å的厚度对应2%的质量。优选的,添加材料的用量为大约2-25wt.%。可用于结合本发明的聚合材料的低聚物添加剂包括分子量为大约500-大约5000,优选大约500-大约3000的低聚物,包括氟化物,非离子表面活性剂和低分子量树脂或低聚物。可用的苯酚添加材料的例子包括Enzo-BPA, Enzo-BPA/苯酚, Enzo-TBP, Enzo-COP和其他相关的酚醛塑料,这些材料从Enzymol International Inc., Columbus, Ohio获得。

[0068] 现有很多种纤维状过滤介质用于不同的用途。本发明所述的耐用纳米纤维和微纤维可以添加到任何介质中。本文所披露的纤维还可用于取代上述现有介质的纤维成分,获得改进性能的显著优点(改进的效率和/或降低的压力降),这是由于它们具有小的直径,同时表现出更大的耐用性。

[0069] 聚合物纳米纤维和微纤维是已知的,不过,它们的使用非常有限,这是因为它们对机械应力的脆弱性,以及由于它们非常高的表面积与体积比,对化学降解的敏感性。本发明

所披露的纤维解决了上述局限性,并因此可应用于很多种生物加工,生物转化,生物合成,过滤/净化,纺织品,膜和其他多种用途。

[0070] 对于生物活性颗粒是细胞或微生物的应用,本发明的纳米纤维,或本发明的网或元件,优选包括非细胞毒性聚合物。用于测定聚合物细胞毒性的方法是已知的。可以利用传统方法识别非细胞毒性聚合物。非细胞毒性聚合物的例子包括,但不限于,聚酯,聚(ϵ -己内酯),聚甘醇酸,聚乳酸酯,聚酰胺(包括各种尼龙6,6和尼龙6,6-6,6,10)。聚合物可以是水溶性或水不溶性的。聚合物可以是生物可降解和/或生物可溶解的。聚合物可以包括第一聚合物,和第二不同的聚合物(在聚合物类型,分子量或物理特性上不同),在升高温度下调节或处理。因为聚合物类包括一系列聚合物材料,聚合物可以是单个聚合物类或聚合物类的混合或两种或两种以上的聚合物类的聚合物合金。

[0071] 纤维可以利用任何已知的细纤维制造技术制成,涉及将聚合物,必要时与其他聚合物或添加剂结合,然后利用成形技术使聚合物形成为需要的细纤维聚合物。可以利用静电纺丝工艺形成本发明的细纤维。Barris 美国专利号 4,650,506 中披露了用于形成纤维的合适装置。该装置包括容器,其中容纳有形成细纤维的聚合物溶液,泵和旋转型喷射装置或喷射器,将聚合溶液泵送到喷射器。喷射器一般由旋转接头,包括多个偏置孔的旋转部分和连接向前部分和旋转接头的轴组成。旋转接头提供将聚合物溶液通过空心轴导向向前部分。另外,旋转部分可以浸没在聚合物的容器中,由容器和泵输送。旋转部分随后从容器中获得聚合物溶液,并且随着它在静电场旋转,对准收集介质的静电场加速溶液的液滴,如下文所讨论。

[0072] 朝向喷射器,并且与其间隔的是大体平面的栅格,在它上面设置有收集介质(即基片或组合基片)。空气可以抽吸通过栅格。收集介质绕辊通过,所述辊靠近栅格的相对端设置。通过合适的静电电压源和连接并分别连接到栅格和喷射器在喷射器和栅格之间保持高电压静电势。

[0073] 在使用时,聚合物溶液从容器被泵送到旋转接头或容器。向前部分旋转,而液体从孔排出,或者从容器中获得,并且从喷射器的外缘向位于栅格上的收集介质移动。具体地讲,栅格和喷射器之间的静电势对材料施加电荷,导致要从那里喷射的液体作为细纤维,被吸向栅格,在这里,它们到达并被收集在基片或效率层上。对于溶液中的聚合物,在纤维飞向栅格期间溶剂从纤维蒸发;因此纤维到达基片或效率层,而没有大量溶剂。细纤维结合在栅格首先遇到的基片纤维。选择静电场强度,以确保随着聚合材料述喷射器向收集介质加速,加速度足以使材料形成非常细的微纤维或纳米纤维结构。增大或减慢收集介质的推进速度可以将或多或少的喷射纤维沉积在成形介质上,从而允许控制沉积在其上的每一层的厚度。旋转部分可以具有多个有利的位置。旋转部分可以设置在旋转平面上,使得该平面垂直于收集介质的平面或以任意角度设置。旋转介质可以设置平行于或略微偏离平行方向。

[0074] 片材状基片在工位展开。片材状基片随后被导向拼接工位,其中,多个长度的基片可被拼接,用于连续的作业。连续长度的片材状基片被导向细纤维技术工位,它包括上述的纺丝技术,其中,纺丝装置形成细纤维,并且将细纤维层压在片材状基片上的过滤层。细纤维层在片材状基片上在形成区域形成之后,所述细纤维层和基片被导向热处理工位,以便进行合适的处理。片材状基片和细纤维层随后在效率监测仪中进行测试,并且必要时在啮合工位啮合。片材状基片和纤维层随后转向合适的卷绕工位,以便卷绕在合适的心轴上供

进一步处理。

[0075] 一旦制备了含有本发明的活性或活性惰性颗粒的细纤维层,所述层必须机械组合入可用的活性或吸附或吸收结构。纳米纤维层通常被纺丝在基片材料上,所述材料可以是纤维织物,纤维素基片,混合的合成纤维素基片,如包括纤维素纤维和非纤维素稳定纤维的基片,或纯的纤维素基片。含有活性或惰性颗粒的纳米纤维层被电纺丝到所述基片上,然后所述基片可以卷成吸收结构。另外,所述层可被切割成相似的部分,并且层叠以形成吸收层。重要的是,纳米纤维层的任何组件的内部结构具有足够的流体流动,以确保流体可以方便地通过组件。在这里,组件不用作过滤器,而纯粹作为吸收组件结构。在另一种结构中,细纤维和生物活性或活性颗粒层可以组装成一结构,它能过滤或净化,和反应,吸附,或吸收。所述变化的结构可用在多种最终用途。前一种结构少有或没有过滤特性,并且可以只是利用流通机构从流体流,如废水流(即净化废水流)除去反应性杂质物质。后一种结构可以物理除去颗粒污染物,或通过氧化或还原污染物使其化学失活除去颗粒污染物。结构还可以从诸如废水的流体中除去化学物质(例如,离子或溶解的有机物),同时具有过滤或净化作业。

[0076] 在本发明的卷绕或层叠层的某些优选结构中,介质可被设置通过直通流动,或者没有过滤特性的流动,或者包括通过过滤层的流动,进行净化。在所述流体流动中,流体沿一个方向进入通过第一流动面,并且沿相同的方向从第二流动面移动排出。在过滤器结构内,流体可以不会与用作过滤器的表面相互作用或它可能与流体相互作用,可能接触表面,获得过滤特性。一般,优选的过滤器结构是包括一层介质的卷绕结构,它围绕中心点重复转动形成卷,使得过滤介质被卷曲,卷绕或缠绕。一种优选的可用结构是波纹结构,其中,材料具有槽纹结构。所述槽纹可以与表面片材构成和组合。一旦波纹介质与以表面片材形式的非波纹介质组合,所得到的结构可以卷绕并形成可用的组件。在使用这种类型的介质结构时,槽纹在波纹结构中形成交替的波峰和波谷。在某些结构中,上部槽纹形成槽纹腔,它可以在下游闭合,而槽纹腔具有上游端,闭合以形成其他行的槽纹。在所述结构中,开口和闭合的区域导致流体穿过至少一个波纹壁,以获得来自波纹层的过滤特性。在使用时,所述卷绕组件形式的波纹介质提供入口区域,用于流体流如废水。流体流在开口的上游端进入槽纹腔,未经过滤的流体流不允许穿过闭合的下游端,但被强制通过波纹层或槽纹片材,以接触波纹层的纤维或活性颗粒,以便从流体流过滤颗粒,或确保分散或溶解在流体流中的材料与活性颗粒起反应,被吸收或吸附在活性颗粒上,从而通过除去流体流中存在的化学物质来净化流体流。

[0077] 本发明还涉及薄膜或薄膜状层,具有由细纤维形式的聚合物材料得到的结构。薄膜通过热处理细纤维和颗粒以形成多孔薄膜而形成。薄膜是基本连续的膜或薄膜状层,具有颗粒附着在薄膜表面,嵌入膜中,或由薄膜聚合物体完全环绕。在本发明的薄膜中,颗粒的主要尺寸为小于 200 微米,并通常它的尺寸为大约 0.05-100 微米或大约 0.1-70 微米。薄膜的厚度通常在大约 25nm-2 微米,或 0.5- 大约 5 微米的范围内,孔度在大约 0.1-5 微米的范围内,通常为大约 1-2 微米。优选薄膜的厚度小于大约 2 微米,孔度为大约 0.1-2 微米,或 0.5-3 微米。颗粒在薄膜结构中的存在量为大约 0.1-50vol%。最后,在薄膜中,颗粒在薄膜层中的可用量达到大约 $10\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$,通常为大约 $0.1-1,000\text{gm}\cdot\text{m}^{-2}$,大约 $0.5-200\text{gm}\cdot\text{m}^{-2}$ 或大约 $1-100\text{gm}\cdot\text{m}^{-2}$ 的薄膜。

[0078] 本发明的细纤维可以是结构纤维的形式。细纤维可以用反应性(即化学反应性,光活性,或热敏/反应性)纤维纺成。所述反应性纤维可以由具有反应性侧链,如胺,磺酸,羧酸,或侧链的其他官能团的聚合物制成。所述侧链可以由聚合物本身衍生。例如,聚胺可以由高度官能聚胺在取代基的聚合物侧链上留下酸和胺以及平均官能度而形成。类似地,形成的聚砜或聚丙烯酸材料可以具有活性或反应性酸基团。类似地,可以制备离子交换树脂材料,在树脂颗粒内具有酸性,强酸性,碱性,或强碱性官能团,可以对本发明添加吸收或反应特性。所述材料可以溶解或悬浮,并且可以与本发明的传统纤维纺丝,或者可以单独纺丝入本发明的含有颗粒网。

[0079] 在一个实施例中,颗粒的主要尺寸小于大约 200 微米,并通常包括大约 0.05-100 微米或包括大约 0.1-70 微米。在基本连续的细纤维层中,所述层的层厚度为大约 25nm-2 微米,0.5-500 微米,大约 1-250 微米,或大约 2-200 微米。在所述层中,分散在纤维中的是包括颗粒的装置,所述颗粒的粒度为大约 0.25-200 微米,大约 0.5-200 微米,大约 1-200 微米,大约 10-200,或大约 25-200 微米。颗粒分散遍及层中的纤维。颗粒的含量为大约 0.1-50vol%,大约 0.5-50vol%,大约 1-50vol%,大约 5-50vol% 或大约 10-50vol%。纤维的直径为大约 10nm-1.0 微米,或 0.001- 大约 2 微米,0.001- 大约 1 微米,0.001- 大约 0.5 微米,并且所述层具有的细纤维密度为大约 0.1-65%,大约 0.5-50%;大约 1-30% 和大约 1-20%。颗粒在层中的用量占所述层的大约 1-1000gm-m⁻²,大约 5-200gm-m⁻² 或大约 10-100gm-m⁻²。

[0080] 本发明的一个实施例包括将细胞,微生物,酶或其他生物活性分子连接到本发明的纳米纤维或细纤维结构或基片上的方法。官能团可以结合在纳米纤维的外表面。所述官能化表面可以反应,以将肽,多肽,脂类,碳水化合物,多糖,氨基酸,核苷酸,核酸,多核苷酸,或其他生物活性分子结合到纳米纤维的表面。在一个实施例中,纳米纤维的官能化表面反应,以结合一个或多个生物活性分子。优选一个或多个生物活性分子是生长因子,碳水化合物,分化因子,粘附蛋白,或从粘附蛋白衍生的生物活性肽。生长因子可以是 VEGF,骨形态发生因子 β , EGF, PDGF, NGF, FGF, IGF, 或 TGF。分化因子可以是神经营养因子, CSF, 或 TGF。

[0081] 本发明纤维结构或基片的高表面和容积之比的结果是,结合到纳米纤维表面的生物活性分子量明显大于被吸收至平面细胞培养表面的生物活性分子量。在一个实施例中,连接至纳米纤维生长基质的生物活性分子的密度比连接至平面细胞培养表面的生物活性分子的密度大 1 倍,大 2 倍,大 3 倍,大 4 倍,或大 5 倍。纳米纤维表面上生物活性分子的更高密度增强了细胞和纳米纤维网络之间相互作用的亲和力,以便促进生物反应。

[0082] 在一个实施例中,生物活性分子是细胞外基质(ECM)分子或其片段。ECM 分子可以是自然形成或由自然形成的 ECM 分子衍生的合成肽。ECM 分子的例子包括,但不限于,纤维连接蛋白,纤维蛋白原,层粘连蛋白,和固生蛋白 -C。合成 ECM 衍生的肽的例子包括,但不限于,合成肽,包括由纤维连接蛋白衍生的 RGD (SEQ ID NO:43) (Meiners 等,2003, Mol. Neurobiol., 27:177-96; Shin 等,2003, Biomaterials, 24:4353-4364),由固生蛋白 -C 衍生的 VFDNFVLKIRDTKKQ (SEQ ID NO:44) (Meiners 等,2003, Mol. Neurobiol., 27:177-96),由层粘连蛋白 -1 衍生的 YIGSR (SEQ ID NO:45) (Meiners 等,2003, Mol. Neurobiol., 27:177-96; Shin 等,2003, Biomaterials, 24:4353-4364),和由层粘连蛋白 -1 衍生的 IKAVAV (SEQ ID NO:46) (Meiners 等,2003, Mol. Neurobiol., 27:177-96; Shin 等,2003, Biomaterials,

24:4353-4364)。

[0083] [0083] 生物活性分子可以吸附或共价连接到纳米纤维表面。可以在肽的 N- 末端引入半胱氨酸, 以提供官能团, 用于连接到纳米纤维表面上的胺, 并且可以添加甘氨酸作为隔离物。可以共价连接到纳米纤维表面的合成 ECM 肽的例子包括, 但不限于, CGGRGDSPG (SEQ ID NO:47), CGGIKAVAV (SEQ ID NO:48), CGGDPGYIGSR (SEQ ID NO:49), 和 CADEGVFDNFVLKIRDTKKQ (SEQ IDNO:50) (Meiners 等, 2003, Mol. Neurobiol., 27:177-96; Shin 等, 2003, Biomaterials, 24:4353-4364)。

[0084] 在一个实施例中, 官能团通过等离子沉积沉积在纳米纤维的外表面上。等离子沉积在纳米纤维的表面形成局部等离子区。处理过的表面然后与气体分子, 如丙烯胺和 / 或烯丙醇在反应室中反应。在另一个实施例中, 在电纺丝过程中官能团被引到纳米纤维的表面上。可以将十二烷胺, 十二醛, 十二烷硫醇, 或十二烷醇添加到聚合物溶液中。聚合物溶液随后电纺丝成纳米纤维, 其中, 部分添加的胺, 醛, 巯基, 或醇成分分别暴露在纳米纤维的外表面。

[0085] 在一个实施例中, 细胞, 微生物, 酶, 或其他生物活性分子通过遗传工程改造以表达纤维素结合域(CBD)。CBD 可以由纤维素酶或纤维小体衍生。按照氨基酸序列比对, 200 种 CBD 序列已被识别并被划分成至少 13 个族。例如, 参见 Tomme 等, 1995, Adv. Microb. Physiol., 37:1-81; Tomme 等, 1998, J. Chromatogr. B, 715:283-296; 和 Boraston 等, 2004, Biochem. J., 382:769-781。CBD 可以来自细菌或真菌。CBD 氨基酸序列和核酸序列可以在, 例如, 公开的数据库中找到, 如 GenBank (www-ncbi-nlm-nih-gov) 或 Protein Data Bank (PDB; www-rscb.org./pdb)。优选的 CBD 包括, 但不限于, 来自热纤梭菌, 噬纤维梭菌 (*Clostridium cellulovorans*), 纤维素分解梭菌, 耐热梭状芽孢杆菌, 粪碱纤维单胞菌, *Cellvibrio japonicus*, 海栖纤维弧菌 (*Cellvibrio maritima*), 环状芽孢杆菌, 橄榄绿链霉菌 (*Streptomyces olivaceovirdism*), 变铅青链霉菌, 蓖麻 (*Rinicus communis*), 相思子, 中国鲨, 尾穗苋 (*Amaranathus caudatus*), 异株荨麻, 黑曲霉, 蜡状芽孢杆菌, 嗜碱芽孢杆菌 (*Bacillus sp. 1139*), *Pyromyces equi*, *Micromonospora viridfaciens*, 树状葡枝霉, 普通高温放线菌, 嗜热脂肪地芽孢杆菌, 拮抗菌 (*Paenibacillus potomyxa*), *Trichoderma reesie*, 角质酶产生菌 (*Thermobifida fusca*), 海栖热袍菌, 海洋红嗜热盐菌 (*Rhodothermus marinus*), 菊欧文氏菌 (*Erwina chrysanthemi*), 粘质沙雷氏菌, 解纤维素醋弧菌, *Bacteroides cellulosovents*, 棒曲霉, *Neosartoya fischeri*, 鸟分枝杆菌, 或约氏疟原虫的 CBD。每一族代表性的 CBD 氨基酸序列在表 1 示出。

表 1

族	CBD 序列	属类	PDB 码	SEQ ID NO:
CBD1	TQSHYGQCGG IGYSGPTVCA SGTTCQVLNE YYSQCL	<i>Tricoderma reesei</i> 里氏木霉	1CBH	1
CBD2	ASSGPAGCQV LWGVNQWNTG FTANVTVKNT SSAPVDGWTL TFSFPSSGQQV TQAWSSTVTQ SGSAVTVRNA PWNGSIPAGG TAQFGFNESH TGTNAAPTAF SLNGTPCTVG	<i>Cellulomonas fimi</i> 粪碱纤维单胞菌	1EXG	2
CBD2	TGCSVTATRA BEWSDRFNVT YSVSGSSAWT VNLALNGSQT IQASWVANVT GSGSTRFVTP NGSGNTFGVT VMKNGSSTTP AATCAGS	<i>Cellulomonas fimi</i> 粪碱纤维单胞菌	2XBD	3
CBD2	TGSCSVSAVR GEEWADRFNV TYSVSGSSSW VVTLGLNGGQ SVQSSWNAAL TGSSGTVTAR PNGSGNSFGV TFYKNGSSAT PGATCATG	<i>Cellulomonas fimi</i> 粪碱纤维单胞菌	1HEH	4
CBD3	AGTGVVSVQF NNGSSPASSN SIYARFKVTN TSGSPINLAD LKLRYYYTQD ADKPLTFWCD HAGYMSGSNY IDATSKVTGS FKAVSPAVTN ADHYLEVALN SDAGSLPAGG SIEIQTRFAR NDWSNFDQSN DWSYTAAGSY MDWQKISAFV GGTLAYGSTP	<i>Clostridium cellulolyticum</i> 纤维素分解菌	1G43	5
CBD3	NLKVEFYNSN PSDTTNSINP QFKVINTGSS AIDLKLTLLR YYYTVDGQKD QTFWCDHAAI IGSNGSYNGI TSNVKGTFVK MSSSTNNADT YLEISFTGGT LEPGAHVQIQ GRFAKNDWSN YTQSNDSYFK SASQFVEWDQ VTAYLNGVLV WGKEP	<i>Clostridium thermocellum</i> 纤维素分解菌	1NBC	6
CBD3	EPAFNYAEAL QKSMFFYEAQ RSGKLPENNR VSWRGDSGLN DGADVGLDLT GGWYDAGDHV KFGFPMAFTA TMLAWGAIES PEGYIRSGQM PYLKDNLRWV NDYFIKAHPS PNVLYVQVGD GDADHKWGGP AEVMPMERPS FKVDPSCPGS DVAABETAAM AASSIVFADD DPAYAATLVQ HAKQLYTFAD TYRGVYSDCV PAGAFYNSWS GYQDELVWGA YWLKATGDD SYLAKAEY EY DFLSTEQQTD LRSYRWTIAW DDKSYGTYVL LAKETGKQKY IDDANRWLDY WTVGVNGQRV PSPGGMVAVL DTWGALRYAA NTAFVALVYA KVIDDPVRKQ RYHDFAVRQI NYALGDNPRN SSYVVGFGNN PPRNPHHRTA HGSWTDIAS PAENRHVLYG ALVGGPGSPN DAYTDDRQDY VANEVATDYN AGFSSALAML VEEYGGTPLA DFPPTTEPDG PEIFVEAQIN TPGTTFTEIK	<i>Thermobifida fusca</i> 嗜高温放线菌	1TF4	7

	AMIRNQGSGWP YWF _{TL} DEGVD NQCATPEDVH IDCTGEKIFP QFRIAGGPGW IGNELAPAPY WGTAP	ARMLDKGTFR PADITVSSAY HVSGLDLYVE GGQSEHRREV DPSNDWSFQG IVLYDDGVPV			
CBD4	SINNGTFDEP EWF _{IWQ} AGDY GVRDGYAYIT IQFNQWIGLY AKADTPRPIN TNYFAQTVNL YTHPDDADEV TATTIYFDDV	IVNDQANNPD GISGARVSDY IADPGDTWH RGKTYTISFK VKILQNHDPW TADWQTF _{TFT} VQISFELGEG TVSPQ	<i>Thermotoga maritima</i> 海栖热袍菌	1GUI	8
CBD4	ASPIGEGTFD TDGPLD _{TSTG} AQYGVGVVLN TLRYTATAST NGAPYGTVLD QVTETFTASA PEGQIAFQLG LDDVALDSEV	DGPEGWVAYG ALCVAVPAGS GVAIEEG _{TY} DVTVRALVGQ TSPALTSEPR TYPATPAADD GFSADAW _{TLC} EL;	<i>Cellulomonas fimi</i> 粪碱纤维单胞菌	1ULO;	9
CBD4	ASPIGEGTFD TDGPLD _{TSTG} AQYGVGVVLN TLRYTATAST NGAPYGTVLD QVTETFTASA PEGQIAFQLG LDDVALDSE	DGPEGWVAYG ALCVAVPAGS GVAIEEG _{TY} DVTVRALVGQ TSPALTSEPR TYPATPAADD GFSADAW _{TLC} EL;	<i>Cellulomonas fimi</i> 粪碱纤维单胞菌	1GU3	10
CBD4	ASLDSEVELL PWSLYGTSEP LPGGQGNP _{WD} GEGESYVLSF RVLVGE _{GGGA} PLTGE _{PATRE} FDGDAPG _{QVA} FCISQVSL _{TT}	PHTSFAESLG VFADGRMCVD AGLVYNGV _{FPV} TASATPD _{MPV} YRTAFE _{QGS} YAFTSNL _{TFP} FHLGKAG _{AYE} SAT	<i>Rhodothermus marinus</i> 海产好热菌	1CX1	11
CBD4	MLVANINGGF LAEGVEG _{WDL} VFEVLE _{TSDA} VNGVGN _{NPWD} RPGV _{TYTYTI} VSFTV _{GNQSF} ITTEW _{QPFTF} IRAPIH _{FGYA} GLAIAS _{QP}	ESTPAGV _{VD} NVGSSV _{TNPP} PEGNKV _{LAVT} IEATA _{FPVNV} WARAE _{QDGAV} QEYGR _{LHEQQ} EFTVSD _{QETV} ANVGNT _{IYID}	<i>Erwinia chrysanthem</i> 菊欧文氏菌	1K45	12
CBD5	MGDCANANVY GQPTHNEA _{GQ} ANWYTAS _{VPG} CN	PNWVSKD _{WAG} SIVYKGN _{LYT} SDSSWTQ _{VGS}	<i>Eriwinia chrysanthem</i> 菊欧文氏菌	1AIW	13
CBD5	MSTRKAVIGY YTETD _{TSVVP} AKQLTHIN _{FS} AWDPATN _{DAK} LKAHNPS _{LRI} NDLGVSH _{ANY} AKFAQSC _{VRI} IDWEYPQ _{AAE} IR _{TLLNQTI}	YFIPTN _{QINN} FPVSNIT _{PAK} FLDINSN _{LEC} ARDV _{VNRLTA} MFSIGGW _{YYS} VNAVKT _{PASR} MKDYGF _{DGVD} VDGFIA _{ALQE} TDGRQAL _{PYQ}	<i>Serratia marcescens</i> 粘质沙雷氏菌	1E15	14

	LTIAGAGGAF FLSRYYSKLA QIVAPLDYIN LMTYDLAGPW EKVTNHQAAL FGDAAGPTFY NALREANLGW SWEELTRAFP SPFSLTVDAV VQOHLMMEGV PSAKIVMGVP FYGRAFKGVS GGNGGQYSSH STPGEDPYPS TDYWLVGCEE CVRDKDPRIA SYRQLEQMLQ GNYGYQRLWN DKTKTPYLYH AQNGLFVTYD DAESFKYKAK YIKQQQLGGV MFWHLGQDNR NGDLLAALDR YFNAADYDDS QLDMGTGLRY TGVGPGNLPI MTAPAYVPGT TYAQQALVSY QGYVWQTKWG YITSAPGSDS AWLKVGRVA			
CBD6	RSFAKIESE EYNSLKSSTI QTIGTSDGGS GIGYIESGDY LVFNKINFGN GANSFKARVA SGADTPTNIQ LRLGSPGTGL IGTTLVASTG GWNRYBEKSC SITNTTGQHD LYLVSFSGPVN IDYFIFDSNG VNP	<i>Clostridium thermocellum</i> 热纤梭菌	1UXX	15
CBD6	MGSSHHHHHH SSSLVPRGSH MASTPANVNS GPTSPVGGTR SAFSNIQAED YDSSYGPNLQ IFSLPGGSA IGYIENGYST TYKNIDFGDG ATSVTARVAT QNATTIQVRL GSPSGTLLGT IYVGSTGSFD TYRDVSATIS NTAGVKDIVL VPSGPVNDW FVFSKSGT	<i>Clostridium stercorarium</i> 耐热梭状芽孢杆菌	INAE	16
CBD6	GSHMASPTPA PSQSPIRDA FSIIEAEEYN STNSSTLQVI GTPNNGRGIG YIENGNTVTY SNIDFGSGAT GFSATVATEV NTSIQIRSDS PTGTLGTLTY VSSTGSWNTY NTVSTNISKI TGVHDIVLVF SGPVNVDNFI FSRSS	<i>Clostridium stercorarium</i> 耐热梭状芽孢杆菌	1UY4	17
CBD6	MVIATIQAED HSQQSGTQQE TTTDFGGGKN VGYIDAGDWL SYAGTPVNIP SSGSYLIEYR VASQNGGSL TFEEAGGAPV HGTIAIPATG GWQWTWTIQH TVNLSAGSHQ FGIKANAGGW NLNWLRIK H	<i>Cellvibrio mixtus</i> 混合纤维弧菌	1UZ0	18
CBD9	MVATAKYGTP VIDGEIDRIW NTTEEIETKA VAMGLDKNA TAKVRVLWDE NYLYVLAIVK DPVLNKDNSN PWEQDSVEIF IDENNHKTGY YEDDDAQFRV NYMNEQTFGT GGSPARFKTA VKLIEGGYIV EAAIKWKTIK PTPNTVIGFN IQVNDANEKG QRVGLISWSD PTNNSWRDPS KFGNLRLIK	<i>Thermotoga martimia</i> 海栖热袍菌	1I8A	19
CBD10	MGNQQCNWYG TLYPLCVTTT NGWGWEDQRS CIARSTCAAQ PAFGIVGSG	<i>Cellvibrio japonicus</i>	1QLD	20
CBD12	ANQVNTAYTA GOLVTYNGKT	<i>Bacillus circulans</i>	1ED7	21

	YKCLQPHTSL LWQLQ	AGWEPSNVPA	环状芽孢杆菌		
CBD13	AESTLGAAAA ASGKLGDSAY VTAENEMKID FSAGDRVYNW HTLAWHSQQP LRQAMIDHIN AQWDVVNEAF SNLQRTGNDW ADPAAKLCYN KTQGVYNMVR CVGFQSHFNS TLQNFALGV GASSSTYAAV LGITVWGVVD LLFNGDGSKK NGGSSTPPPS GRCLDVPNAS DCHSATNQW YGDKCLDAAG SCWGGDNQKW VQSGLCCLDAV QLYSCSNGSN	QSGRYFGTAI TTIASREFNM ATEPQRGQFN AVQNGKQVRG GWMQSLSGST GVMGHYKGI SDDGSGGRRD IEVAFRTARA DYNINWFWA DFKQRGVPID GSPYNSMERT DVAITELDIQ TNDCLAVSRC TDSWRSGDTP AAVTAVLNAL GGGQIKGVGS TIDGTQVQLY TYTDAGELRV TGNGTKVQIY RLNSDGSIVG GGGTANGTLI QRWTRT	<i>Streptomyces olivaceovirdis</i> 橄榄绿链霉菌	1XYF	22
CBD13	EPPADGGQIK PDASTSDGTQ NQQWAATDAG DAAGTSNGSK NQKWRLNSDG LDAVNGGTAN NGSNQRWERT	GVGSGRCLDV LQLWDCHSGT ELRVYGDKCL VQIYSCWGGD SVVGVQSGLC GTLIQLYTCS	<i>Streptomyces lividans</i> 变铅青链霉菌	1MC9	23
CBD13	IFPKQYPIIN YTNFIRAVRG EIPVLPNRVG ELSNHAEHSV VVGYRAGNSA ABAIHLFTD GNYDRLEQLA NGPLEEALSA LPTLARSFII FQYIEGEMRT DPSVITLENS SNQGAFASPI SVYDVSILIP PPSSQF	FTTAGATVQS RLTTGADVHR LPINQRFILV TLALDVTNAY YFFHPDNOED VQNRVTFAFG GNLRENIELG LYYYSTGGTQ CIQMISEAAR RIRYNRRSAP WGRNSTAIQE QLORRNGSKF IIALMVYRCA	<i>Ricinus communis</i> 蓖麻	2AAI	24
CBD13	EDRPIKFSTE IEALRERLRG DPTLQERNR TESIEVGIDV GTQSYFLRDA GTDQHSPLFY HQSROQIPLG FRSGGNDNEE MVAEAAARFRY TGTAFAQPDAA LSRGVQESVQ NIRNEPVVD ALMLFVCNPP	GATSQSYKQF GLIHDPVLP YITVELSNSD TNAYVVAYRA PSSASDYLFT GTGDLERWA LQALTHGISF KARTLIVIIQ ISNRVRVSIQ MISLENNWDN DTFPNQVTLT SLSHPTVAVL N	<i>Abrus precatorius</i> 相思子	1ABR	25
CBD14	YLAFRCGRYS LYSCCSFYNC PKGLHYNAYL	PCLDDGPNVN HKCLARLENC KVCDWPSKAG	<i>Tachpleus tridenatus</i> 中国鲎	1DQC	26

	CTSVNKECHL WKTX			
CBD15	GNVVIEVDMA NGWRGNASGS TSHSGITYSA DGVTFAALGD GVGAVFDIARPTTLEDAVIA MVVNVSAEFK ASEANLQIFA QLKEDWSKGE WDCLAGSSELTADTDLTLTC TIDEDDDKFN QTARDVQVGI QAKGTPAGTI TIKSVTITLAQEA	<i>Cellvibrio japonicus</i>	1GNY	27
CBD17	QPTAPKDFSS GFWDFNDGTT QGFVNPDSP ITAINVENAN NALKISNLNSKGSNDLSEGN FWANVRISAD IWGQSINIYG DTKLTMDVIA PTPVNVSI AA IPQSSTHGWG NPTRAIRVWT NNFVAQTDGT YKATLTISTN DSPNFNTIAT DAADSVVTNM ILFVGSNSDN ISLDNIKFTK	<i>Clostridium cellulovorans</i> 噬纤维梭菌	1J83	28
CBD18	ERCGEQGSNM ECPMNLCCSQ YGYCGMGGDY CGKGCQNGAC WTSKRCSQAGGATCTNNQC CSQYGYCGFG AEYCGAGCQG GPCRADIKCG SQAGGKLCPN NLCCSQWGFC GLGSEFCGGG CQSGACSTDK PCGKDAGGRV CTNNYCCSKW GSCGIGPGYC GAGCQSGGCD G	<i>Triticum aestivum</i> 小麦	1WGC	29
CBD18	VGECVRGRCP SGMCCSQFGY CGKGPKYCGR	<i>Amaranthus 尾穗苋</i> <i>caudatus</i>	1MMC	30
CBD18	ERCGSQGGGS TCPGLRCCSI WGWC GDSEPY CGRTCENKCW SGERSDHRCG AAVGNPPCGQ DRCCSVHWC GGN DYCSGG NCQYRCSSS	<i>Urtica dioica</i> 异株荨麻	1EIS	31
CBD20	CTTPTAVAVT FDLTATTTYG ENIYLVGSIS QLGDWETSDG IALSADKYTS SDPLWYVTVT LPAGESFEYK FIRIESDDSV EWESDPNREY TVPQACGTST ATVTD TWR	<i>Aspergillus niger</i> 黑曲霉	1AC0	32
CBD20	TPVMQTI VVK NVPTTIGDTV YITGNRAELG SWDTKQYPIQ LYYDSSHNDW RGNVVLPAER NIEFKAFIKS KDGTVKSWQT IQQSWNPVPL KTTSTSSW	<i>Bacillus cereus</i> 蜡状芽孢杆菌	1CQY	33
CBD22	KPEEPDAGY YHDTFEGSVG QWTARGPAEV LLSGRTAYKG SESLLRNRT AAWNGAQRAL NPRTFVPGNT YCFVSVASFI EGASSTFCM KLQYVDGSGT QRYDTIDMKT VGPNQVHLY NPQYRIPSDA TDMYVYVETA DDTINFYIDE AIGAVAGTVI	<i>Clostridium thermocellum</i> 热纤维梭菌	1DYO	34
CBD27	MASNEARYVL AEEVDFSSPE EVKNWWSGT WQAEFGSPDI EWNGEVGNGL LQLNVKLPK SDWEEVRVAR KFERLSECEI LEYDIYIPNV EGLKGR LRPY AVLNPGWVKI GLDMNNANVE SABEITFGGK EYRRFHVRIE	<i>Thermotoga maritime</i> 海栖热袍菌	1OF4	35

	FDRTAGVKEL HIGVVGDLRL YDGPFIIDNV RLYKRTGGM			
CBD28	GTEVEIPVVH DPKGEAVLPS VFEDGTRQGW DWAGESGVKT ALTIEEANGS NALSWEFGYP EVKPSDNWAT APRLDFWKSD LVRGENDYVT FDFYLDPVRA TEGAMNINLV FQPPTNGYWV QAPKTYTINF DELEEANQVN GLYHYEVKIN VRDITNIQDD TLLRNMMIIF ADVESDFAGR VFVDNVRFEG A	<i>Bacillus</i> sp. 1139 嗜碱芽孢杆菌	1UWW	36
CBD29	MNVRATYTVI FKNASGLPNG YDNWGWGCTL SYYGAMI IN PQEGKYGAVS LKRNSGSRFG GSLRFDMKNE GKVILVENS EADEKFEVET ISPSDEYVTY ILDVDFDLPF DRIDFQDAPG NGDRIWIKNL VHSTGSADDF VDPINLEHHH HHH	<i>Pyromyces equi</i>	1GWK	37
CBD32	VPPGGEPLYT EQDLAVNGRE GFPNYRIPAL TVTPDGDLLA SYDGRPTGID APGPNSILQR RSTDGGRTWG EQQVVSAGQT TAPIKGFSDP SYLVDRETGT IFNFHVYSOR QGFAGSRPGT DPADPNVLHA NVATSTDGGL TWSHRTITAD ITPDPGWRSR FAASGEGIQ LRYGPHAGR LI QQYTIINAAG AFQAVSVYSD DHGRTWRAGE AVGVGMDENK TVELSDGRVL LNSRDSARSG YRKVAVSTDG GHSYGPVTID RDLDPPTNNA SIIRAFPDAP AGSARAKVLL FSNAASQTSR SQGTIRMSCD DGQTPVSKV FQPGSMSYST LTALPDGTYG LLYEFGTGIR YANFNLAWL G GICAPFTIPD VALEPGQOVT VPVAVTNQSG LAVPKPSLQL DASPDWQVQG SVEPLMPGRQ AKGQVYITVP AGTTPGRYRV GATLRTSAGN ASTTFTVTVG LLDQARMSIA DVDSEETARE DGRASNVIDG NPSTFWHTEW SRADAPGYPH RISLDLGGTH TISGLQYTRR QNSANEQVAD YEIYTSLNGT TWDGPVASGR FTTSLAPQRA VFPARDARYI RLVALSEQTG HKYAAVAELE VEGQR	<i>Micromonospora viridifaciens</i>	1EUU	38
CBD32	ASAPIGSAIS RNNWAVTCDS AQSGNECNKA IDGNKDTFWH TFYGANGDPKPPHTYTIDMK TTQNVNGLSM LPRQDGNQNG WIGRHEVYLS SDGTNWGSPV ASGSWFADST TKYSNFETRP ARYVRLVAIT EANGQPWTSI AEINVFQASS YTAPQPGLGR WGPTIDLPIV PAAAAIEPTS GRVLMWSSYR NDAFGGSPGG	<i>Cladobotryum dendroides</i> 树状葡枝霉	1GOF	39

	ITLTSSWDPS TGIVSDRTVT VTKHDMFCPG ISMDGNGQIV VYGGNDAKKT SLYDSSSDSW IPGPDQMVAR GYQSSATMSD GRVFTIGGSW SGGVFEKNGE VYSPSSKTWT SLPNAKVNPM LTADKQGLYR SDNHAWLFGW KKGSVFQAGP STAMNWWYTS GSGDVKSAGK RQSNRQVAPD AMCGNAVMYD AVKGKILTFG GSPDYQSDA TTNAHIITLG EPGTSPTVVF ASNGLYFART FHTSVVLPDG STFITGGQRR GIPFEDSTPV FTPEIYVPEQ DTFYKQNPNS IVRVYHSISL LLPDGRVFNG GGGLCGDCTT NHFDAQIFTP NYLYNSNGNL ATRPKITRRTS TQSVKVGRI TISTDSSISK ASLIRYGTAT HTVNTDQRRR PLTLITNNGN SYSFQVPSDS GVALPGYWML FVMNSAGVPS VASTIRVTQ			
CBD34	AANDNNVEWN GLFHDQGPLF DNAPEPTSTQ SVTLKLRTEK GDITSANIKY WDTADNAFW VPMVWDSNDP TGTFDYWKGT IPASPSIKYY RFQINDGTST AWYNGNGPSS TEPNADDFYI IPNFKTPDWL KNGVMYQIFP DRFYNGDSSN DVQTGSYTYN GTPTEKKAWG SSVYADPGYD NSLVFFGGDL AGIDQKLG IKKTLGANILY LNPIPKAPT N HKYDTQDYMA VDPAFGDNST LQTLINDIHT ANGPKGYLI LDGVFNHTGD SHPWFDKYNN FSSQGAYESQ SSPWYNYTF YTWPDYASF LGFNLSLPLN YGNSSGSAVRG VIYNNNSNSVA KTYLNPPYSV DGWRLNAAQY VDANGNNGSD VTNHQIWSEF RNAVKGVNSN AAIIGQYWGN ANPWTAQGNQ WDAATNFDGF TQPVSEWITG KDYQNNASAI STTQFDSWLR GTRANYPNTV QQSMNFLSN HDITRFATRS GGDLWKTYLA LIFQMTYVGT PTIYGYDEYG MQGGADPDNR RSEFDWSQATP SNSAVALTQK LITIRNQYPA LRTGSFMTLI TDDTNKIYSY GRFDNVNRIA VVLNDSVSH TVNVPVWQLS MPNGSTVTDK ITGHSYTVQN GMVTVAVDGH YGAVLAQ	<i>Thermoactinomyces vulgaris</i> 普通高温放线菌	1UH2	40
CBD34	MRKEAIYHRP ADNFAAYDS ETLHLRLRTEK KDDIDRVELL HGDPYDWQNG AWQFQMPMR KTGSDELFDY WFAEVKPPYR RLRYGFVLYS GEEKLVYTEK GFYFEVPTDD TAYYFCFPFL	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> 嗜热脂肪地芽孢杆菌	1J0H	41

	HRVDLFEAPD WVKDTVWYQI FPERFANGNP SISPEGSRPW GSEDFPTPTSF FGGDLQGIID HLDYLVLDLGI TGIYLTPIFR SPSNHKYDTA DYFEVDPHFG DKEITLKTLLD RCHEKGIRVM LDAVFNHCGY EFAPFQDVWK NGESSKYKDW FHIHEFPLOQ EPRPNYDTFA FVPQMPKLNT ANPEVKRYLL DVATYWIREF DIDGWRLDVA NEIDHEFWRE FRQEVKALKKPDVYILGEIWH DAMPWLRGDQ FDAVMNYPFT DGVLRFFAKE EISARQFANQ MMHVLHSYPN NVNEAAFNLL GSHDTSRILT VCGGDIRKVK LLEFLFQLTFT GSPCIYYGDE IGMTGGNDPE CRKCMVWDPM QQNKELHQHV KQLIALRKQY RSLRRGEISF LHADDEMNYL IYKKTGDET VLVIINRSOQ KADIPIPLDA RGTWLVNLLT GERFAAEAEET LCTSLPPYGF VLYALEHW			
CBD36	ITKVEAENMK IGGTYAGKIS APFDGVALYA NADYVSYSQY FANSTHNISV RGASSNAGTA KVDLVIGGVT VGSFNFTGKT PTVQTLNIT HATGDQEIKL ALTSDDGTWD AYVDFIEFSL	<i>Paenibacillus polymyxa</i> 拮抗菌	IUX7	42

[0086] CBD 氨基酸序列可以通过将序列与表 1 中所示的一个或多个参考序列比对进行识别,并且确定相对参考氨基酸序列的百分比氨基酸序列相同性。“百分比(%)氨基酸序列相同性”表示多肽中的氨基酸残基与参考多肽中的氨基酸相同的百分比,在比对序列和引入间隙之后,如果需要,获得最大序列相同性,并且不考虑任何保守性取代作为序列相同性的部分。对于本发明来说,给定氨基酸序列 A 相对,与,或针对给定氨基酸序列 B 的 %氨基酸序列相同性(它可以另外表示为给定氨基酸序列 A,它相对,与,或针对给定氨基酸序列 B 具有或者包括某个 %氨基酸序列相同性)计算如下:

$$100 \times \text{分数 } X/Y$$

[0087] 其中 X 是通过序列比对记为相同匹配的氨基酸残基的数量,而其中 Y 是 B 中氨基酸残基的总数。可以理解,氨基酸序列 A 的长度不等于氨基酸序列 B 的长度,A 与 B 的 %氨基酸序列相同性不等于 B 与 A 的 %氨基酸序列相同性。

[0088] %氨基酸序列相同性还可以利用序列比较程序,如 ALIGN 2 或 NCBI-BLAST2 确定(Altschul 等,1997, Nucleic Acids Res.,25:3389-3402)。NCBI-BLAST2 序列比较程序可以从 <http://www-ncbi-nlm-nih-gov> 下载或 National Institute of Health, Bethesda, MD 获得。NCBI-BLAST2 使用若干检索参数,其中,所有这些检索参数被设定为默认值,包括,例如,unmask=yes,strand=all,预期出现率 =10,最低复杂性长度 =15/5,多路 e- 值 =0.01,多路常数 =25,最终间隙比对的下降 =25,和记录基质 =BLOSUM62。

[0089] CBD 可以包括氨基酸的缺失和添加,以及氨基酸取代。本文所述的自然形成的 CBD 的变体可以利用,例如,任何保守性和非保守性突变的技术和指南制成,例如,披露于美国专利号 5,364,934。

[0090] CBD 的序列可以与其他已知的 CBD 序列进行比较和比对,并且用于取代的氨基酸

位置的定位可被识别,因为这些位置在氨基酸方面表现出高度的可变性,即在对不同的序列进行比对和比较时,在所述位置出现至少 3 种不同的氨基酸或具有较低百分比的序列相同性,即小于 90% 的序列相同性。在比对序列时,表现可变性的位置可以具有保守性氨基酸取代或非保守性氨基酸取代。如果位置具有保守性氨基酸取代,表明在该位置被取代的氨基酸应当与在自然形成的蛋白中观察到在该位置的氨基酸是相同的类型。所述取代的例子参见表 2。在具体实施例中,关注的保守性取代在表 2 的优选取代标题下示出。

表 2

<u>原始残基</u>	<u>示例性取代</u>	<u>优选取代</u>
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; 正亮氨酸	
Leu (L)	正亮氨酸; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; type	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; 正亮氨酸	leu

[0091] 氨基酸取代可以用具有类似结构和 / 或化学特性的另一种氨基酸置换一种氨基酸的结果,如用丝氨酸置换亮氨酸,即,保守性氨基酸置换。插入或删除可选地在大约 1-5 个氨基酸范围内。允许的变化可以通过在序列上系统进行氨基酸的插入,删除或取代,并且检测所得到的变体由完整长度或成熟的自然形成序列所表现出的活性来确定。优选的,变体具有来源分子的生物活性,例如,纤维素结合活性。

[0092] 变异可以利用本领域已知的方法进行,如寡核苷酸-介导的(定点)诱变,丙氨酸扫描,和 PCR 诱变。定点诱变(Carter 等,1986, Nucl. Acids Res. ,13 :4331 ;Zoller 等,1987, Nucl. Acids Res. ,10 :6487),盒式突变(Wells 等,1985, Gene, 34 :315),限制选择诱变(Wells 等,1986, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317 :415)或其他已知的技术可以在克隆的 DNA 上进行,以产生木瓜凝乳蛋白酶变体 DNA。

[0093] 还可以采用扫描氨基酸分析,来识别沿连续序列的一种或多种氨基酸。优选的扫描氨基酸是相对较小的,中性氨基酸。所述氨基酸包括丙氨酸,甘氨酸,丝氨酸,和半胱氨酸。丙氨酸通常是该组中优选的扫描氨基酸,因为它消除了过 β -碳的侧链,并且不太可能改变变体的主链构象(Cunningham and Wells,1989, Science, 244 :1081-1085)。另外通常优选丙氨酸是因为它是最常见的氨基酸。另外,它通常出现在包埋和暴露的位置(Creighton, The Proteins, (W. H. Freeman & Co., N. Y.); Chothia, 1976, J. Mol. Biol., 150 :1)。如果丙氨酸取代不产生适量的变体,可以使用电子等排的氨基酸。

[0094] 变体 CBD 可以通过任何已知的方法生成,用于取代,删除或插入一种或多种密码子,导致 CBD 氨基酸序列与 CBD 的参考序列相比有变化。在一个实施例中,CBD 序列相对表 1 中示出的任意一种氨基酸序列具有至少 80%,85%,86%,87%,88%,89%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或 99% 的氨基酸序列相同性,并且结合到纤维素或纤维素衍生物。

[0095] 编码 CBD 的多核苷酸序列可以按照本领域普通技术人员所公知的技术合成,和/或克隆,和表达。例如,参见, Sambrook 等, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (1989)。编码 CBD 的多核苷酸可以通过本领域已知的标准重组方法生产,如聚合酶链反应(Sambrook 等, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (1989))。肽结构可以由聚合酶链反应盒组装,顺序克隆到包含选择标记的载体中,以便在宿主中增殖。所述标记包括用于真核细胞培养的二氢叶酸还原酶或新霉素抗体,和用于在大肠杆菌和其他细菌中培养的四环素或氨卡青霉素抗体基因。

[0096] 细菌表达载体可用于表达 CBD。质粒 pET 28a (Novagen, Madison, WI) 是合适表达载体的例子。pET 28a 载体的核苷酸序列和图谱是已知的,并且可以通过互联网从 [www-emdbiosciences-com](http://www.emdbiosciences-com) 方便获得。杆状病毒表达载体可用于表达 CBD。很多杆状病毒表达系统可以通过商业渠道获得,如 Baculogold (PharMingen), Bac-n-Blue (Invitrogen), Bac Pak (Clontech), 和 Bac 载体(Novagen, Madison, WI)。

[0097] 合适宿主的代表性例子包括,但不限于,细菌细胞,如大肠杆菌,链霉菌,以及表 1 中示出的微生物,真菌细胞,酵母;昆虫细胞如果蝇 S2 和草地贪夜蛾 Sf9 或 Sf21,动物细胞如 CHO, COS, 以及 Bowes 黑素瘤细胞,和植物细胞。用于上述宿主细胞的合适培养基和培养条件是本领域已知的。

[0098] 本发明的多核苷酸可以可操作地连接合适的启动子,如质粒 pET 28a 中的异丙基 β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)诱导型 T7 启动子(Studier 等,1990, Methods Enzymol., 185 :60-89)。其他合适的启动子是本领域已知的。表达结构可进一步包含转录起始的位点,转录终止的位点,以及翻译的核糖体结合位点。由结构表达的成熟多肽的编码部分可以包括在开始处的翻译起始密码子,和大致位于要翻译的多肽结尾处的终止密码子(UAA, UGA, 或 UAG)。

[0099] 将重组载体导入宿主细胞可通过磷酸钙转染, DEAE-葡聚糖介导的转染, 阳离子脂类-介导的转染, 电穿孔, 转导, 感染, 或其他方法进行。所述方法披露于标准实验室手册中, 如 Sambrook 等, 1989, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY 或 Davis 等, 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*。商用转染试剂, 如脂质体转染试剂 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 和 FuGENE 6™ (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) 也可获得。

[0100] 表达 CBD 的细胞或微生物与包括纤维素材料或纤维素衍生物的纳米纤维结合。在一个实施例中, 包括本发明的结构或基片的纤维素纳米纤维可以与稳定纳米纤维组合。稳定纳米纤维包括聚合材料的纳米纤维, 如本说明书的其他部分所提供的。在一个实施例中, 纳米纤维纤维素基片包括纤维素酯, 如纤维素乙酸酯和三乙酸纤维素, 木聚糖, 果胶, 甲壳质, 和其他类似的多糖。分散在本发明的纤维网或层中的颗粒可以包括纤维素材料和纤维素衍生物球。所述球可以用纤维素或纤维素衍生物, 如甲基纤维素, 乙基纤维素, 羟甲基纤维素, 羟乙基纤维素, 和其他制成。

[0101] 在其他实施例中, 用 CBD 序列或纤维分解菌或真菌的不同菌株探测噬菌体展示库, 以识别结合到细菌或真菌的外表面或被 CBD 结合的特定肽。所识别的肽被克隆, 测序, 并连接到本发明的纳米纤维或细纤维结构。所识别的肽在纳米纤维上提供固定位点, 用于纤维分解细菌或真菌或细胞或微生物表达 CBD 的特定菌株。

[0102] 用于构建噬菌体展示库和探测噬菌体展示库的噬菌体展示载体是已知的。例如, 参见, Smith and Petrenko, 1997, *Chem. Rev.*, 97:391-410; www-biosci-missouri-edu/smithgp/PhageDisplaywebsite; U. S. 5, 270, 170; U. S. 5, 565, 325; W000/35940; 和 W003/56691。肽库合成试剂盒和筛选试剂盒可以通过商业渠道获得, 例如, 从 Novagen (NOVATOPE®; Madison, WI) 和 Sigma-Genosys (The Woodlands, TX)。肽库还可以从商业渠道获得, 例如, 从 Dyax (Cambridge, MA) 和 Princeton BioMolecules Corp. (Langhorne, PA) 获得。

[0103] 在一个实施例中, 肽展示在噬菌体的表面上, 作为与病毒的外壳蛋白之一的融合体。编码所述肽的 DNA 被封装在病毒体内。通过将大量 DNA 序列克隆到噬菌体中, 产生展示库。可以采用生物淘选来挽救展示特定结合到 CBD 或水解纤维素细菌或真菌的肽的噬菌体。在一个实施例中, 生物淘选包括用靶涂层固体基片, 并且在基片上培养库, 以允许噬菌体向要结合的靶展示补充蛋白。基片可以是平板或片。未结合的噬菌体然后被洗掉, 而那些结合的被洗提。细菌与结合噬菌体的传染导致噬菌体扩增。连续轮次的生物淘选通过专门结合靶的克隆丰富了噬菌体池。噬菌体基因组的 DNA 测序确定结合到靶的肽的氨基酸序列。

[0104] 在一个实施例中, 生物活性颗粒结合或固定到多薄层基质的细纤维层, 通过固定分子或部分, 如细纤维层上的官能团或分子, 它可以与细胞, 微生物, 酶, 或包括生物活性颗粒的其他生物活性分子起反应或与其结合。所述官能团包括醇, 醛, 胺, 羧基, 巯基等基团。在各方面, 纤维层上的官能团是光活性基团, 例如, 碳烯或氮烯。一方面, 细纤维层包括粘附分子, 它促进生物活性颗粒与纤维层的连接。所述粘附分子包括, 例如, 纤连蛋白, 层粘蛋白, 凝血栓蛋白, 固生蛋白 C, 肌动蛋白, 纤维蛋白, 纤维蛋白原, 玻璃粘连蛋白, 钙粘着蛋白, 选择素, 细胞内粘连分子 1, 2, 或 3, 细胞-基质粘连受体, 及其组合或其混合物。例如,

本发明的细胞-基质粘连受体包括整联蛋白,例如, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_1\beta_2$, $\alpha_2\beta_3$, 或 $\alpha_6\beta_4$ 。一方面,生物活性颗粒包括纤维素结合域,它与包括细纤维层的纤维素或纤维素衍生物结合。在一个方面,纤维表面上的官能团或部分可用作栓链,它将生物活性颗粒固定至纤维表面,并且还在生物活性颗粒和纤维之间提供合适的间隔或隔离。栓链部分还可以包括多薄层基质的纤维层之间的间隔颗粒。间隔物具有一定厚度及第一和第二表面。间隔物的第一表面接触第一纤维层的表面,而间隔物的第二表面接触第二纤维层的表面,第一和第二纤维层由间隔物的厚度隔离。

[0105] 本发明的纳米纤维网和细纤维结构可用作生物反应器或发酵装置中的培养和/或生长表面,以产生高价值的药物或生物制剂,如具有治疗活性的重组多肽或抗体。抗体可以是单克隆的。单克隆抗体可以嵌合或人源化的。被遗传工程改造以产生抗体的细胞或微生物可以在本文所述的本发明的纳米纤维网或细纤维结构中生长。细胞或微生物可以栓链到本文所述的纳米纤维网或结构。

[0106] 已知很多生物反应器和发酵装置和技术,利用多种宿主细胞系统,包括大肠杆菌,酵母,植物细胞,昆虫细胞,和哺乳动物细胞,重组产生蛋白。例如,参见 U. S. 20040229310 ; U. S. 20040229310, Yang 等,2004, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 87 :61-96 ;Farid,2006, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 101 :1-42 ;Doran,*Bioprocess Engineering Principles*, 2nd Ed., Acad. Press(San Diego, CA),1995。前面已经披露了多种固态发酵装置。回顾可以参见,例如, Larroche 等,1997, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 55:179 ;Roussos 等,1993, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 42:37-52 ;Smits 等,1998, *Agro-Food-Industry Hi-Tech*, March/April :29-36。真核和原核系统可用于抗体的大规模生产。用于产生抗体的宿主细胞和载体是已知的。在一个实施例中,宿主细胞包括 CHO 细胞或大肠杆菌。

[0107] 在本发明的一个方面,抗体生产或重组多肽生产通过发酵工艺大量进行。不同的大规模分批补料发酵过程可用于生产重组蛋白。大规模发酵具有至少 10 公升的容量,优选大约 100-100,000 公升的容量。所述发酵罐采用搅拌机叶轮分配氧气和养分,特别是葡萄糖(优选的碳/能源)。小规模发酵一般是指在体积容量不大于大约 9 公升的发酵罐中进行的发酵,并且可以在大约 1 公升-大约 9 公升的范围内。

[0108] 在发酵过程中,蛋白表达的诱导通常在细胞已在合适的条件下生长到需要的密度,例如, OD_{550} 为大约 1.80-2.20 之后开始的,在该阶段细胞处在早期固定相。根据采用的载体结构,可以使用多种诱导物,如本领域已知的。在诱导之前,细胞可能生长较短的时间。细胞通常诱导约 12-50 小时,尽管可以使用更长或更短的诱导时间。

[0109] 为了改进抗体或重组多肽的产量和质量,可以更改不同的发酵条件。例如,为了改进所分泌抗体多肽的适当组装和折叠,可以使用其他载体过表达伴侣蛋白,如 Dsb 蛋白(DsbA, DsbB, DsbC, DsbD 和/或 OsbG)或 FkpA(具有伴侣蛋白活性的肽基脯氨酰顺反异构酶),以同时转化宿主原核细胞。业已证实伴侣蛋白能促进在细菌宿主细胞中产生的外源蛋白的适当折叠和可溶性。Chen 等,1999, *J. Biol. Chem.* 274:19601-19605 ;U. S. 6, 083, 715 ; U. S. 6, 027, 888 ;Botbmano 和 Pluckthun,2000, *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105 ; Ramm 和 Pluckthun,2000, *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113 ;Arie 等,2001, *Mol. Microbiol.* 39:199-210。

[0110] 为了减少表达的外源蛋白(特别是对蛋白水解敏感的蛋白)的蛋白质水解,某些缺

少蛋白水解酶的原核宿主菌株可用于本发明。例如,可以改性宿主细胞菌株,以便在编码已知细菌蛋白酶,如蛋白酶 III, OmpT, DegP, Tsp, 蛋白酶 I, 蛋白酶 Mi, 蛋白酶 V, 蛋白酶 VI 及其组合的基因上实现遗传突变。某些大肠杆菌蛋白酶缺陷的菌株可以参见并披露于,例如, Joly 等, 1998, supra ;U. S. 5, 264, 365 ;U. S. 5, 508, 192 ;Hara 等, 1996, Microbiol. Drug Resistance, 2:63-72。

[0111] 本发明的另一方面包括加工生物质的方法。提供了将生物质转换成醇的方法。在一个实施例中,通过在生物反应器系统中发酵将纤维素生物质转化成乙醇或丁醇。简单地讲,本发明的生长介质或培养介质通过微生物培养,所述微生物能够酶促消化纤维素,果胶,淀粉,木聚糖或其混合物。生长介质然后在能促进微生物发酵的条件下与纤维素生物质接触。在发酵期间,微生物厌氧性地将丙酮酸盐还原成 NAD^+ , 产生诸如乙醇或丁醇的醇作为代谢副产物。另一方面,本发明的纳米纤维网和细纤维结构或基片可用作培养和 / 或生长表面,以在生物加工或生物转化期间形成生物薄膜。生物薄膜形成是自然的过程,其中,微生物可以连接支撑或吸附剂,以形成厚的细胞层(即生物薄膜),并进一步披露于 Qureshi 等, Microbial Cell Factories 2005, 4:24-45。生物薄膜形成增加了生物反应器中的细胞密度和浓度,并因此增大反应速度和随后的乙醇或丁醇的产生量。生物薄膜形成还可用于生物学废水处理。生物薄膜通过同时的硝化作用和反硝化作用过程帮助将废水流中的氨转化成氮。通过首先培养微生物,所述微生物能够通过生物反应器的生长或培养介质形成生物薄膜,可以除去废水流中的生物污染物。生物质(包括固体和废水)然后与培养的生长介质接触。生物薄膜允许氧气穿透生物反应器,形成氧气梯度,并且提供废水的好氧反硝化作用。

[0112] 能够进行生物薄膜形成或使纤维素生物质发酵的微生物包括不同类型的酵母和厌氧性细菌,例如,酵母菌,梭菌,厌氧嗜高温菌的属类,某些真细菌,发酵单胞菌的属类,及其他。某些类型的丝状真菌也可用于这一过程,包括念珠菌属菌,脉孢菌属菌,曲霉属菌,结合酵母属菌,木霉属菌,和拟青霉菌属。在实施例中,通过本发明的生物反应器生长介质的发酵过程使用了酵母菌属,包括酿酒酵母,巴氏酵母,葡萄汁酵母,贝氏酵母,或上述菌种的混合。可用于本发明方法的梭菌包括 *C. phytofermentans*, 热纤梭菌, 纤维素水解梭菌, 丙酮丁醇梭菌, *C. populeti*, 聚糖解梭菌, *C. herbivorans*, *C. lentocellum*, *C. celerecrescens*, 氨基戊酸梭菌, 丁酸梭菌, 拜氏梭菌, *C. cellulovorans*, *C. xylanovorans*, *C. xylanolyticum*, 及其混合。可用于本发明发酵方法中的其他微生物包括 *T. thermosaccharolyticum*, *E. xylanophilum*, *E. cellulosolvens*, 运动发酵单胞菌 (*Z. mobilis*) 等。

[0113] 另一方面,本发明提供用于巩固纤维素生物质的生物加工(CBP)的方法。生物质向乙醇的转化通常涉及四种转化:糖分解酶(即纤维素酶和半纤维素酶)的产生,碳水化合物成分水解成糖;己糖(葡萄糖,甘露糖,半乳糖)的发酵,以及戊糖(木糖,阿拉伯糖)的发酵。在巩固的生物加工过程中,酶促或微生物转化生物质成醇所需的不同转化在单个步骤中进行。CBP 方法相对于多步骤方法具有更低成本和更高效率的潜力。

[0114] 在本发明的 CBP 方法中,生长介质的第一表面与纤维素生物质接触。在一个实施例中,该第一表面包括细纤维层,其中分散有生物活性颗粒。生物活性颗粒包括酶,例如纤维素酶,半纤维素酶,纤维小体。所述酶能够将纤维素,纤维素衍生物,和其他多糖,如果胶,

淀粉,木聚糖等转化成己糖和戊糖。生长介质的第二表面随后与戊糖和己糖接触。该第二表面包括生物活性颗粒,它能促进微生物发酵,并因此将糖转化成乙醇。能够进行微生物发酵的微生物包括不同类型的酵母和厌氧性细菌,例如,酵母菌属,梭菌属,嗜热厌氧杆菌属,某些真细菌属,发酵单胞菌属,和其他菌属。

[0115] 一方面,本发明的纳米纤维网和细纤维结构或基片可用作刺激器官功能,即生物人造器官,例如,生物人造肾脏的装置的部分。本发明的网包括用于细胞连接和增殖的培养或生长表面。例如,正常的肾脏成纤维细胞可以在本发明的生长介质或网上培养,利用由溶液电纺丝而成的纳米纤维,所述溶液包括 10% 聚己酸内酯(w/w)在氯仿中,补充有 0.25% 的神经鞘磷脂在 Dulbecco 改性的 Eagle' s 培养基(DME)中,在 37° C 下在 5%CO₂ 中。所述肾脏细胞结合纤维网或基片,用作离子泵并重新吸收重要的电解质,水和葡萄糖,这些物质在血液过滤期间从血液中滤出,此外还产生正常的肾脏功能和正常的流体维持所必需的其他重要分子。在一个实施例中,正常的肾脏成纤维细胞是人类的或猪的。

[0116] 另一方面,所述网包括连续的纤维结构,具有连续的纤维相和生物活性,反应,吸收或吸附活性颗粒,所述颗粒可以通过除去化学物和 / 或夹带的物质来处理流体流。流体流可以是具有夹带物质或溶解化学物的液体。夹带的物质在运动流体中可以是可溶性或不可溶性的,并且可以是液体杂质、固体杂质、和生物污染物的颗粒,包括有害的生物制品,它可能导致细胞毒性,抑制肽合成等。所述杂质可以是夹带的颗粒。液体可以通过水溶液,非水流体,水,油,及其混合物来例证。流通或流过(流动绕过)结构可用于的结构不需要 PTFE,拉伸膨胀的 Teflon[®]或其他相关的多孔含氟聚合物成分,以便获得成功的活性。

[0117] 分散表示活性颗粒粘接在纤维上,固定在网内的空穴空间中,或者在部分穿入所述网,在网表面形成空间的凹穴中。一旦形成,包括含有本发明活性颗粒的细纤维层的介质可以与介质层组合。该形式可用于流过处理装置或用于流通过滤装置,具有吸附 / 吸收或反应特性。在流过或通过装置中,介质只是被设置成一形式,通过它运动流体可以无阻碍地经过任何过滤层,并且只是接触靠近流体介质的流动通道在细纤维层形成的吸收 / 吸附或反应物质。另外,含有反应颗粒的细纤维层和介质可以形成流通过滤结构,它可以从运动流体中除去颗粒,同时在过滤模式下,本发明的介质可以在过滤模式下从运动流体中除去所夹带的颗粒,同时吸收,吸附流体相中不希望的物质,或与它起化学反应,所述不希望的物质可以是或不是颗粒形式的。

[0118] 术语过滤器表示实际用于处理运动流体的结构。"过滤器"通常包括外壳,具有入口和出口。术语"元件"通常是指用于过滤器组件中的结构,它包括介质层和其他部件,得到有用的结构稳定的装置,可以插入过滤器结构并从过滤器结构取出。本发明的元件或网包括介质层,它包括分散遍及细纤维网的颗粒。结合的细纤维和颗粒可以形成在基片层上,以形成过滤介质。

[0119] 颗粒可以包括一定量的单个类型的颗粒或不同颗粒的混合。例如,活性颗粒可以与惰性颗粒混合,用于所述层。惰性颗粒可以包括单一颗粒或可以是惰性颗粒的混合物,该混合物在组成粒度,颗粒形态或某些其他颗粒方面不同。类似地,活性颗粒可以包括含有不同活性颗粒的颗粒混合物。例如,碳颗粒可以与沸石颗粒混合。另外,羧基甲基纤维素颗粒可以与离子交换树脂颗粒在活性层中混合。另外,所述活性颗粒可以具有混合的颗粒,即不同大小、形状或方法的颗粒可以组合在本发明的活性层中。术语"夹带的颗粒"是指运动

流体中的杂质,而术语“分散的颗粒”是指故意包含在本发明的纤维层中的颗粒。

[0120] 本发明的元件可用于两种单独模式之一。所述模式被命名为“流通”或“流过”。在流通模式,运动流体、液体或气体在过滤模式下沿基本垂直于纤维层平面的流动通过细纤维层和基片。夹带的颗粒可能遇到并被元件除去,并且随着流体通过层与颗粒接触时,所述颗粒可以与悬浮或溶解在流体中的吸收或吸附的化学物质反应。

[0121] 在所过模式下,流体通道大体上平行于细纤维层或元件表面的平面。在流过模式,流体接触层的表面,并且基本不流动通过元件。尽管根据黏度,流率,温度,元件结构,流体可能在某种程度上穿透所述层,并且可以从一层流向另一层,流体传送的主要模式是沿基本平行于所述层表面的方向绕过所述层。在所述模式中,流体可以接触所述层的表面,并且溶解和悬浮在流体中的化学物质可以与所述颗粒起反应,被所述颗粒吸收或吸附。

[0122] 流通和流过元件能够以多种形式使用。流通元件可用于传统过滤器结构,包括某些其他过滤器结构中的滤芯板,元件为折叠或非折叠模式。类似地,流过介质可被包括在板和滤芯结构中。

[0123] 使用流过材料的一种优选的模式是成卷的介质。成卷的介质通过以下方法制备:通过如果需要对纤维层进行热处理首先形成细纤维和颗粒层,然后卷绕元件成为具有 2-50 层的多层卷。所述卷的厚度,或层之间的间隔,确定流体通过结构的流速。流速可以通过将通道引入成卷介质中来改进。所述通道可以在基片上预成型,细纤维纺丝在基片上,或者通道可以在细纤维层在基片上形成并随后根据需要进行热处理之后形成在元件中。通过加工步骤可以包括机械形式或隔离物。所述形式或隔离物可以将通道引入结构中。成卷材料可以包含至少一个隔离部分,以便在成卷结构的一个部分固有形成通道。另外,可以设置额外的隔离物,使得成卷结构的每一层具有至少一个通道部分。可以使用任意数量的隔离物。可以使用至少一个隔离物/每层,直到 5,10 或 20 个隔离物/每层。在隔离物层在元件中形成通道之后,可以将隔离物移去。隔离物能够以一种方式被移去,通过展开元件并从元件物理移去隔离物。不过,在另一种模式,隔离物可以只是利用溶剂从成卷组件洗去,其中隔离物(而不是基片细纤维或颗粒)是可溶的,因此除去了隔离物并留下了流通通道结构。隔离物可被设置成实际上任何形状或结构,只要隔离物可以提供从所述卷第一端到所述卷第二端的通道,提供流体的流通通道。优选的,通道的尺寸在主要尺寸上大于约 1mm,并且主要尺寸可以在大约 1-500mm 的范围内。通道的外形可以是圆形,椭圆形,环形,矩形,正方形,三角形,或其他剖面外形。外形可以是规则的,或者它可以是不规则和无定形的。另外,沿着通道,通道的剖面外形从一端到另一端可以变化。例如,在成卷结构的入口端,通道可以具有较大的截面积,而在相对端,截面积可能小于入口端。另外,入口端的截面积可能小于出口端。隔离物大小的任何其他变化可能增大流动的紊乱,导致改进的流体和颗粒之间的接触。

[0124] 本发明的活性网或元件可以包括细纤维层,具有颗粒分散在纤维层中,以便吸附/吸收运动流体相中夹带的材料或与运动流体相中夹带的材料起反应。所述元件或网可以多种形式与其他活性或反应物质结合。本发明的颗粒可以是与纤维分离的离散颗粒,或者颗粒可以粘附或附着在纤维的表面上。当颗粒是生物活性物质时,它可以通过接种入纤维网,或通过将生物活性颗粒分散到纤维网中,与元件或纤维网结合,如下文所述。颗粒可以嵌入纤维中,并且可以部分或全部由纤维团包围。为了形成所述结构,颗粒可以在纺丝之后与纤

维结合,可以在纺丝期间在纤维干燥和固化时添加到纤维,或者可以在纺丝之前添加到纺丝溶液中,使得颗粒部分或全部嵌入纤维中。

[0125] 形成活性层的一种方法可以是通过将活性颗粒分散在含水或非水相成分中,使活性或生物活性颗粒形成在片材层中,或使活性颗粒粘附至本发明的网或元件的一种或多种成分。本发明的任何活性颗粒可以整合入含水或非水液相,用于上述目的。在形成非水材料时,非水溶剂,优选挥发性溶剂,包括诸如低醇,醚,低沸点烃馏分,氯仿二氯甲烷,二甲亚砜(DMSO)及其他材料,可以通过将材料的活性颗粒与可溶性或可分散的结合材料结合来制备。所述溶液可以应用于纤维颗粒片材状基片或其他材料,以形成含有活性颗粒的层,可以该形式吸收/吸附运动流体相中夹带的材料,或与运动流体相中夹带的材料起反应。另外,本发明的活性颗粒可以分散在结合材料的水溶液或悬浮液中,可以类似地与纤维颗粒或网片材状基片结合或涂在它上面,以便形成活性颗粒的活性层。另外,本发明的活性颗粒可以分散或悬浮在混合的含水有机相中,它结合了水相和有机相。有机相可以包括其他溶剂或其他有机液体或可以包括含水聚合物相,如丙烯酸聚合物,PTFE 聚合物。所述混合相可以形成层,含有活性颗粒,并且另外可以包含交联成分,所述成分可以形成相邻聚合物之间的结合,进一步固化薄膜的涂层。

[0126] 可以利用热处理或热结合工艺形成不同的层,其中没有完全不同的纤维。热处理可以将单独纤维加热到单独纤维的熔融或熔点温度或以上温度,然后导致纤维粘接,聚结,或形成熔融的网络,薄膜或薄膜状结构。根据热处理的温度、压力和时间,热处理可以将纤维从只有表面接触的中等长度的纤维的随机分布层转化成纤维更紧密关联的层。至少,纤维被加热,使得在纤维的相交处,纤维熔合以形成熔融的网络。通过额外的热压力,和热处理时间,纤维可以进一步熔化并且进一步聚结成更密切关联的网。通过进一步的温度,时间和压力,纤维可以更完全熔化,并且散布成多孔薄膜状结构。热处理还可以改变颗粒的位置。在纤维只是被贯穿分布的情况,颗粒分布在细纤维各处。热处理可以将颗粒固定在结构上,其中,颗粒表面结合至热处理的纤维网,或薄膜状结构;不过,同样取决于加热的温度,时间和压力,颗粒可以整合入并遍及多孔薄膜状结构。所述热处理或压延的结构可以具有有的层厚度接近初始细纤维层,或得到的层比初始细纤维层薄。因此,如果初始细纤维层的厚度在大约 0.5-200 微米的范围内,所得到层的厚度可以在大约 0.5- 大约 150 微米的范围内或更小通常达到 100 微米,并有时达到 50 微米,取决于纤维纺丝量,颗粒含量,和热处理程度,包括加热,压力和时间。一种形式的所述热处理工艺是压延作业,它可以热利用。压延工艺使用辊,辊和压纹机,或压纹机,以形成热处理的层。压纹机可以采用结合图案,可以产生规则的,中间的,或随机的图案。在使用图案时,图案可以占表面积的 50% 或以上。通常,结合的阵列占表面积的大约 1-75%,通常为表面积的大约 10-50%。

[0127] 根据用于不同层的细纤维的性质和复合物的生产速度,压延工艺参数诸如时间,温度和压力可以不同,以获得可接受的结果。压延辊的温度可以在大约 25-200°C 的范围内。利用压延辊或辊的组合施加在所述层的压力可以达到 500psi,并且复合物通过热处理工位的速度可以在大约 1- 大约 500 英尺/分钟 的范围内。热处理工位的工作参数必须调整,以便适当热量输送到纤维,以获得合适的最终结构。热量不能过少,免得不能软化或熔化纤维的某些部分,并且不能使纤维完全熔化和分散在基片中。所输送的总热量易于调节,以便结合纤维,软化整个纤维,或完全使纤维形成成为多孔薄膜。操作参数的所述微调属于本领域技

术人员的常识。

[0128] 本发明的网或元件可以由多种不同的层组成。所述层可以包括活性层和非活性层。活性层通常包括细纤维网,具有颗粒分散在细纤维内或其他浸渍层含有吸附/吸收或反应颗粒的层或其他所述结构。所述层可以制成本发明的可用元件,与保护层,空间层,活性层,非活性层,支撑层结合,并且所有可以被整合或封装入传统滤芯板或其他所述保护结构。活性颗粒的优选形式包括吸附碳颗粒。

[0129] 对于具体的过滤器应用,形成在本发明过滤器中的基片上的细纤维层在颗粒分布,过滤性能和纤维分布方面应当基本均匀。基本均匀,表示纤维对基片具有足够的覆盖率,贯穿所覆盖的基片具有至少某种可测量的过滤效率。本发明的介质可用于层压物,在过滤器结构中具有多个网。本发明的介质包括至少一个细纤维结构网。在它上面可以形成细纤维和活性颗粒的基片可以是活性或非活性基片。所述基片可以将活性材料以涂层,颗粒,或纤维的形式整合入基片层,对总体结构添加吸附/吸收或反应特性。

[0130] 在一个实施例中,纤维网的总厚度为纤维直径的大约 1-100 倍或大约 1-300 微米或大约 5-200 微米。所述网可以包括大约 5-95wt.-% 的纤维和大约 95-5wt.-% 的活性颗粒或大约 30-75wt.-% 的纤维和大约 70-25wt.-% 的活性颗粒,占所述层的大约 0.1-50vol%,或占所述层的大约 1-50vol% 或 2-50vol%。介质的总体密实度(包括活性或非活性颗粒的贡献)为大约 70% 或以下,或 0.1- 大约 50%,优选大约 1- 大约 30%。不包括结构中颗粒贡献的所述网的密实度为大约 10- 大约 80%。本发明的过滤介质可以获得的过滤效率为大约 40- 大约 99.99%,这按照本文所披露的 ASTM-1215-89 进行测量,使用 0.78 μ 单分散聚苯乙烯球形颗粒,流速为 13.21fpm (4 米/分钟)。本发明的过滤网通常在 Frazier 渗透性试验中表现出的渗透性为至少大约 1 米-分钟⁻¹,优选大约 5- 大约 50 米-分钟⁻¹。当用作非活性颗粒或隔离装置时,表征本发明所述网颗粒相的颗粒是这样的颗粒,它或者对运动相和夹带的污染物载荷呈惰性或者对于运动流体或载荷具有某种特定的活性。

[0131] 本发明的颗粒材料具有的尺寸能够改进介质的过滤特性和本发明结构的活性反应,吸收或吸附特征。材料可以用多种可用的材料制成。材料可以对于通过所述网的运动相和夹带的颗粒载荷基本呈惰性,或者材料可以与流体或颗粒载荷相互作用。在“惰性”模式,隔离颗粒只改变纤维层和包括一个或多个纤维层的介质的物理参数。当使用与流体或颗粒载荷相互作用的颗粒时,颗粒除了改变介质或层的物理特性之外,还可以与运动流体或颗粒载荷的部分起反应或吸收或吸附运动流体或颗粒载荷的部分,以便改变穿过纤维网的材料。本文所述技术的主要目的是改进介质或层的物理结构和吸收,反应或吸附特征,并且改进过滤性能。为了上述目的,可以使用活性或惰性颗粒。在某些用途中,基本惰性颗粒可以与能够与运动相或颗粒载荷相互作用的颗粒结合使用。在所述用途中,可以使用惰性颗粒和相互作用颗粒的组合。活性颗粒和惰性颗粒的所述组合可以提供改进的过滤特性和吸收,或吸附特性。

[0132] 优选的生物活性,吸附或吸收装置包括颗粒。所述颗粒,用于本发明的纤维结构,占据多薄层层叠或基质内的空间,降低了纤维的有效密度,增加了流体通过过滤器的曲折路径,并且吸收、吸附流体或溶解或分散在流体中的材料或与它们起反应。另外,颗粒可以提供机械空间保持效果,同时还能与运动流体发生化学反应或吸附或吸收运动流体中生物杂质或污染物的气体,液体或固体成分。本发明的活性层可以包括纳米纤维层和分散在纳

米纤维层内的本发明的生物活性,吸收,或吸附颗粒。在一个实施例中,本发明的纳米纤维层的厚度为大约 25nm-2.0 微米,0.5- 大约 300 微米,1- 大约 250 微米或 2- 大约 200 微米,并且在层中包含占所述层大约 0.1- 大约 50 或 10- 大约 50vol% 的本发明惰性(如果有的话)和活性颗粒形式的颗粒。在这里,本发明的生物活性颗粒可以某个量与惰性隔离颗粒结合。本发明的生物活性颗粒用于吸收,吸附流体流内的污染物或与它起反应,而惰性颗粒只是在所述层内提供排除体积,以降低密度,改进效率和其他过滤特性。

[0133] 低压力降活性颗粒,化学反应,吸收,或吸附基片用于从空气流中除去气相污染物,是由吸收 / 吸附 / 反应介质的扁平片材卷,与隔离介质层压或卷绕在一起,以形成具有开口通道和吸收 / 吸附 / 反应壁的吸附 / 反应基片而形成。另外,隔离介质可制成吸收性 / 吸附性 / 生物活性的,以便对最终化学装置的总体寿命 / 性能作出贡献。形成开口通道的隔离介质可以用筛网,聚合物球的单线,胶点,金属肋,波纹状金属丝 / 聚合物 / 纸筛网,波纹状金属 / 纸 / 聚合物片材,聚合物条,黏合剂条,金属条,陶瓷条,纸条,或者甚至由设置在介质表面的凹痕形成。通过由吸收 / 吸附 / 生物活性材料涂敷它们或挤压 / 形成它们,所述隔离介质可被制成吸收性 / 吸附性 / 生物活性的。通道的大小和形状由空间介质的形状和大小控制。例子包括正方形,矩形,三角形和不确定的形状,可以通过聚合物 / 黏合剂的点阵图案形成。所述壁和隔离介质的化学性质可以特定以吸附酸性,碱性,以及有机和水蒸气,以及若干特定类的化合物,包括反应性羰基化合物,包括甲醛,乙醛和丙酮,和有害的生物制品或污染物。

[0134] 颗粒和纤维(还有纳米纤维)的组合得到一材料,它具有若干优点:增强的扩散;允许使用更小的颗粒,从而增加了外表面积,并因此提高反应速度;增强的渗入反应层的渗透力;将颗粒和化学过滤组合成单个层;以及将反应物直接用于过滤用途,而不需要基片或载体(即浸渍的吸附剂)。

[0135] 除了使用已被接种或粘接到反应或生物活性物质的颗粒之外,本领域技术人员显而易见的是,上述对颗粒的改性可以在形成纤维网和结构之后进行。在形成纤维网和结构之后对颗粒和网赋予反应活性,可以利用多种不同的涂层工艺完成。例如,喷雾涂层,浸渍涂层,气溶胶沉积,化学蒸气沉积,吻合涂层,和真空涂层。最终步骤可能涉及干燥工艺,可能包括或不包括热处理,气体排放,或真空方法。

[0136] 在一个实施例中,活性和 / 或生物活性颗粒沉积在基片上,所述基片可以是任何薄的、柔性的多孔基片(例如,纤维织物,纸,网等)。纳米纤维将活性生物活性颗粒结合在薄层中,从而减少颗粒的脱落。该基片层和纳米纤维 / 生物活性层的整个组合随后与隔离物层卷绕,提供非限制性通道,用于流体流动或输送。所述层可以包括颗粒的混合,所述颗粒各自与不同的化学物质起反应。例如,活性或生物活性颗粒可以针对酸性,碱性或反应性有机污染物。示例活性颗粒包括用于除去胺和氨的柠檬酸,用于除去二氧化硫和其他酸性气体的氢氧化钾,和用于除去含有羰基化合物的 2,4- 二硝基苯肼。本发明的另一方面是使用纳米纤维和柠檬酸粉末,或小颗粒,接种或沉积在基片上,所述基片可以是任何薄的、柔性的多孔基片(例如,纤维织物,纸,网状织物等)。

[0137] 纳米纤维将生物活性颗粒结合在薄层中,并因此减少颗粒的脱落。该基片层和纳米纤维 / 生物活性层的整个组合随后与隔离物层卷绕,提供非限制性通道,用于流体流动或输送。

[0138] 本发明的介质结构包括具有第一表面的第一层纤维介质或基片。优选的,第一层可渗透粗纤维材料包括平均直径为至少 10 微米,通常并优选为大约 12 (或 14)-30 微米的纤维。同样优选的,第一层纤维材料包括基重不大于大约 200g/m²,优选大约 0.50-150g/m²,最优选至少 8g/m² 的介质。优选的,第一层纤维介质至少 0.0005 英寸(12 微米)厚,并通常和优选的为大约 0.001-0.030 英寸(25-800 微米)厚。本发明的元件,包括细纤维和分散的颗粒层可以与本说明书其他部分所讨论的不同其他层组合。所述层可以制成本发明的扁平或共平面片材形式的层或可以是折叠的,波纹状的或形成构成本发明的低压力降流通元件所需要的实际任何其他截面形状。基片可以包括膨胀的聚 PTFE 层或特氟纶(Teflon)层。基片还可以基本不含 Teflon,膨胀的聚 PTFE 层,或拉伸的 PTFE 纤维或层。所述层可用于多种用途,可以提供过滤和来自活性颗粒的活性。所述层还有助于限制颗粒进入元件。

[0139] 在优选的结构中,第一层纤维材料包括这样的材料,如果通过 Frazier 渗透性试验独立于结构的其余部分进行评估,所表现出的渗透性为至少 1 米/分钟,并通常和优选大约 2-900 米/分钟。在本文中,当提到效率,除非另有说明,效率是指按照 ASTM-1215-89 进行测量,使用 0.78 μ 单分散聚苯乙烯球形颗粒,速度为 20fpm(6.1 米/分钟),如本文所披露的。

[0140] 优选的,固定到可渗透粗纤维介质层的第一表面的细纤维材料层是纳米和微纤维介质层,其中,纤维的平均纤维直径为不大于大约 2 微米,一般并且优选的不大于大约 1 微米,并通常和优选的纤维直径小于 0.5 微米,并在大约 0.05-0.5 微米的范围内。另外,优选固定至第一层可渗透粗纤维材料的第一表面的第一层细纤维材料的总厚度不大于大约 30 微米,更优选不大于 20 微米,最优选不大于大约 10 微米,并通常和优选的厚度为所述层的细纤维平均直径的大约 1-8 倍(更优选不大于 5 倍)。

[0141] 本发明的元件当使用过滤模式时,应当具有最小的压力降,以便作为过滤器具有可接受的功能,并且获得活性颗粒的活性。所述压力降信息对于本发明过滤装置的类型是已知的。所述压力降参数定义本发明过滤元件的使用寿命。本发明的元件,当使用流通模式而没有居间过滤器层时,应当少有或没有对运动流流动通过元件的阻力(例如,小于 0.1 英寸或小于 1-5 英寸水)。流动应当不受约束,不过流体在元件内的停留时间必须足以获得元件中所需的足够的接触和吸收/吸附/反应,以获得来自元件内活性颗粒的需要活性。根据活性颗粒,可用的停留时间可以为大约 0.01 到只要实现除去某些夹带材料所需要的时间。停留时间可以为 0.02 秒至长达 5 分钟,并且通常在大约 0.01-60 秒,0.01-1 秒或少到 0.02-0.5 秒范围内。所述装置的寿命由活性颗粒的载荷和装置中的残留活性量定义。一些少量的压力降可以被设计入元件中,以减缓流动,并且延长停留时间,而又不明显阻碍流动。

[0142] 本发明的介质,网,层或元件可以再生。就本发明反应颗粒来说,可以通过对颗粒进行化学处理来再生颗粒。就吸收或吸附颗粒来说,颗粒可以通过将元件加热到一温度,足以从颗粒表面或内部结构驱动吸收或吸附材料来生成。元件还可以被抽真空,使得降低压力的影响可以从吸附颗粒的表面或从吸收颗粒的内部除去挥发性材料。

[0143] 反应物质可以通过首先从活性物质与流体相中进入材料的反应物中除去任何反应副产品来再生。在一个所述反应中,除去了副产品,保留在元件内的颗粒通过使活性材料的溶液或悬浮液通过元件来强化,导致包括细纤维层的内部结构积聚额外量的反应材料。

[0144] 上述说明书, 示例和数据提供了对本发明组合物的制造和使用的全面说明。由于在不超出本发明的构思和范围的前提下可以提出本发明的很多实施例, 本发明的范围由所述权利要求书确定。

Ala Ser Ser Gly Pro Ala Gly Cys Gln Val Leu Trp Gly Val Asn Gln
1 5 10 15

Trp Asn Thr Gly Phe Thr Ala Asn Val Thr Val Lys Asn Thr Ser Ser
20 25 30

Ala Pro Val Asp Gly Trp Thr Leu Thr Phe Ser Phe Pro Ser Gly Gln
35 40 45

Gln Val Thr Gln Ala Trp Ser Ser Thr Val Thr Gln Ser Gly Ser Ala
50 55 60

Val Thr Val Arg Asn Ala Pro Trp Asn Gly Ser Ile Pro Ala Gly Gly
65 70 75 80

Thr Ala Gln Phe Gly Phe Asn Gly Ser His Thr Gly Thr Asn Ala Ala
85 90 95

Pro Thr Ala Phe Ser Leu Asn Gly Thr Pro Cys Thr Val Gly
100 105 110

<210> 3

<211> 87

<212> PRT

<213> 粪碱纤维单胞菌

<400> 3

Thr Gly Cys Ser Val Thr Ala Thr Arg Ala Glu Glu Trp Ser Asp Arg
1 5 10 15

Phe Asn Val Thr Tyr Ser Val Ser Gly Ser Ser Ala Trp Thr Val Asn
20 25 30

[0003]

Leu Ala Leu Asn Gly Ser Gln Thr Ile Gln Ala Ser Trp Asn Ala Asn
 35 40 45

Val Thr Gly Ser Gly Ser Thr Arg Thr Val Thr Pro Asn Gly Ser Gly
 50 55 60

Asn Thr Phe Gly Val Thr Val Met Lys Asn Gly Ser Ser Thr Thr Pro
 65 70 75 80

Ala Ala Thr Cys Ala Gly Ser
 85

<210> 4
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 粪碱纤维单胞菌

<400> 4

Thr Gly Ser Cys Ser Val Ser Ala Val Arg Gly Glu Glu Trp Ala Asp
 1 5 10 15

Arg Phe Asn Val Thr Tyr Ser Val Ser Gly Ser Ser Ser Trp Val Val
 20 25 30

Thr Leu Gly Leu Asn Gly Gly Gln Ser Val Gln Ser Ser Trp Asn Ala
 35 40 45

Ala Leu Thr Gly Ser Ser Gly Thr Val Thr Ala Arg Pro Asn Gly Ser
 50 55 60

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

Pro Gly Ala Thr Cys Ala Thr Gly

[0004]

85

<210> 5
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> 纤维素分解菌

<400> 5

Ala Gly Thr Gly Val Val Ser Val Gln Phe Asn Asn Gly Ser Ser Pro
 1 5 10 15

Ala Ser Ser Asn Ser Ile Tyr Ala Arg Phe Lys Val Thr Asn Thr Ser
 20 25 30

Gly Ser Pro Ile Asn Leu Ala Asp Leu Lys Leu Arg Tyr Tyr Tyr Thr
 35 40 45

Gln Asp Ala Asp Lys Pro Leu Thr Phe Trp Cys Asp His Ala Gly Tyr
 50 55 60

Met Ser Gly Ser Asn Tyr Ile Asp Ala Thr Ser Lys Val Thr Gly Ser
 65 70 75 80

Phe Lys Ala Val Ser Pro Ala Val Thr Asn Ala Asp His Tyr Leu Glu
 85 90 95

Val Ala Leu Asn Ser Asp Ala Gly Ser Leu Pro Ala Gly Gly Ser Ile
 100 105 110

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

Ser Asn Asp Trp Ser Tyr Thr Ala Ala Gly Ser Tyr Met Asp Trp Gln
 130 135 140

[0005]

Lys Ile Ser Ala Phe Val Gly Gly Thr Leu Ala Tyr Gly Ser Thr Pro
 145 150 155 160

<210> 6
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 热纤梭菌

<400> 6

Asn Leu Lys Val Glu Phe Tyr Asn Ser Asn Pro Ser Asp Thr Thr Asn
 1 5 10 15

Ser Ile Asn Pro Gln Phe Lys Val Thr Asn Thr Gly Ser Ser Ala Ile
 20 25 30

Asp Leu Ser Lys Leu Thr Leu Arg Tyr Tyr Tyr Thr Val Asp Gly Gln
 35 40 45

Lys Asp Gln Thr Phe Trp Cys Asp His Ala Ala Ile Ile Gly Ser Asn
 50 55 60

Gly Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Ser Asn Val Lys Gly Thr Phe Val Lys
 65 70 75 80

Met Ser Ser Ser Thr Asn Asn Ala Asp Thr Tyr Leu Glu Ile Ser Phe
 85 90 95

Thr Gly Gly Thr Leu Glu Pro Gly Ala His Val Gln Ile Gln Gly Arg
 100 105 110

Phe Ala Lys Asn Asp Trp Ser Asn Tyr Thr Gln Ser Asn Asp Tyr Ser
 115 120 125

[0006]

Phe Lys Ser Ala Ser Gln Phe Val Glu Trp Asp Gln Val Thr Ala Tyr
 130 135 140

Leu Asn Gly Val Leu Val Trp Gly Lys Glu Pro
 145 150 155

<210> 7
 <211> 605
 <212> PRT
 <213> 嗜高温放线菌

<400> 7

Glu Pro Ala Phe Asn Tyr Ala Glu Ala Leu Gln Lys Ser Met Phe Phe
 1 5 10 15

Tyr Glu Ala Gln Arg Ser Gly Lys Leu Pro Glu Asn Asn Arg Val Ser
 20 25 30

Trp Arg Gly Asp Ser Gly Leu Asn Asp Gly Ala Asp Val Gly Leu Asp
 35 40 45

Leu Thr Gly Gly Trp Tyr Asp Ala Gly Asp His Val Lys Phe Gly Phe
 50 55 60

Pro Met Ala Phe Thr Ala Thr Met Leu Ala Trp Gly Ala Ile Glu Ser
 65 70 75 80

Pro Glu Gly Tyr Ile Arg Ser Gly Gln Met Pro Tyr Leu Lys Asp Asn
 85 90 95

Leu Arg Trp Val Asn Asp Tyr Phe Ile Lys Ala His Pro Ser Pro Asn
 100 105 110

[0007]

Val Leu Tyr Val Gln Val Gly Asp Gly Asp Ala Asp His Lys Trp Trp
 115 120 125

Gly Pro Ala Glu Val Met Pro Met Glu Arg Pro Ser Phe Lys Val Asp
 130 135 140

Pro Ser Cys Pro Gly Ser Asp Val Ala Ala Glu Thr Ala Ala Ala Met
 145 150 155 160

Ala Ala Ser Ser Ile Val Phe Ala Asp Asp Asp Pro Ala Tyr Ala Ala
 165 170 175

Thr Leu Val Gln His Ala Lys Gln Leu Tyr Thr Phe Ala Asp Thr Tyr
 180 185 190

Arg Gly Val Tyr Ser Asp Cys Val Pro Ala Gly Ala Phe Tyr Asn Ser
 195 200 205

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

Lys Ala Thr Gly Asp Asp Ser Tyr Leu Ala Lys Ala Glu Tyr Glu Tyr
 225 230 235 240

Asp Phe Leu Ser Thr Glu Gln Gln Thr Asp Leu Arg Ser Tyr Arg Trp
 245 250 255

Thr Ile Ala Trp Asp Asp Lys Ser Tyr Gly Thr Tyr Val Leu Leu Ala
 260 265 270

Lys Glu Thr Gly Lys Gln Lys Tyr Ile Asp Asp Ala Asn Arg Trp Leu
 275 280 285

[0008]

Asp Tyr Trp Thr Val Gly Val Asn Gly Gln Arg Val Pro Tyr Ser Pro
290 295 300

Gly Gly Met Ala Val Leu Asp Thr Trp Gly Ala Leu Arg Tyr Ala Ala
305 310 315 320

Asn Thr Ala Phe Val Ala Leu Val Tyr Ala Lys Val Ile Asp Asp Pro
325 330 335

Val Arg Lys Gln Arg Tyr His Asp Phe Ala Val Arg Gln Ile Asn Tyr
340 345 350

Ala Leu Gly Asp Asn Pro Arg Asn Ser Ser Tyr Val Val Gly Phe Gly
355 360 365

Asn Asn Pro Pro Arg Asn Pro His His Arg Thr Ala His Gly Ser Trp
370 375 380

Thr Asp Ser Ile Ala Ser Pro Ala Glu Asn Arg His Val Leu Tyr Gly
385 390 395 400

Ala Leu Val Gly Gly Pro Gly Ser Pro Asn Asp Ala Tyr Thr Asp Asp
405 410 415

Arg Gln Asp Tyr Val Ala Asn Glu Val Ala Thr Asp Tyr Asn Ala Gly
420 425 430

Phe Ser Ser Ala Leu Ala Met Leu Val Glu Glu Tyr Gly Gly Thr Pro
435 440 445

Leu Ala Asp Phe Pro Pro Thr Glu Glu Pro Asp Gly Pro Glu Ile Phe
450 455 460

[0009]

Val Glu Ala Gln Ile Asn Thr Pro Gly Thr Thr Phe Thr Glu Ile Lys
465 470 475 480

Ala Met Ile Arg Asn Gln Ser Gly Trp Pro Ala Arg Met Leu Asp Lys
485 490 495

Gly Thr Phe Arg Tyr Trp Phe Thr Leu Asp Glu Gly Val Asp Pro Ala
500 505 510

Asp Ile Thr Val Ser Ser Ala Tyr Asn Gln Cys Ala Thr Pro Glu Asp
515 520 525

Val His His Val Ser Gly Asp Leu Tyr Tyr Val Glu Ile Asp Cys Thr
530 535 540

Gly Glu Lys Ile Phe Pro Gly Gly Gln Ser Glu His Arg Arg Glu Val
545 550 555 560

Gln Phe Arg Ile Ala Gly Gly Pro Gly Trp Asp Pro Ser Asn Asp Trp
565 570 575

Ser Phe Gln Gly Ile Gly Asn Glu Leu Ala Pro Ala Pro Tyr Ile Val
580 585 590

Leu Tyr Asp Asp Gly Val Pro Val Trp Gly Thr Ala Pro
595 600 605

<210> 8

<211> 155

<212> PRT

<213> 海栖热袍菌

<400> 8

Ser Ile Asn Asn Gly Thr Phe Asp Glu Pro Ile Val Asn Asp Gln Ala

[0010]

1	5	10	15
Asn Asn Pro Asp Glu Trp Phe Ile Trp Gln Ala Gly Asp Tyr Gly Ile	20	25	30
Ser Gly Ala Arg Val Ser Asp Tyr Gly Val Arg Asp Gly Tyr Ala Tyr	35	40	45
Ile Thr Ile Ala Asp Pro Gly Thr Asp Thr Trp His Ile Gln Phe Asn	50	55	60
Gln Trp Ile Gly Leu Tyr Arg Gly Lys Thr Tyr Thr Ile Ser Phe Lys	65	70	75
Ala Lys Ala Asp Thr Pro Arg Pro Ile Asn Val Lys Ile Leu Gln Asn	85	90	95
His Asp Pro Trp Thr Asn Tyr Phe Ala Gln Thr Val Asn Leu Thr Ala	100	105	110
Asp Trp Gln Thr Phe Thr Phe Thr Tyr Thr His Pro Asp Asp Ala Asp	115	120	125
Glu Val Val Gln Ile Ser Phe Glu Leu Gly Glu Gly Thr Ala Thr Thr	130	135	140
Ile Tyr Phe Asp Asp Val Thr Val Ser Pro Gln	145	150	155
<210> 9			
<211> 152			
<212> PRT			
<213> 粪碱纤维单胞菌			

[0011]

<400> 9

Ala Ser Pro Ile Gly Glu Gly Thr Phe Asp Asp Gly Pro Glu Gly Trp
 1 5 10 15

Val Ala Tyr Gly Thr Asp Gly Pro Leu Asp Thr Ser Thr Gly Ala Leu
 20 25 30

Cys Val Ala Val Pro Ala Gly Ser Ala Gln Tyr Gly Val Gly Val Val
 35 40 45

Leu Asn Gly Val Ala Ile Glu Glu Gly Thr Thr Tyr Thr Leu Arg Tyr
 50 55 60

Thr Ala Thr Ala Ser Thr Asp Val Thr Val Arg Ala Leu Val Gly Gln
 65 70 75 80

Asn Gly Ala Pro Tyr Gly Thr Val Leu Asp Thr Ser Pro Ala Leu Thr
 85 90 95

Ser Glu Pro Arg Gln Val Thr Glu Thr Phe Thr Ala Ser Ala Thr Tyr
 100 105 110

Pro Ala Thr Pro Ala Ala Asp Asp Pro Glu Gly Gln Ile Ala Phe Gln
 115 120 125

Leu Gly Gly Phe Ser Ala Asp Ala Trp Thr Leu Cys Leu Asp Asp Val
 130 135 140

Ala Leu Asp Ser Glu Val Glu Leu
 145 150

<210> 10

<211> 149

[0012]

Gln Val Ser Leu Thr Thr Ser Ala Thr
145 150

<210> 12

<211> 168

<212> PRT

<213> 菊欧文氏菌

<400> 12

Met Leu Val Ala Asn Ile Asn Gly Gly Phe Glu Ser Thr Pro Ala Gly
1 5 10 15

Val Val Thr Asp Leu Ala Glu Gly Val Glu Gly Trp Asp Leu Asn Val
20 25 30

Gly Ser Ser Val Thr Asn Pro Pro Val Phe Glu Val Leu Glu Thr Ser
35 40 45

Asp Ala Pro Glu Gly Asn Lys Val Leu Ala Val Thr Val Asn Gly Val
50 55 60

Gly Asn Asn Pro Trp Asp Ile Glu Ala Thr Ala Phe Pro Val Asn Val
65 70 75 80

Arg Pro Gly Val Thr Tyr Thr Tyr Thr Ile Trp Ala Arg Ala Glu Gln
85 90 95

Asp Gly Ala Val Val Ser Phe Thr Val Gly Asn Gln Ser Phe Gln Glu
100 105 110

Tyr Gly Arg Leu His Glu Gln Gln Ile Thr Thr Glu Trp Gln Pro Phe
115 120 125

Thr Phe Glu Phe Thr Val Ser Asp Gln Glu Thr Val Ile Arg Ala Pro

[0015]

130

135

140

Ile His Phe Gly Tyr Ala Ala Asn Val Gly Asn Thr Ile Tyr Ile Asp
 145 150 155 160

Gly Leu Ala Ile Ala Ser Gln Pro
 165

<210> 13

<211> 62

<212> PRT

<213> 菊欧文氏菌

<400> 13

Met Gly Asp Cys Ala Asn Ala Asn Val Tyr Pro Asn Trp Val Ser Lys
 1 5 10 15

Asp Trp Ala Gly Gly Gln Pro Thr His Asn Glu Ala Gly Gln Ser Ile
 20 25 30

Val Tyr Lys Gly Asn Leu Tyr Thr Ala Asn Trp Tyr Thr Ala Ser Val
 35 40 45

Pro Gly Ser Asp Ser Ser Trp Thr Gln Val Gly Ser Cys Asn
 50 55 60

<210> 14

<211> 499

<212> PRT

<213> 粘质沙雷氏菌

<400> 14

Met Ser Thr Arg Lys Ala Val Ile Gly Tyr Tyr Phe Ile Pro Thr Asn
 1 5 10 15

[0016]

Gln Ile Asn Asn Tyr Thr Glu Thr Asp Thr Ser Val Val Pro Phe Pro
 20 25 30

Val Ser Asn Ile Thr Pro Ala Lys Ala Lys Gln Leu Thr His Ile Asn
 35 40 45

Phe Ser Phe Leu Asp Ile Asn Ser Asn Leu Glu Cys Ala Trp Asp Pro
 50 55 60

Ala Thr Asn Asp Ala Lys Ala Arg Asp Val Val Asn Arg Leu Thr Ala
 65 70 75 80

Leu Lys Ala His Asn Pro Ser Leu Arg Ile Met Phe Ser Ile Gly Gly
 85 90 95

Trp Tyr Tyr Ser Asn Asp Leu Gly Val Ser His Ala Asn Tyr Val Asn
 100 105 110

Ala Val Lys Thr Pro Ala Ser Arg Ala Lys Phe Ala Gln Ser Cys Val
 115 120 125

Arg Ile Met Lys Asp Tyr Gly Phe Asp Gly Val Asp Ile Asp Trp Glu
 130 135 140

Tyr Pro Gln Ala Ala Glu Val Asp Gly Phe Ile Ala Ala Leu Gln Glu
 145 150 155 160

Ile Arg Thr Leu Leu Asn Gln Gln Thr Ile Thr Asp Gly Arg Gln Ala
 165 170 175

Leu Pro Tyr Gln Leu Thr Ile Ala Gly Ala Gly Gly Ala Phe Phe Leu
 180 185 190

[0017]

Ser Arg Tyr Tyr Ser Lys Leu Ala Gln Ile Val Ala Pro Leu Asp Tyr
 195 200 205

Ile Asn Leu Met Thr Tyr Asp Leu Ala Gly Pro Trp Glu Lys Val Thr
 210 215 220

Asn His Gln Ala Ala Leu Phe Gly Asp Ala Ala Gly Pro Thr Phe Tyr
 225 230 235 240

Asn Ala Leu Arg Glu Ala Asn Leu Gly Trp Ser Trp Glu Glu Leu Thr
 245 250 255

Arg Ala Phe Pro Ser Pro Phe Ser Leu Thr Val Asp Ala Ala Val Gln
 260 265 270

Gln His Leu Met Met Glu Gly Val Pro Ser Ala Lys Ile Val Met Gly
 275 280 285

Val Pro Phe Tyr Gly Arg Ala Phe Lys Gly Val Ser Gly Gly Asn Gly
 290 295 300

Gly Gln Tyr Ser Ser His Ser Thr Pro Gly Glu Asp Pro Tyr Pro Ser
 305 310 315 320

Thr Asp Tyr Trp Leu Val Gly Cys Glu Glu Cys Val Arg Asp Lys Asp
 325 330 335

Pro Arg Ile Ala Ser Tyr Arg Gln Leu Glu Gln Met Leu Gln Gly Asn
 340 345 350

Tyr Gly Tyr Gln Arg Leu Trp Asn Asp Lys Thr Lys Thr Pro Tyr Leu
 355 360 365

[0018]

Tyr His Ala Gln Asn Gly Leu Phe Val Thr Tyr Asp Asp Ala Glu Ser
370 375 380

Phe Lys Tyr Lys Ala Lys Tyr Ile Lys Gln Gln Gln Leu Gly Gly Val
385 390 395 400

Met Phe Trp His Leu Gly Gln Asp Asn Arg Asn Gly Asp Leu Leu Ala
405 410 415

Ala Leu Asp Arg Tyr Phe Asn Ala Ala Asp Tyr Asp Asp Ser Gln Leu
420 425 430

Asp Met Gly Thr Gly Leu Arg Tyr Thr Gly Val Gly Pro Gly Asn Leu
435 440 445

Pro Ile Met Thr Ala Pro Ala Tyr Val Pro Gly Thr Thr Tyr Ala Gln
450 455 460

Gly Ala Leu Val Ser Tyr Gln Gly Tyr Val Trp Gln Thr Lys Trp Gly
465 470 475 480

Tyr Ile Thr Ser Ala Pro Gly Ser Asp Ser Ala Trp Leu Lys Val Gly
485 490 495

Arg Val Ala

<210> 15
<211> 133
<212> PRT
<213> 热纤梭菌

<400> 15

[0019]

Arg Ser Ala Phe Ser Lys Ile Glu Ser Glu Glu Tyr Asn Ser Leu Lys
1 5 10 15

Ser Ser Thr Ile Gln Thr Ile Gly Thr Ser Asp Gly Gly Ser Gly Ile
20 25 30

Gly Tyr Ile Glu Ser Gly Asp Tyr Leu Val Phe Asn Lys Ile Asn Phe
35 40 45

Gly Asn Gly Ala Asn Ser Phe Lys Ala Arg Val Ala Ser Gly Ala Asp
50 55 60

Thr Pro Thr Asn Ile Gln Leu Arg Leu Gly Ser Pro Thr Gly Thr Leu
65 70 75 80

Ile Gly Thr Leu Thr Val Ala Ser Thr Gly Gly Trp Asn Asn Tyr Glu
85 90 95

Glu Lys Ser Cys Ser Ile Thr Asn Thr Thr Gly Gln His Asp Leu Tyr
100 105 110

Leu Val Phe Ser Gly Pro Val Asn Ile Asp Tyr Phe Ile Phe Asp Ser
115 120 125

Asn Gly Val Asn Pro
130

- <210> 16
- <211> 168
- <212> PRT
- <213> 耐热梭状芽孢杆菌

<400> 16

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro

[0020]

1	5	10	15
Arg Gly Ser His Met Ala Ser Thr Pro Ala Asn Val Asn Ser Gly Pro	20	25	30
Thr Ser Pro Val Gly Gly Thr Arg Ser Ala Phe Ser Asn Ile Gln Ala	35	40	45
Glu Asp Tyr Asp Ser Ser Tyr Gly Pro Asn Leu Gln Ile Phe Ser Leu	50	55	60
Pro Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gly Tyr Ile Glu Asn Gly Tyr Ser Thr	65	70	75
Thr Tyr Lys Asn Ile Asp Phe Gly Asp Gly Ala Thr Ser Val Thr Ala	85	90	95
Arg Val Ala Thr Gln Asn Ala Thr Thr Ile Gln Val Arg Leu Gly Ser	100	105	110
Pro Ser Gly Thr Leu Leu Gly Thr Ile Tyr Val Gly Ser Thr Gly Ser	115	120	125
Phe Asp Thr Tyr Arg Asp Val Ser Ala Thr Ile Ser Asn Thr Ala Gly	130	135	140
Val Lys Asp Ile Val Leu Val Phe Ser Gly Pro Val Asn Val Asp Trp	145	150	155
Phe Val Phe Ser Lys Ser Gly Thr	165		

<210> 17

[0021]

<211> 145

<212> PRT

<213> 耐热梭状芽孢杆菌

<400> 17

Gly Ser His Met Ala Ser Pro Thr Pro Ala Pro Ser Gln Ser Pro Ile
1 5 10 15

Arg Arg Asp Ala Phe Ser Ile Ile Glu Ala Glu Glu Tyr Asn Ser Thr
20 25 30

Asn Ser Ser Thr Leu Gln Val Ile Gly Thr Pro Asn Asn Gly Arg Gly
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Glu Asn Gly Asn Thr Val Thr Tyr Ser Asn Ile Asp
50 55 60

Phe Gly Ser Gly Ala Thr Gly Phe Ser Ala Thr Val Ala Thr Glu Val
65 70 75 80

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

Gly Thr Leu Tyr Val Ser Ser Thr Gly Ser Trp Asn Thr Tyr Asn Thr
100 105 110

Val Ser Thr Asn Ile Ser Lys Ile Thr Gly Val His Asp Ile Val Leu
115 120 125

Val Phe Ser Gly Pro Val Asn Val Asp Asn Phe Ile Phe Ser Arg Ser
130 135 140

Ser

145

[0022]

Thr Val Ile Gly Phe Asn Ile Gln Val Asn Asp Ala Asn Glu Lys Gly
145 150 155 160

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

Arg Asp Pro Ser Lys Phe Gly Asn Leu Arg Leu Ile Lys
180 185

<210> 20

<211> 50

<212> PRT

<213> Cellvibrio japonicus

<400> 20

Met Gly Asn Gln Gln Cys Asn Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Pro Leu Cys
1 5 10 15

Val Thr Thr Thr Asn Gly Trp Gly Trp Glu Asp Gln Arg Ser Cys Ile
20 25 30

Ala Arg Ser Thr Cys Ala Ala Gln Pro Ala Pro Phe Gly Ile Val Gly
35 40 45

Ser Gly
50

<210> 21

<211> 45

<212> PRT

<213> 环状芽孢杆菌

<400> 21

Ala Trp Gln Val Asn Thr Ala Tyr Thr Ala Gly Gln Leu Val Thr Tyr
1 5 10 15

[0025]

Asn Gly Lys Thr Tyr Lys Cys Leu Gln Pro His Thr Ser Leu Ala Gly
 20 25 30

Trp Glu Pro Ser Asn Val Pro Ala Leu Trp Gln Leu Gln
 35 40 45

<210> 22

<211> 436

<212> PRT

<213> 橄榄绿链霉菌

<400> 22

Ala Glu Ser Thr Leu Gly Ala Ala Ala Ala Gln Ser Gly Arg Tyr Phe
 1 5 10 15

Gly Thr Ala Ile Ala Ser Gly Lys Leu Gly Asp Ser Ala Tyr Thr Thr
 20 25 30

Ile Ala Ser Arg Glu Phe Asn Met Val Thr Ala Glu Asn Glu Met Lys
 35 40 45

Ile Asp Ala Thr Glu Pro Gln Arg Gly Gln Phe Asn Phe Ser Ala Gly
 50 55 60

Asp Arg Val Tyr Asn Trp Ala Val Gln Asn Gly Lys Gln Val Arg Gly
 65 70 75 80

His Thr Leu Ala Trp His Ser Gln Gln Pro Gly Trp Met Gln Ser Leu
 85 90 95

Ser Gly Ser Thr Leu Arg Gln Ala Met Ile Asp His Ile Asn Gly Val
 100 105 110

[0026]

Met Gly His Tyr Lys Gly Lys Ile Ala Gln Trp Asp Val Val Asn Glu
 115 120 125

Ala Phe Ser Asp Asp Gly Ser Gly Gly Arg Arg Asp Ser Asn Leu Gln
 130 135 140

Arg Thr Gly Asn Asp Trp Ile Glu Val Ala Phe Arg Thr Ala Arg Ala
 145 150 155 160

Ala Asp Pro Ala Ala Lys Leu Cys Tyr Asn Asp Tyr Asn Ile Glu Asn
 165 170 175

Trp Thr Trp Ala Lys Thr Gln Gly Val Tyr Asn Met Val Arg Asp Phe
 180 185 190

Lys Gln Arg Gly Val Pro Ile Asp Cys Val Gly Phe Gln Ser His Phe
 195 200 205

Asn Ser Gly Ser Pro Tyr Asn Ser Asn Phe Arg Thr Thr Leu Gln Asn
 210 215 220

Phe Ala Ala Leu Gly Val Asp Val Ala Ile Thr Glu Leu Asp Ile Gln
 225 230 235 240

Gly Ala Ser Ser Ser Thr Tyr Ala Ala Val Thr Asn Asp Cys Leu Ala
 245 250 255

Val Ser Arg Cys Leu Gly Ile Thr Val Trp Gly Val Arg Asp Thr Asp
 260 265 270

Ser Trp Arg Ser Gly Asp Thr Pro Leu Leu Phe Asn Gly Asp Gly Ser
 275 280 285

[0027]

Lys Lys Ala Ala Tyr Thr Ala Val Leu Asn Ala Leu Asn Gly Gly Ser
 290 295 300

Ser Thr Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Gln Ile Lys Gly Val Gly Ser
 305 310 315 320

Gly Arg Cys Leu Asp Val Pro Asn Ala Ser Thr Thr Asp Gly Thr Gln
 325 330 335

Val Gln Leu Tyr Asp Cys His Ser Ala Thr Asn Gln Gln Trp Thr Tyr
 340 345 350

Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Val Tyr Gly Asp Lys Cys Leu Asp Ala
 355 360 365

Ala Gly Thr Gly Asn Gly Thr Lys Val Gln Ile Tyr Ser Cys Trp Gly
 370 375 380

Gly Asp Asn Gln Lys Trp Arg Leu Asn Ser Asp Gly Ser Ile Val Gly
 385 390 395 400

Val Gln Ser Gly Leu Cys Leu Asp Ala Val Gly Gly Gly Thr Ala Asn
 405 410 415

Gly Thr Leu Ile Gln Leu Tyr Ser Cys Ser Asn Gly Ser Asn Gln Arg
 420 425 430

Trp Thr Arg Thr
 435

<210> 23

<211> 130

<212> PRT

[0028]

<213> 变铅青链霉菌

<400> 23

Glu Pro Pro Ala Asp Gly Gly Gln Ile Lys Gly Val Gly Ser Gly Arg
1 5 10 15

Cys Leu Asp Val Pro Asp Ala Ser Thr Ser Asp Gly Thr Gln Leu Gln
20 25 30

Leu Trp Asp Cys His Ser Gly Thr Asn Gln Gln Trp Ala Ala Thr Asp
35 40 45

Ala Gly Glu Leu Arg Val Tyr Gly Asp Lys Cys Leu Asp Ala Ala Gly
50 55 60

Thr Ser Asn Gly Ser Lys Val Gln Ile Tyr Ser Cys Trp Gly Gly Asp
65 70 75 80

Asn Gln Lys Trp Arg Leu Asn Ser Asp Gly Ser Val Val Gly Val Gln
85 90 95

Ser Gly Leu Cys Leu Asp Ala Val Gly Asn Gly Thr Ala Asn Gly Thr
100 105 110

Leu Ile Gln Leu Tyr Thr Cys Ser Asn Gly Ser Asn Gln Arg Trp Thr
115 120 125

Arg Thr
130

<210> 24

<211> 267

<212> PRT

<213> 蓖麻

[0029]

<400> 24

Ile Phe Pro Lys Gln Tyr Pro Ile Ile Asn Phe Thr Thr Ala Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Gln Ser Tyr Thr Asn Phe Ile Arg Ala Val Arg Gly Arg Leu
20 25 30

Thr Thr Gly Ala Asp Val Arg His Glu Ile Pro Val Leu Pro Asn Arg
35 40 45

Val Gly Leu Pro Ile Asn Gln Arg Phe Ile Leu Val Glu Leu Ser Asn
50 55 60

His Ala Glu Leu Ser Val Thr Leu Ala Leu Asp Val Thr Asn Ala Tyr
65 70 75 80

Val Val Gly Tyr Arg Ala Gly Asn Ser Ala Tyr Phe Phe His Pro Asp
85 90 95

Asn Gln Glu Asp Ala Glu Ala Ile Thr His Leu Phe Thr Asp Val Gln
100 105 110

Asn Arg Tyr Thr Phe Ala Phe Gly Gly Asn Tyr Asp Arg Leu Glu Gln
115 120 125

Leu Ala Gly Asn Leu Arg Glu Asn Ile Glu Leu Gly Asn Gly Pro Leu
130 135 140

Glu Glu Ala Ile Ser Ala Leu Tyr Tyr Tyr Ser Thr Gly Gly Thr Gln
145 150 155 160

Leu Pro Thr Leu Ala Arg Ser Phe Ile Ile Cys Ile Gln Met Ile Ser

[0030]

165

170

175

Glu Ala Ala Arg Phe Gln Tyr Ile Glu Gly Glu Met Arg Thr Arg Ile
 180 185 190

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

Asn Ser Trp Gly Arg Leu Ser Thr Ala Ile Gln Glu Ser Asn Gln Gly
 210 215 220

Ala Phe Ala Ser Pro Ile Gln Leu Gln Arg Arg Asn Gly Ser Lys Phe
 225 230 235 240

Ser Val Tyr Asp Val Ser Ile Leu Ile Pro Ile Ile Ala Leu Met Val
 245 250 255

Tyr Arg Cys Ala Pro Pro Pro Ser Ser Gln Phe
 260 265

<210> 25

<211> 251

<212> PRT

<213> 相思子

<400> 25

Glu Asp Arg Pro Ile Lys Phe Ser Thr Glu Gly Ala Thr Ser Gln Ser
 1 5 10 15

Tyr Lys Gln Phe Ile Glu Ala Leu Arg Glu Arg Leu Arg Gly Gly Leu
 20 25 30

Ile His Asp Ile Pro Val Leu Pro Asp Pro Thr Thr Leu Gln Glu Arg
 35 40 45

[0031]

Asn Arg Tyr Ile Thr Val Glu Leu Ser Asn Ser Asp Thr Glu Ser Ile
50 55 60

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

Gly Thr Gln Ser Tyr Phe Leu Arg Asp Ala Pro Ser Ser Ala Ser Asp
85 90 95

Tyr Leu Phe Thr Gly Thr Asp Gln His Ser Leu Pro Phe Tyr Gly Thr
100 105 110

Tyr Gly Asp Leu Glu Arg Trp Ala His Gln Ser Arg Gln Gln Ile Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Gln Ala Leu Thr His Gly Ile Ser Phe Phe Arg Ser Gly
130 135 140

Gly Asn Asp Asn Glu Glu Lys Ala Arg Thr Leu Ile Val Ile Ile Gln
145 150 155 160

Met Val Ala Glu Ala Ala Arg Phe Arg Tyr Ile Ser Asn Arg Val Arg
165 170 175

Val Ser Ile Gln Thr Gly Thr Ala Phe Gln Pro Asp Ala Ala Met Ile
180 185 190

Ser Leu Glu Asn Asn Trp Asp Asn Leu Ser Arg Gly Val Gln Glu Ser
195 200 205

Val Gln Asp Thr Phe Pro Asn Gln Val Thr Leu Thr Asn Ile Arg Asn
210 215 220

[0032]

<211> 153
 <212> PRT
 <213> Cellvibrio japonicus

<400> 27

Gly Asn Val Val Ile Glu Val Asp Met Ala Asn Gly Trp Arg Gly Asn
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Ser Thr Ser His Ser Gly Ile Thr Tyr Ser Ala Asp Gly
 20 25 30

Val Thr Phe Ala Ala Leu Gly Asp Gly Val Gly Ala Val Phe Asp Ile
 35 40 45

Ala Arg Pro Thr Thr Leu Glu Asp Ala Val Ile Ala Met Val Val Asn
 50 55 60

Val Ser Ala Glu Phe Lys Ala Ser Glu Ala Asn Leu Gln Ile Phe Ala
 65 70 75 80

Gln Leu Lys Glu Asp Trp Ser Lys Gly Glu Trp Asp Cys Leu Ala Gly
 85 90 95

Ser Ser Glu Leu Thr Ala Asp Thr Asp Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ile
 100 105 110

Asp Glu Asp Asp Asp Lys Phe Asn Gln Thr Ala Arg Asp Val Gln Val
 115 120 125

Gly Ile Gln Ala Lys Gly Thr Pro Ala Gly Thr Ile Thr Ile Lys Ser
 130 135 140

Val Thr Ile Thr Leu Ala Gln Glu Ala
 145 150

[0034]

Phe Asn Thr Ile Ala Thr Asp Ala Ala Asp Ser Val Val Thr Asn Met
145 150 155 160

Ile Leu Phe Val Gly Ser Asn Ser Asp Asn Ile Ser Leu Asp Asn Ile
165 170 175

Lys Phe Thr Lys
180

<210> 29

<211> 171

<212> PRT

<213> Triticum aestivum (小麦)

<400> 29

Glu Arg Cys Gly Glu Gln Gly Ser Asn Met Glu Cys Pro Asn Asn Leu
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Tyr Gly Tyr Cys Gly Met Gly Gly Asp Tyr Cys Gly
20 25 30

Lys Gly Cys Gln Asn Gly Ala Cys Trp Thr Ser Lys Arg Cys Gly Ser
35 40 45

Gln Ala Gly Gly Ala Thr Cys Thr Asn Asn Gln Cys Cys Ser Gln Tyr
50 55 60

Gly Tyr Cys Gly Phe Gly Ala Glu Tyr Cys Gly Ala Gly Cys Gln Gly
65 70 75 80

Gly Pro Cys Arg Ala Asp Ile Lys Cys Gly Ser Gln Ala Gly Gly Lys
85 90 95

[0036]

Leu Cys Pro Asn Asn Leu Cys Cys Ser Gln Trp Gly Phe Cys Gly Leu
 100 105 110

Gly Ser Glu Phe Cys Gly Gly Gly Cys Gln Ser Gly Ala Cys Ser Thr
 115 120 125

Asp Lys Pro Cys Gly Lys Asp Ala Gly Gly Arg Val Cys Thr Asn Asn
 130 135 140

Tyr Cys Cys Ser Lys Trp Gly Ser Cys Gly Ile Gly Pro Gly Tyr Cys
 145 150 155 160

Gly Ala Gly Cys Gln Ser Gly Gly Cys Asp Gly
 165 170

<210> 30

<211> 30

<212> PRT

<213> *Amaranthus caudatus* (尾穗苋)

<400> 30

Val Gly Glu Cys Val Arg Gly Arg Cys Pro Ser Gly Met Cys Cys Ser
 1 5 10 15

Gln Phe Gly Tyr Cys Gly Lys Gly Pro Lys Tyr Cys Gly Arg
 20 25 30

<210> 31

<211> 89

<212> PRT

<213> *Urtica dioica* (异株荨麻)

<400> 31

Glu Arg Cys Gly Ser Gln Gly Gly Gly Ser Thr Cys Pro Gly Leu Arg
 1 5 10 15

[0037]

Cys Cys Ser Ile Trp Gly Trp Cys Gly Asp Ser Glu Pro Tyr Cys Gly
 20 25 30

Arg Thr Cys Glu Asn Lys Cys Trp Ser Gly Glu Arg Ser Asp His Arg
 35 40 45

Cys Gly Ala Ala Val Gly Asn Pro Pro Cys Gly Gln Asp Arg Cys Cys
 50 55 60

Ser Val His Gly Trp Cys Gly Gly Gly Asn Asp Tyr Cys Ser Gly Gly
 65 70 75 80

Asn Cys Gln Tyr Arg Cys Ser Ser Ser
 85

<210> 32

<211> 108

<212> PRT

<213> *Aspergillus niger* (黑曲霉)

<400> 32

Cys Thr Thr Pro Thr Ala Val Ala Val Thr Phe Asp Leu Thr Ala Thr
 1 5 10 15

Thr Thr Tyr Gly Glu Asn Ile Tyr Leu Val Gly Ser Ile Ser Gln Leu
 20 25 30

Gly Asp Trp Glu Thr Ser Asp Gly Ile Ala Leu Ser Ala Asp Lys Tyr
 35 40 45

Thr Ser Ser Asp Pro Leu Trp Tyr Val Thr Val Thr Leu Pro Ala Gly
 50 55 60

[0038]

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

Glu Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Gln Ala Cys
85 90 95

Gly Thr Ser Thr Ala Thr Val Thr Asp Thr Trp Arg
100 105

<210> 33

<211> 99

<212> PRT

<213> *Bacillus cereus* (蜡状芽孢杆菌)

<400> 33

Thr Pro Val Met Gln Thr Ile Val Val Lys Asn Val Pro Thr Thr Ile
1 5 10 15

Gly Asp Thr Val Tyr Ile Thr Gly Asn Arg Ala Glu Leu Gly Ser Trp
20 25 30

Asp Thr Lys Gln Tyr Pro Ile Gln Leu Tyr Tyr Asp Ser His Ser Asn
35 40 45

Asp Trp Arg Gly Asn Val Val Leu Pro Ala Glu Arg Asn Ile Glu Phe
50 55 60

Lys Ala Phe Ile Lys Ser Lys Asp Gly Thr Val Lys Ser Trp Gln Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gln Ser Trp Asn Pro Val Pro Leu Lys Thr Thr Ser His Thr
85 90 95

[0039]

130	135	140
Asn Phe Tyr Ile Asp Glu Ala Ile Gly Ala Val Ala Gly Thr Val Ile		
145	150	155 160
<210> 35		
<211> 179		
<212> PRT		
<213> Thermotoga maritime (海栖热袍菌)		
<400> 35		
Met Ala Ser Asn Glu Ala Arg Tyr Val Leu Ala Glu Glu Val Asp Phe		
1	5	10 15
Ser Ser Pro Glu Glu Val Lys Asn Trp Trp Asn Ser Gly Thr Trp Gln		
	20	25 30
Ala Glu Phe Gly Ser Pro Asp Ile Glu Trp Asn Gly Glu Val Gly Asn		
	35	40 45
Gly Ala Leu Gln Leu Asn Val Lys Leu Pro Gly Lys Ser Asp Trp Glu		
50	55	60
Glu Val Arg Val Ala Arg Lys Phe Glu Arg Leu Ser Glu Cys Glu Ile		
65	70	75 80
Leu Glu Tyr Asp Ile Tyr Ile Pro Asn Val Glu Gly Leu Lys Gly Arg		
	85	90 95
Leu Arg Pro Tyr Ala Val Leu Asn Pro Gly Trp Val Lys Ile Gly Leu		
	100	105 110
Asp Met Asn Asn Ala Asn Val Glu Ser Ala Glu Ile Ile Thr Phe Gly		
115	120	125

[0041]

Gly Lys Glu Tyr Arg Arg Phe His Val Arg Ile Glu Phe Asp Arg Thr
 130 135 140

Ala Gly Val Lys Glu Leu His Ile Gly Val Val Gly Asp His Leu Arg
 145 150 155 160

Tyr Asp Gly Pro Ile Phe Ile Asp Asn Val Arg Leu Tyr Lys Arg Thr
 165 170 175

Gly Gly Met

<210> 36

<211> 191

<212> PRT

<213> Bacillus sp. 1139 (嗜碱芽孢杆菌)

<400> 36

Gly Thr Glu Val Glu Ile Pro Val Val His Asp Pro Lys Gly Glu Ala
 1 5 10 15

Val Leu Pro Ser Val Phe Glu Asp Gly Thr Arg Gln Gly Trp Asp Trp
 20 25 30

Ala Gly Glu Ser Gly Val Lys Thr Ala Leu Thr Ile Glu Glu Ala Asn
 35 40 45

Gly Ser Asn Ala Leu Ser Trp Glu Phe Gly Tyr Pro Glu Val Lys Pro
 50 55 60

Ser Asp Asn Trp Ala Thr Ala Pro Arg Leu Asp Phe Trp Lys Ser Asp
 65 70 75 80

[0042]

Leu Val Arg Gly Glu Asn Asp Tyr Val Thr Phe Asp Phe Tyr Leu Asp
85 90 95

Pro Val Arg Ala Thr Glu Gly Ala Met Asn Ile Asn Leu Val Phe Gln
100 105 110

Pro Pro Thr Asn Gly Tyr Trp Val Gln Ala Pro Lys Thr Tyr Thr Ile
115 120 125

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

Tyr Glu Val Lys Ile Asn Val Arg Asp Ile Thr Asn Ile Gln Asp Asp
145 150 155 160

Thr Leu Leu Arg Asn Met Met Ile Ile Phe Ala Asp Val Glu Ser Asp
165 170 175

Phe Ala Gly Arg Val Phe Val Asp Asn Val Arg Phe Glu Gly Ala
180 185 190

<210> 37

<211> 153

<212> PRT

<213> *Pyromyces equi*

<400> 37

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

Leu Pro Asn Gly Tyr Asp Asn Trp Gly Trp Gly Cys Thr Leu Ser Tyr
20 25 30

[0043]

Tyr Gly Gly Ala Met Ile Ile Asn Pro Gln Glu Gly Lys Tyr Gly Ala
 35 40 45

Val Ser Leu Lys Arg Asn Ser Gly Ser Phe Arg Gly Gly Ser Leu Arg
 50 55 60

Phe Asp Met Lys Asn Glu Gly Lys Val Lys Ile Leu Val Glu Asn Ser
 65 70 75 80

Glu Ala Asp Glu Lys Phe Glu Val Glu Thr Ile Ser Pro Ser Asp Glu
 85 90 95

Tyr Val Thr Tyr Ile Leu Asp Val Asp Phe Asp Leu Pro Phe Asp Arg
 100 105 110

Ile Asp Phe Gln Asp Ala Pro Gly Asn Gly Asp Arg Ile Trp Ile Lys
 115 120 125

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

Asn Leu Glu His His His His His His
 145 150

<210> 38
 <211> 605
 <212> PRT
 <213> *Micromonospora viridifaciens*

<400> 38

Val Pro Pro Gly Gly Glu Pro Leu Tyr Thr Glu Gln Asp Leu Ala Val
 1 5 10 15

Asn Gly Arg Glu Gly Phe Pro Asn Tyr Arg Ile Pro Ala Leu Thr Val

[0044]

	20		25		30
Thr Pro Asp Gly Asp Leu Leu Ala Ser Tyr Asp Gly Arg Pro Thr Gly	35		40		45
Ile Asp Ala Pro Gly Pro Asn Ser Ile Leu Gln Arg Arg Ser Thr Asp	50		55		60
Gly Gly Arg Thr Trp Gly Glu Gln Gln Val Val Ser Ala Gly Gln Thr	65		70		75
Thr Ala Pro Ile Lys Gly Phe Ser Asp Pro Ser Tyr Leu Val Asp Arg		85		90	95
Glu Thr Gly Thr Ile Phe Asn Phe His Val Tyr Ser Gln Arg Gln Gly		100		105	110
Phe Ala Gly Ser Arg Pro Gly Thr Asp Pro Ala Asp Pro Asn Val Leu	115		120		125
His Ala Asn Val Ala Thr Ser Thr Asp Gly Gly Leu Thr Trp Ser His	130		135		140
Arg Thr Ile Thr Ala Asp Ile Thr Pro Asp Pro Gly Trp Arg Ser Arg	145		150		155
Phe Ala Ala Ser Gly Glu Gly Ile Gln Leu Arg Tyr Gly Pro His Ala		165		170	175
Gly Arg Leu Ile Gln Gln Tyr Thr Ile Ile Asn Ala Ala Gly Ala Phe	180		185		190
Gln Ala Val Ser Val Tyr Ser Asp Asp His Gly Arg Thr Trp Arg Ala					

[0045]

	195		200		205										
Gly	Glu	Ala	Val	Gly	Val	Gly	Met	Asp	Glu	Asn	Lys	Thr	Val	Glu	Leu
	210					215								220	
Ser	Asp	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Ser	Ala	Arg	Ser	Gly
225					230					235					240
Tyr	Arg	Lys	Val	Ala	Val	Ser	Thr	Asp	Gly	Gly	His	Ser	Tyr	Gly	Pro
				245					250					255	
Val	Thr	Ile	Asp	Arg	Asp	Leu	Pro	Asp	Pro	Thr	Asn	Asn	Ala	Ser	Ile
			260					265						270	
Ile	Arg	Ala	Phe	Pro	Asp	Ala	Pro	Ala	Gly	Ser	Ala	Arg	Ala	Lys	Val
		275					280						285		
Leu	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Ala	Ser	Gln	Thr	Ser	Arg	Ser	Gln	Gly	Thr
	290						295				300				
Ile	Arg	Met	Ser	Cys	Asp	Asp	Gly	Gln	Thr	Trp	Pro	Val	Ser	Lys	Val
305					310					315					320
Phe	Gln	Pro	Gly	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser	Thr	Leu	Thr	Ala	Leu	Pro	Asp
				325					330					335	
Gly	Thr	Tyr	Gly	Leu	Leu	Tyr	Glu	Pro	Gly	Thr	Gly	Ile	Arg	Tyr	Ala
			340					345					350		
Asn	Phe	Asn	Leu	Ala	Trp	Leu	Gly	Gly	Ile	Cys	Ala	Pro	Phe	Thr	Ile
		355					360					365			
Pro	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Pro	Gly	Gln	Gln	Val	Thr	Val	Pro	Val	Ala

[0046]

370	375	380
Val Thr Asn Gln Ser Gly Ile Ala Val Pro Lys Pro Ser Leu Gln Leu		
385	390	395
Asp Ala Ser Pro Asp Trp Gln Val Gln Gly Ser Val Glu Pro Leu Met		
	405	410
Pro Gly Arg Gln Ala Lys Gly Gln Val Thr Ile Thr Val Pro Ala Gly		
	420	425
Thr Thr Pro Gly Arg Tyr Arg Val Gly Ala Thr Leu Arg Thr Ser Ala		
	435	440
Gly Asn Ala Ser Thr Thr Phe Thr Val Thr Val Gly Leu Leu Asp Gln		
450	455	460
Ala Arg Met Ser Ile Ala Asp Val Asp Ser Glu Glu Thr Ala Arg Glu		
465	470	475
Asp Gly Arg Ala Ser Asn Val Ile Asp Gly Asn Pro Ser Thr Phe Trp		
	485	490
His Thr Glu Trp Ser Arg Ala Asp Ala Pro Gly Tyr Pro His Arg Ile		
	500	505
Ser Leu Asp Leu Gly Gly Thr His Thr Ile Ser Gly Leu Gln Tyr Thr		
515	520	525
Arg Arg Gln Asn Ser Ala Asn Glu Gln Val Ala Asp Tyr Glu Ile Tyr		
530	535	540
Thr Ser Leu Asn Gly Thr Thr Trp Asp Gly Pro Val Ala Ser Gly Arg		

[0047]

545	550	555	560
Phe Thr Thr Ser Leu Ala Pro Gln Arg Ala Val Phe Pro Ala Arg Asp			
	565	570	575
Ala Arg Tyr Ile Arg Leu Val Ala Leu Ser Glu Gln Thr Gly His Lys			
	580	585	590
Tyr Ala Ala Val Ala Glu Leu Glu Val Glu Gly Gln Arg			
	595	600	605
<210> 39			
<211> 639			
<212> PRT			
<213> Cladobotryum dendroides (树状葡枝霉)			
<400> 39			
Ala Ser Ala Pro Ile Gly Ser Ala Ile Ser Arg Asn Asn Trp Ala Val			
1	5	10	15
Thr Cys Asp Ser Ala Gln Ser Gly Asn Glu Cys Asn Lys Ala Ile Asp			
	20	25	30
Gly Asn Lys Asp Thr Phe Trp His Thr Phe Tyr Gly Ala Asn Gly Asp			
	35	40	45
Pro Lys Pro Pro His Thr Tyr Thr Ile Asp Met Lys Thr Thr Gln Asn			
	50	55	60
Val Asn Gly Leu Ser Met Leu Pro Arg Gln Asp Gly Asn Gln Asn Gly			
	65	70	75
Trp Ile Gly Arg His Glu Val Tyr Leu Ser Ser Asp Gly Thr Asn Trp			
	85	90	95

[0048]

Gly Ser Pro Val Ala Ser Gly Ser Trp Phe Ala Asp Ser Thr Thr Lys
 100 105 110

Tyr Ser Asn Phe Glu Thr Arg Pro Ala Arg Tyr Val Arg Leu Val Ala
 115 120 125

Ile Thr Glu Ala Asn Gly Gln Pro Trp Thr Ser Ile Ala Glu Ile Asn
 130 135 140

Val Phe Gln Ala Ser Ser Tyr Thr Ala Pro Gln Pro Gly Leu Gly Arg
 145 150 155 160

Trp Gly Pro Thr Ile Asp Leu Pro Ile Val Pro Ala Ala Ala Ile
 165 170 175

Glu Pro Thr Ser Gly Arg Val Leu Met Trp Ser Ser Tyr Arg Asn Asp
 180 185 190

Ala Phe Gly Gly Ser Pro Gly Gly Ile Thr Leu Thr Ser Ser Trp Asp
 195 200 205

Pro Ser Thr Gly Ile Val Ser Asp Arg Thr Val Thr Val Thr Lys His
 210 215 220

Asp Met Phe Cys Pro Gly Ile Ser Met Asp Gly Asn Gly Gln Ile Val
 225 230 235 240

Val Thr Gly Gly Asn Asp Ala Lys Lys Thr Ser Leu Tyr Asp Ser Ser
 245 250 255

Ser Asp Ser Trp Ile Pro Gly Pro Asp Met Gln Val Ala Arg Gly Tyr
 260 265 270

[0049]

Gln Ser Ser Ala Thr Met Ser Asp Gly Arg Val Phe Thr Ile Gly Gly
 275 280 285

Ser Trp Ser Gly Gly Val Phe Glu Lys Asn Gly Glu Val Tyr Ser Pro
 290 295 300

Ser Ser Lys Thr Trp Thr Ser Leu Pro Asn Ala Lys Val Asn Pro Met
 305 310 315 320

Leu Thr Ala Asp Lys Gln Gly Leu Tyr Arg Ser Asp Asn His Ala Trp
 325 330 335

Leu Phe Gly Trp Lys Lys Gly Ser Val Phe Gln Ala Gly Pro Ser Thr
 340 345 350

Ala Met Asn Trp Tyr Tyr Thr Ser Gly Ser Gly Asp Val Lys Ser Ala
 355 360 365

Gly Lys Arg Gln Ser Asn Arg Gly Val Ala Pro Asp Ala Met Cys Gly
 370 375 380

Asn Ala Val Met Tyr Asp Ala Val Lys Gly Lys Ile Leu Thr Phe Gly
 385 390 395 400

Gly Ser Pro Asp Tyr Gln Asp Ser Asp Ala Thr Thr Asn Ala His Ile
 405 410 415

Ile Thr Leu Gly Glu Pro Gly Thr Ser Pro Asn Thr Val Phe Ala Ser
 420 425 430

Asn Gly Leu Tyr Phe Ala Arg Thr Phe His Thr Ser Val Val Leu Pro
 435 440 445

[0050]

Asp Gly Ser Thr Phe Ile Thr Gly Gly Gln Arg Arg Gly Ile Pro Phe
450 455 460

Glu Asp Ser Thr Pro Val Phe Thr Pro Glu Ile Tyr Val Pro Glu Gln
465 470 475 480

Asp Thr Phe Tyr Lys Gln Asn Pro Asn Ser Ile Val Arg Val Tyr His
485 490 495

Ser Ile Ser Leu Leu Leu Pro Asp Gly Arg Val Phe Asn Gly Gly Gly
500 505 510

Gly Leu Cys Gly Asp Cys Thr Thr Asn His Phe Asp Ala Gln Ile Phe
515 520 525

Thr Pro Asn Tyr Leu Tyr Asn Ser Asn Gly Asn Leu Ala Thr Arg Pro
530 535 540

Lys Ile Thr Arg Thr Ser Thr Gln Ser Val Lys Val Gly Gly Arg Ile
545 550 555 560

Thr Ile Ser Thr Asp Ser Ser Ile Ser Lys Ala Ser Leu Ile Arg Tyr
565 570 575

Gly Thr Ala Thr His Thr Val Asn Thr Asp Gln Arg Arg Ile Pro Leu
580 585 590

Thr Leu Thr Asn Asn Gly Gly Asn Ser Tyr Ser Phe Gln Val Pro Ser
595 600 605

Asp Ser Gly Val Ala Leu Pro Gly Tyr Trp Met Leu Phe Val Met Asn
610 615 620

[0051]

Ser Ala Gly Val Pro Ser Val Ala Ser Thr Ile Arg Val Thr Gln
625 630 635

<210> 40
<211> 637
<212> PRT
<213> *Thermoactinomyces vulgaris* (普通高温放线菌)

<400> 40

Ala Ala Asn Asp Asn Asn Val Glu Trp Asn Gly Leu Phe His Asp Gln
1 5 10 15

Gly Pro Leu Phe Asp Asn Ala Pro Glu Pro Thr Ser Thr Gln Ser Val
20 25 30

Thr Leu Lys Leu Arg Thr Phe Lys Gly Asp Ile Thr Ser Ala Asn Ile
35 40 45

Lys Tyr Trp Asp Thr Ala Asp Asn Ala Phe His Trp Val Pro Met Val
50 55 60

Trp Asp Ser Asn Asp Pro Thr Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Lys Gly Thr
65 70 75 80

Ile Pro Ala Ser Pro Ser Ile Lys Tyr Tyr Arg Phe Gln Ile Asn Asp
85 90 95

Gly Thr Ser Thr Ala Trp Tyr Asn Gly Asn Gly Pro Ser Ser Thr Glu
100 105 110

Pro Asn Ala Asp Asp Phe Tyr Ile Ile Pro Asn Phe Lys Thr Pro Asp
115 120 125

[0052]

Trp Leu Lys Asn Gly Val Met Tyr Gln Ile Phe Pro Asp Arg Phe Tyr
 130 135 140

Asn Gly Asp Ser Ser Asn Asp Val Gln Thr Gly Ser Tyr Thr Tyr Asn
 145 150 155 160

Gly Thr Pro Thr Glu Lys Lys Ala Trp Gly Ser Ser Val Tyr Ala Asp
 165 170 175

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

Ile Asp Gln Lys Leu Gly Tyr Ile Lys Lys Thr Leu Gly Ala Asn Ile
 195 200 205

Leu Tyr Leu Asn Pro Ile Phe Lys Ala Pro Thr Asn His Lys Tyr Asp
 210 215 220

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

Leu Gln Thr Leu Ile Asn Asp Ile His Ser Thr Ala Asn Gly Pro Lys
 245 250 255

Gly Tyr Leu Ile Leu Asp Gly Val Phe Asn His Thr Gly Asp Ser His
 260 265 270

Pro Trp Phe Asp Lys Tyr Asn Asn Phe Ser Ser Gln Gly Ala Tyr Glu
 275 280 285

Ser Gln Ser Ser Pro Trp Tyr Asn Tyr Tyr Thr Phe Tyr Thr Trp Pro
 290 295 300

[0053]

Asp Ser Tyr Ala Ser Phe Leu Gly Phe Asn Ser Leu Pro Lys Leu Asn
305 310 315 320

Tyr Gly Asn Ser Gly Ser Ala Val Arg Gly Val Ile Tyr Asn Asn Ser
325 330 335

Asn Ser Val Ala Lys Thr Tyr Leu Asn Pro Pro Tyr Ser Val Asp Gly
340 345 350

Trp Arg Leu Asn Ala Ala Gln Tyr Val Asp Ala Asn Gly Asn Asn Gly
355 360 365

Ser Asp Val Thr Asn His Gln Ile Trp Ser Glu Phe Arg Asn Ala Val
370 375 380

Lys Gly Val Asn Ser Asn Ala Ala Ile Ile Gly Gln Tyr Trp Gly Asn
385 390 395 400

Ala Asn Pro Trp Thr Ala Gln Gly Asn Gln Trp Asp Ala Ala Thr Asn
405 410 415

Phe Asp Gly Phe Thr Gln Pro Val Ser Glu Trp Ile Thr Gly Lys Asp
420 425 430

Tyr Gln Asn Asn Ser Ala Ser Ile Ser Thr Thr Gln Phe Asp Ser Trp
435 440 445

Leu Arg Gly Thr Arg Ala Asn Tyr Pro Thr Asn Val Gln Gln Ser Met
450 455 460

Met Asn Phe Leu Ser Asn His Asp Ile Thr Arg Phe Ala Thr Arg Ser
465 470 475 480

[0054]

Gly Gly Asp Leu Trp Lys Thr Tyr Leu Ala Leu Ile Phe Gln Met Thr
 485 490 495

Tyr Val Gly Thr Pro Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Glu Tyr Gly Met Gln
 500 505 510

Gly Gly Ala Asp Pro Asp Asn Arg Arg Ser Phe Asp Trp Ser Gln Ala
 515 520 525

Thr Pro Ser Asn Ser Ala Val Ala Leu Thr Gln Lys Leu Ile Thr Ile
 530 535 540

Arg Asn Gln Tyr Pro Ala Leu Arg Thr Gly Ser Phe Met Thr Leu Ile
 545 550 555 560

Thr Asp Asp Thr Asn Lys Ile Tyr Ser Tyr Gly Arg Phe Asp Asn Val
 565 570 575

Asn Arg Ile Ala Val Val Leu Asn Asn Asp Ser Val Ser His Thr Val
 580 585 590

Asn Val Pro Val Trp Gln Leu Ser Met Pro Asn Gly Ser Thr Val Thr
 595 600 605

Asp Lys Ile Thr Gly His Ser Tyr Thr Val Gln Asn Gly Met Val Thr
 610 615 620

Val Ala Val Asp Gly His Tyr Gly Ala Val Leu Ala Gln
 625 630 635

<210> 41

<211> 588

<212> PRT

[0055]

<213> Geobacillus stearothermophilus (嗜热脂肪地芽孢杆菌)

<400> 41

Met Arg Lys Glu Ala Ile Tyr His Arg Pro Ala Asp Asn Phe Ala Tyr
1 5 10 15

Ala Tyr Asp Ser Glu Thr Leu His Leu Arg Leu Arg Thr Lys Lys Asp
 20 25 30

Asp Ile Asp Arg Val Glu Leu Leu His Gly Asp Pro Tyr Asp Trp Gln
 35 40 45

Asn Gly Ala Trp Gln Phe Gln Met Met Pro Met Arg Lys Thr Gly Ser
50 55 60

Asp Glu Leu Phe Asp Tyr Trp Phe Ala Glu Val Lys Pro Pro Tyr Arg
65 70 75 80

Arg Leu Arg Tyr Gly Phe Val Leu Tyr Ser Gly Glu Glu Lys Leu Val
 85 90 95

Tyr Thr Glu Lys Gly Phe Tyr Phe Glu Val Pro Thr Asp Asp Thr Ala
 100 105 110

Tyr Tyr Phe Cys Phe Pro Phe Leu His Arg Val Asp Leu Phe Glu Ala
 115 120 125

Pro Asp Trp Val Lys Asp Thr Val Trp Tyr Gln Ile Phe Pro Glu Arg
130 135 140

Phe Ala Asn Gly Asn Pro Ser Ile Ser Pro Glu Gly Ser Arg Pro Trp
145 150 155 160

[0056]

Gly Ser Glu Asp Pro Thr Pro Thr Ser Phe Phe Gly Gly Asp Leu Gln
 165 170 175

Gly Ile Ile Asp His Leu Asp Tyr Leu Val Asp Leu Gly Ile Thr Gly
 180 185 190

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

Thr Ala Asp Tyr Phe Glu Val Asp Pro His Phe Gly Asp Lys Glu Thr
 210 215 220

Leu Lys Thr Leu Ile Asp Arg Cys His Glu Lys Gly Ile Arg Val Met
 225 230 235 240

Leu Asp Ala Val Phe Asn His Cys Gly Tyr Glu Phe Ala Pro Phe Gln
 245 250 255

Asp Val Trp Lys Asn Gly Glu Ser Ser Lys Tyr Lys Asp Trp Phe His
 260 265 270

Ile His Glu Phe Pro Leu Gln Thr Glu Pro Arg Pro Asn Tyr Asp Thr
 275 280 285

Phe Ala Phe Val Pro Gln Met Pro Lys Leu Asn Thr Ala Asn Pro Glu
 290 295 300

Val Lys Arg Tyr Leu Leu Asp Val Ala Thr Tyr Trp Ile Arg Glu Phe
 305 310 315 320

Asp Ile Asp Gly Trp Arg Leu Asp Val Ala Asn Glu Ile Asp His Glu
 325 330 335

[0057]

Phe Trp Arg Glu Phe Arg Gln Glu Val Lys Ala Leu Lys Pro Asp Val
 340 345 350

Tyr Ile Leu Gly Glu Ile Trp His Asp Ala Met Pro Trp Leu Arg Gly
 355 360 365

Asp Gln Phe Asp Ala Val Met Asn Tyr Pro Phe Thr Asp Gly Val Leu
 370 375 380

Arg Phe Phe Ala Lys Glu Glu Ile Ser Ala Arg Gln Phe Ala Asn Gln
 385 390 395 400

Met Met His Val Leu His Ser Tyr Pro Asn Asn Val Asn Glu Ala Ala
 405 410 415

Phe Asn Leu Leu Gly Ser His Asp Thr Ser Arg Ile Leu Thr Val Cys
 420 425 430

Gly Gly Asp Ile Arg Lys Val Lys Leu Leu Phe Leu Phe Gln Leu Thr
 435 440 445

Phe Thr Gly Ser Pro Cys Ile Tyr Tyr Gly Asp Glu Ile Gly Met Thr
 450 455 460

Gly Gly Asn Asp Pro Glu Cys Arg Lys Cys Met Val Trp Asp Pro Met
 465 470 475 480

Gln Gln Asn Lys Glu Leu His Gln His Val Lys Gln Leu Ile Ala Leu
 485 490 495

Arg Lys Gln Tyr Arg Ser Leu Arg Arg Gly Glu Ile Ser Phe Leu His
 500 505 510

[0058]

Ala Asp Asp Glu Met Asn Tyr Leu Ile Tyr Lys Lys Thr Asp Gly Asp
 515 520 525

Glu Thr Val Leu Val Ile Ile Asn Arg Ser Asp Gln Lys Ala Asp Ile
 530 535 540

Pro Ile Pro Leu Asp Ala Arg Gly Thr Trp Leu Val Asn Leu Leu Thr
 545 550 555 560

Gly Glu Arg Phe Ala Ala Glu Ala Glu Thr Leu Cys Thr Ser Leu Pro
 565 570 575

Pro Tyr Gly Phe Val Leu Tyr Ala Ile Glu His Trp
 580 585

<210> 42

<211> 120

<212> PRT

<213> Paenibacillus polymyxa (拮抗菌)

<400> 42

Ile Thr Lys Val Glu Ala Glu Asn Met Lys Ile Gly Gly Thr Tyr Ala
 1 5 10 15

Gly Lys Ile Ser Ala Pro Phe Asp Gly Val Ala Leu Tyr Ala Asn Ala
 20 25 30

Asp Tyr Val Ser Tyr Ser Gln Tyr Phe Ala Asn Ser Thr His Asn Ile
 35 40 45

Ser Val Arg Gly Ala Ser Ser Asn Ala Gly Thr Ala Lys Val Asp Leu
 50 55 60

Val Ile Gly Gly Val Thr Val Gly Ser Phe Asn Phe Thr Gly Lys Thr

[0059]

65	70	75	80
Pro Thr Val Gln Thr Leu Ser Asn Ile Thr His Ala Thr Gly Asp Gln			
	85	90	95
Glu Ile Lys Leu Ala Leu Thr Ser Asp Asp Gly Thr Trp Asp Ala Tyr			
	100	105	110
Val Asp Phe Ile Glu Phe Ser Leu			
	115	120	

<210> 43
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>
 <223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 43

Arg Gly Asp
 1

<210> 44
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>
 <223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 44

Val Phe Asp Asn Phe Val Leu Lys Ile Arg Asp Thr Lys Lys Gln			
1	5	10	15

<210> 45

[0060]

<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>
<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 45

Tyr Ile Gly Ser Arg
1 5

<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>
<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 46

Ile Lys Ala Val Ala Val
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>
<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 47

Cys Gly Gly Arg Gly Asp Ser Pro Gly
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT

[0061]

<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>

<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 48

Cys Gly Gly Ile Lys Ala Val Ala Val
1 5

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>

<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 49

Cys Gly Gly Asp Pro Gly Tyr Ile Gly Ser Arg
1 5 10

<210> 50

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence (人工序列)

<220>

<223> Synthetic peptide (合成肽)

<400> 50

Cys Ala Asp Glu Gly Val Phe Asp Asn Phe Val Leu Lys Ile Arg Asp
1 5 10 15

Thr Lys Lys Gln
20