



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1969084 B

(45) 授权公告日 2011.04.20

(21) 申请号 200580019702.3

C12N 9/42(2006.01)

(22) 申请日 2005.06.14

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

60/579,714 2004.06.15 US

CN 1113951 A, 1995.12.27, 权利要求书.

CN 1155306 A, 1997.07.23, 权利要求书.

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.12.15

审查员 高德洪

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2005/020868 2005.06.14

(87) PCT申请的公布数据

W02006/002034 EN 2006.01.05

(73) 专利权人 诺维信北美公司

地址 美国北卡罗来纳州

专利权人 诺维信公司

(72) 发明人 刘继银 桑杰·萨尔蒙

哈姆·A·基尔德雷德

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 封新琴 巫肖南

(51) Int. Cl.

D06M 16/00(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 21 页 序列表 13 页

附图 0 页

(54) 发明名称

同步退浆与煮炼的方法

(57) 摘要

本发明涉及将含淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行同步退浆和煮炼的方法,该方法包括用碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶处理织物。本发明还涉及含有碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶的组合物。

1. 一种将含有淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行同步退浆与煮炼的方法，该方法包括用碱性 α -淀粉酶和碱性果胶酶在 pH 为 7 以上和 30℃ -115℃ 的温度条件下处理所述织物。

2. 权利要求 1 所述的方法，其中所述的碱性果胶酶是果胶酸裂合酶。

3. 权利要求 2 所述的方法，其中所述的果胶酸裂合酶来自芽孢杆菌属的菌株。

4. 权利要求 3 所述的方法，其中所述的菌株来自地衣芽孢杆菌，嗜碱芽孢杆菌，假嗜碱芽孢杆菌和 *Bacillus clarkia*。

5. 权利要求 2 所述的方法，其中所述的果胶酸裂合酶是 SEQ ID NO : 2 中的成熟的果胶酸裂合酶。

6. 权利要求 1 所述的方法，其中所述的碱性 α -淀粉酶源自芽孢杆菌属菌种。

7. 权利要求 6 所述的方法，其中所述的碱性 α -淀粉酶为 SEQ ID NO : 4 或 SEQ ID NO : 6 中所示的碱性 α -淀粉酶。

8. 权利要求 7 所述的方法，其中所述的芽孢杆菌属 α -淀粉酶在使用 SEQ ID NO : 4 编号时，在 D183+G184 位置具有一个或多个缺失。

9. 权利要求 7 所述的方法，其中所述的芽孢杆菌属 α -淀粉酶在使用 SEQ ID NO : 6 编号时，在 D183 和 G184 位置存在一个或多个缺失。

10. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的碱性 α -淀粉酶以 0.05-150KNU/L 处理液的浓度存在。

11. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的果胶酶是果胶酸裂合酶，其以 1-1,500APSU/kg 织物的浓度存在。

12. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的方法在 pH 7-11 的条件下进行。

13. 权利要求 12 所述的方法，其中所述的方法在 pH 8-10 的条件下进行。

14. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的方法在温度为 30℃ -60℃ 或 50℃ -110℃ 的条件下进行。

15. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的方法是在表面活性剂存在的条件下进行的，表面活性剂以 0.1-10g/L 的浓度存在。

16. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的织物是纤维素织物。

17. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的织物是丝织品或者毛织品。

18. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的织物是含有聚酯的织物，或由基本上 100% 的聚酯组成的服装。

19. 权利要求 18 所述的方法，其中所述的聚酯织物是一种聚酯混纺物。

20. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述的方法是在单一浴槽中进行的。

21. 一种包含碱性 α -淀粉酶和碱性果胶酶的组合物。

22. 权利要求 21 所述的组合物，其中所述的碱性 α -淀粉酶源自芽孢杆菌属菌种的菌株。

23. 权利要求 21 或 22 所述的组合物，其中所述的碱性果胶酶是果胶酸裂合酶。

24. 权利要求 23 所述的组合物，其中所述的果胶酸裂合酶是源自芽孢杆菌属的菌株的果胶酸裂合酶。

25. 权利要求 24 所述的组合物，其中所述的菌株是来自地衣芽孢杆菌，嗜碱芽孢杆

菌，假嗜碱芽孢杆菌和 *Bacillus clarkia* 的菌株。

26. 权利要求 22 所述的组合物，其中所述的芽孢杆菌属 α -淀粉酶在使用 SEQ ID NO : 4 编号时，在 D183 和 G184 位置存在一个或多个缺失。

27. 权利要求 22 所述的组合物，其中所述的芽孢杆菌属 α -淀粉酶在使用 SEQ ID NO : 6 编号时，在 D183 和 G184 位置上存在一个或多个缺失。

28. 权利要求 22-27 中任一项所述的组合物，其中所述的组合物还包含稳定剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、螯合剂和乳化剂，或其混合物。

29. 权利要求 22-27 中任一项所述的组合物用于同步退浆和煮炼的用途。

30. 权利要求 29 所述的用途，其中将所述的组合物用于权利要求 1-20 中任一项所述的方法。

同步退浆与煮炼的方法

[0001] 序列表参考

[0002] 本申请含有序列表形式的信息，该信息附在本申请之后，并也在数据载体上随同本申请一同提交。该数据载体的内容全部并入本文作为参考。

发明领域

[0003] 本发明涉及将上浆织物 (sized fabric) 进行同步退浆和煮炼 (simultaneously desizing and scouring) 的方法。本发明也涉及适用于本发明的方法的组合物。

[0004] 发明背景

[0005] 在纺织加工工业中，传统上使用 α -淀粉酶作为退浆过程中的助剂，以促进在纺织过程中作为纱线 (yarn) 上的保护涂层的含淀粉浆料的去除。纺织之后彻底去除浆料涂层对于确保后续过程 (其中所述织物通常被煮炼、漂白、染色和 / 或印制) 中的最佳效果是至关重要的。酶法淀粉分解是优选的，因为它不对织物材料产生任何有害的作用。为了减少加工成本同时增加产量，有时将退浆过程与煮炼步骤结合。

[0006] WO 95/21417 建议将对氧化作用稳定的 α -淀粉酶用于上浆织物的同步退浆与煮炼。

[0007] 然而，人们期待提供进一步改进的同步退浆与煮炼的方法。

发明内容

[0008] 本发明旨在提出一种改进的同步退浆与煮炼的方法。

[0009] 在第一个方面，本发明涉及将含淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行同步退浆与煮炼的方法，其包括用碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶对织物进行处理。

[0010] 在本发明的上下文中，术语“织物”包括服装 (garment)、纤维、纱线以及其他种类的加工织物。织物可以由纤维通过机织 (weaving)、针织 (knitting) 或非织造操作 (non-woven operation) 获得。机织和针织需以纱线为输入物 (input)，而非织造物则是纤维随机连接的结果 (纸可被认为是一种非织造物)。

[0011] 机织物 (woven fabric) 是通过在织机 (loom) 上沿纵轴向方向伸展的经纱 (warp yarn) 之间编织“纬纱 (filling)”或者纬纱 (weft yarn) 而编制的。为了润滑和防止在编织过程中纬纱高速插入时的磨损，经纱在编织之前必须上浆。纬纱可以以“一上一下 (over one-under the next)”的形式 (平织)，或者以“一上两下 (over one-under two)”的形式 (斜织) 或以其他无数种排列方式编织穿过经纱。强度 (strength)、质地 (texture) 和式样 (pattem) 都并不仅仅与纱线的类型 / 质量相关，而且也与编织的类型有关。一般来说，外套 (dress)、衬衫、裤子、被单、毛巾、帷幕 (drapery) 等都是由机织物制成的。

[0012] 针织法通过将连锁的 (interlocking) 纱线圈连接在一起而形成织物。与由两类纱线织成并含有许多线头 (end) 的机织物相反，针织物是由单股连续的纱线织成的。从织法上讲，有许多种不同的方式将纱线圈结起来，而最终织物的特性则同时取决于纱线和

针织的类型。 内衣, 毛线衫 (sweater), 袜子, 运动衫, 汗衫 (sweat shirt) 等都是由针织物制成的。

[0013] 非织造物是通过机械的、热力的、化学的或者溶剂介导的方法将纤维和丝线连接和 / 或联锁而制成的织物片。 得到的产物可以是网状结构、层状或者薄膜状。 具体的例子有: 一次性婴儿尿布、毛巾、擦拭物 (wiper)、外科手术服 (surgical gown)、“环境友好”型纤维、过滤介质、寝具 (bedding)、屋顶材料、双向织物的背衬 (backing for two-dimensional fabrics) 和许多其他产品。

[0014] 根据本发明, 所述的方法可以应用于本领域已知的任何织物 (机织物、针织物、或非织造物)。具体地, 本发明的方法可应用于含有纤维素的织物或纤维素织物, 如棉、粘胶 (viscose)、人造纤维 (rayon)、苧麻 (ramie)、亚麻 (linen)、绿色纤维 (lyocell) (例如: Courtaulds Fibers 生产的天丝 (Tencel)), 或者这些纤维中任一种与合成纤维 (如: 聚酯、聚酰胺、尼龙) 或者其他天然纤维如毛和丝的混纺物 (blend), 例如粘胶 / 棉混纺物、绿色纤维 / 棉混纺物, 粘胶 / 毛混纺物、绿色纤维 / 羊毛混纺物、棉 / 毛混纺物; 以及亚麻 (flax) (亚麻制品 (linen))、苧麻和其他基于纤维素纤维的织物, 包括所有的纤维素纤维与其他纤维如毛、聚酰胺、丙烯酸系 (丙烯酸腈系, acrylic) 和聚酯纤维的混纺物, 例如粘胶 / 棉 / 聚酯的混纺物、毛 / 棉 / 聚酯的混纺物、亚麻 / 棉的混纺物等等。 这种方法也可用于合成纺织品, 例如分别由基本上 100% 聚酯、聚酰胺、或尼龙组成的合成纺织品。 术语“毛 (wool)”指的是任何商业上有用的动物毛织品, 例如由绵羊 (sheep)、骆驼、兔子、山羊、美洲驼 (llama) 和众所周知的美利奴羊毛 (merino wool)、设得兰羊毛 (Shetland wool)、开士米羊毛 (cashmere wool)、阿尔帕卡毛 (alpaca wool)、马海毛 (mohair) 等制成的毛织品; 还包括毛纤维和动物毛。 本发明的方法可以应用于毛织物或以毛条 (top)、纤维、纱线、或机织或针织物形式存在的动物毛材料。

[0015] 本发明方法中所使用的碱性 α -淀粉酶, 可优选为细菌来源的, 例如尤其是由芽孢杆菌的菌株衍生而来的。

[0016] 本发明方法中所使用的碱性煮炼酶可为选自碱性果胶酶、纤维素酶、脂肪酶、蛋白酶、或者它们的混合物的酶。

[0017] 根据本发明, 在同步退浆和煮炼过程中, 当最适 pH 为 7 以上, 优选 8 以上, 尤其是 9 以上, 例如 pH7-11 之间, 如 pH8-11 之间, 或 pH9-11 之间时, 酶是“碱性”的。

[0018] 术语“退浆”可以以通常方式来理解, 即从织物, 如机织物中的经纱降解和 / 或去除上浆剂 (sizing agent)。

[0019] 术语“煮炼”也可以以通常方式来理解, 即去除织物上的非纤维素材料, 如油脂 (grease)、蜡 (wax)、蛋白质、半纤维素材料、果胶、灰分、污垢和油。

[0020] 术语“同步”是指退浆和煮炼在单一的操作步骤中进行。 它的优点是不再需要进行通常在独立进行的退浆和煮炼步骤之间的实施的洗涤、漂洗和其他处理等操作。 因此, 待用于每个处理过程中的水、能源需求以及对于不同设备的需求大大地减少。 根据优选的实施方案, 本发明的方法是在单一浴槽 (single bath) 中进行的。 煮炼酶可以先于、同时或者在退浆酶之后加入。

[0021] 术语“含淀粉或淀粉衍生物的织物”是指任何类型的织物, 尤其是由含纤维素的材料制成的机织织物, 其含有淀粉或淀粉衍生物。 这些织物通常是由棉、粘胶、亚麻

等制成的。存在于织物上的淀粉或淀粉衍生物的主要部分通常是编织前涂覆在纱线，通常为经纱上的浆料。

[0022] 即使在有关本发明的方法中没有特别提及，但可以理解的是以“有效量”使用酶或试剂。术语“有效量”是指与未经所述酶处理的织物相比，能够达到预期效果，即，将织物退浆和煮炼的碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶的量。

[0023] 在第二个方面，本发明涉及适用于同步退浆与煮炼过程的一种组合物，其包含碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶。

[0024] 发明详述

[0025] 本发明旨在提出一种同步退浆与煮炼的方法。根据本发明，可以在将所述织物退浆时进行煮炼。本发明的方法可使用传统的上浆/退浆设备如轧染系统 (pad system)、J-盒 (J-box)、喷射机 (jet)、卷染机 (jigger) 等进行，不需要任何额外的处理设备。该操作可以通过使用碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶的组合对织物进行同步处理来完成。发明人发现，除了通过进行同步退浆和煮炼获得的优点 (参见上文) 之外，也获得其他一些优点。实例包括以下一种或多种：减少酶的使用，改进退浆，改进果胶去除，提高润湿性 (wettability)，提高白度 (whiteness)，改进织物的处理，提高织物的光滑度，减少起球 (pilling)。支持本发明的实验结果显示于实例 1-13 之后的表 1 中。

[0026] 机织物是织物结构的普遍形式。机织过程要求对经纱“上浆”以保护其免于磨损。淀粉 (改性和未改性的)、聚乙烯醇 (PVA)、羧甲基纤维素 (CMC)、蜡和丙烯酸类粘合剂、及其混合物是通常使用的上浆剂的实例。根据本发明，上浆剂可以是基于淀粉或基于淀粉衍生物的上浆剂，但也可以包含一种或多种非基于淀粉或基于淀粉衍生物的上浆剂。纺织后，必须去除上浆剂作为制备机织物品的第一步。

[0027] 此外，织物纤维包含天然的非纤维素杂质，这些杂质必须在进行后续加工步骤，如漂白、染色、印制以及整理 (finishing) 之前去除掉。煮炼去除了大量天然的非纤维素杂质，尤其包括角质层 (cuticle) (主要由蜡组成) 和原细胞壁 (primary cell wall) (主要由果胶、蛋白质和木葡聚糖 (xyloglucan) 组成)。为了获得高的润湿性 (其作为获得良好染色的量度)，适当的蜡去除是必需的。对原细胞壁 (尤其是果胶) 的去除改进了蜡去除并确保更均匀的染色，此外这改进了漂白处理过程中的白度。另外，煮炼能去除污物 (dirt)、土 (soil) 和制造过程中引入的残留物如纺纱 (spinning)、络筒 (coning) 或上浆剂。

[0028] 本发明的方法

[0029] 根据本发明的方法，将绳状或者平幅 (open width) 形式的上浆织物与处理液体 (如：处理溶剂) 进行接触。在所述浆料 (除了基于淀粉或基于淀粉衍生物的上浆剂之外) 含有聚乙烯醇或羧甲基纤维素的情况下，优选用热水、表面活性剂和温和的碱来实施本发明的方法。

[0030] 根据本发明，退浆和煮炼同时且在常规的纺织物退浆的条件下进行。

[0031] 因此，在第一个方面，本发明涉及一种将含淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行同步退浆和煮炼的方法，该方法包括用碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶来处理织物。

[0032] 根据本发明，将上浆织物用水、碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶 (如下文进一步详细描述) 的组合进行处理，优选与一种或几种试剂组合，所述试剂包括稳定剂、表面活

性剂、润湿剂、分散剂、螯合剂和乳化剂以及它们的混合物。使上浆织物在处理液体中停留足够长的一段“保持时间(holding period)”以完成退浆和煮炼。所述保持时间取决于处理工艺(processing regime)的类型和温度,并可从15分钟到2个小时变化,或在一些情况下为几天。

[0033] 处理工艺可为间歇地或连续地使平幅状或绳状的织物接触处理液流。

[0034] 连续的操作通常使用饱和器(saturator),其中将大约等重量的每织物重量的处理液体施用于织物,然后是加热滞留室(heated dwell chamber),其中发生化学反应。然后洗涤部分准备好织物用于下一个加工步骤。为了确保高的白度或较好的润湿性,以及得到的可染性,必须彻底去除退浆和煮炼酶,以及其他的试剂。

[0035] 在一个实施方案中,本发明的方法是在温度大约100℃,如90-100℃,pH为7-11,进行5-30分钟的连续方法。

[0036] 分批处理通常在一个处理浴槽,即单一浴槽中进行,其中将织物与大约是其自身重量8-15倍的处理液体接触。反应期之后,排出处理液体,将织物漂洗并开始下一个处理步骤。非连续的PB处理(即,浸轧-堆放回苏处理(pad-batch process))涉及饱和器,其中使大约相等重量的每织物重量的处理液体施用于织物,然后是停留期,其在CPB处理(即,冷浸轧-堆放回苏处理)的情况下可为一天或几天。例如,CPB处理可以在20-40℃、pH为7-11,优选大约8-9.5进行8-24个小时或更长时间。此外,PB处理过程可在50-85℃,pH为7-11,优选8-9.5进行1-6个小时。

[0037] 在一个实施方案中,本发明的组合的退浆和煮炼方法可以使用碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶以及强碱,如氢氧化钠,或者相关的苛性试剂,如碳酸钠、氢氧化钾、或它们的混合物,在本领域已知的用于退浆和煮炼的条件下进行。

[0038] 目前,商业的用于退浆的 α -淀粉酶,例如AQUAZYM™ 120L(Novozymes A/S,丹麦),建议的浓度在大约180-240KNU/L的范围内,其相当于大约180-240KNU/kg织物。根据本发明,这个浓度是可以降低的。

[0039] 在一个优选的实施方案中,碱性 α -淀粉酶以0.05-150KNU/L处理溶液,优选1-100KNU/L处理溶液,尤其是2-20KNU/L处理溶液或0.05-150KNU/kg织物,优选1-100KNU/kg织物,尤其是2-20KNU/kg织物的浓度存在。

[0040] 此外,商业的用于煮炼的果胶酶,如SCOURZYME™ L(Novozymes A/S,丹麦),建议的浓度在大约1500-1875APSU/L的范围内,其相当于大约1500-1875APSU/kg织物。根据本发明,这个浓度是可以降低的。

[0041] 在一个优选的实施方案中,所述的果胶酶是果胶酸裂合酶,其以1-1,500APSU/kg织物,优选10-1,200APSU/kg织物,尤其是100-1,000APSU/kg织物范围内的浓度存在。

[0042] 洗涤剂

[0043] 通常,将一种碱稳定性的表面活性剂加入处理过程以增强疏水性化合物的溶解(solubilization)和/或避免其再沉积(redposition)回织物上。在本发明上下文中,洗涤剂与表面活性剂是同义的,它具体可为非离子表面活性剂、阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性表面活性剂、两性离子表面活性剂和半极性表面活性剂,或者它们的混合物。

[0044] 表面活性剂通常以 0.1-60 重量%的水平存在于本发明的组合物中。

[0045] 优选将表面活性剂配制以与组合物中的酶成分兼容。在液体或凝胶组合物中，最优选将表面活性剂以促进，或者至少不会降低这些组合物中任何酶的稳定性的方式进行配制。

[0046] 根据本发明，待使用的优选的体系包含如本文所述非离子和 / 或阴离子表面活性剂的一种或多种作为表面活性剂。

[0047] 烷基酚的聚环氧乙烷、聚环氧丙烷和聚环氧丁烷缩聚物都适合用作本发明表面活性剂体系中的非离子表面活性剂，其中优选聚环氧乙烷缩聚物。这些化合物包括烷基酚与烯烃氧化物 (alkylene oxide) 的缩聚物，所述烷基酚具有包含大约 6 至大约 14 个碳原子，优选大约 8 至大约 14 个碳原子的以直链或支链结构存在的烷基。在一个优选的实施方案中，环氧乙烷以等于大约 2 至大约 25 摩尔，更优选大约 3 至大约 15 摩尔环氧乙烷 / 摩尔烷基酚的量存在。

[0048] 商业上可得的这类非离子表面活性剂包括 GAF Corporation 销售的 Igepal™ CO-630；和均由 Rohm & Haas Company 销售的 Triton™ X-45, X-114, X-100 和 X-102。这些表面活性剂通常被称为烷基酚烷氧基化物 (alkylphenol alkoxylate) (如，烷基酚乙氧基化物)。

[0049] 脂肪伯醇和仲醇与大约 1 至大约 25 摩尔环氧乙烷的缩聚产物适合用作非离子表面活性剂体系中的非离子表面活性剂。脂肪醇的烷基链可为直链或支链，可为伯醇或仲醇，并通常含有大约 8 至大约 22 个碳原子。优选的是醇与大约 2 至大约 10 摩尔环氧乙烷 / 摩尔醇的缩聚产物，所述的醇具有包含大约 8 至大约 20 个，优选大约 10 至大约 18 个碳原子的烷基。所述的缩聚产物中存在大约 2 至大约 7 摩尔环氧乙烷，并最优选 2 至 5 摩尔环氧乙烷 / 摩尔醇。商业上可得的这类非离子表面活性剂的实例包括均由美国联合碳化物公司 (Union Carbide Corporation) 销售的 Tergitol™ 15-S-9 (C₁₁-C₁₅ 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩聚物)，Tergitol™ 24-L-6NMW (C₁₂-C₁₄ 伯醇与 6 摩尔环氧乙烷的缩聚产物其具有窄的分子量分布)；由壳牌化学公司 (Shell Chemical Company) 销售的 Neodol™ 45-9 (C₁₄-C₁₅ 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩聚物)，Neodol™ 23-3 (C₁₂-C₁₃ 直链醇与 3.0 摩尔环氧乙烷的缩聚物)，Neodol™ 45-7 (C₁₄-C₁₅ 直链醇与 7 摩尔环氧乙烷的缩聚物)，Neodol™ 45-5 (C₁₄-C₁₅ 直链醇与 5 摩尔环氧乙烷的缩聚物)；由宝洁公司 (Proctor & Gamble Company) 销售的 Kyro™ EOB (C₁₃-C₁₅ 醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩聚物)；和由 Hoechst 销售的 Genapol LA 050 (C₁₂-C₁₄ 醇与 5 摩尔环氧乙烷的缩聚物)。在这些产品中 HLB 的优选范围是 8-11，并最优选 8-10。

[0050] 也用作表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是美国专利 No.4, 565, 647 中公开的烷基多糖 (alkylpolysaccharide)，其具有含有大约 6 至大约 30 个，优选大约 10 至大约 16 个碳原子和一个多糖例如多聚糖苷的疏水基团，含有大约 1.3 至大约 10 个，优选大约 1.3 至大约 3 个，最优选大约 1.3 至大约 2.7 个糖单元 (saccharide unit) 的亲水基团。可以使用任何含有 5 或 6 个碳原子的还原糖类如葡萄糖、半乳糖，而且半乳糖基部分可以被葡萄糖基部分取代 (与葡萄糖苷或半乳糖苷相反，疏水基团任选地连接于 2-, 3-, 4- 等位置，从而得到葡萄糖或者半乳糖)。糖间键可以位于如附加糖单元的一个位置与先前糖单元上的 2-, 3-, 4- 和 / 或 6- 位置之间。

[0051] 优选的烷基聚糖苷具有下式：



[0053] 其中 R^2 选自烷基、烷基苯基、羟基烷基、羟基烷基苯基以及它们的混合物，其中所述烷基含有大约 10 至大约 18 个，优选大约 12 至大约 14 个碳原子； n 为 2 或 3，优选 2； t 为 0 至大约 10，优选 0； x 为大约 1.3 至大约 10，优选大约 1.3 至大约 3，最优选大约 1.3 至大约 2.7。糖基优选来自葡萄糖。为了制备这些化合物，首先形成醇或烷基聚乙氧基醇，然后使其与葡萄糖或葡萄糖的来源反应以形成葡萄糖苷（连接在 1- 位置）。随后可将附加糖基单元连接在它们的 1- 位置与先前糖基单元的 2-、3-、4- 和 / 或 6- 位置，主要优选 2- 位置之间。

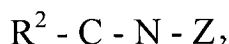
[0054] 通过将环氧丙烷与丙二醇缩聚形成的含有疏水物质的环氧乙烷缩聚产物也适于用作附加的非离子表面活性剂体系。这些化合物的疏水部分优选具有大约 1500 至大约 1800 的分子量，并且表现水不溶性。将聚氧乙烯部分添加至此疏水部分旨在增加分子作为整体的水溶性，并且当聚氧乙烯含量为大约缩聚产物总重量的 50% 时，其相当于与多至大约 40 摩尔的环氧乙烷缩聚，直到此时仍能保持产品的液体特征。这类化合物的实例包括 BASF 销售的某些商业上可得到的 Pluronic™ 表面活性剂。

[0055] 也适合用作非离子表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是环氧丙烷和乙二胺 (ethylenediamine) 的反应产物与环氧乙烷的缩聚产物。这些化合物的疏水部分由乙二胺与过量环氧丙烷反应的产物组成，并通常具有大约 2500 至大约 3000 的分子量。该疏水部分与环氧乙烷缩聚至一定程度以使缩聚产物含有大约 40% 至大约 80 重量% 的聚氧乙烯，并具有大约 5000 至大约 11000 的分子量。这类非离子表面活性剂的实例包括 BASF 销售的某些商业上可得到的 Tetronic™ 化合物。

[0056] 优选用作表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是烷基酚的聚环氧乙烷缩聚物，脂肪族伯醇和仲醇与大约 1 至大约 25 摩尔环氧乙烷、烷基聚糖及其混合物的缩聚产物。最优选的是含有 3 至 15 个乙氧基的 C_8 - C_{14} 烷基酚乙氧基化物和含有 2-10 个乙氧基的 C_8 - C_{18} (优选平均 C_{10}) 醇乙氧基化物，以及它们的混合物。

[0057] 非常优选的非离子表面活性剂是下式的多羟基脂肪酸酰胺表面活性剂：

[0058]



[0059] 其中 R^1 是 H，或 R^1 是 C_{1-4} 烷基，2- 羟乙基，2- 羟丙基或者它们混合物； R^2 是 C_{5-31} 烷基；和 Z 是具有线性烷基链的多羟基烷基或者其烷氧基衍生物，所述线性烷基链具有至少 3 个与该链直接连接的羟基。优选地， R^1 是甲基， R^2 是直链 (straight) C_{11-15} 烷基或者 C_{16-18} 烷基或烯基链如椰子烷基，或者它们的混合物，和 Z 是在还原胺化 (reductive amination) 反应中由还原糖如葡萄糖、果糖、麦芽糖或乳糖得到的。

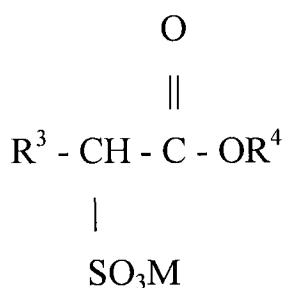
[0060] 非常优选的阴离子表面活性剂包括烷基烷氧基硫酸盐表面活性剂。其例子为式 $RO(A)_mSO_3M$ 的水溶性盐或酸，其中 R 是未取代的 C_{10} - C_{24} 烷基或者具有 C_{10} - C_{24} 烷基组分的羟基烷基，优选 C_{12} - C_{20} 烷基或者羟基烷基，更优选 C_{12} - C_{18} 烷基或者羟基烷基； A 是乙氧基或者丙氧基单元； m 大于 0，通常为大约 0.5- 大约 6，更优选大约 0.5- 大约 3； M

是 H 或者阳离子, 其可为例如金属阳离子 (例如钠、钾、锂、钙、镁等)、铵或取代的铵阳离子。这里也包括烷基乙氧基硫酸盐以及烷基丙氧基硫酸盐。取代的铵阳离子的具体实例包括甲基-、二甲基、三甲基-铵阳离子和季铵阳离子, 如四甲基铵和二甲基哌啶鎓 (dimethyl piperidinium) 阳离子以及那些衍生自烷基胺的物质, 如乙胺、二乙胺、三乙胺以及它们的混合物等。代表性的表面活性剂为 C_{12} - C_{18} 烷基聚乙氧基化物 (1.0) 硫酸盐 (C_{12} - $C_{18}E(1.0)M$), C_{12} - C_{18} 烷基聚乙氧基化物 (2.25) 硫酸盐 (C_{12} - $C_{18}(2.25)M$), C_{12} - C_{18} 烷基聚乙氧基化物 (3.0) 硫酸盐 (C_{12} - $C_{18}E(3.0)M$), 和 C_{12} - C_{18} 烷基聚乙氧基化物 (4.0) 硫酸盐 (C_{12} - $C_{18}E(4.0)M$), 其中 M 方便地选自钠和钾。

[0061] 待用的适合的阴离子表面活性剂为烷基酯磺酸盐表面活性剂, 其包括 C_8 - C_{20} 羧酸 (即, 脂肪酸) 的线性酯, 其根据 “The Journal of the American Oil Chemists Society, 52(1975), pp.323-329” 用气态 SO_3 磺化。适合的起始材料包括如由动物脂 (tallow)、棕榈油等得到的天然脂肪物质。

[0062] 优选的烷基酯磺酸盐表面活性剂包括以下结构式的烷基酯磺酸盐表面活性剂:

[0063]



[0064] 其中 R^3 是 C_8 - C_{20} 烃基, 优选烷基, 或者它们的组合; R^4 是 C_1 - C_6 烃基, 优选烷基, 或者它们的组合; 而 M 是与烷基酯磺酸盐形成水溶性盐的阳离子。适合的成盐阳离子包括金属如钠、钾和锂, 以及取代的或未取代的铵阳离子, 如单乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺。优选地, R^3 是 C_{10} - C_{16} 烷基, R^4 是甲基、乙基或异丙基。尤其优选的是甲基酯磺酸盐, 其中 R^3 是 C_{10} - C_{16} 烷基。

[0065] 其他适合的阴离子表面活性剂包括烷基硫酸盐表面活性剂, 其为式 $ROSO_3M$ 的水溶性盐或酸, 其中 R 优选为 C_{10} - C_{24} 烃基, 优选具有 C_{10} - C_{20} 烷基部分的烷基或羟基烷基, 更优选 C_{12} - C_{18} 烷基或羟基烷基, 而 M 为 H 或阳离子, 例如碱金属阳离子 (例如钠、钾、锂), 或铵盐或取代的铵 (如甲基-、二甲基-、三甲基铵阳离子和季铵阳离子, 如四甲基铵和二甲基哌啶鎓阳离子, 以及来自烷基铵, 如乙胺、二乙胺、三乙胺, 以及它们的混合物的季铵盐阳离子等)。通常, 较低洗涤温度 (如大约 $50^\circ C$ 以下) 优选 C_{12} - C_{16} 的烷基链, 而较高洗涤温度 (如大约 $50^\circ C$ 以上) 优选 C_{16} - C_{18} 的烷基链。

[0066] 用于洗涤目的的其他阴离子表面活性剂包括皂类 (soap) 的盐 (其包括, 例如, 钠、钾、铵和取代铵盐, 如单乙醇、二乙醇和三乙醇胺盐), C_8 - C_{22} 伯烷或仲烷磺酸盐, C_8 - C_{24} 烯烴磺酸盐, 通过磺化碱土金属柠檬酸盐的热解 (pyrolyzed) 产物而制得的磺化聚羧酸, 如英国专利 1,082, 179 说明书中描述的, C_8 - C_{24} 烷基聚乙二醇醚磺酸盐 (其含有多至 10 摩尔的环氧乙烷); 烷基丙三醇磺酸盐, 脂肪酰丙三醇磺酸盐, 脂肪油酰丙三醇磺酸盐, 烷基酚环氧乙烷醚磺酸盐, 石蜡磺酸盐, 烷基磷酸盐, 羟乙基磺酸盐 (isethionate) 如酰基羟乙基磺酸盐, N-酰基牛磺酸盐, 烷基琥珀酰胺酸盐 (alkyl succinamate) 和磺

基琥珀酸盐 (sulfosuccinate), 磺基琥珀酸盐的单酯 (尤其是饱和和不饱和的 C_{12} - C_{18} 单酯) 和磺基琥珀酸盐的二酯 (尤其是饱和和不饱和的 C_6 - C_{12} 二酯), 酰基肌氨酸盐 (acyl sarcosinate), 烷基聚糖硫酸盐如烷基聚葡萄糖苷硫酸盐 (该非离子非硫酸化的化合物在下面描述), 支链伯烷基硫酸盐, 以及烷基聚乙氧基羧酸盐如式 $RO(CH_2CH_2O)_k-CH_2COO-M^+$ 中的那些, 其中 R 是 C_8 - C_{22} 烷基, k 为 1 至 10 的一个整数, 而 M 为成可溶性盐的阳离子。树脂酸 (resin acid) 和氢化的树脂酸也是适合的, 如松香 (rosin)、氢化松香, 以及存在于或来自妥尔油 (tall oil) 的树脂酸和氢化的树脂酸。

[0067] 非常优选的是烷基苯磺酸盐。尤其优选的是线性 (直链) 烷基苯磺酸盐 (LAS), 其中烷基优选含有 10-18 个碳原子。

[0068] " Surface Active Agents and Detergents " (Vol.I and II by Schwartz, Perry and Berch) 中描述了其他实例。美国专利 No.3, 929, 678 (第 23 栏第 58 行至第 29 栏第 23 行, 在本文中并入作为参考) 中也一般地公开了大量这样的表面活性剂。

[0069] 当包含在其中时, 本发明的组合物通常包含大约 1% 至大约 40%, 优选大约 3% 至大约 20 重量% 的所述阴离子表面活性剂。

[0070] 除了本文已经描述的那些之外, 本发明的组合物也可包含阳离子、两性 (ampholytic)、两性离子 (zwitterionic) 和半极性 (semi-polar) 表面活性剂, 以及非离子和 / 或阴离子表面活性剂。

[0071] 适用于本发明的组合物的阳离子清洁 (detersive) 表面活性剂是那些含有一个长链烃基的化合物。这类阳离子表面活性剂的实例包括铵表面活性剂, 如烷基三甲基铵卤化物以及具有下式的那些表面活性剂:

[0072] $[R^2(OR^3)_y][R^4(OR^3)_y]_2R^5N^+X^-$

[0073] 其中 R^2 是烷基或烷基链中具有大约 8 至大约 18 个碳原子的烷基苯基; 每个 R^3 选自: $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)-$, $-CH_2CH(CH_2OH)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, 以及它们的混合物; 每个 R^4 选自 C_1 - C_4 烷基, C_1 - C_4 羟基烷基, 通过将两个 R^4 基团连接形成的苺环结构、 $-CH_2CHOHCHOHCOR^6CHOHCH_2OH$, 其中 R^6 是任何己糖或分子量低于大约 1000 的己糖聚合物, 以及氢 (当 y 不等于 0 时); R^5 与 R^4 相同或者是烷基链, 其中的碳原子总数或者 R^2 加 R^5 不超过大约 18; 每个 y 为大约 0 至大约 10, 而 y 值的和为 0 至大约 15; 且 X 是任何适合的阴离子。

[0074] 非常优选的阳离子表面活性剂是适用于本组合物的水溶性季铵化合物, 其具有下式:

[0075] $R_1R_2R_3R_4N^+X^-$ (i)

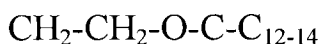
[0076] 其中 R_1 是 C_8 - C_{16} 烷基, R_2 、 R_3 和 R_4 中每个独立地为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 羟基烷基、苺基和 $-(C_2H_4)_xH$, 其中的 x 具有 2-5 的值且 X 是一种阴离子。 R_2 、 R_3 或 R_4 中至多一个为苺基。

[0077] R_1 优选的烷基链长度为 C_{12} - C_{15} , 尤其是其中烷基为来自椰子或棕榈核脂肪的链长的混合物, 或者是通过烯烃构建 (olefin build up) 或 OXO 醇合成而合成得到的。

[0078] R_2 、 R_3 和 R_4 的优选基团是甲基和羟基乙基, 并且阴离子 X 可以选自卤化物、甲基硫酸盐 (methosulphate)、醋酸盐和磷酸盐离子。

[0079] 适用于本发明的式 (i) 的季铵化合物的实例为:

- [0080] 椰子三甲基氯化铵或椰子三甲基溴化铵；
 [0081] 椰子甲基二羟基乙基氯化铵或椰子甲基二羟基乙基溴化铵；
 [0082] 癸基三甲基氯化铵；
 [0083] 癸基二甲基羟基乙基氯化铵或癸基二甲基羟基乙基溴化铵；
 [0084] C_{12-15} 二甲基羟基乙基氯化铵或 C_{12-15} 二甲基羟基乙基溴化铵；
 [0085] 椰子二甲基羟基乙基氯化铵或椰子二甲基羟基乙基溴化铵；
 [0086] 十四烷基三甲基铵甲基硫酸盐；
 [0087] 十二烷基二甲基苄基氯化铵或十二烷基二甲基苄基溴化铵；
 [0088] 十二烷基二甲基（乙烯氧基）₄ 氯化铵或十二烷基二甲基（乙烯氧基）₄ 溴化铵；
 [0089] 胆碱酯（式 (i) 的化合物，其中 R_1 是



- [0090] $\begin{array}{c} || \\ O \end{array}$ 烷基，且 R_2 、 R_3 、 R_4 为甲基）。

- [0091] 二烷基咪唑啉 (di-alkyl imidazoline) [式 (i) 的化合物]。

- [0092] 美国专利 No.4, 228,044 和 EP 000224 中还描述了其他用于本发明的阳离子表面活性剂。

- [0093] 当包含在其中时，本发明的组合物通常包含 0.2% 至大约 25%，优选大约 1% 至大约 8 重量%的所述阳离子表面活性剂。

- [0094] 两性表面活性剂也适用于本发明的组合物。可将这些表面活性剂广泛地描述为仲胺或叔胺的脂肪族衍生物，或者杂环仲胺或叔胺的脂肪族衍生物，其中脂肪族基团可以是直链或支链。这些脂肪族取代基中的一个包含至少大约 8 个碳原子，通常为大约 8 至大约 18 个碳原子，而且至少一个含有一个水增溶的阴离子基团，如羧基、磺酸根、硫酸根。两性表面活性剂的实例，请参见美国专利 No.3, 929, 678 (19 栏，第 18-35 行)。

- [0095] 当包含在其中时，本发明的组合物通常包含 0.2% 至大约 15%，优选大约 1% 至大约 10 重量%的所述两性表面活性剂。

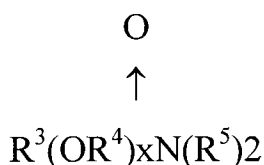
- [0096] 两性离子表面活性剂也适用于本发明组合物。可将这些表面活性剂广泛地描述为仲胺或叔胺的衍生物，杂环仲胺或叔胺的衍生物，或者季铵 (quaternary phosphonium) 或叔磺 (tertiary sulfonium) 化合物的衍生物。两性离子表面活性剂的实例，请参见美国专利 No.3, 929, 678 (19 栏 38 行到 22 栏 48 行)。

- [0097] 当包含在其中时，本发明的组合物通常包含 0.2% 至大约 15%，优选大约 1% 至大约 10 重量%的所述两性离子表面活性剂。

- [0098] 半极性非离子表面活性剂是特殊类别的非离子表面活性剂，其包括水溶性氧化胺 (amine oxide)，其含有一个大约 10 至大约 18 个碳原子的烷基部分和两个选自含有大约 1 至大约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的部分；水溶性氧化膦 (phosphine oxide)，其含有一个大约 10 至大约 18 个碳原子的烷基部分和两个选自含有大约 1 至大约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的部分；和水溶性亚砷 (sulfoxide)，其含有一个大约 10 至大约 18 个碳原子的烷基部分和一个选自含有大约 1 至大约 3 个碳原子的烷基和羟基烷基的部分。

- [0099] 半极性非离子洗涤剂表面活性剂包括具有下式的氧化胺表面活性剂：

- [0100]



[0101] 其中 R^3 是含有大约 8 至大约 22 个碳原子的烷基、羟基烷基、或烷基苄基或者它们的混合物； R^4 是含有大约 2 至大约 3 个碳原子的亚烷基 (alkylene) 或羟基亚烷基或者它们的混合物； x 是 0 至大约 3；而每个 R^5 是含有大约 1 至大约 3 个碳原子的烷基或羟基烷基，或含有大约 1 至大约 3 个环氧乙烷基团的聚环氧乙烷基团。 R^5 基团可以，例如通过氧原子或氮原子彼此连接以形成环状结构。

[0102] 这些氧化胺表面活性剂具体包括含有 C_{10} - C_{18} 烷基二甲基氧化胺和 C_8 - C_{12} 烷氧基乙基二羟基乙基氧化胺。

[0103] 当包含在其中时，本发明的组合物通常包含 0.2% 至大约 15%，优选大约 1% 至大约 10 重量% 的所述半极性非离子表面活性剂。

[0104] 酶

[0105] 淀粉酶

[0106] 根据本发明，可以使用任何的碱性 α -淀粉酶。在本发明上下文中，当最适 pH 在同步退浆和煮炼时存在的条件下大于 7，优选大于 8，尤其是大于 9 时，淀粉酶为“碱性”。

[0107] 适宜的 α -淀粉酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学修饰或基因修饰的突变株 (变体)。优选的碱性 α -淀粉酶来自芽孢杆菌属的菌株，例如地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌或者其他的芽孢杆菌，如芽孢杆菌 NCIB 12289，NCIB 12512，NCIB 12513，DSM 9375，DSMZ no.12649，KSM AP1378 (WO 97/00324)，KSM K36 或 KSM K38 (EP1,022, 334)。优选的是 WO 95/26397 中分别如 SEQ ID NOS.1 和 2 (即，本文的 SEQ ID NO : 4) 公开的芽孢杆菌 α -淀粉酶，WO 00/60060 中如序列 SEQ IDNO : 2 (即，本文的 SEQ ID NO : 6) 公开的 α -淀粉酶，以及由 Tsukamoto 等，Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol.151, pp.25-31 (1988) 公开的 #707 α -淀粉酶。

[0108] 商业上可得的碱性 α -淀粉酶产品或者含有 α -淀粉酶的产品包括以下列商品名出售的产品：NATALASETM，STAINZYMETM (Novozymes A/S)，BIOAMYLASE-D(G)，BIOAMYLASETM L (Biocon India Ltd.)，KEMZYMTM AT9000 (Biozym Ges.m.b.H，瑞士)，PURASTARTM ST，PURASTARTM HPAmL，PURAFFECTTM OxAm，RAPIDASETM TEX (Genencor Int.Inc，美国)，KAM (KAO，日本)

[0109] 在本发明的具体实施方案中，碱性 α -淀粉酶是具有 SEQ ID NO : 4 的氨基酸序列的 α -淀粉酶，或具有 SEQ ID NO : 6 的氨基酸序列的 α -淀粉酶，或者与 SEQ ID NO : 4 或 SEQ ID NO : 6 中的任何一个序列相比，具有至少 60%，优选至少 70%，更优选至少 80%，还更优选至少 90%，如至少 95%，至少 96%，至少 97%，至少 98% 或者至少 99% 的同一性程度的 α -淀粉酶

[0110] 为了本发明的目的，通过 Clustal 方法 (Higgins, 1989, CABIOS 5 : 151-153)，使用 LASERGENETM MEGALIGNTM 软件 (DNASTAR, Inc., Madison,

WI) 以及同一性表格和以下多重比对参数 (multiple alignment parameter) 来测定两种氨基酸序列之间的同一性程度: 缺口罚分 (Gap penalty) 为 10, 和缺口长度罚分 (gaplength penalty) 为 10。 配对比对参数 (Pairwise alignment parameter) 为: Ktuple = 1, 缺口罚分 = 3, 窗口 (windows) = 5 和对角线 (diagonals) = 5]。

[0111] 在优选的实施方案中, 亲代 α -淀粉酶在 D183 和 G184 位置具有一个或多个缺失, 优选其中所述的 α -淀粉酶变体还在 N195F (使用 SEQ ID NO: 4 编号) 位置具有一个取代。

[0112] 在另一个优选的实施方案中, 亲代 α -淀粉酶具有一个或多个如下的缺失 / 取代: Delta(R81-G182); Delta(D183-G184); Delta(D183-G184)+N195F; R181Q+N445Q+K446N; Delta(D183-G184)+R181Q, Delta(D183-G184) 和一个或多个如下的取代: R118K, N195F, R320K, R458K, 尤其是其中变体具有如下突变: Delta(D183+G184)+R118K+N195F+R320K+R458K (使用 SEQ ID NO: 6 编号)。

[0113] 在另一个优选的实施方案中, 碱性 α -淀粉酶是 SEQ ID NO: 6 所示的 α -淀粉酶, 其还包含一个或多个如下的取代: M9L, M202L, V214T, M323T, M382Y, E345R, 或者具有所有下列取代的 A560 α -淀粉酶: M9L, M202L, V214T, M323T, M382Y 或 M9L, M202L, V214T, M323T 和 E345R。

[0114] 在本发明的方法的实施方案中, 碱性 α -淀粉酶可优选地以 0.05-150KNU/L 处理溶液, 优选 1-100KNU/L 处理溶液, 尤其是 2-20KNU/L 处理溶液或者 0.05-150KNU/kg 织物, 优选 1-100KNU/kg 织物, 尤其是 2-20KNU/kg 织物的浓度存在。

[0115] 碱性煮炼酶

[0116] 根据本发明, 可以使用任何碱性煮炼酶。 该碱性煮炼酶可为选自果胶酶, 纤维素酶, 脂肪酶, 蛋白酶, 木葡聚糖酶, 角质酶及其混合物的碱性酶。 在本发明上下文中, 当最适 pH 在同步退浆和煮炼过程中存在的条件下大于 7, 优选大于 8, 尤其是大于 9 时, 煮炼酶为“碱性”。

[0117] 在优选的实施方案中, 碱性果胶酶是果胶酸裂合酶、果胶裂和酶 (pectinelyase)、聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase)、或者聚半乳糖醛酸裂合酶 (polygalacturonate lyase)。

[0118] 果胶酶

[0119] 术语“果胶酶”旨在包括任何碱性果胶酶。 果胶酶是一组水解主要为聚-1,4- α -D-半乳糖醛酸苷及其衍生物的果胶物质中的糖苷键的酶 (参见 Sakai 等发表在 *Advances in Applied Microbiology*, Vol.39, pp.213-294 (1993) 上的 Pectin, pectinase and propectinase: production, properties and applications—文), 该酶被理解为包括成熟蛋白质或其前体形式, 或其基本上具有全长酶的活性的功能片断。 此外, 术语果胶酶旨在包括这些酶的同源物或类似物。

[0120] 优选地, 碱性果胶酶是通过反式消去 (transelimination) 催化果胶酸 (也称为聚半乳糖醛酸) 中 α -1, 4-糖苷键的随机断裂的酶, 例如聚半乳糖醛酸裂合酶类 (EC 4.2.2.2) (PGL), 也称为聚 (1, 4- α -D-半乳糖醛酸苷) 裂合酶, 也称为果胶酸裂合酶。 另外优选的是催化果胶酸中 α -1, 4-糖苷键的随机水解的果胶酶, 例如聚半乳糖醛酸酶类 (EC 3.2.1.15) (PG), 也称为 endo-PG。 同样优选的是催化果胶中 α -1, 4-糖苷键的随机断裂

的果胶酶，如聚甲基半乳糖醛酸裂合酶 (EC 4.2.2.10) (PMGL)，也称为 Endo-PMGL，还称为聚(甲氧基半乳糖醛酸苷)裂合酶，还称为果胶裂合酶。其他优选的果胶酶为半乳糖酶 (EC 3.2.1.89)、阿拉伯聚糖酶 (arabinanase) (EC 3.2.1.99)、果胶酯酶 (EC 3.1.1.11) 和甘露聚糖酶 (EC 3.2.1.78)。

[0121] 所述的酶优选来自微生物，优选地来自细菌、古细菌 (archaea) 或者真菌，尤其是来自细菌，例如属于芽孢杆菌属的细菌，优选属于嗜碱芽孢杆菌的菌株，其可选自地衣芽孢杆菌及高度相关的芽孢杆菌菌种，其中所有菌种基于 16S rDNA 序列与地衣芽孢杆菌具有至少 90% 的同源性 (同一性)。这些菌种的具体例子为：地衣芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、假嗜碱芽孢杆菌和 *Bacillus clarkii*。一个具体且高度优选的例子是地衣芽孢杆菌菌株，ATCC 14580 (美国专利 No.6,284, 524)。其他有用的果胶酸裂合酶来自于 *Bacillus agaradhaerens*，尤其是来自作为 NCIMB 40482 保藏的菌株；以及来自于枯草芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*)、科氏芽孢杆菌 (*Bacillus cohnii*)、假嗜碱芽孢杆菌、欧文氏菌 9482，尤其是 FERM BP-5994 菌株和多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*)。

[0122] 果胶酶可以是存在于由给定的微生物产生的酶体系中的一种成分，该酶体系大多都含有包括上述鉴定的那些酶的几种不同的果胶酶成分。

[0123] 另外，果胶酶可以是单一的成分，即，可存在于由给定微生物产生的酶体系中的一种基本上不含其它果胶酶的成分。该单一成分通常为重组的成分，即，通过克隆编码该单一成分的 DNA 序列，然后用该 DNA 序列转化细胞并在宿主中表达而产生的成分。这些有用的重组酶，尤其是果胶酸裂合酶、果胶裂合酶和聚半乳糖醛酸酶在例如 WO 99/27083 和 WO 99/27084 (来自 Novozymes A/S) 中详细描述，其全文包括序列表在此并入作为参考。宿主优选为异源宿主，但是在某些条件下，宿主也可以是同源宿主。

[0124] 在优选的实施方案中，本发明使用的果胶酸裂合酶来自芽孢杆菌属，优选地衣芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、假嗜碱芽孢杆菌和 *Bacillus clarkia*，尤其是地衣芽孢杆菌，ATCC 14580。

[0125] 在更加优选的实施方案中，果胶酸裂合酶是来自地衣芽孢杆菌菌株的本文 SEQ ID NO: 2 中成熟的果胶酸裂合酶。该果胶酸裂合酶也在美国专利 No.6, 284, 524 中公开，其在此并入作为参考。

[0126] 果胶酶，尤其是果胶酸裂合酶，可以优选地以 1-1, 500 APSU/kg 织物，优选 10-1, 200 APSU/kg 织物，尤其是 100-1,000 APSU/kg 织物的浓度存在。

[0127] 商业上可获得的碱性果胶酸裂合酶包括来自 Novozymes A/S，丹麦的 BIOPREP™ 和 SCOURZYME™ L。

[0128] 蛋白酶

[0129] 可以使用任何适用于碱性溶液的蛋白酶。适合的蛋白酶包括那些动物、植物以及微生物来源的蛋白酶。优选微生物来源。包括化学修饰或基因修饰的突变体。蛋白酶可以是丝氨酸蛋白酶，优选碱性微生物蛋白酶或者胰蛋白酶样 (trypsin-like) 蛋白酶。碱性蛋白酶的实例是枯草杆菌蛋白酶 (subtilisin)，尤其是那些来自芽孢杆菌属，优选迟缓芽孢杆菌或 *Bacillus clausii* 的蛋白酶，例如枯草杆菌蛋白酶 Novo，枯草杆菌蛋白酶 Carlsberg，枯草杆菌蛋白酶 309，枯草杆菌蛋白酶 147 和枯草杆菌蛋白酶 168 (在 WO

89/06279 中描述)。

[0130] 优选的商业上可得的蛋白酶包括以下列商品名出售的那些蛋白酶：ALCALASETM，SAVINASETM 16L Type Ex，PRIMASETM，DURAZYMTM，和 ESPERASETM (Novozymes A/S，丹麦)，以下列商品名出售的那些蛋白酶：Genencor International Inc.，(美国)生产的 OPTICLEANTM，OPTIMASETM，PROPARASETM，PURAFFECTTM，PURAPECTTM MA 和 PURAPECTTM OX，PURAFFECTTM OX-1 和 PURAFFECTTM OX-2。

[0131] 在本发明方法的实施方案中，蛋白酶可以以 0.001-10KNPU/L，优选 0.1-1KNPU/L，尤其是大约 0.3KNPU/L 或 0.001-10KNPU/kg 织物，优选 0.1-1KNPU/kg 织物，尤其是大约 0.3KNPU/kg 织物的浓度存在。

[0132] 脂肪酶

[0133] 可以使用任何适用于碱性溶液的脂肪酶。适合的脂肪酶包括细菌来源或真菌来源的那些脂肪酶。包括化学修饰或基因修饰的突变体。有用的脂肪酶的实例包括 Humicolalanuginosa 脂肪酶，如 EP 258068 和 EP 305216 中所述；曼赫根毛霉 (*Rhizomucor miehei*) 脂肪酶，如 EP 238023 中所述；假丝酵母属 (*Candida*) 脂肪酶，如 *C. antarctica* 脂肪酶，例如 EP 214761 中描述的 *C. antarctica* 脂肪酶 A 或 B；假单胞菌属脂肪酶如产碱假单胞菌 (*P. alcaligenes*) 以及假产碱假单胞菌 (*P. pseudoalcaligenes*) 脂肪酶，如 EP 218272 中所述；洋葱假单胞菌 (*P. cepacia*) 脂肪酶，如 EP 331376 中所述；施氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 脂肪酶，如 GB 1, 372,034 中公开的；荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*) 脂肪酶，芽孢杆菌属脂肪酶，例如枯草芽孢杆菌脂肪酶 (Dartois 等，*Biochemica et Biophysica Acta* 1131, 253-260 (1993))，嗜热脂肪芽孢杆菌脂肪酶 (JP 64/744992) 和短小芽孢杆菌脂肪酶 (WO 91/16422)。

[0134] 此外，许多克隆的脂肪酶可以是有用的，其包括 Yamaguchi 等，Gene 103, 61-67 (1991) 描述的沙门柏干酪青霉 (*Penicillium camembertii*) 脂肪酶，白地霉 (*Geotrichum candidum*) 脂肪酶 (Schimada, Y. 等，*J. Biochem.*, Vol. 106, pp. 383-388 (1989))，以及各种根霉属 (*Rhizopus*) 脂肪酶如德氏根霉 (*R. delemar*) 脂肪酶 (Hass, M.J 等，Gene, Vol. 109, pp. 117-113 (1991))、雪白根霉 (*R. niveus*) 脂肪酶 (Kugimiya 等，*Biosci. Biotech. Biochem.*, Vol. 56, pp. 716-719 (1992)) 和米根霉 (*R. oryzae*) 脂肪酶。

[0135] 特别适合的是脂肪酶如 MILIPASETM，LUMA FASTTM 和 LIPOMAXTM (Genencor International Inc, 美国)，LIPOLASETM 和 LIPOLASE ULTRATM，SP735 (Novozymes A/S, 丹麦)，以及 LIPASE P "Amano" (Amano Pharmaceutical Co. Ltd.)。

[0136] 在本发明方法的一个实施方案中，脂肪酶可以以 0.01-100LU/L 处理溶液，优选 1-10LU/L 处理溶液，尤其是大约 1LU/L 处理溶液或 0.01-100LU/kg 织物，优选 1-10LU/kg 织物，尤其是大约 1LU/kg 织物的浓度存在。

[0137] 纤维素酶

[0138] 在本上下文中，术语“纤维素酶”或“纤维素分解酶 (cellulolytic enzyme)”是指催化纤维素降解为葡萄糖、纤维二糖、丙糖和其他纤维寡糖 (cellooligosaccharide) 的酶。纤维素是通过 β -1, 4-糖苷键联结的葡萄糖的聚合物。纤维素链构成无数的分子内和分子间的氢键，其导致不溶性的纤维素微纤维 (microfibril) 的形成。纤维素通过

微生物水解成葡萄糖涉及以下三个主要类型的纤维素酶：内切 1, 4- β -葡聚糖酶 (EC 3.2.1.4)，其随机切割遍及纤维素分子的 β -1, 4-糖苷键；纤维二糖水解酶 (EC 3.2.1.91) (外切葡聚糖酶)，其从非还原末端消化纤维素；和 β -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.21)，其水解纤维二糖和低分子量纤维糊精 (cellodextrin) 以释放葡萄糖。大多数纤维素酶由纤维素结合区域 (CBD) 和催化区域 (CAD) 组成，它们由一个富含脯氨酸和羟基氨基酸残基的接头 (linker) 隔开。在本说明书和权利要求书中，术语“内切葡聚糖酶”是指具有纤维素分解活性的酶，特别是按照酶命名法 (1992) 归类为 EC 3.2.1.4 并且能够催化纤维素、地衣淀粉 (lichenin) 和谷类 β -D-葡聚糖中的 1, 4- β -D-糖苷键，包括也含有 1, 3 键的 β -D-葡聚糖中 1, 4 键的 (内切) 水解的内切 1, 4- β -葡聚糖酶活性。可以使用任何适用于碱性溶液的纤维素酶。合适的纤维素酶包括细菌或真菌来源的那些纤维素酶。包括化学修饰或基因修饰的突变体。美国专利 No.4, 435, 307 中公开了合适的纤维素酶，其中公开了由 *Humicola insolens* 产生的真菌纤维素酶。特别合适的纤维素酶是具有色彩保护 (colour care) 益处的纤维素酶。这样的纤维素酶的实例是在欧洲专利申请 No.0495257、WO 91/17243 和 WO 96/29397 中描述的纤维素酶。

[0139] 在一个优选的实施方案中，碱性纤维素酶是一种碱性内切葡聚糖酶，优选腐质霉属 (*Humicola*) 内切葡聚糖酶，特别是 *Humicola insolens* 内切葡聚糖酶，更优选来自 *Humicola insolens* DSM 1800 的 EG I 或 EG V 型内切葡聚糖酶，或者它们的变体，或者梭孢壳属 (*Thielavia*) 内切葡聚糖酶，优选土生梭孢壳 (*Thielavia terrestris*) 内切葡聚糖酶或者它的变体。

[0140] 商业上可获得的纤维素酶包括由 *Humicola insolens* 的菌株生产的 CELLUZYMETM 和 DENIMAXTM 399S (Novozymes A/S)，以及 KAC-500 (B)TM (Kao Corporation)。

[0141] 在本发明方法的一个实施方案中，纤维素酶可以以 0.001-10g 酶蛋白 /L 处理溶液，优选 0.005-5g 酶蛋白 /L 处理溶液，尤其是 0.01-3g 酶蛋白 /L 处理溶液或 0.001-10g 酶蛋白 /kg 织物，优选 0.005-5g 酶蛋白 /kg 织物，尤其是 0.01-3g 酶蛋白 /kg 织物的浓度使用。在一个实施方案中，纤维素酶以 0.1-1,000ECU/g 织物，优选 0.5-200ECU/g 织物，尤其是 1-500ECU/g 织物的浓度使用。

[0142] 角质酶

[0143] 角质酶是能够降解角质的酶，如 Lin T S & Kolattukudy P E, J. Bacteriol. 1978 133 (2) 942-951 中所述，例如，角质酶不同于经典的脂肪酶，因为在三丁酸甘油酯 (tributyrine) 底物的临界胶束浓度 (critical micelle concentration) (CMC) 附近观察不到可测定的活化。并且，角质酶被认为属于丝氨酸酯酶中的一类。角质酶也可以是 WO 96/13580 中所公开的来自 *Humicola insolens* 的角质酶。角质酶可以是变体，例如 WO 00/34450 和 WO 01/92502 中所公开的一种或多种变体，其在此并入作为参考。

[0144] 角质酶的实例为那些来自 *Humicola insolens* (美国专利 No.5, 827, 719)；来自镰孢属 (*Fusarium*) 菌株，如大刀粉红镰孢 (*F. roseum culmorum*)，或特别是 *F. solani pisi* (WO 90/09446, WO 94/14964, WO 94/03578) 的角质酶。角质酶也可以来自丝核菌属 (*Rhizoctonia*) 的菌株，如立枯丝核菌 (*R. solani*)，或来自链格孢属 (*Alternaria*) 的菌株，如 *A. brassicicola* (WO 94/03578)，或其变体，如 WO 00/34450 和 WO 01/92502 中描述的那些。角质酶还可以为细菌来源的，如假单胞菌属的菌株，优选 WO 01/34899 中公开的

门多萨假单胞菌 *Pseudomonas mendocina*)。

[0145] 角质酶可以以 0.001-25,000 微克酶蛋白 / 克织物, 优选 0.01-10,000 微克酶蛋白 /g 织物, 尤其是 0.05-1,000 微克酶蛋白 /g 织物的浓度加入。

[0146] 木葡聚糖酶 (Xyloglucanase)

[0147] 木葡聚糖酶是能够催化木葡聚糖分解 (solubilization) 为木葡聚糖寡糖的一种木葡聚糖特异性酶。按照 IUBMB 酶命名法 (2003), 木葡聚糖酶被归类为 EC 3.2.1.151。Pauly 等, *Glycobiology* 9(1999)p.93-100 公开了一种来自棘孢曲霉 (*Aspergillus aculeatus*) 的木葡聚糖特异性的内切- β -1, 4-葡聚糖酶。根据本发明, 所用的木葡聚糖酶可以来自微生物, 如真菌或细菌。有用的木葡聚糖酶的实例为第 12 家族木葡聚糖水解内切葡聚糖酶, 特别是如 WO 94/14953 中所述的来自例如棘孢曲霉的第 12 家族木葡聚糖水解内切葡聚糖酶。另一个有用的实例是由木霉属 (*Trichoderma*) 产生的木葡聚糖酶, 特别是 EGIII。木葡聚糖酶也可以来自芽孢杆菌属的细菌, 其包括地衣芽孢杆菌、*Bacillus agaradhaerens* 和坚强芽孢杆菌。木葡聚糖酶也可以是具有木葡聚糖酶活性且对不溶性纤维素具有低活性及对可溶性纤维素具有高活性的内切葡聚糖酶, 如来自例如 *Humicola insolens* 的第 7 家族内切葡聚糖酶。

[0148] 木葡聚糖酶可以以 0.001-25,000 微克酶蛋白 /g 织物, 优选 0.01-10,000 微克酶蛋白 /g 织物, 更优选 0.05-1,000 微克酶蛋白 /g 织物, 尤其是 0.5-500 微克酶蛋白 /g 织物的浓度加入。

[0149] 本发明的组合物

[0150] 在第二个方面, 本发明涉及适用于本发明的方法的组合物。该组合物可以是固体或者液体 (含水的) 组合物, 并且可以是浓缩的组合物或者现成的 (ready-to-use) 组合物。

[0151] 因此, 在这方面, 本发明涉及包含碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶的组合物。

[0152] 所包含的酶优选地可为上文“酶”部分提到的那些酶。

[0153] 在一个优选的实施方案中, 碱性 α -淀粉酶来自芽孢杆菌的菌株, 优选来自地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢菌、芽孢杆菌 NCIB 12289、NCIB 12512、NCIB 12513 或 DSM 9375, 或者 DSMZ no.12649、KSM AP1378, 或者 KSM K36 或 KSM K38 的菌株。

[0154] 芽孢杆菌 α -淀粉酶可以是分别在 D183 和 G184 位置具有一个或多个缺失的变体, 还可以在 N195F (按照 SEQ ID NO: 4 编号) 位置具有一个取代。芽孢杆菌 α -淀粉酶变体也可以是在 D183 和 G184 位置具有一个或多个缺失, 还可以具有一个或多个下述取代: R118K, N195F, R320K, R458K (按照 SEQ ID NO: 6 编号)。

[0155] 特别地, 芽孢杆菌变体可以在 D183 和 G184 位置具有双缺失并进一步包含下列取代: R118K+N195F+R320K+R458K (用 SEQ ID NO: 6 编号)。

[0156] 碱性煮炼酶选自: 碱性果胶酶、纤维素酶、脂肪酶、蛋白酶、角质酶、木葡聚糖酶以及它们的混合物。

[0157] 在一个优选的实施方案中, 碱性果胶酶是果胶酸裂合酶, 优选来自芽孢杆菌属的菌株, 优选地衣芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、假嗜碱芽孢杆菌和 *Bacillus clarkia* 的菌株, 尤其是地衣芽孢杆菌菌种, ATCC 14580 的果胶酸裂合酶。

[0158] 其他适用于实施本方法的制剂可以单独加入或者包含在本发明的组合物中。这类制剂的实例包括稳定剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、螯合剂和乳化剂以及它们的混合物。

[0159] 尽管碱性 α -淀粉酶和碱性煮炼酶可以按原样 (as such) 地加入, 但优选将它们配制成一种合适的组合物。这样, 酶可以以颗粒、优选非粉尘颗粒, 液体、尤其是稳定的液体, 浆液 (slurry) 的形式, 或以一种被保护的形式使用。如美国专利 No.4,106, 991 和 No.4, 661, 452 (均属于 Novozymes A/S) 中所公开的, 可产生无粉尘的颗粒, 而且可以任选地通过本领域公知的方法被涂覆。

[0160] 根据确定的方法, 例如, 可以通过加入多元醇, 如丙二醇、糖或糖醇或乙酸使液体酶制剂稳定。其他酶稳定剂是本领域公知的。保护的酶可按照 EP238216 中公开的方法来制备。

[0161] 原则上, 包含碱性 α -淀粉酶和煮炼酶的本发明的组合物可以包含待用于本发明的组合方法的任何其它试剂。在一个优选的实施方案中, 本发明的组合物包含至少一种其它成分, 该成分选自稳定剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、螯合剂和乳化剂。所有这些适用于纺织物的其它成分是本领域公知的。

[0162] 适合的表面活性剂包括上文“洗涤剂”部分提到的那些。浸润剂用来增加纤维的润湿性, 从而可得到迅速而均匀的退浆和煮炼。乳化剂用来乳化存在于织物上的疏水性杂质。分散剂用来防止提取的杂质再沉积于织物上。螯合剂用来去除如 Ca、Mg 和 Fe 可对本方法具有负面影响的离子, 且优选的实例包括苛性钠 (氢氧化钠) 和苏打灰 (碳酸钠)。

[0163] 本发明的组合物的用途

[0164] 在第三个方面, 本发明涉及本发明的组合物在同步退浆和煮炼方法, 优选本发明的方法中的用途。在一个优选的实施方案中, 本发明的组合物用于本发明的方法。

[0165] 材料和方法

[0166] 碱性 α -淀粉酶:

[0167] 碱性 α -淀粉酶 SZ 是如 WO 00/60060 中 SEQ ID NO: 2 所公开的芽孢杆菌 α -淀粉酶主链 (backbone) 的变体 α -淀粉酶。所述主链的氨基酸序列具有以下 6 个氨基酸缺失/取代:

[0168] D183*+G184*+R118K+N195F+R320K+R458K。

[0169] WO 01/66712 中也公开了该变体。该碱性 α -淀粉酶在批式 (batch) 03AGE014-4 中制得, 该酶可以根据要求从 Novozymes A/S 获得。

[0170] 碱性 α -淀粉酶 NL 是如 WO 95/26397 中 SEQ ID NO: 2 所公开的芽孢杆菌 α -淀粉酶主链的变体 α -淀粉酶, 其来自芽孢杆菌 NCIB 12512 并具有在 D183*+G184* 的双缺失。该碱性 α -淀粉酶在批式 APN00012 中制得, 该酶可以根据要求从 Novozymes A/S 获得。

[0171] 果胶酸裂合酶 SP 是如美国专利 No.6,284, 524 中 SEQ ID NO: 2 所公开的地衣芽孢杆菌果胶酸裂合酶。这种来自芽孢杆菌的果胶酸裂合酶在批式 KND01001 中制得。该酶可以根据要求从 Novozymes A/S 获得。

[0172] 方法:

[0173] α - 淀粉酶活性 (KNU)

[0174] 可使用土豆淀粉作为底物来测定淀粉分解的活性。该方法基于改性的土豆淀粉被酶分解,然后将淀粉/酶的样品溶液与碘溶液混合来进行反应。与标准的着色的玻璃标准物 (colored glass standard) 相比,起初形成深蓝色,但在淀粉分解期间蓝色变浅,并逐渐变成红棕色。

[0175] 一千 Novo α - 淀粉酶单位 (KNU) 定义为在标准条件 (即在 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.05$; 0.0003M Ca^{2+} ; 和 pH 5.6) 下,将 5260mg 干淀粉底物 Merck Amylum solubile 糊精化的酶量。

[0176] 更加详细描述这种分析方法的文件夹 EB-SM-0009.02/01 可以根据要求从 Novozymes A/S, 丹麦获得,该文件夹在此并入作为参考。

[0177] 粘度测定 APSU

[0178] APSU 单位: APSU 单位测定是一种使用不添加钙的底物聚半乳糖醛酸的粘度测定方法。

[0179] 将底物 5% 聚半乳糖醛酸钠盐 (Sigma P-1879) 溶解于 pH 10 的 0.1M 甘氨酸缓冲液中。将 4ml 底物在 40°C 预温育 5 分钟, (以 250 微 L 的体积) 加入酶并在混合器中以最大速度混合 10 秒钟,然后在 40°C 温育 20 分钟。为了获得标准曲线,对酶浓度范围在 5APSU/ml 至高于 100APSU/ml、具有 10-60APSU/ml 之间的至少 4 种浓度的稀释物测量两次。

[0180] 使用来自 Sofraser 公司, 45700 Villemandeur, 法国的 MIVI 600 测定粘度。该粘度在 10sec 后以 mV 测定。

[0181] 为了计算 APSU 单位,使用如上所述的标准酶稀释物以获得标准曲线。将使用具有单相指数式衰减及平稳段 (plateau) 的非线性拟合的 GrafPad Prism 程序用于计算。平稳段以及范围是在不加酶的情况下得到的 mV。平稳段为大于 100APSU/ml 的 mV, 并发现两个例子中粘度半衰减值为 12APSU 单位, 及 1.5APSU 的标准误差。

[0182] 裂合酶测定 (在 235nm)

[0183] 为了测定 β - 消除,使用溶解于 pH 10 的 0.1M 甘氨酸缓冲液中的底物 0.1% 的聚半乳糖醛酸钠盐 (Sigma P-1879) 进行试验测定 235nm 吸光度的增加。为了计算催化速率,在 235 的吸光度 (absorbency) 每分钟增加 5.2 单位对应于 1

[0184] μmol 的不饱和产物的形成 (Nasuna 和 Starr, (1966) J.Biol.Chem., Vol.241page5298-5306(1966); 和 Bartling, Wegener 和 Olsen, Microbiology, Vol.141page873-881(1995))。

[0185] 稳态条件使用具有 1cm 光通路的 0.5ml 的比色皿在 HP 二极管阵列分光光度计上在控温的比色皿容器中在 235nm 连续测定吸光度。为了达到稳态,至少在 200 秒的线性增加被用于速率的计算。其被用来转化成每分钟形成产物的微摩尔数。

[0186] 脂肪酶活性 (LU)

[0187] 将角质酶活性测定为使用三丁酸甘油酯作为底物测得的脂肪分解活性。此方法基于三丁酸甘油酯被酶水解,而且碱的消耗量则被记录为时间的函数。

[0188] 一个脂肪酶单位 (LU) 定义为标准条件下 (即,在 30°C ; pH 7.0; 以阿拉伯树胶 (Gum Arabic) 为乳化剂及三丁酸甘油酯作为底物), 每分钟释放 1 微摩尔可滴定的丁酸的

酶量。详细描述该分析方法的文件夹 AF 95/5 可以根据要求从 Novozymes A/S, 丹麦获得, 该文件夹在此并入作为参考。

[0189] 纤维素酶活性的测定 (ECU)

[0190] 纤维素分解活性可以通过测定酶降低羧甲基纤维素 (CMC) 溶液的粘度的能力, 以内切纤维素单位 (ECU) 来测定。

[0191] ECU 测定通过测定样品降低羧甲基纤维素 (CMC) 溶液粘度的能力来定量样品中存在的催化活性量。测试在 40°C、pH 7.5、0.1M 磷酸盐缓冲液、时间 30 分钟条件下, 在振动粘度计 (如, 来自 Sofraser, 法国的 MIVI 3000) 中, 利用降低 CMC 底物 (Hercules 7 LFD) 的粘度的相对酶标准物进行, 酶的浓度大约是 0.15 ECU/ml。主要的标准物定义为 8200 ECU/g。

[0192] 一个 ECU 是在上述条件下, 降低一半粘度的酶量。

[0193] 以下非限制性实施例说明了本发明。

[0194] 实施例

[0195] 实施例 1

[0196] 无酶条件下的棉织物的退浆:

[0197] 100% 棉机织织物 (270g/m², 织物结构为 Cupper 3/1。经纱: 28 股线 /cm, 纬纱: 14 股线 /cm) 由 Boras Wafveri Kungsfors, 瑞典得到。该织物在经纱上具有 8% 淀粉基的 (starch based) 浆料。切割并使用 0.25 m x 0.5m 的织物样本。用四硼酸钠制备 pH 9 的 25 mM 缓冲液。将来自 Unichema 的 0.5g/l 表面活性剂 BRIJ78 和来自 SASOL 的 0.5g/l 表面活性剂 Volel[®] TDA-7 乙氧基化物加入上述缓冲液中。将织物样本浸入 1 升的含有表面活性剂的缓冲溶液中大约 30 秒, 然后通过轧染机 (Mathis) 在大约 50°C 轧染使其达到 90% 的纤维吸湿率 (wetpickup)。迅速将该样本密封在一个塑料袋中, 其在 50°C 保温 1 小时。保温之后, 将织物样本通过 Mathis 轧染一蒸汽炉 (pad-steam range) 中的四个漂洗盒在 90°C 水中进行漂洗。通过漂洗盒的总时间为大约 8 分钟。在进行分析前, 先将织物样本在空气中干燥, 然后在 21°C (70° F) 和相对湿度为 65% 的调节室中平衡至少 24 小时。

[0198] 退浆 (Tegewa 方法)

[0199] 淀粉浆料的残留物通过将碘染色的织物样本与一套标准的照片进行比较而直观测定, 所述的照片具有 1-9 标度 (scale), 其中 1 为深蓝色, 而 9 为无色。通过将 10 克 KI 溶于 10ml 水, 加入 0.635gI₂ 克碘以及 200ml 乙醇, 在去离子水中配制成 1 升的溶液, 从而得到碘染色溶液。切割织物样品并在碘溶液中浸泡 60 秒, 然后在去离子水中漂洗大约 5 秒。将样品中过量的水被挤出 (press out) 之后, 由至少两个专业人员对织物样本进行评价, 给出平均数。方法和标准标度可从 Verband TEGEWA, Karlstrasse 21, Frankfurt a.M., 德国获取。

[0200] 果胶去除

[0201] 定量地测定织物上的果胶残留物。其原理是: 钌红 (ruthenium red) 与聚阴离子化合物, 如未甲基化的果胶结合。织物上的果胶水平与棉织物上钌红的浓度成比例, 而钌红的浓度与 Kulbelka-Munk 函数 (即 K/S) 也成线性比例关系。钌红染色的织物的颜色反射系数 (R) 在 540nm (Macbeth 色度计, Model#CE-7000) 测定, 并通过下式自动计算为 K/S 值:

[0202] $K/S = (1-R)^2/2R$ 。

[0203] 果胶去除百分比通过下式计算：

[0204] 果胶去除百分比 = $1 - \% \text{ Res. 果胶} = 1 - 100 * (K/S - K/S_0) / (K/S_{100} - K/S_0)$

[0205] 其中 K/S_{100} 来自含有 100% 果胶的织物，通常是原始的未处理的织物；而 K/S_0 则来自残留果胶为 0% 的织物，通常是深度煮炼并漂白的织物。基于来自 John H. Luft 和文章 “Ruthenium red and Violet I. Chemistry” 1971 中描述的信息，通过将 0.2g/L 钌红、1.0g/L 氯化铵、2.5ml/L 的 28% 氢氧化铵溶液、1.0g/L Silwet L-77 和 1.0g/L Tergitol 15-S-12 溶于蒸馏水以制成总共一升溶液从而获得染色溶液。该溶液每天在使用前配制。染色时，将 100mL 染料溶液用于 1 克织物。将织物样本在钌红溶液中于室温下保温 15 分钟。将样本在染色器 (stainer) 中漂洗，然后在 60°C 在蒸馏水 (100ml/1g 织物) 中漂洗 10 分钟。干燥后测定色反射系数 (R)。

[0206] 织物润湿性：

[0207] 织物润湿性是根据 AATCC 测试方法 79-1995，使用点滴 (drop test) 实验测定。使一滴水从固定的高度 (1 厘米) 滴落到平整的 (taut) 测试样品的表面上。测定水滴的镜面反射 (specular reflection) 消失所需的时间并被记录为润湿时间 (wetting time)。

[0208] 织物的白度

[0209] 将退浆的织物样本经过漂白水浴，并浸轧至 90-100% 的纤维吸湿率 (wetpick up)。漂白水浴含有 10ml/L 硅酸钠 40-42Be，5g/L 40% 的 EDTA，16ml/L 50% w/v 氢氧化钠，和 16ml/L 的 50% 过氧化氢。将织物样本在 100°C 温育 40 分钟，然后分别在 95°C、65°C、65°C 和 75°C 的四个漂洗盒中进行漂洗。通过漂洗盒的总时间为大约 8 分钟。风干和整理 (conditioning) 后，织物的白度根据 AATCC 实验方法 110-1995 测得。使用具有 300-700nm 的 CIE 光源 D65 和 196410° 观测器的反射系数色度计 (Macbeth 色度计，Model#CE-7000) 测得 CIE 三色激励 (tristimulus) 值。由基于 CIE 色度坐标 (chromaticity coordinate) 的公式计算白度。

[0210] 测试结果显示于表 1。

[0211] 实施例 2

[0212] 用 α 一淀粉酶将棉织物退浆

[0213] 除了在退浆前也将 10KNU/L 的 α 一淀粉酶 SZ 加入到含有缓冲溶液的表面活性剂中之外，织物和退浆方法基本上与实施例 1 相同。

[0214] 淀粉浆料残留物、果胶残留物、织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0215] 实施例 3

[0216] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0217] 除了在退浆前也将 250APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外，织物和退浆方法基本上与实施例 2 相同。

[0218] 淀粉浆料残留物、果胶残留物、织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0219] 实施例 4

[0220] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0221] 除了在退浆前也将 750APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 2 相同。

[0222] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0223] 实施例 5

[0224] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0225] 除了在退浆前也将 1500APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 2 相同。

[0226] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0227] 实施例 6

[0228] 用 α —淀粉酶 (NL) 对棉织物的退浆

[0229] 除了在退浆前将 10KNU/L 的 α —淀粉酶 NL 加入含有缓冲溶液的表面活性剂中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 1 相同。

[0230] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0231] 实施例 7

[0232] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0233] 除了在退浆前将 250APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 6 相同。

[0234] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0235] 实施例 8

[0236] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0237] 除了在退浆前将 750APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 6 相同。

[0238] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0239] 实施例 9

[0240] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0241] 除了在退浆前将 1500APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 6 相同。

[0242] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0243] 实施例 10

[0244] 用 α —淀粉酶 (SZ) 对棉织物的退浆

[0245] 除了在退浆前将 50KNU/L 的 α —淀粉酶 SZ 加入含有缓冲溶液的表面活性剂中之外, 织物和退浆方法基本上与实施例 1 相同。

[0246] 淀粉浆料残留物, 果胶残留物, 织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评

价。测试结果显示于表 1。

[0247] 实施例 11

[0248] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0249] 除了在退浆前也将 250APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外，织物和退浆方法基本上与实施例 10 相同。

[0250] 淀粉浆料残留物，果胶残留物，织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0251] 实施例 12

[0252] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0253] 除了在退浆前也将 750APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外，织物和退浆方法基本上与实施例 10 相同。

[0254] 淀粉浆料残留物，果胶残留物，织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0255] 实施例 13

[0256] 棉织物的同步退浆与生物煮炼

[0257] 除了在退浆前也将 1500 APSU/L 的果胶酸裂合酶 SP 加入退浆溶液中之外，织物和退浆方法基本上与实施例 10 相同。

[0258] 淀粉浆料残留物，果胶残留物，织物润湿性和白度用与实施例 1 相同的方法评价。测试结果显示于表 1。

[0259] 表 1

[0260]

实施例 #	退浆 (Tegewa)	果胶去除率 (%)	浸泡时间 (秒)	漂白后的白度 CIE Ganz82
1	3.0	11.0	6.4	63.0
2	4.75	13.9	13.6	64.2
3	4.5	28.5	7.3	64.3
4	4.5	45.8	3.4	65.4
5	4.75	52.3	2.3	64.7
6	4.25	14.7	8.8	65.5
7	4.5	25.7	6.4	65.3
8	4.5	42.1	4.9	65.1
9	4.0	49.5	4.4	65.4
10	5.5	17.4	6.6	66.2
11	6.25	31.9	4.0	66.6
12	6.25	45.2	3.1	67.3
13	5.75	50.9	3.0	67.6

Asn	Thr	Pro	Leu	Lys	Ile	Tyr	Val	Asn	Gly	Thr	Ile	Thr	Thr	Ser	Asn		
				85				90				95					
aca	tcc	gca	tca	aag	att	gac	gtc	aaa	gac	gtg	tca	aac	gta	tcg	att	336	
Thr	Ser	Ala	Ser	Lys	Ile	Asp	Val	Lys	Asp	Val	Ser	Asn	Val	Ser	Ile		
				100				105				110					
gtc	gga	tca	ggg	acc	aaa	ggg	gaa	ctc	aaa	ggg	atc	ggc	atc	aaa	ata	384	
Val	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Glu	Leu	Lys	Gly	Ile	Gly	Ile	Lys	Ile		
				115				120				125					
tgg	cgg	gcc	aac	aac	atc	atc	atc	cgc	aac	ttg	aaa	att	cac	gag	gtc	432	
Trp	Arg	Ala	Asn	Asn	Ile	Ile	Ile	Arg	Asn	Leu	Lys	Ile	His	Glu	Val		
				130				135				140					
gcc	tca	ggc	gat	aaa	gac	gcg	atc	ggc	att	gaa	ggc	cct	tct	aaa	aac	480	
Ala	Ser	Gly	Asp	Lys	Asp	Ala	Ile	Gly	Ile	Glu	Gly	Pro	Ser	Lys	Asn		
				145				150				155				160	
att	tgg	gtt	gat	cat	aat	gag	ctt	tac	cac	agc	ctg	aac	gtt	gac	aaa	528	
Ile	Trp	Val	Asp	His	Asn	Glu	Leu	Tyr	His	Ser	Leu	Asn	Val	Asp	Lys		
				165				170				175					
gat	tac	tat	gac	gga	tta	ttt	gac	gtc	aaa	aga	gat	gcg	gaa	tat	att	576	
Asp	Tyr	Tyr	Asp	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	Lys	Arg	Asp	Ala	Glu	Tyr	Ile		
				180				185				190					
aca	ttc	tct	tgg	aac	tat	gtg	cac	gat	gga	tgg	aaa	tca	atg	ctg	atg	624	
Thr	Phe	Ser	Trp	Asn	Tyr	Val	His	Asp	Gly	Trp	Lys	Ser	Met	Leu	Met		
				195				200				205					
ggt	tca	tcg	gac	agc	gat	aat	tac	aac	agg	acg	att	aca	ttc	cat	cat	672	
Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Asp	Asn	Tyr	Asn	Arg	Thr	Ile	Thr	Phe	His	His		
				210				215				220					
aac	tgg	ttt	gag	aat	ctg	aat	tcg	cgt	gtg	ccg	tca	ttc	cgt	ttc	gga	720	
Asn	Trp	Phe	Glu	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Val	Pro	Ser	Phe	Arg	Phe	Gly		
				225				230				235				240	
gaa	ggc	cat	att	tac	aac	aac	tat	ttc	aat	aaa	atc	atc	gac	agc	gga	768	
Glu	Gly	His	Ile	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Phe	Asn	Lys	Ile	Ile	Asp	Ser	Gly		
				245				250				255					
att	aat	tcg	agg	atg	ggc	gcg	cgc	atc	aga	att	gag	aac	aac	ctc	ttt	816	
Ile	Asn	Ser	Arg	Met	Gly	Ala	Arg	Ile	Arg	Ile	Glu	Asn	Asn	Leu	Phe		
				260				265				270					
gaa	aac	gcc	aaa	gat	ccg	att	gtc	tct	tgg	tac	agc	agt	tca	ccg	ggc	864	
Glu	Asn	Ala	Lys	Asp	Pro	Ile	Val	Ser	Trp	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Gly		
				275				280				285					
tat	tgg	cat	gta	tcc	aac	aac	aaa	ttt	gta	aac	tct	agg	ggc	agt	atg	912	

Tyr Trp His Val Ser Asn Asn Lys Phe Val Asn Ser Arg Gly Ser Met	
290	295 300
ccg act acc tct act aca acc tat aat ccg cca tac agc tac tca ctc	960
Pro Thr Thr Ser Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Pro Tyr Ser Tyr Ser Leu	
305	310 315 320
gac aat gtc gac aat gta aaa tca atc gtc aag caa aat gcc gga gtc	1008
Asp Asn Val Asp Asn Val Lys Ser Ile Val Lys Gln Asn Ala Gly Val	
	325 330 335
ggc aaa atc aat cca taa	1026
Gly Lys Ile Asn Pro	
340	

<210>2

<211>341

<212>PRT

<213> 地衣芽孢杆菌

<400>2

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

Ile Trp Val Asp His Asn Glu Leu Tyr His Ser Leu Asn Val Asp Lys		
165	170	175
Asp Tyr Tyr Asp Gly Leu Phe Asp Val Lys Arg Asp Ala Glu Tyr Ile		
180	185	190
Thr Phe Ser Trp Asn Tyr Val His Asp Gly Trp Lys Ser Met Leu Met		
195	200	205
Gly Ser Ser Asp Ser Asp Asn Tyr Asn Arg Thr Ile Thr Phe His His		
210	215	220
Asn Trp Phe Glu Asn Leu Asn Ser Arg Val Pro Ser Phe Arg Phe Gly		
225	230	235
Glu Gly His Ile Tyr Asn Asn Tyr Phe Asn Lys Ile Ile Asp Ser Gly		
245	250	255
Ile Asn Ser Arg Met Gly Ala Arg Ile Arg Ile Glu Asn Asn Leu Phe		
260	265	270
Glu Asn Ala Lys Asp Pro Ile Val Ser Trp Tyr Ser Ser Ser Pro Gly		
275	280	285
Tyr Trp His Val Ser Asn Asn Lys Phe Val Asn Ser Arg Gly Ser Met		
290	295	300
Pro Thr Thr Ser Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Pro Tyr Ser Tyr Ser Leu		
305	310	315
Asp Asn Val Asp Asn Val Lys Ser Ile Val Lys Gln Asn Ala Gly Val		
325	330	335
Gly Lys Ile Asn Pro		
340		

<210>3

<211>1455

<212>DNA

<213> 芽孢杆菌

<220>

<221>mat_ 肽

<222>(1).. ()

<223>SP722

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1455)

<400>3

cat cat aat ggg aca aat ggg acg atg atg caa tac ttt gaa tgg cac

48

His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp His	
1 5 10 15	
ttg cct aat gat ggg aat cac tgg aat aga tta aga gat gat gct agt	96
Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Asp Asp Ala Ser	
20 25 30	
aat cta aga aat aga ggt ata acc gct att tgg att ccg cct gcc tgg	144
Asn Leu Arg Asn Arg Gly Ile Thr Ala Ile Trp Ile Pro Pro Ala Trp	
35 40 45	
aaa ggg act tcg caa aat gat gtg ggg tat gga gcc tat gat ctt tat	192
Lys Gly Thr Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr	
50 55 60	
gat tta ggg gaa ttt aat caa aag ggg acg gtt cgt act aag tat ggg	240
Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly	
65 70 75 80	
aca cgt agt caa ttg gag tct gcc atc cat gct tta aag aat aat ggc	288
Thr Arg Ser Gln Leu Glu Ser Ala Ile His Ala Leu Lys Asn Asn Gly	
85 90 95	
gtt caa gtt tat ggg gat gta gtg atg aac cat aaa gga gga gct gat	336
Val Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp	
100 105 110	
gct aca gaa aac gtt ctt gct gtc gag gtg aat cca aat aac cgg aat	384
Ala Thr Glu Asn Val Leu Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn	
115 120 125	
caa gaa ata tct ggg gac tac aca att gag gct tgg act aag ttt gat	432
Gln Glu Ile Ser Gly Asp Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp	
130 135 140	
ttt cca ggg agg ggt aat aca tac tca gac ttt aaa tgg cgt tgg tat	480
Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp Arg Trp Tyr	
145 150 155 160	
cat ttc gat ggt gta gat tgg gat caa tca cga caa ttc caa aat cgt	528
His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Gln Phe Gln Asn Arg	
165 170 175	
atc tac aaa ttc cga ggt gat ggt aag gca tgg gat tgg gaa gta gat	576
Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp	
180 185 190	
tcg gaa aat gga aat tat gat tat tta atg tat gca gat gta gat atg	624
Ser Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Met	
195 200 205	
gat cat ccg gag gta gta aat gag ctt aga aga tgg gga gaa tgg tat	672

Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Arg	Trp	Gly	Glu	Trp	Tyr		
210						215						220					
aca	aat	aca	tta	aat	ctt	gat	gga	ttt	agg	atc	gat	gcg	gtg	aag	cat	720	
Thr	Asn	Thr	Leu	Asn	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His		
225						230						235			240		
att	aaa	tat	agc	ttt	aca	cgt	gat	tgg	ttg	acc	cat	gta	aga	aac	gca	768	
Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Leu	Thr	His	Val	Arg	Asn	Ala		
			245						250						255		
acg	gga	aaa	gaa	atg	ttt	gct	gtt	gct	gaa	ttt	tgg	aaa	aat	gat	tta	816	
Thr	Gly	Lys	Glu	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu		
			260						265						270		
ggt	gcc	ttg	gag	aac	tat	tta	aat	aaa	aca	aac	tgg	aat	cat	tct	gtc	864	
Gly	Ala	Leu	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val		
			275						280						285		
ttt	gat	gtc	ccc	ctt	cat	tat	aat	ctt	tat	aac	gcg	tca	aat	agt	gga	912	
Phe	Asp	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Asn	Ser	Gly		
290						295						300					
ggc	aac	tat	gac	atg	gca	aaa	ctt	ctt	aat	gga	acg	gtt	gtt	caa	aag	960	
Gly	Asn	Tyr	Asp	Met	Ala	Lys	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Lys		
305						310						315			320		
cat	cca	atg	cat	gcc	gta	act	ttt	gtg	gat	aat	cac	gat	tct	caa	cct	1008	
His	Pro	Met	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro		
			325						330						335		
ggg	gaa	tca	tta	gaa	tca	ttt	gta	caa	gaa	tgg	ttt	aag	cca	ctt	gct	1056	
Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Gln	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala		
			340						345						350		
tat	gcg	ctt	att	tta	aca	aga	gaa	caa	ggc	tat	ccc	tct	gtc	ttc	tat	1104	
Tyr	Ala	Leu	Ile	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr		
			355						360						365		
ggt	gac	tac	tat	gga	att	cca	aca	cat	agt	gtc	cca	gca	atg	aaa	gcc	1152	
Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Ser	Val	Pro	Ala	Met	Lys	Ala		
370						375						380					
aag	att	gat	cca	atc	tta	gag	gcg	cgt	caa	aat	ttt	gca	tat	gga	aca	1200	
Lys	Ile	Asp	Pro	Ile	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Asn	Phe	Ala	Tyr	Gly	Thr		
385						390						395			400		
caa	cat	gat	tat	ttt	gac	cat	cat	aat	ata	atc	gga	tgg	aca	cgt	gaa	1248	
Gln	His	Asp	Tyr	Phe	Asp	His	His	Asn	Ile	Ile	Gly	Trp	Thr	Arg	Glu		
			405						410						415		
gga	aat	acc	acg	cat	ccc	aat	tca	gga	ctt	gcg	act	atc	atg	tcg	gat	1296	

Gly Asn Thr Thr His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp	
420	425 430
ggg cca ggg gga gag aaa tgg atg tac gta ggg caa aat aaa gca ggt	1344
Gly Pro Gly Gly Glu Lys Trp Met Tyr Val Gly Gln Asn Lys Ala Gly	
435	440 445
caa gtt tgg cat gac ata act gga aat aaa cca gga aca gtt acg atc	1392
Gln Val Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Lys Pro Gly Thr Val Thr Ile	
450	455 460
aat gca gat gga tgg gct aat ttt tca gta aat gga gga tct gtt tcc	1440
Asn Ala Asp Gly Trp Ala Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser	
465	470 475 480
att tgg gtg aaa cga	1455
Ile Trp Val Lys Arg	
485	

<210>4

<211>485

<212>PRT

<213> 芽孢杆菌

<400>4

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

130	135	140
Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp Arg Trp Tyr		
145	150	155
His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Gln Phe Gln Asn Arg		160
	165	170
Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp		175
	180	185
Ser Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Met		190
	195	200
Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Arg Trp Gly Glu Trp Tyr		205
	210	215
Thr Asn Thr Leu Asn Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His		220
225	230	235
Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Leu Thr His Val Arg Asn Ala		240
	245	250
Thr Gly Lys Glu Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu		255
	260	265
Gly Ala Leu Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val		270
	275	280
Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Asn Ser Gly		285
	290	295
Gly Asn Tyr Asp Met Ala Lys Leu Leu Asn Gly Thr Val Val Gln Lys		300
305	310	315
His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro		320
	325	330
Gly Glu Ser Leu Glu Ser Phe Val Gln Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala		335
	340	345
Tyr Ala Leu Ile Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		350
	355	360
Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Ser Val Pro Ala Met Lys Ala		365
	370	375
Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Asn Phe Ala Tyr Gly Thr		380
385	390	395
Gln His Asp Tyr Phe Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		400
	405	410
Gly Asn Thr Thr His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		415
	420	425
Gly Pro Gly Gly Glu Lys Trp Met Tyr Val Gly Gln Asn Lys Ala Gly		430
	435	440
		445

Gln Val Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Lys Pro Gly Thr Val Thr Ile
 450 455 460
 Asn Ala Asp Gly Trp Ala Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser
 465 470 475 480
 Ile Trp Val Lys Arg
 485

<210>5

<211>1455

<212>DNA

<213> 芽孢杆菌

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1455)

<223>AA560

<220>

<221>mat_ 肽

<222>(1).. ()

<400>5

cac cat aat ggt acg aac ggc aca atg atg cag tac ttt gaa tgg tat	48
His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr	
1 5 10 15	
cta cca aat gac gga aac cat tgg aat aga tta agg tct gat gca agt	96
Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser	
20 25 30	
aac cta aaa gat aaa ggg atc tca gcg gtt tgg att cct cct gca tgg	144
Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp	
35 40 45	
aag ggt gcc tct caa aat gat gtg ggg tat ggt gct tat gat ctg tat	192
Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr	
50 55 60	
gat tta gga gaa ttc aat caa aaa gga acc att cgt aca aaa tat gga	240
Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly	
65 70 75 80	
acg cgc aat cag tta caa gct gca gtt aac gcc ttg aaa agt aat gga	288
Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly	
85 90 95	

att caa gtg tat ggc gat gtt gta atg aat cat aaa ggg gga gca gac	336
Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp	
100 105 110	
gct acc gaa atg gtt agg gca gtt gaa gta aac ccg aat aat aga aat	384
Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn	
115 120 125	
caa gaa gtg tcc ggt gaa tat aca att gag gct tgg aca aag ttt gac	432
Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp	
130 135 140	
ttt cca gga cga ggt aat act cat tca aac ttc aaa tgg aga tgg tat	480
Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr	
145 150 155 160	
cac ttt gat gga gta gat tgg gat cag tca cgt aag ctg aac aat cga	528
His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg	
165 170 175	
att tat aaa ttt aga ggt gat gga aaa ggg tgg gat tgg gaa gtc gat	576
Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp	
180 185 190	
aca gaa aac ggt aac tat gat tac cta atg tat gca gat att gac atg	624
Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met	
195 200 205	
gat cac cca gag gta gtg aat gag cta aga aat tgg ggt gtt tgg tat	672
Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr	
210 215 220	
acg aat aca tta ggc ctt gat ggt ttt aga ata gat gca gta aaa cat	720
Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His	
225 230 235 240	
ata aaa tac agc ttt act cgt gat tgg att aat cat gtt aga agt gca	768
Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala	
245 250 255	
act ggc aaa aat atg ttt gcg gtt gcg gaa ttt tgg aaa aat gat tta	816
Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu	
260 265 270	
ggt gct att gaa aac tat tta aac aaa aca aac tgg aac cat tca gtc	864
Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val	
275 280 285	
ttt gat gtt ccg ctg cac tat aac ctc tat aat gct tca aaa agc gga	912
Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly	
290 295 300	

ggg aat tat gat atg agg caa ata ttt aat ggt aca gtc gtg caa aga	960
Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg	
305 310 315 320	
cat cca atg cat gct gtt aca ttt gtt gat aat cat gat tcg caa cct	1008
His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro	
325 330 335	
gaa gaa gct tta gag tct ttt gtt gaa gaa tgg ttc aaa cca tta gcg	1056
Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala	
340 345 350	
tat gct ttg aca tta aca cgt gaa caa ggc tac cct tct gta ttt tat	1104
Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr	
355 360 365	
gga gat tat tat ggc att cca acg cat ggt gta cca gcg atg aaa tcg	1152
Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser	
370 375 380	
aaa att gac ccg att cta gaa gcg cgt caa aag tat gca tat gga aga	1200
Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg	
385 390 395 400	
caa aat gac tac tta gac cat cat aat atc atc ggt tgg aca cgt gaa	1248
Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu	
405 410 415	
ggg aat aca gca cac ccc aac tcc ggt tta gct act atc atg tcc gat	1296
Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp	
420 425 430	
ggg gca gga gga aat aag tgg atg ttt gtt ggg cgt aat aaa gct ggt	1344
Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly	
435 440 445	
caa gtt tgg acc gat atc act gga aat cgt gca ggt act gtt acg att	1392
Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile	
450 455 460	
aat gct gat gga tgg ggt aat ttt tct gta aat gga gga tca gtt tct	1440
Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser	
465 470 475 480	
att tgg gta aac aaa	1455
Ile Trp Val Asn Lys	
485	

<210>6

<211>485

<212>PRT

<213> 芽孢杆菌

<400>6

His	His	Asn	Gly	Thr	Asn	Gly	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	Tyr
1				5				10					15		
Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Asn	His	Trp	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Ala	Ser
			20					25					30		
Asn	Leu	Lys	Asp	Lys	Gly	Ile	Ser	Ala	Val	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp
			35					40					45		
Lys	Gly	Ala	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr
			50					55				60			
Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Ile	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly
65					70					75					80
Thr	Arg	Asn	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	Gly
					85					90					95
Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp
					100					105					110
Ala	Thr	Glu	Met	Val	Arg	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Asn	Asn	Arg	Asn
					115					120					125
Gln	Glu	Val	Ser	Gly	Glu	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp
					130						140				
Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	His	Ser	Asn	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr
145					150					155					160
His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Asn	Arg
					165					170					175
Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Asp	Gly	Lys	Gly	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp
					180					185					190
Thr	Glu	Asn	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met
					195					200					205
Asp	His	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr
					210					215					220
Thr	Asn	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His
225					230					235					240
Ile	Lys	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Ile	Asn	His	Val	Arg	Ser	Ala
					245					250					255
Thr	Gly	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu
					260					265					270
Gly	Ala	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val

275	280	285
Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly		
290	295	300
Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg		
305	310	315
His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro		
325	330	335
Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala		
340	345	350
Tyr Ala Leu ThrLeu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr		
355	360	365
Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser		
370	375	380
Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg		
385	390	395
Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu		
405	410	415
Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp		
420	425	430
Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly		
435	440	445
Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile		
450	455	460
Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser		
465	470	475
Ile Trp Val Asn Lys		480
485		