

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 D06M 16/00, C12N 9/42	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/19527
		(43) 国際公開日 1994年9月1日(01.09.94)
(21) 国際出願番号 PCT/JP94/00199 (22) 国際出願日 1994年2月10日(10. 02. 94) (30) 優先権データ 特願平5/51306 1993年2月18日(18. 02. 93) JP (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 明治製菓株式会社 (MEIJI SEIKA KABUSHIKI KAISHA)(JP/JP) 〒104 東京都中央区京橋二丁目4番16号 Tokyo, (JP) 洛東化成工業株式会社(RAKUTO KASEI INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP] 〒520 滋賀県大津市関津四丁目5番1号 Shiga, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 河端恵子(KAWAHATA, Keiko)(JP/JP) 浜谷 徹(HAMAYA, Toru)(JP/JP) 平山匡男(HIRAYAMA, Masao)(JP/JP) 河野敏明(KONO, Toshiaki)(JP/JP) 〒350-02 埼玉県坂戸市千代田五丁目3番1号 明治製菓株式会社 生物科学研究所内 Saitama, (JP) 大塚正昭(OTSUKA, Masaaki)(JP/JP) 〒520 滋賀県大津市関津四丁目5番1号 洛東化成工業株式会社内 Shiga, (JP)		(74) 代理人 弁理士 佐藤一雄, 外(SATO, Kazuo et al.) 〒100 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 富士ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CN, JP, US, 欧州特許(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title: CELLULASE PREPARATION AND METHOD OF TREATING CELLULOSIC FIBER THEREWITH

(54) 発明の名称 セルラーゼ製剤およびそれを用いたセルロース系繊維の処理方法

(57) Abstract

A cellulose preparation which can improve the color and hand of cellulosic fibers while suppressing a lowering in the strengths of the fibers. The cellulose of the preparation can adsorb crystalline cellulose and has an avicellase activity to CMCase activity ratio of 0.1 or above. The fibers treated with this preparation can retain a relative residual tensile strength of at least 75 % per count at a weight reduction rate of 5 %.

(57) 要約

本発明は、セルロース系繊維の強度低下を抑制しつつ、セルロース系繊維の色、風合いを改善することができるセルラーゼ製剤の提供をその目的としている。本発明によるセルラーゼ製剤は、セルラーゼが結晶性セルロースに吸着性を有し、かつ、アビセラーゼ活性／CMCase活性が0.1以上のものを含んでなる。それによって処理された繊維は、減量率5%において番手あたりの相対残存引っ張り強度を75%以上保持する。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AM	アルメニア	CZ	チェッコ共和国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュー・ジーランド
AT	オーストリア	DE	ドイツ	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	ES	スペイン	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナ・ファソ	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	GA	ガボン	LV	ラトヴィア	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GB	イギリス	MC	モナコ	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GE	グルジア	MD	モルドバ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TD	チャード
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	ML	マリ	TG	トーゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TJ	タジキスタン
CH	スイス	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
CI	コート・ジボアール	IT	イタリア	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CM	カメルーン	JP	日本	NE	ニジェール	US	米国
CN	中国	KE	ケニア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CS	チェッコスロヴァキア	KG	キルギスタン	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム

明 細 書

セルラーゼ製剤およびそれを用いた
セルロース系繊維の処理方法

発明の背景技術分野

本発明は、セルラーゼを含んでなる酵素製剤 (enzyme preparation)、すなわちセルラーゼ製剤 (cellulase preparation)、および、それを用いたセルロース系繊維の処理方法に関し、更に詳しくはセルロース系繊維の強度低下を抑制しつつ、セルロース系繊維の色、風合いを改善することができるセルラーゼ製剤に関する。

背景技術

セルロース系繊維をセルラーゼを含有した水溶液で処理し、それによってセルロース系繊維の色、風合いなどの諸性質が改善できることは広く知られている。この処理は、減量加工 (loss in weight treatment)、ストーンフリーストーンウオッシュプロセス (stone-free stone-washed process) などと呼ばれ、特にこのような加工がされたセルロース系繊維はストーンウオッシュトデニム様 (stone-washed denim like) と呼ばれる。

この処理に関しては、例えば繊維加工用製剤として、特開昭62-174298号、特開平4-8287号、

特表平４－５００７０２号などに記載のものが提案されており、また繊維加工方法として特開平４－１８５７７５号、特公平２－１９２３５号、特開平２－８０６８０号、特開平３－１６７３７８号、特開平２－８０６７３号、特公平４－１３４７１号、特開平３－１６７３６６号、特開平３－２４１０７６号、特開平３－２４１０７７号、特公平２－２０７５１号、特公平４－１３４７０号に記載のものが提案されている。

しかしながら、一般に、セルラーゼによってセルロース系繊維を処理するとセルロース系繊維の強度が低下してしまうことが指摘されている。

このようなセルロース系繊維の強度低下を防止するため、例えば処理時間を短縮する方法が提案されている

（特公昭５２－４８２３６号）。しかしながら、本発明者の知る限りでは、この方法では、繊維の強度低下は抑えられるが、その繊維の改質の程度は十分ではない。

さらに繊維強度の低下を抑制する方法として種々の方法が提案されている。例えば、化学的前処理を施す方法（例えば、特公平１－２３５９１号、特公平２－４０７８７号、特開平２－２１６２８２号、特開平３－５１３７６号、特開昭６０－９９０８４号）、樹脂または塩類をセルラーゼとともに共存させる方法（例えば、特開平２－２１６２８３号、特開平４－５０３８０号）、化学的後処理を施す方法（例えば、特開平４－５０３６５号）

、プラズマを用いた前処理を施す方法（例えば、特開平 1-260067号）、非セルロース系繊維と組み合わせる方法（例えば、特開平 3-97972号、特開平 3-234876号）、起毛処理と組み合わせる方法（例えば、特開平 4-18174号）などが知られている。しかしながら、これらの方法も、本発明者らの知る限りでは、その処理の効果が十分でない、セルラーゼによる処理によって本来得られる風合いとは異なるものに仕上がるなど、改善の余地を残すものであった。また、各種の薬品の添加は、装置や機材の損傷、作業の危険性などを伴うことがあり、さらに、廃水の処理が困難になるなどの新たな課題を生む場合があるので好ましくないといえる。

ところで、セルラーゼ製剤は一方で衣料用洗剤への添加剤としても開発がなされている。この用途は、セルラーゼの結晶性セルロースに非吸着性の成分、特に結晶性セルロースに非吸着性のエンドグルカナーゼ成分、が結晶性の高い領域に対しては見掛上ほとんど作用せず、汚れを閉じ込めている繊維の非結晶部分のみに作用しこれを除去するとの知見に基づくものである（Agric. Biol. Chem., 53(5), 1275-1281, 1989）。ここでのセルラーゼは、セルロースの非結晶部分にのみ作用してその汚れを落とすことを目的としており、このようなセルラーゼではセルロース系繊維の風合いや色の改善の効果は無論期

待できない。

また、特開昭63-264699号には、セルロースの結晶の程度（すなわち、高結晶または非結晶もしくは低結晶性）とその分解性からセルラーゼを評価したとの記述がなされている。しかし、この公報は衣料用洗剤組成物を提案するにどどまる。事実、このセルラーゼによってはセルロース系繊維の風合いや色の改善を行うことは出来ない。

さらに、セルロース系繊維の処理において、結晶性セルロースに吸着性を示すエンドグルカナーゼ成分が重要であるとした提案もなされている（特開昭57-23699号、特表平3-504080号）。しかし、これらの提案も衣料用洗剤への添加剤についてのものであって、減量加工さらには繊維の強度低下の抑制との観点からのものではない。事実、これらのセルラーゼによっては繊維の風合いや色を十分に改善することはできず、またその処理には繊維の強度低下が伴っていた。確かに、木綿のような結晶化度の高い繊維の強度と、結晶領域の状態との間には関連があることが指摘されている（繊維物理学70～71頁：繊維学会編、繊維便覧加工編1042～1043頁：繊維学会編）。しかし、上記事実は、結晶性セルロースへの吸着性を示すエンドグルカナーゼ成分のみを考慮しただけでは、繊維の強度低下を防止できないことを示唆している。

以上のように、セルラーゼを用いたセルロース系繊維の風合い、色を改善する方法においては、その繊維の強度低下の抑制が課題として存在していたといえる。本発明者等の知る限りでは、現在一般的に用いられているセルラーゼ製剤を用いた場合、加工前と比較して５％の減量率において、繊維強度（番手あたりの相対残存引っ張り強度）は加工前の６５％程度まで低下してしまう。

発明の概要

従って、本発明はセルロース系繊維の強度低下を抑制しつつ、セルロース系繊維の色、風合いを改善することができるセルラーゼ製剤の提供をその目的としている。

本発明者らは、今般、セルロース系繊維の処理において、結晶性セルロースへの吸着性を有するセルラーゼ成分の特定の活性比が重要であるとの知見を得た。本発明はこの知見に基づくものである。

具体的には、それによって処理された繊維が減量率５％において番手あたり７５％以上の相対残存引っ張り強度を保持することを特徴とするセルラーゼ製剤である。

より好ましい態様によれば、本発明によるセルロース製剤は、結晶性セルロースに吸着性を有するセルラーゼを含有し、かつ、該セルラーゼのCMCase活性に対するアビセラーゼ活性の比（アビセラーゼ活性／CMCase活性）が０．１以上であるもの、である。

図面の簡単な説明

第 1 図は市販のセルラーゼを陰イオン交換カラムを用い濃度勾配をかけた NaCl 溶液で溶出した際の溶出パターンを示すものである。

第 2 図は本発明によるセルラーゼ製剤によってセルロース系繊維を処理したときの、アビセラーゼ活性 / CMC case 活性の比と、繊維の残存強度の関係を示すグラフである。

発明の具体的性説明

セルラーゼとはセルロースを加水分解する作用のある酵素の総称であるが、本発明によるセルラーゼ製剤は、まず、結晶性セルロースに吸着性を有するセルラーゼを含んでなり、さらにその結晶性セルロースに吸着性を有する成分は、その CMC case 活性に対するアビセラーゼ活性の比が 0.1 以上となるものである。

本発明において、セルラーゼ製剤中に結晶性セルロースに吸着性を有する成分が含まれているか否かは、後記する「結晶性セルロースに対する吸着性の評価」に従って評価する。すなわち、セルラーゼと結晶性セルロースとを接触させて、後記する「結晶性セルロースに対する吸着性の評価」の条件のもとで結晶性セルロースに吸着する成分と吸着せずに上澄みに残る成分とに分け、最初のセルラーゼのタンパク量から上澄みに残ったセルラーゼのタンパク量を引いたタンパク量として、その存在を

確認することができる。

本発明においては、さらに上記結晶性セルロースに吸着性を有する成分は、そのCMCase活性に対するアビセラゼ活性の比（すなわち、アビセラゼ活性（U/g）をCMCase活性（U/g）で除した値：以後、「アビセラゼ活性／CMCase活性」と表す場合がある）が0.1以上、好ましくは0.25以上、最も好ましくは0.4以上となるものである。

ここで、アビセラゼ活性とは例えばBiosci. Biotech. Biochem., 56(10), 1523-1528, 1992または「飼料添加物の成分規格等収載書第5版」、55～56頁（社団法人日本化学飼料協会発行）に記載の方法によって、またCMCase活性とは例えばPure & Appl. Chem., vol. 59, No. 2, 257-268, 1987に記載の方法によって測定することができる。

なお、後記する理由から、本発明によるセルラーゼ製剤は、結晶性セルロースに吸着性を示さない成分の存在を排除するものではない。従って、あるセルラーゼについて結晶性セルロースに吸着性を示す部分のアビセラゼ活性／CMCase活性の値の測定は次のように行うことが可能である。すなわち、あるセルラーゼについて、このセルラーゼ全体のアビセラゼ活性およびCMCase活性の値を測定する。一方で、後記する「結晶性セルロースに対する吸着性の評価」の条件のもとで、結晶

性セルロースへの吸着性を示す成分を結晶性セルロースとともに沈殿させ、吸着性を示さない成分を上澄みに存在させる。次に、この上澄みに存在する成分のアビセララーゼ活性およびCMCase活性を前記方法に準じて測定する。そして、セルラーゼ全体のアビセララーゼ活性およびCMCase活性の値から、上澄みに存在する成分のアビセララーゼ活性およびCMCase活性の値をそれぞれ引くと、結晶性セルラーゼに吸着性を有する成分のアビセララーゼ活性およびCMCase活性の値がそれぞれ得られることとなる。これらの値から、結晶性セルロースに吸着性を有する成分のアビセララーゼ活性／CMCase活性の値を得ることができる。より具体的な活性の測定法は後記する。

本発明によるセルラーゼ製剤に含まれるセルラーゼ成分としては、結晶性セルロースに吸着性を示しかつその成分のアビセララーゼ活性／CMCase活性が0.1以上であるように、できる限り精製されたものであるのが好ましい。しかしながら、一方で結晶性セルロースに吸着性を示さない成分は通常は結晶性セルロースに吸着性を示す成分の作用を妨げず、また繊維の強度低下を引き起こすことがないことを本発明者らは確認している。さらに、結晶性セルロースに吸着性を有する成分の作用により結晶構造に乱れが生じた場合に、結晶性セルロースに吸着性を示さない成分が存在することは、結晶性セルロ

ースに吸着性を有する成分の作用をより有利にする場合があると考えられる。従って、本発明によるセルラーゼ製剤においては、結晶性セルロースに吸着性を示さない成分が含まれることを絶対的に排除するものではない。

また、結晶性セルロースに吸着性を示さない成分についてのアビセラーゼ活性 / C M C a s e 活性の値は上記と同様の理由から特に限定されるものではない。

本発明において、アビセラーゼ活性 / C M C a s e 活性が 0.1 以上であるとは、そのセルラーゼ製剤が用いられる温度および p H などの条件において前記活性比が 0.1 以上であることを意味する。すなわち、ある温度および p H 条件において結晶性セルロースの吸着性を有するセルラーゼ成分のアビセラーゼ活性 / C M C a s e 活性が 0.1 未満であっても、そのセルラーゼ製剤を実際に使用する際の条件下において前記活性比が 0.1 以上であるものは全て本発明に包含されるものとする。

本発明によるセルラーゼ製剤であると、それによって処理されたセルロース系繊維は十分な風合い、色などの改善が得られる一方で、その繊維強度が大きく低下することがなく有利である。具体的には、繊維の減量率 5 % において、セルロース系繊維は番手あたり約 75 % 以上、より好ましい態様によれば 85 % 以上、の相対残存引っ張り強度を有することとなる。

本発明によるセルラーゼ製剤が適用できる繊維は、い

わゆるセルロース系繊維であって、具体的にはデニム、木綿、麻などが含まれる。本発明によるセルラーゼ製剤で処理されたこれらセルロース系繊維は、その風合い、色などが改善され、特にデニムにあってはストーンウォッシュ様加工が施される一方で、処理後もその繊維強度を十分に保持する。

なお、ここで繊維の減量率とは、次の式により定義されるものである。

$$\text{減量率 (\%)} = \left[\frac{\text{酵素無添加加工後の重量}}{\text{酵素無添加加工前の重量}} - \frac{\text{酵素加工後の重量}}{\text{酵素加工前の重量}} \right] \times 100$$

また、番手あたりの引っ張り強度とは、産業用繊維資材ハンドブック、８頁（日本繊維機械学会・産業用繊維資材研究会編）の記載に基づくものである。すなわち、試料を引っ張りそれが切断した時の荷重を初期断面積で除したものが一般的な引っ張り強度であるが、ここでこの断面積に代えて単位長さあたりの重さを採用した場合の値を、「番手あたりの引っ張り強度」と呼ぶこととする。また、繊維の番手あたりの引っ張り強度の処理による変化は、次の式により定義される相対残存引っ張り強度（Relative Residual tenacity）として、本発明においては評価するものとする。

$$\text{相対残存引っ張り強度 (\%)} = (\text{酵素加工後の強度} / \text{酵素無添加加工後の強度}) \times 100$$

本発明によるセルラーゼ製剤は、従来公知のセルラーゼから、結晶性セルロースへの吸着性を有しかつアビセルラーゼ活性を有する成分を増強することによって得ることができる。具体的には、カラムクロマトグラフィーなどの手法によって、アビセルラーゼ活性／CMCase活性が0.1を下回る成分を除き、上記活性比が0.1以上となる分画を回収することによって得ることができる。さらに、上記性質を有するセルラーゼをコードする遺伝子を単離して遺伝子組換えの手法によって得る方法、さらにそのような遺伝子の発現調節領域を操作することによって得る方法などが挙げられる。

本発明によるセルラーゼ製剤の作用温度および作用pHは使用するセルラーゼ成分によって適宜決定でき特に限定されるものではないが、従来公知のセルラーゼから調製されたセルラーゼである場合、酸性または中性領域で結晶性セルロースに吸着性を有するのが好ましく、また、好ましい作用温度は30～80℃、より好ましくは40～70℃、最も好ましくは45～65℃であり、また好ましい作用pHは3～8、より好ましくは4～7である。

従って、本発明の好ましい態様によれば、本発明によるセルラーゼ製剤は、30～80℃、より好ましくは40～70℃、最も好ましくは45～65℃の温度で、またpH3～8、より好ましくは4～7の条件下で使用

されるのが好ましい。

本発明の好ましい態様によれば、好ましいセルラーゼ成分として、トリコデルマ由来のセルラーゼであって、結晶性セルロースに吸着性を有しかつその成分のアビセラーゼ活性／CMCase活性が0.1以上である性質の他に

- ・平均分子量約59kd (SDS-PAGEによる)
- ・等電点約3.8～4.2
- ・100単位／全固形成分1g 以上のアビセラーゼ活性
- ・至適pH約4.2～4.8

の性質を有するものが挙げられる。

本発明においてセルラーゼは上記したように、従来公知のセルラーゼから得てよく、従来公知のセルラーゼとしては動物、植物、微生物由来のものをを用いることができる。

例えば、真核微生物に属するセルラーゼ生産菌としては、

アルトロボトリス・スペルバ (Arthrobotrys superba)、アスペルギルス・アウレウス (Aspergillus aureus)、アスペルギルス・フラビペス (Aspergillus flavipes)、アスペルギルス・フミガタス (Aspergillus fumigatus)、アスペルギルス・フチュエニス (Aspergillus fuchuenis)、アスペルギルス・ニデュランス (Aspergillus ni-

dulans)、アスペルギルス・ニゲル (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー (*Aspergillus oryzae*)、アスペルギルス・ルガロシス (*Aspergillus rugulosus*)、アスペルギルス・ソーヤ (*Aspergillus sojae*)、アスペルギルス・シドエ (*Aspergillus sydwi*)、アスペルギルス・タマリル (*Aspergillus tamaril*)、アスペルギルス・テレウス (*Aspergillus terreus*)、アスペルギルス・ウンガイス (*Aspergillus unguis*)、アスペルギルス・ウスタス (*Aspergillus ustus*)、タカミネセルラーゼ (Takamine-Cellulase)、アスペルギルス・サイトイ (*Aspergillus saitoi*)、ボトリチス・シネレア (*Botrytis cinerea*)、ボトリオディピオディア・テオブロマエ (*Botryodiplodia theobromae*)、クラドスポリウム・ククメリナム (*Cladosporium cucumerinum*)、クラドスポリウム・ヘルバラム (*Cladosporium herbarum*)、ココスポラ・アグリコラ (*Coccospora agricola*)、クルブイアリア・ルナタ (*Curvularia lunata*)、カエトミウム・テルモフィレバル・コプロフィレ (*Chaetomium thermophile* var. *coprophile*)、カエトミウム・テルモフィレバル・ディシタム (*Chaetomium thermophile* var. *dissitum*)、スポロトリカム・テルモフィレ (*Sporotrichum thermophile*)、タロマイセス、アメルソニー (*Taromyces amersonii*)、テルモアスカス・オーランチアカス (*Thermoascus aurantiacus*)、フミコラ・ギ

リセアバル・テルモイデア (*Humicola grisea* var. *thermoidea*)、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*)、マルブレンチア・プイチュラバル・スルフレア (*Malbranchea puichella* var. *sulfurea*)、ミリオコカム・アルボマイセス (*Myriococcum albomyces*)、スツルペラ・テルモフィレ (*Stilbella thermophila*)、トルーラ・テルモフィラ (*Torula thermophila*)、カエトミウム・グロボサム (*Chaetomium globosum*)、ディクチオステイウム・ディスコイデウム (*Dictyosteiium discoideum*)、フサリウム s p. (*Fusarium* sp.)、フサリウム・ブルビゲナム (*Fusarium bulbigenum*)、フサリウム・イクイセチ (*Fusarium equiseti*)、フサリウム・ラテリチウム (*Fusarium lateritium*)、フサリウム・リニ (*Fusarium lini*)、フサリウム・オキシスポラム (*Fusarium oxysporum*)、フサリウム・バシンフェクタム (*Fusarium vasinfectum*)、フサリウム・ディメラム (*Fusarium dimerum*)、フサリウム・ジャポニカム (*Fusarium japonicum*)、フサリウム・シルピ (*Fusarium scirpi*)、フサリウム・ソラニ (*Fusarium solani*)、フサリウム・モニリフォルメ (*Fusarium moniliforme*)、フサリウム・ロゼウム (*Fusarium roseum*)、ヘルミントスポリウム s p. (*Helminthosporium* sp.)、メンノニーラ・エチナタ (*Memnoniella echinata*)、フミコラ・フクアトラ (*Humicola fucoatra*)、フミコラ

・グリセア (*Humicola grisea*)、モリニア・シトルリナ (*Monilia sitophila*)、モノトスポラ・ビレビス (*Monotospora brevis*)、ムコール・プシラス (*Mucor pusillus*)、マイコスファレラ・シトルリナ (*Mycosphaerella citrulina*)、マイロテシウム・ベルカリア (*Myrothecium verrucaria*)、パプラスポレス *sp.* (*Papula spore sp.*)、マイコスファエレラ・シトリナル、マイロテシウム・カプスレイタム、ペニシリウム・クリソゲナム (*Penicillium chrysogenum*)、ペニシリウム・フレクuentaナ (*Penicillium frequentana*)、ペニシリウム・フニシロサム (*Penicillium funiculosum*)、ペニシリウム・ジャンチネラム (*Penicillium janthinellum*)、ペニシリウム・ルテウム (*Penicillium luteum*)、ペニシリウム・ピスカリウム (*Penicillium piscarium*)、ペニシリウム・ソピ (*Penicillium soppi*)、ペニシリウム・スピヌロサム (*Penicillium spinulosum*)、ペニシリウム・ターバターン (*Penicillium turbaturn*)、ペニシリウム・ディジテイタム (*Penicillium digitatum*)、ペニシリウム・エクспанサム (*Penicillium expansum*)、ペニシリウム・プシトラム (*Penicillium pusitlum*)、ペニシリウム・ルブラン (*Penicillium rubrum*)、ペニシリウム・ウォートマニ (*Penicillium wortmanii*)、ペニシリウム・バリアピレ (*Penicillium variabile*)、ペスタロチア・パルマラム (*Pestalotia*

palmarum) 、 ペスタロチオシス・ウェステルディズキ
(Pestalotiopsis westerdijkii) 、 フォマ s p . (Ph
oma sp.) 、 スキゾフィラム・コムネ (Schizophyllum
commune) 、 スコピュラリオブシス・ブレビカウリス
(Scopulariopsis brevicaulis) 、 リゾプス s p . (Rh
izopus sp.) 、 スポロトリカム・カルニス (Sporotricu
m carnis) 、 スポロトリカム・プルイノサム (Sporotri
cum pruinosum) 、 スタチボトリス・アトラ (Stachybo
trys atra) 、 トルーラ s p . (Torula sp.) 、 トリコ
デルマ・ビリデ (レーセイ) (Trichoderma viride(ree
sei)) 、 トリカラス・シリンドリカス (Trichurus cyli
ndricus) 、 ベルチシリウム・アルボアトラム (Vertic
illium albo atrum) 、 アスペルギルス・セルロサエ
(Aspergillus cellulosa) 、 ペニシリウム・グラウカ
ム (Penicillium glaucum) 、 カニンガメラ s p . (Cu
nninghamella sp.) 、 ムコール・セムド (Mucor mucedo)
、 リゾプス・チネンシス (Rhyzopus chinensis) 、 コレ
ミエラ s p . (Coremiella sp.) 、 カルリングア・ロゼ
ア (Karlingia rosea) 、 フィトフトラ・カクトラム
(Phytophthora cactorum) 、 フィトフトラ・シトリコ
ラ (Phytophthora citricola) 、 フィトフトラ・パラシ
チカ (Phytophthora parasitica) 、 ピチウム s p .
(Pythium sp.) 、 サプロレグニア・セア (Saprolegni
a ceae) 、 セラトシステス・ウレミ (Seratocystis ulm

i) 、カエトミウム・グロボサ (Chaetomium globosum)
、カエトミウム・インディカム (Chaetomium indicum) 、
ニューロスポラ・クラッサ (Neurospora crassa) 、ス
クレロチウム・ロルフシー (Sclerotium rolfsii) 、ア
スペルギルス s p . (Aspergillus sp.) 、クリソシポ
リウム・リグノラム (Chrysosporium lignorum) 、ペニ
シリウム・ノタテウム (Penicillium notatum) 、ピリ
クラリア・オリザエ (Pyricularia oryzae) 、コリビア
・ベルチペス (Collybia velutipes) 、コプリナス・ス
クレロチゲナス (Coprinus sclerotigenus) 、ヒドナム
・ヘニングシ (Hydnum henningsii) 、イルペックス・
ラクテウム (Irpex lacteus) 、ポリポラス・スルフェ
レウス (Polyporus sulphureus) 、ポリポラス・ベトレ
ウス (Polyporus betreus) 、ポリスチタクス・ヒルフ
タス (Polustictus hirsutus) 、トラメテス・ビタータ
(Trametes vitata) 、イルペックス・コンメラス (Ir
pex consolus) 、レンチネス・レビデウス (Lentines l
epideus) 、ポリア・バポラリア (Poria vaporaria) 、
フォメス・ピニコラ (Fomes pinicola) 、レンジテス・
スチラシナ (Lenzites styracina) 、メルリウス・ラク
リマンズ (Merulius lacrimans) 、ポリポラス・パルス
トリス (Polyporus palstris) 、ポリポラス・アンノサ
ス (Polyporus annosus) 、ポリポラス・ベルシカラ
(Polyporus versicolor) 、ポリスティクタス・サング

イネウス (*Polystictus sanguineus*)、ポリス・バイランチ (*Poris vailantii*)、プシーニア・グラミニス (*Puccinia graminis*)、トリコロメ・フモサム (*Tricholome fumosum*)、トリコロメ・ヌーダム (*Tricholome nudum*)、トラメテス・サングイネア (*Trametes sanguinea*)、ポリポラス・シュワイニツィル F R (*Polyporus schweinitzil FR*)、コニジオフォラ・カレベラ (*Conidiophora carebella*)、アクレモニウム s p. (*Acremonium sp.*) などが挙げられる。

また、原核微生物に属するセルラーゼ生産菌としては、バチルス・ヒドロリチカス (*Bacillus hydrolyticus*)、セルロバチルス・ムコサス (*Cellulobacillus mucosus*)、セルロバチルス・ミクソゲナス (*Cellulobacillus myxogenes*)、セルロモナス s p. (*Cellulomonas sp.*)、セルビブリオ・フルバス (*Cellvibrio fulvus*)、セルビブリオ・フルガニス (*Cellvibrio vulgaris*)、クロストリジウム・テルモセルラセウム (*Clostridium thermocellulaseum*)、クロストリジウム・テルモセラム (*Clostridium thermocellum*)、コリネバクテリウム s p. (*Corynebacterium sp.*)、サイトファーガ・グロブロサ (*Cytophaga globulosa*)、シュードモナス・フルオロエセンズ・バル・セルロサ (*Pseudomonas fluorescens var. cellulisa*)、シュードモナス・ソラナセアラム (*Pseudomonas solanacearum*)、バクテリオイデ

ス・スクシノーゲン (*Bacterioides succinogenes*)、ルミノコカス・アルバス (*Ruminococcus albus*)、ルミノコカス・フラベファレアンス (*Ruminococcus flavefaciens*)、ソラシジウム・コンポジション (*Sorandium composition*)、ブチリビブリオクロストリジウム s p . (*Butyrivibrio, Clostridium sp.*)、キトントモナス・シアモフィディズ (*Xanthomonas cyamopsidis*)、スクレロチウム・バタチコラ (*Sclerotium bataticola*)、バチルス s p . (*Bacillus sp.*)、テルモアクチノマイセス s p . (*Thermoactinomyces sp.*)、アクチノビフィダ s p . (*Actinobifida sp.*)、アクチノマイセテス s p . (*Actinomycetetes sp.*)、ストレプトマイセス s p . (*Streptomyces sp.*) などが挙げられる。

本発明によるセルラーゼ製剤は、上記セルラーゼ成分のみからなるものであってよいが、適当な添加剤を含んでいてもよい。添加剤の例としては、p H 調整剤（例えば、リン酸塩、酢酸塩など）、安定化剤（例えば、グリセロール、シュクロースなど）などが挙げられる。

本発明によるセルラーゼ製剤によるセルロース系繊維の処理の態様は、セルラーゼ成分と、セルロース系繊維とが接触する限り特に限定されないが、好ましくは本発明によるセルラーゼ製剤を水に溶解し水溶液としてセルロース系繊維と接触させるのが好ましい。また、セルラーゼ成分を適当な担体（例えば、粒状、板状など）に固

定し、固定化酵素としてセルロース系繊維と接触させてもよい。

実 施 例

本発明を以下の実施例によってさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

以下の実施例において、結晶性セルロースに対する吸着性、アビセラゼ活性およびCMCase活性は次のように測定した。

結晶性セルロースに対する吸着性の評価

微結晶性セルロース（商品名：アビセルSF、旭化成工業株式会社製）0.2gを4mlの緩衝液（0.05M緩衝液：pH3～6の範囲では酢酸緩衝液、pH6～7の範囲ではリン酸緩衝液）に懸濁させたものに、セルラーゼ8mgを混合する。この混合液をL字型試験管（丸底）にいれ、25℃に保ちながらモノド型振とう器によって振とう速度60回／分で30分間振とうする。次いで、この懸濁液を10分間3000rpmで遠心分離する。この結果、結晶性セルロースに対して吸着性を有するセルラーゼは結晶性セルロースに吸着した形で沈殿し、吸着性を有さないセルラーゼは上澄みに分別できる。ここで、吸着したセルラーゼのタンパク量は、最初のセルラーゼの量と上澄みに回収されたセルラーゼのタンパク量との差から、UV吸収法、ローリー法、ブラッドフォード法などによって求めることができる。

アピセラーゼ活性

微結晶性セルロース（商品名：アピセル S F、旭化成工業株式会社製）を 2 %（w / v）になるように蒸留水に懸濁したものを基質懸濁液とする。基質懸濁液 2 . 5 m l に対して、適当な p H に調整した 0 . 0 5 M 緩衝液 2 . 0 m l を加え、L 字型試験管（丸底）にいれ、測定条件とすべき温度で 1 0 分間保温する。

分析すべき酵素試料を蒸留水に溶解し、その 0 . 5 m l を前記試験管に加え、測定条件温度に保ちながら、モノド型振とう器によって振とう速度 6 0 回 / 分で正確に 3 0 分間振とうし、反応を行う。その後、0 . 5 N の水酸化ナトリウム溶液 0 . 5 m l を添加することにより反応を停止させる。

対照として反応前に 0 . 5 N の水酸化ナトリウム溶液 0 . 5 m l を添加し、反応を進行させなかったものを用意する。

反応停止後、反応液の遠心分離（3 0 0 0 r p m × 1 0 分）を行い、上澄部の還元糖を以下の D N S（3,5-Dinitrosalicylic acid）法によって測定する。なお、D N S 試薬は I U P A C に規定の方法によって調製する。

前記上澄部の 0 . 5 m l を試料として短 6 分試験管に入れ、D N S 試薬溶液 1 . 5 m l を加える。ガラスキャップによって蒸発を防ぎながら、試験管を沸騰水浴中に 5 分間静置して加熱し、発色させる。反応溶液を流水中

で十分に冷却した後、蒸留水 4 m l を添加し、その吸光度 (5 4 0 n m) を測定する。

反応溶液中の還元糖量は、検量線から読み取ることができる。検量線は、無水グルコース (特級) を用い、その 0、0. 2、0. 4、0. 6、0. 8 および 1. 0 m g / m l の濃度から作成する。

この検量線を用いて、上記試料と対照との還元糖量の差を求め、それを生成還元糖量とする。

アビセラゼ活性 (U / g) は、生成還元糖量および反応に用いた酵素試料溶液中の酵素量より、下記の式に従って求めることができる。

$$\text{アビセラゼ活性 (U/g)} = \frac{\text{生成還元糖量 (mg)}}{\text{酵 素 量 (mg)}} \times 11 \times 1000 \times 1000 / 180 / 30$$

$$(1 \text{ U / g} = 1 \text{ } \mu \text{ m o l / 分 / g})$$

C M C a s e 活 性

C M C (Carboxymethyl Cellulose Sodium、東京化成株式会社製、n=500) を 2 % (w / v) になるように、適当な p H に調製した 0. 1 M 緩衝液に溶解し、これを基質溶液とする。基質溶液 0. 5 m l を短 6 分試験管に入れ、測定条件温度で 1 0 分間保温する。

分析すべき酵素試料を蒸留水に溶解し、その 0. 5 m l を前記試験管に加え、正確に 3 0 分間静置して反応

させる。反応はD N S 試薬溶液 3 . 0 m l を添加することによって停止させる。

対照として反応前にD N S 試薬溶液 3 . 0 m l を添加し、反応を進行させなかったものを用意する。

反応停止後、、ガラスキャップによって蒸発を防ぎながら試験管を沸騰水浴中に5分間静置して加熱し、全試料を加熱発色させる。反応溶液を流水中で十分に冷却した後、蒸留水 8 m l を添加し、その吸光度 (5 4 0 n m) を測定する。

反応溶液中の還元糖量は、検量線から読み取ることができる。検量線は、無水グルコース (特級) を用い、その 0、0 . 2、0 . 4、0 . 6、0 . 8 および 1 . 0 m g / m l の濃度から作成する。

この検量線を用いて、上記試料と対照との還元糖量の差を求め、それを生成還元糖量とする。

C M C a s e 活性 (U / g) は、生成還元糖量および反応に用いた酵素試料溶液中の酵素量より、下記の式に従って求めることができる。

$$\text{CMCase 活性 (U/g)} = \frac{\text{生成還元糖量 (mg)}}{\text{酵 素 量 (mg)}} \times 2 \times 1000 \times 1000 / 180 / 30$$

$$(1 \text{ U/g} = 1 \mu \text{mol} / \text{分} / \text{g})$$

実施例 1 トリコデルマ・ビリデ由来のセルラーゼの分画

市販のトリコデルマ・ビリデ由来のセルラーゼ（商品名：明治セルラーゼ T P 6 0、明治製菓株式会社）を固形成分として水に 1 0 %（w / v）で溶解した。この水溶液を陰イオン交換カラム（m o n o Q（6 0 / 1 0 0）、ファルマシア社製）に適用し、5 0 m M 酢酸バッファー（p H 5 . 8）に 0 ~ 0 . 6 M の濃度勾配をかけた N a C l 水溶液で溶出し、分画した。その分画パターンは第 1 図に示される通りであった。このうち、0 . 3 5 ~ 0 . 6 M の濃度勾配の時の画分を分画番号 4 とした。

次にこの分画番号 4 中の結晶性セルロースに吸着性を有する成分のアビセラーゼ活性と C M C a s e 活性とを、上記した測定法に従ってそれぞれ測定した。すなわち、結晶性セルロースに吸着性を示さない成分のアビセラーゼ活性と C M C a s e 活性を求め、全体のアビセラーゼ活性と C M C a s e 活性との差を求めることにより上記値を求めた。測定条件は温度 4 5 °C、p H 4 . 5 とした。

その結果、分画番号 4 のアビセラーゼ活性 / C M C a s e 活性は 0 . 4 6 であった。一方、未精製のセルラーゼのアビセラーゼ活性 / C M C a s e 活性は 0 . 0 5 8 であった。

また、この分画番号 4 には、S D S - P A G E および等電点電気泳動によれば、分子量が約 5 9 k d、等電点

が約 3.8 から 4.8 のセルラーゼが含まれていた。

実施例 2 繊維（糸）強度試験

実施例 1 によって得られた分画番号 4 のセルラーゼを、実施例 1 で用いた市販のセルラーゼに添加することによって、アビセルラーゼ活性 / C M C a s e 活性が 0.107、0.164、0.250 および 0.480 U / g であるセルラーゼを調製した。

試験糸として 12 オンスのデニム生地をほどいて、正確に 11 センチ長に切り揃えたものを用意した。

この試験糸を 5 本ずつ試験管に入れ、バッファー（0.1 M 酢酸バッファー、pH 4.5）と、予備試験によって求めた繊維の減量率が 5 % となる量の上で調整したセルラーゼとを加えた。さらに試験管に脱イオン水を最終 5 ml となるまで加え、ガラスキャップにより密封した。この試験管を 45 °C の湯浴中に 16 時間静置した。

反応終了後、試験糸を脱イオン水によって、ボルテックスミキサー中で 10 秒攪拌を二回繰り返すことによって洗った。遠心（3000 rpm × 10 分）後、50 °C で 30 分乾燥し、続いて室温に 30 分以上放置した後、重量を測定し、その減量率を算出した。試験糸の減量率は全て 5 % であった。

続いて試験糸の引っ張り強度を測定した。測定はレオメーター（不動工業株式会社製、N R M - 2 0 1 0 J -

C W) を用い、引っ張り強度 5 c m / 分、2 K g レンジ、専用アダプター No.19 (万能引っ張り型) の条件で測定した。その結果は第 2 図に示される通りである。

実施例 3 脱色と繊維強度試験

試験布として、12 オンスのデニム生地を 12 × 4 c m の大きさに切断したものを用いた。試験布はほつれを防止するために周囲をジグザグ縫いした。

この試験布と実施例 1 で得られた分画番号 4 のセルラーゼとを次のように反応させた。なお、対照として実施例 1 で用いた市販のセルラーゼを用いて同様の反応を行った。

まず、ナイロンバック (コスモバイオ株式会社製: 品番 S-1001 を 10 × 20 c m に切ったもの) に、緩衝液 (p H = 4.5) と、予備試験によって求めた繊維の減量率が 5 % となる量のセルラーゼとを入れ、最終量が 50 m l となるよう脱イオン水を加え、ヒートシールによって密封した。このナイロンバックを 45 °C の湯中に沈め、23 時間静置して反応させた。

反応後、試験布を、脱イオン水中でスターラーを用い 10 分間攪拌して洗い、家庭用洗濯機の脱水槽で 1 分間脱水した後、50 °C で乾燥した。

なお、試験布の減量率は全て 5 % であった。

乾燥後の試験布の引っ張り強度を、試験布をほどき糸を一本取り出して、実施例 2 に記載の方法に従って測定

した。強度の測定は、各試験区毎に5本ずつ測定し、その平均値から相対残存引っ張り強度を算出した。

また、試験布の脱色度を次のように測定した。

すなわち、色差計 Color analyzer TC-1800M K2（東京電色株式会社製）を用い、L a b 表色系のL 値（明度）を、試験布について5点で測定した。測定条件は、測色が反射光測定、2度視野、標準光がD 6 5 / 2、C / 2、A / 2とした。最大値と最小値を除いた3点の平均値を求め、対照試験布に対するL 値の増加（白色度の増加） ΔL 値として算出した。

その結果、 ΔL 値が1. 6の脱色度において、分画番号4のセルラーゼ処理の場合は75%の相対残存引っ張り強度が観察されたのに対し、対照では53%の相対残存引っ張り強度しか観察されなかった。

実施例 4 繊維（布）強度試験

試験布として綿ブロード40番を、セルラーゼとして実施例1で得られた分画番号4を用いた。

両者の反応は次のように行った。すなわち、実施例3と同様のナイロンバックに試験布5枚と緩衝液（p H = 4. 5）を入れ、予備試験によって求めた布の減量率が5%となるセルラーゼ量を添加した。ナイロンバックを45℃で16時間静置して反応させた。

反応後、試験布を流水で5分間洗い、家庭用洗濯機の脱水槽で5分間脱水し、その後50℃で乾燥した。

なお、対照として実施例 1 で用いた市販のセルラーゼを用いて同様の反応を行った。

なお、試験布の減量率は全て 5 % であった。

布の引っ張り強度および引裂強度は J I S 規格（一般織物試験方法（J I S L 1 0 9 6、引っ張り強さおよび伸び率測定法（A 法、ストリップ法、幅 5 c m）、および、引裂強度測定法（D 法、ペンジュラム法））に従って測定した。

その結果は次の表に示される通りである。

第 1 表
引っ張り強度 (k g f)

	縦 (相 対 値)	横 (相 対 値)
試 験 区	37.0 (80.4%)	27.2 (75.1%)
対 照 区	32.7 (71.1%)	18.1 (50.0%)
酵素無添加区	46.0 (100%)	36.2 (100%)

第 2 表
引き裂き強度 (k g f)

	縦 (相 対 値)	横 (相 対 値)
試 験 区	0.73 (56.6%)	0.70 (81.4%)
対 照 区	0.66 (51.2%)	0.63 (73.3%)
酵素無添加区	1.29 (100%)	0.86 (100%)

実施例 5 アクレモニウム由来のセルラーゼ

アクレモニウムに属する菌株（FERM P-6867）由来のセルラーゼを実施例 1 と同様の方法で分画し、アビセラーゼ活性／CMCase 活性が大きな画分を得た。その値は、原末のそれが 0.076 であったのに対し、0.33 であった。

こうして得た画分を用いて実施例 2 と同様の操作を行った。その結果、減量率 2.5 % において、85 % の相対残存引っ張り強度を有していた。なお、上記セルラーゼ原末を用いた場合は相対残存引っ張り強度は 75 % であった。

請 求 の 範 囲

1. セルラーゼ製剤であって、それによって処理された繊維が減量率5%において番手あたり75%以上の相対残存引っ張り強度を保持することを特徴とする、セルラーゼ製剤。

2. 繊維の減量加工に用いられる、請求の範囲第1項記載のセルラーゼ製剤。

3. 結晶性セルロースに吸着性を有するセルラーゼを含有し、かつ、該セルラーゼのCMCase活性に対するアビセルラーゼ活性の比（アビセルラーゼ活性／CMCase活性）が0.1以上である、請求の範囲第1項記載のセルラーゼ製剤。

4. セルラーゼが酸性または中性領域において結晶性セルロースに吸着性を有するものである、請求の範囲第1項記載のセルラーゼ製剤。

5. セルラーゼがpH3～8に作用pHを有するものである、請求の範囲第1項記載のセルラーゼ製剤。

6. セルラーゼが微生物由来のものである、請求の範囲第1項記載のセルラーゼ製剤。

7. セルラーゼが真核微生物由来のものである、請求の範囲第6項記載のセルラーゼ製剤。

8. 真核微生物がトリコデルマ属に属するものである、請求の範囲第7項記載のセルラーゼ製剤。

9. セルラーゼが下記の性質を有するものである、請求の範囲第8項記載のセルラーゼ製剤。

(a) 平均分子量約59kd (SDS-PAGEによる)

(b) 等電点約3.8~4.2

(c) 100単位/全固形成分1g 以上のアビセラーゼ活性

(d) 至適pH約4.2~4.8

10. 請求項1~9いずれか一項記載のセルラーゼ製剤とセルロース系繊維を接触させることを含んでなる、繊維の処理方法。

11. セルラーゼ製剤と繊維との接触を30~80℃の温度において行う、請求項10記載の繊維の処理方法。

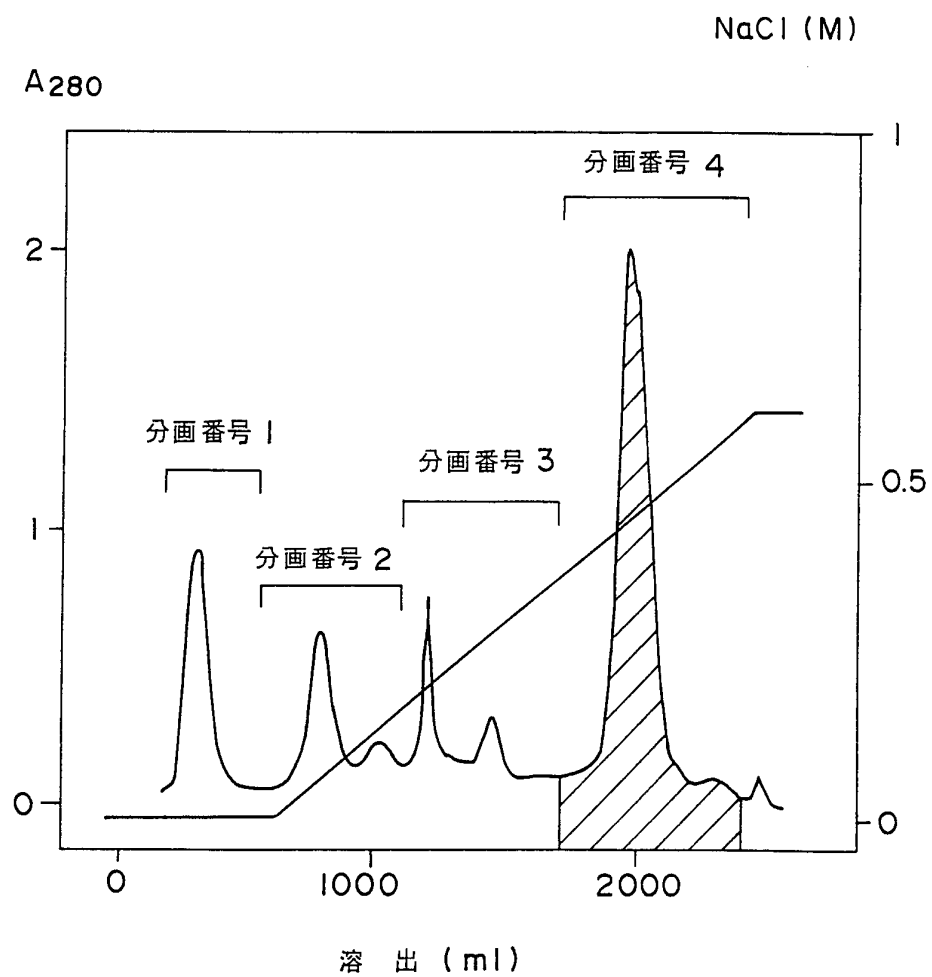


FIG. 1

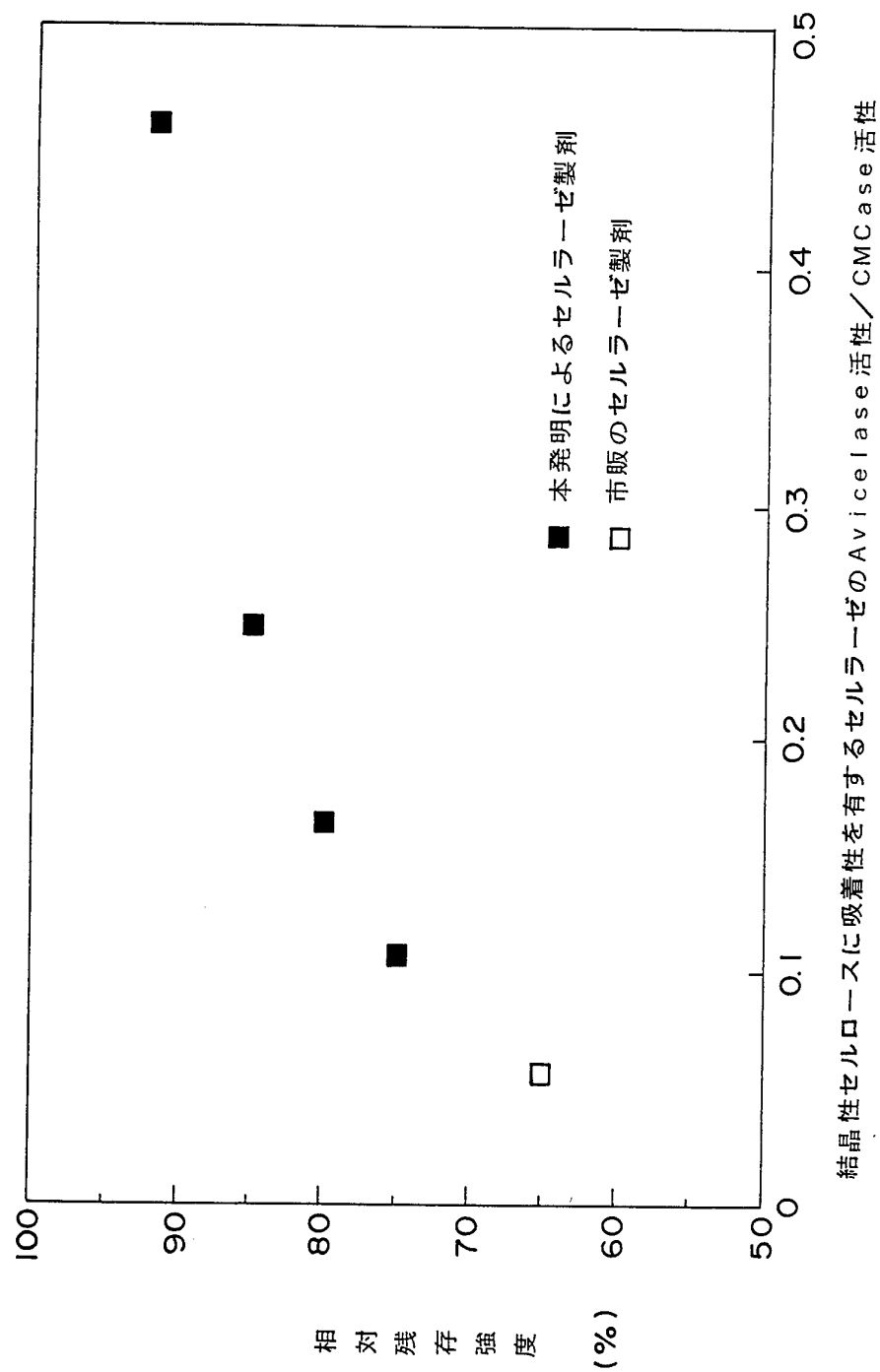


FIG. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP94/00199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ D06M16/00, C12N9/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ D06M16/00, C12N9/42

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS WPI, WPI/L

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 5-214664 (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), August 24, 1993 (24. 08. 93), (Family: none)	1, 2
A	JP, A, 58-36217 (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), March 3, 1983 (03. 03. 83), (Family: none)	1, 2
A	Agric. Biol. Chem., Vol. 52, No. 10 (1988), T. Yamanobe et. al. "Purification and Some Properties of a Microcrystalline Cellulose-hydrolyzing Ewzyme (Avicelase II) from Fungal Strain Y-94"	3-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

April 21, 1994 (21. 04. 94)

Date of mailing of the international search report

May 17, 1994 (17. 05. 94)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁸ D 0 6 M 1 6 / 0 0 . C 1 2 N 9 / 4 2		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁸ D 0 6 M 1 6 / 0 0 . C 1 2 N 9 / 4 2		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
BIOSIS WPI, WPI/L		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, A, 5-214664 (旭化成工業株式会社), 24. 8月. 1993 (24. 08. 93) (ファミリーなし)	1, 2
A	JP, A, 58-36217 (旭化成工業株式会社), 3. 3月. 1983 (03. 03. 83) (ファミリーなし)	1, 2
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
21. 04. 94	17.05.94	
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 佐 伯 裕 子	4 B 9 3 5 0
電話番号 03-3581-1101 内線		3449

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Agric. Biol. Chem., 第52巻第10号 (1988), T. Yamanobe et al. 「Purification and Some Properties of a Microcrystalline Cellulose-hydrolyzing Ewzyme (Avicelase II) from Fungal Strain Y-94」	3-6