



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0046498  
(43) 공개일자 2021년04월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 35/745 (2014.01) A23L 33/135 (2016.01)  
A61K 35/00 (2015.01) A61P 37/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
A61K 35/745 (2013.01)  
A23L 33/135 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2019-0130275  
(22) 출원일자 2019년10월18일  
심사청구일자 2020년10월08일

(71) 출원인  
주식회사 지놈앤컴퍼니  
경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동801,806호(삼평동, 판교이노밸리)

광주과학기술원  
광주광역시 북구 첨단과기로 123 (오룡동)

(72) 발명자  
박한수  
경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801호, 806호

손진영  
경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801호, 806호

김률하  
경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801호, 806호

(74) 대리인  
특허법인아이피센트

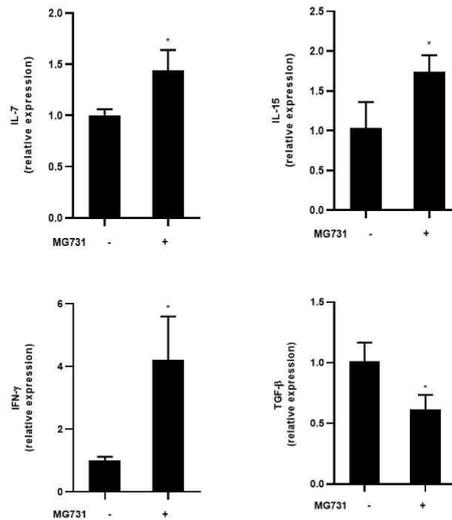
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 비피도박테리움 비피덤을 포함하는 면역력 증강 또는 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 비피도박테리움 비피덤을 포함하는 면역력 증강 또는 개선용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명에 따른 조성물은 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 면역질환을 예방하거나, 치료하거나, 또는 개선하기 위하여 사용될 수 있다. 상기 본 발명에 따른 조성물은 식품 조성물 또는 약학 조성물로서 제공될 수 있으며, 상기 식품 조성물은 프로바이오틱스 제품, 건강기능보조제, 동물 사료 등 다양한 형태로 제공될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A61P 37/04** (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A61K 2035/115 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

비피도박테리움 비피덤 MG731을 포함하는 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 비피도박테리움 비피덤 MG731은 균주, 균주의 배양물, 균주의 파쇄물 또는 균주의 추출물인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 조성물은 IL-7, IL-15 및 IFN- $\gamma$  중 하나 이상의 발현 또는 활성을 증가시키는 것인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 TGF- $\beta$ 의 발현 또는 활성을 억제하는 것인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 조성물은 면역질환 개선 또는 예방을 위한 것인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,

상기 조성물은 약학 조성물인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

#### 청구항 8

제7항에 있어서,

상기 조성물은 면역질환 치료 또는 예방을 위한 것인, 면역력 증강 또는 개선용 조성물.

### 발명의 설명

#### 기술분야

[0001] 본 발명은 비피도박테리움 비피덤을 포함하는 면역력 증강 또는 개선용 조성물에 관한 것이다. 상기 본 발명에 따른 조성물은 식품 조성물 또는 약학 조성물로서 제공될 수 있다.

#### 배경기술

[0002] 세계보건기구(WHO)와 국제식량농업기구(FAO)는 프로바이오틱스(Probiotics)를 "살아있는 형태로 적정량을 섭취

했을 때 숙주의 체내 건강에 유익한 작용을 하는 미생물"이라고 정의한 바 있으며, 국내 식품의약품안전처는 프로바이오틱스를 "건강에 좋은 효과를 주는 살아있는 균"으로 정의한 바 있다. 이와 같은 프로바이오틱스로서 대표적으로 사용되는 유산균에는 예를 들어 락토바실러스, 비피도박테리움 등이 있다.

[0003] 상기 비피도박테리움은 그람양성 혐기성 박테리아로서, 인간을 포함한 포유류의 위장관, 질, 입 등에 존재하며, 포유류의 위장관 미생물군집(microbiota)을 구성하는 주요 박테리아 중 하나이다. 상기 비피도박테리움 속에 포함되는 종에는 *B. actinocoloniiforme*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. animalis*, *B. aquikefiri*, *B. asteroides*, *B. biavatii*, *B. bifidum*, *B. bohemicum*, *B. bombi*, *B. boum*, *B. breve*, *B. callitrichos*, *B. catenulatum*, *B. choerinum*, *B. commune*, *B. coryneforme* 등 수십 개가 지금까지 확인되었다. 또한, 각각의 종마다 다양한 아종들과 균주들이 많은 수로 존재하며, 여전히 새로운 아종과 균주들이 밝혀져오고 있다.

[0004] 이들 유산균들은 종마다 그 특성이 매우 다양하다. 또한, 같은 종이라 하더라도, 각각의 아종과 균주마다 그 효과 및 그 수준이 서로 다르게 나타난다.

[0005] 예를 들어, 한국 등록특허공보 제10-1970148호에는 내산성 및 내담즙성이 우수한 신규 락토바실러스 균주가 개시되어 있는데, 명세서 내에서 락토바실러스에 속하는 균주들간에 장 부착능 등의 수준이 서로 상이하다는 점을 실험에 의해 보여주고 있다. 또다른 예로서, 한국 등록특허공보 제10-1589465호에는 성장촉진을 위한 신규 비피도박테리움 브레베 균주가 개시되어 있는데, 명세서 내에서 비피도박테리움 브레베 종에 속하는 균주들간에 장 정착능과 같은 특질의 수준이 서로 상이하다는 점을 실험에 의해 보여주고 있다.

[0006] 또한, 최근 전세계적으로 면역에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 환경오염, 운동 부족, 식이 변화 등으로 인해 면역조절 작용을 나타낼 수 있는 물질에 대해 지속적으로 요구되고 있고, 유산균 역시 이러한 물질 중의 하나로서 많은 연구가 이루어지고 있다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0007] (특허문헌 0001) 등록특허공보 제10-1970148호 (2019.04.18)
- (특허문헌 0002) 등록특허공보 제10-1589465호 (2016.02.01)

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 본 발명자들은 유의적인 면역력 증강 또는 개선 효과를 나타낼 수 있는 신규 물질에 대해 다양한 연구들을 진행해왔다. 그 결과, 비피도박테리움 비피덤 중에서도 특히 비피도박테리움 비피덤 MG731이 현저하게 우수한 면역 증강 효과를 나타낸다는 것을 실험적으로 입증하고 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

**과제의 해결 수단**

- [0009] 본 발명의 일 양태는 비피도박테리움 비피덤을 포함하는, 면역력 증강 또는 개선용 조성물을 제공한다.
- [0010] 바람직하게는, 상기 비피도박테리움 비피덤은 비피도박테리움 비피덤 MG731이다.
- [0011] 본 명세서에서, "비피도박테리움 비피덤"은 "*Bifidobacterium bifidum*", "*B. bifidum*", "*B. 비피덤*"과 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0012] 본 명세서에서 사용되는 용어 "비피도박테리움 비피덤(*Lactococcus lactis*) MG731"은 비피도박테리움 비피덤 MG731 균주를 의미한다. 상기 균주는 균주 그 자체, 균주의 배양물, 균주의 파쇄물, 균주의 추출물, 균주를 파쇄하여 얻은 세포질 분획물(cytoplasmic fraction)을 포함하는 것으로 해석된다. 또한, 상기 균주는 생균체 또는 사균체 모두를 포함하는 것으로 해석된다.
- [0013] 상기 MG731은 메디오젠이 한국생명공학연구원 생물자원센터에 2018년 1월 4일에 수탁번호 KCTC13452BP로 기탁한 비피도박테리움 비피덤 균주이며, 이의 16S rRNA 유전자의 염기서열은 서열번호 1로 표시된다.
- [0014] 본 발명에 따른 조성물을 면역력 증강 또는 개선을 필요로 하는 개체에게 투여하는 경우, IL-7, IL-15 및 INF-

γ 중 하나 이상의 발현 또는 활성을 증가시키고, TGF-β의 발현 또는 활성을 감소시킬 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 우수한 면역증강 효과를 나타낼 수 있으므로, 예를 들어, 면역질환의 예방, 치료 또는 개선을 필요로 하는 개체에게 사용할 수 있다.

- [0015] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역질환"은 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 질환을 의미하며, 예를 들어 감염성 질환, 염증성 질환 등일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0016] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체"는 인간 또는 임의의 비인간 동물을 포함한다. 상기 비인간 동물은 예를 들어 척추동물, 예컨대 영장류, 개, 소, 말, 돼지, 닭, 오리, 거위, 설치류, 예컨대 마우스, 래트, 기니피그 등일 수 있다. 용어 "개체"는 본 명세서에서 "대상체" 및 "환자"와 상호교환적으로 사용된다.
- [0017] 본 명세서에서 용어 "면역력"은 "면역기능" 및 "면역활성"과 상호교환적으로 사용된다.
- [0019] 본 발명의 또다른 일 양태에 따르면, 본 발명의 조성물은 식품 조성물일 수 있다.
- [0020] 상기 식품은 건강기능성 식품일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "건강기능성 식품"이란, 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 의미한다. 여기서 "기능성"이란, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.
- [0021] 본 발명에 따른 식품 조성물에 포함되는 비피도박테리움 비피덤 MG731의 유효량은 사용 목적(예방, 개선 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 예를 들어, 비피도박테리움 비피덤 MG731이 식품 조성물 중 0.001 내지 20 중량%, 0.001 내지 15 중량% 또는 0.001 내지 10 중량%의 양으로 포함될 수 있다. 건강음료의 경우 100 mL를 기준으로 0.01 내지 2 g, 예를 들어 0.02 내지 2 g의 양으로 포함될 수 있다. 그러나, 건강 조절을 목적으로 장기간 섭취하는 경우에는 상기 범위 이하의 양으로 섭취하는 것이 가능하다. 본 발명의 식품 조성물을 제조하는 과정에서 식품 조성물에 첨가되는 비피도박테리움 비피덤 MG731은 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있다.
- [0022] 상기 식품 조성물은 환제, 정제, 과립, 분말, 캡슐, 액상, 용액 등 어느 하나의 제형일 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 상기 식품의 종류는 특별히 제한되지 않는다. 본 발명에 따른 식품 조성물이 제품화 또는 제형화될 수 있는 예에는 요거트, 유제품, 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 면류, 껌류, 아이스크림류 등 낙농제품, 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료, 비타민 복합제 등이 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품처럼 여러 가지 감미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있으며, 본 발명에 따른 유효성분의 효과를 저해하거나 상쇄시키지 않는 한 그 종류에 제한은 없다. 상기 천연 탄수화물은 예를 들어 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로스과 같은 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기 감미제는 예를 들어 타우마틴, 스테비아 추출물 등과 같은 천연 감미제, 또는 사카린, 아스파르탐 등과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 식품 조성물이 음료 조성물일 경우, 유효성분으로서 비피도박테리움 비피덤 MG731을 함유하는 것 외에 액체 성분에 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 식품 조성물이 동물 사료 조성물일 경우, 유효성분으로서 비피도박테리움 비피덤 MG731을 함유하는 것 외에 특별한 제한점은 없다. 상기 동물 사료는 동물의 면역력을 증강 또는 개선시키거나, 또는 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 질환의 예방, 치료 또는 개선하기 위하여, 동물의 먹이, 간식 또는 식이보충제의 형태로 제공될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "동물"은 임의의 비인간 동물을 의미한다. 상기 비인간 동물은 예를 들어 척추동물, 예컨대 영장류, 개, 소, 말, 돼지, 닭, 오리, 거위, 설치류, 예컨대 마우스, 래트, 기니피그 등일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또다른 일 양태에 따르면, 본 발명의 조성물은 약학 조성물일 수 있다.

- [0029] 본 발명에 따른 약학 조성물에 있어서 각 용어는 특별히 언급하지 않는 한 상기 식품 조성물에서 전술한 바와 동일한 의미를 갖는다.
- [0030] 상기 약학 조성물은 개체의 면역력을 증강 또는 개선시키거나, 또는 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 질환 또는 증상을 예방, 치료 또는 개선하기 위하여, 이를 필요로 하는 개체에게 유효량이 투여될 수 있다.
- [0031] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료"는 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 면역력이 증강 또는 개선되거나 또는 면역 관련 질환이 호전되거나 완치되는 모든 행위를 의미한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어 "예방"은 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 면역력이 저하되는 것을 억제 또는 지연시키거나, 면역 관련 질환이 발생되거나 증상이 진전되는 것을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어 "개선"은 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 면역력이 증강 또는 개선되거나, 면역력이 저하되는 것을 막고 그 수준이 유지되거나, 면역 관련 질환의 증상이 적어도 감소 또는 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미한다.
- [0032] 상기 유효량은 "치료 유효량" 또는 "예방 유효량"일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료 유효량"은 약물 또는 치료제가 단독으로 또는 다른 치료제와 조합되어 사용되는 경우에, 면역 관련 질환의 중증도 감소, 면역 관련 질환 증상이 없는 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 면역 관련 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지를 나타낼 수 있는 임의의 양을 의미한다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어 "예방 유효량"은 면역력 저하, 면역 관련 질환 발생 또는 재발로 인해 고통받을 위험을 방지, 억제, 지연 등을 할 수 있는 임의의 양을 의미한다. 상기 유효량의 수준은 개체의 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소 등에 따라 전문의와 같은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다.
- [0033] 본 명세서에서 사용되는 용어 "투여"는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 조성물을 개체에게 물리적으로 도입하는 것을 의미한다. 본 발명의 약학 조성물을 위한 투여 경로는 예를 들어, 경구 투여 경로, 또는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예컨대 주사 또는 주입에 의한 투여 경로를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명의 조성물을 위한 투여 횟수는 예를 들어 1회, 복수 회, 및/또는 하나 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 조성물을 0.1 내지 100 mg/kg의 양으로 일일 1회 내지 수회 투여하거나, 또는 수일 내지 수개월 간격으로 투여할 수 있다. 또한, 투여 빈도는 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령, 투여량 등에 따라 증감될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 조성물에 함유될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제는 예를 들면 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명에 따른 조성물, 즉 식품 조성물 또는 약학 조성물은 다른 물질 또는 성분과 병용하여 투여될 수 있다. 이 경우, 본 발명의 조성물과 다른 물질 또는 성분은 순차적, 동시에, 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 상기 다른 물질 또는 성분은 비피도박테리움 비피덤 MG731의 효능을 저해하거나 상쇄시키지 않는 것이라면 제한없이 포함될 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 비피도박테리움 비피덤 MG731을 포함하는 조성물은 다른 물질 또는 성분과 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여되도록 제형화될 수 있다. 예를 들어, 비피도박테리움 비피덤 MG731과 면역증강성분이 하나의 제제로 동시에 투여될 수도 있으며, 또는 별개의 제제로 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0038] 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여하기 위해, 본 발명의 조성물에 함유되는 비피도박테리움 비피덤 MG731과 다른 물질 또는 성분은 각각 별도의 용기로 분리시켜 제형화되거나, 동일한 용기에서 함께 제형화될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물에 함유되는 비피도박테리움 비피덤 MG731과 다른 물질 또는 성분은 유효량, 투여 시간, 투여 간격, 투여 경로 등이 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 또다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 면역 증강 또는 개선을 필요로 하는 개체에게 비피도박테리움

비피덤을 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 면역력 증강 또는 개선 방법을 제공한다.

[0041] 본 발명의 또다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 개체에게 비피도박테리움 비피덤을 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 질환의 예방, 치료 또는 개선 방법을 제공한다. 상기 개체는 예를 들어 면역질환을 앓고 있거나, 면역질환의 위험도가 높은 개체일 수 있다.

[0042] 상기 본 발명에 따른 방법에서 각 용어는 특별히 언급하지 않는 한 조성물과 관련하여 전술한 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0043] 바람직하게는, 상기 비피도박테리움 비피덤은 비피도박테리움 비피덤 MG731이다.

[0044] 본 발명에 따른 방법에서, 상기 비피도박테리움 비피덤은 다른 면역요법 또는 면역증강제와 동시에, 순차적으로, 또는 개별적으로 개체에게 투여될 수 있다. 상기 "동시" 투여는 비피도박테리움 비피덤 MG731 및 다른 물질을 하나의 제제로 한번에 투여하는 것을 의미하거나, 또는 비피도박테리움 비피덤 MG731 및 다른 물질을 별도의 제제로 한번에 투여하는 것을 의미하며, 이 경우 비피도박테리움 비피덤 MG731의 투여경로와 다른 물질의 투여경로는 서로 상이할 수 있다. 상기 "순차적" 투여는 비피도박테리움 비피덤 MG731 및 다른 물질을 비교적 연속적으로 투여하는 것을 의미하는 것으로, 투여 간격에 소모되는 시간으로 가능한 최소한의 시간을 허락한다. 상기 "개별적" 투여는 일정 시간 간격을 두고 비피도박테리움 비피덤 MG731 및 다른 물질을 투여하는 것을 의미한다. 상기 비피도박테리움 비피덤 MG731 및 다른 물질의 투여 방법은 대상체의 치료 효능, 부작용 등을 고려하여 당업계의 의사 또는 전문가가 적절하게 선택할 수 있다.

### 발명의 효과

[0045] 본 발명에 따른 조성물은 IL-7, IL-15 및 INF- $\gamma$  중 하나 이상의 발현 또는 활성을 증가시킬 수 있으며, TGF- $\beta$ 의 발현 또는 활성을 감소시킬 수 있다. 이에 따라, 본 발명에 따른 조성물은 유의적으로 우수한 면역증강 효과를 나타낼 수 있다.

[0046] 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 식품 조성물 또는 약학 조성물로서 제공될 수 있으며, 상기 식품 조성물은 프로바이오틱스 제품, 건강기능보조제, 동물 사료 등 다양한 형태로 제공될 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 면역결핍, 면역저하 또는 면역계 손상으로 인한 면역질환을 예방하거나, 치료하거나, 또는 개선하기 위하여 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 THP-1 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, INF- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 각각 나타낸 그래프이다.

도 2는 Jurkat 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, INF- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 각각 나타낸 그래프이다.

도 3은 Human monocyte 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, INF- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 각각 나타낸 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 이하 본 발명을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

#### [0051] 실시예 1. 비피도박테리움 비피덤의 준비

[0052] MG731 균주(수탁번호 KCTC13452BP)를 BL 브로쓰(broth)에서 2회 계대배양을 하였다. 그 후, RPMI 90% BL 10% 배지에서 24시간 동안 배양하였다. MG731 균주를 수집하고 0.D600에서 흡광도를 측정된 후, 최종농도  $1 \times 10^7$  CFU/ml이 되도록 균주 희석액을 준비하였다.

#### [0054] 실시예 2. 면역조절 효능 평가

- [0055] MG731은 37℃ 혐기성 조건하에 BL 브로쓰에서 배양하였다. 시험에 사용한 인간의 혈액은 EDTA(또는 헤파린)로 코팅된 10 mL 튜브에 넣고 1:1의 비율로 PBS와 혼합하였다. 이어서, 50 mL 튜브에 Ficoll-Paque PLUS를 넣고, 상기 혈액 시료를 첨가하였다. 원심분리 후, PBMC(peripheral blood mononuclear cell)를 수거하였다.
- [0056] 상기에서 수거한 PBMC로부터 human monocyte isolation kit를 사용하여 human monocyte를 단리하였다. Human T 세포인 Jurkat 세포주는 10% FBS(fetal bovine serum)가 포함된 RPMI 1640 배지를 이용하여 75T 플라스크에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 또한, Human monocyte 세포인 THP-1 세포주는 10% FBS와 0.1% 2-메르캅토에 탄올이 포함된 RPMI 1640 배지를 이용하여 75T 플라스크에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.
- [0057] THP-1 세포, Jurkat 세포, human monocyte 세포를 각각 카운팅하여, transwell의 lower well에 1x10<sup>6</sup> cell/well/0.8mL이 되도록 분주하였으며, 항생제가 없는 세포배양액에 희석시켜 분주하였다. MG731은 동일한 세포배양액에 희석하여 1x10<sup>7</sup> CFU/well/0.2mL이 되도록 insert well에 분주하였다.
- [0058] 24시간 동안 배양한 후, 비피도박테리움 비피덤 MG731 균주가 함유되어 있는 insert well은 제거하였다. 이어서, 각 웰에 있는 세포의 RNA를 트리졸에 의해 추출한 후, cDNA를 합성하였다.
- [0059] 그 후, 상기 cDNA를 이용하여 real-time PCR을 통해 IL-7, IL-15, IFN- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 발현 수준을 측정하였다.
- [0060] 여기서, IL-7 및 IL-15는 초기 면역반응에서 T 세포의 증식과 분화 및 생존을 유도하는 역할 인자로서 알려져 있다. 또한, IFN- $\gamma$ 는 세포독성(cytotoxic) T 세포가 분비하는 면역인자로서 면역기능 증강의 대표적인 사이토카인으로 알려져 있다. 반면, TGF- $\beta$ 는 면역억제 기능을 갖는 인자 중 하나로서 알려져 있다. 따라서, IL-7, IL-15 및 IFN- $\gamma$ 의 발현을 증가시키거나 및/또는 TGF- $\beta$ 의 발현을 저해한다는 것은 면역증강 효과가 있다는 것을 가리킨다.
- [0061] Real-time PCR을 위한 프라이머 서열은 하기 표 1과 같다.

**표 1**

프라이머	서열	
IL-7	F	CTCCCTGATCCTTGTCTG
	R	TCATTATTCAGGCAATGCTACC
IL-15	F	CCAAGTGGGTGAATGTAATAAGTGA
	R	TGCAACTGGGGTGAACATCA
IFN- $\gamma$	F	GTCCAACGCAAAGCAATACA
	R	CTCTTCGACCTCGAAACAGC
TGF- $\beta$	F	GGGACTATCCACCTGCAAGA
	R	CCTCCTGGCGTAGTAGTCG

- [0063] THP-1 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, IFN- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 나타낸 도 1에서 볼 수 있듯이, 대조군에 비해 IL-7, IL-15 및 INF- $\gamma$ 의 발현 수준은 각각 1.44배, 1.68배 및 4.19배 더 증가한 반면, TGF- $\beta$ 의 발현 수준은 0.88배로 더 감소한 것을 확인할 수 있다.
- [0064] 또한, Jurkat 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, IFN- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 각각 나타낸 도 2에서 볼 수 있듯이, 대조군에 비해 IL-15 및 INF- $\gamma$ 의 발현 수준은 각각 9.61배 및 2.01배 더 증가한 반면, TGF- $\beta$ 의 발현 수준은 0.7배로 더 감소한 것을 확인할 수 있다.
- [0065] 또한, Human monocyte 세포에 대한 비피도박테리움 비피덤 MG731의 처리 또는 비처리 군에서 IL-7, IL-15, IFN- $\gamma$  및 TGF- $\beta$ 의 상대적 발현 수준을 각각 나타낸 도 3에서 볼 수 있듯이, 대조군에 비해 IL-7의 발현 수준은 7.55배 더 증가한 반면, TGF- $\beta$ 의 발현 수준은 거의 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다.
- [0066] 이는 인간 면역세포에 해당하는 THP-1, Jurkat 및 human monocyte 세포 모두에서 비피도박테리움 비피덤 MG731에 의해 THP-1 세포에서 IL-7 및 IL-15의 발현이 증가됨에 따라 T 세포의 증식 및 분화가 활성화될 뿐만 아니라, IFN- $\gamma$ 의 발현이 증가되는 반면 TGF- $\beta$ 의 발현은 감소됨에 따라 면역기능이 증강 또는 개선되는 것을 의미한다.

수탁번호

[0067]

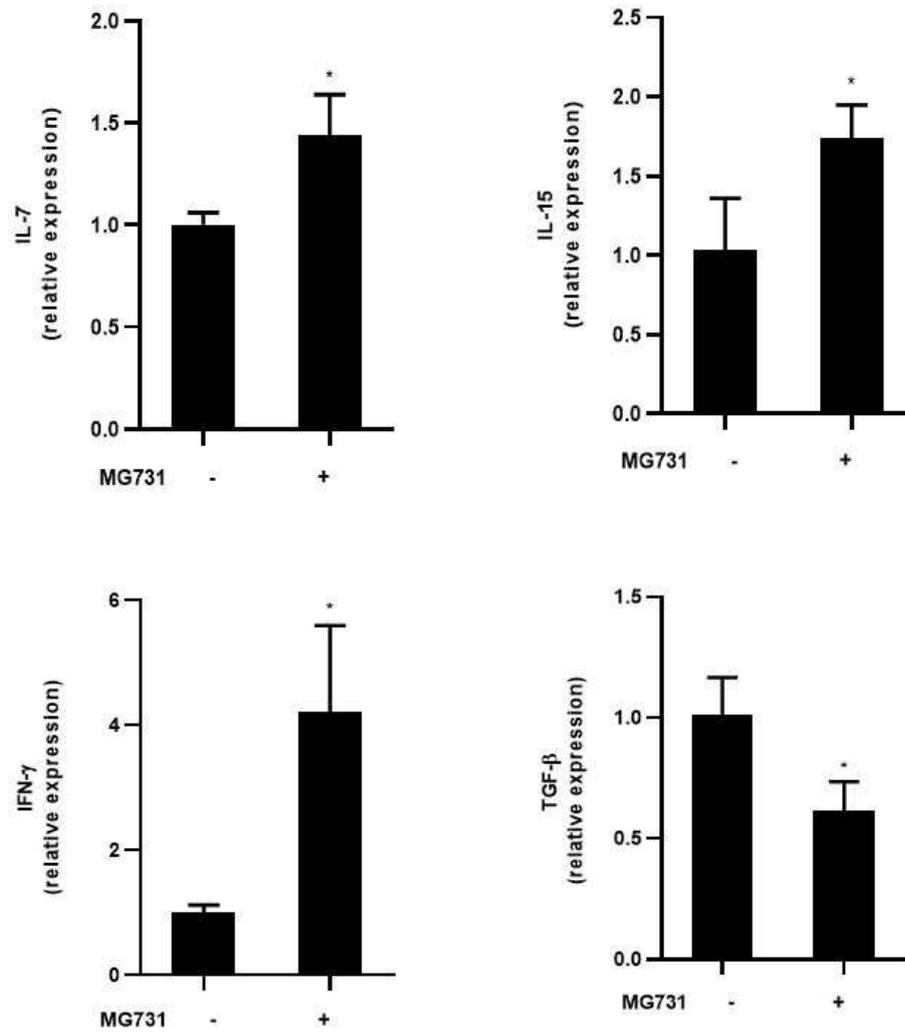
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC13452BP

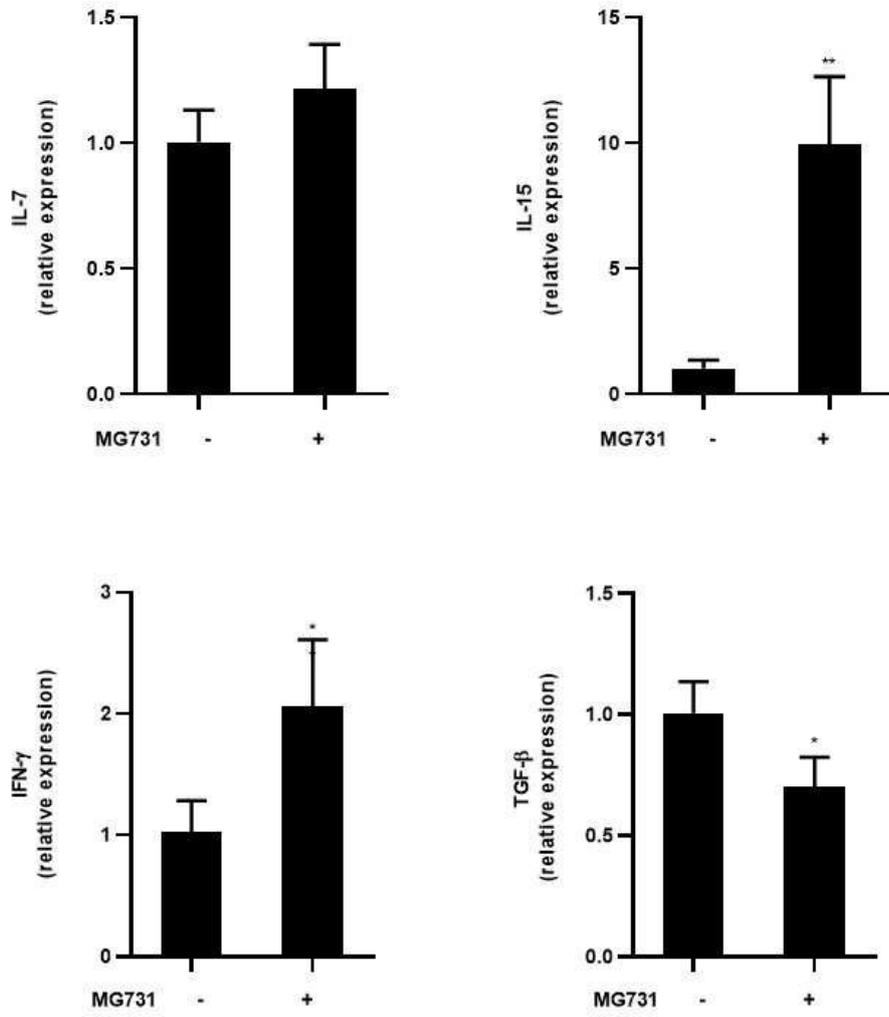
수탁일자 : 20180104

도면

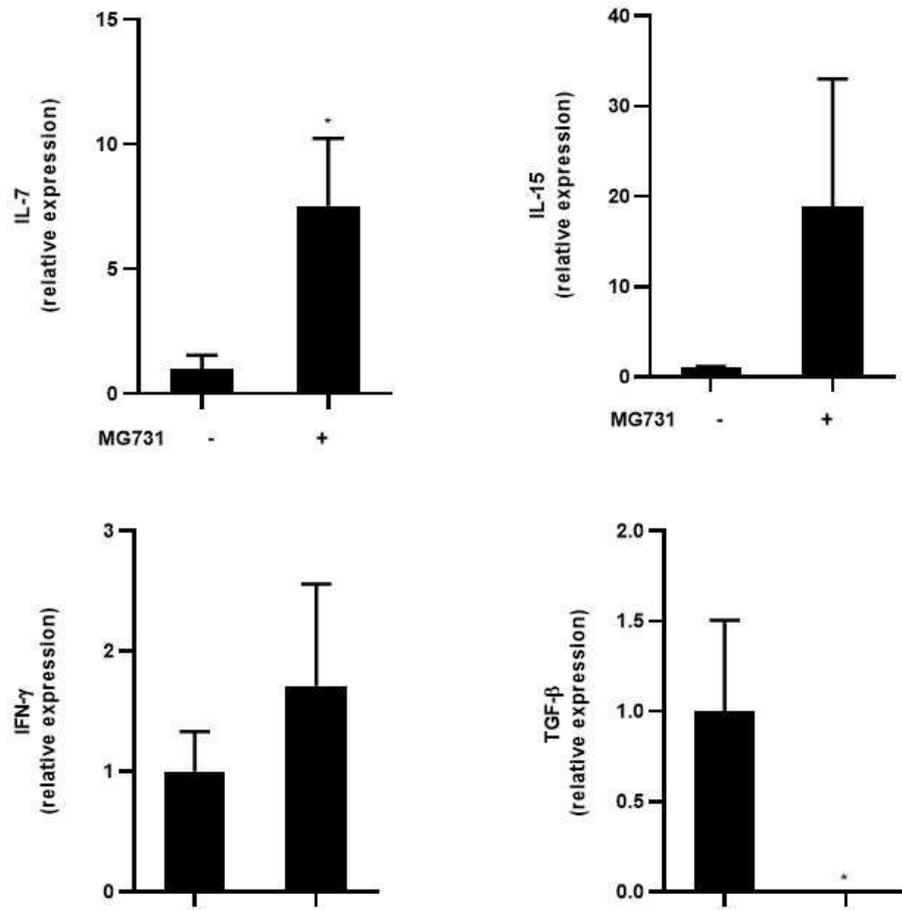
도면1



도면2



도면3



서열목록

- <110> Genome and Company  
Gwangju Institute of Science and Technology
- <120> COMPOSITION FOR ENHANCING OR IMPROVING IMMUNE ACTIVITY COMPRISING  
BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM
- <130> DP19127KR
- <160> 1
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 1447
- <212> RNA
- <213> Bifidobacterium bifidum
- <220><221> rRNA
- <222> (1)..(1447)
- <223> MG731 16S rRNA
- <400> 1

agacgctggc ggcgtgctta acacatgcaa gtcgaacggg atccatcggg ctttgcttgg 60  
 tggtagagagt ggccaacggg tgagtaatgc gtgaccgacc tgcccatgc tccggaatag 120  
  
 ctcttgaaa cgggtggtta tgccgatgt tccacatgat cgcatgtgat tgtgggaaag 180  
 attctatcgg cgtgggatgg ggtcgcgtcc taccagcttg ttgtagaggt aacggctcac 240  
 caaggcttcg acgggtagcc ggcctgagag ggcgaccggc cacattggga ctgagatacg 300  
 gccagactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatgggccc aagcctgatg 360  
 cagcagccc gcgtgaggga tggaggcctt cgggttata acctctttg ttgggagca 420  
 agccttcggg tgagtgtacc ttctgaataa gcgccggcta actacgtgcc agcagccgcg 480  
 gtaatacgtg gggcgaagc gttatccgga ttattgggc gtaagggct ctaggcggc 540  
  
 tcgtcgcgtc cgggtgtaaa gtccatcgtc taacgggtga tctgcgccg gtacgggccc 600  
 gctggagtgc ggtaggggag actggaattc ccggtatac ggtggaatgt gtagatatcg 660  
 ggaagaacac cgatggcga ggcaggtctc tggccgtca ctgacgtga ggagcgaag 720  
 cgtggggagc gaacaggatt agatacctg gtagtccacg ccgtaaacgg tggacgtgg 780  
 atgtggggca cgttccactg gttccgtgtc ggagctaacg cgttaagcgt cccgcctggg 840  
 gactacggc gcaaggctaa aactcaaaga aattgacggg ggcccgcaca agcggcggag 900  
 catcgggatt aattgatgc aacgcaaga accttaactg ggcttgacat gttcccagc 960  
  
 acgccagaga tggcgtttcc ctccggggc ggttcacagg tggatcatgg tcgtcgtcag 1020  
 ctctgtcgt gagatgttgg gtttaagccc gcaacgagcg caaccctgc cccgtgttc 1080  
 cagcagctta tggtaggaac tcacggggga ccgccgggt taactcggag gaaggtggg 1140  
 atgacgtcag atcatcatgc cccttacgtc cagggttca cgcatgtac aatggccggt 1200  
 acagcgggat gcgacatggc gacatggagc ggatccctga aaaccggtct cagttcggat 1260  
 cggagcctgc aaccggctc cgtgaaggcg gactcgtag taatcgcgga tcagcaacgc 1320  
 cgcgtgaat gcgttcccg gccttgata caccgccgt caagtcata aagtggcag 1380  
  
 caccgaagc cggtagccta acccttctg gtagggagcc gtctaagggt aggctcgtga 1440  
 ttgggac 1447