



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년02월07일
(11) 등록번호 10-1825836
(24) 등록일자 2018년01월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) A23L 33/135 (2016.01)
A61K 35/747 (2014.01) C12R 1/25 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2013.01)
A23L 33/135 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2016-0132770
- (22) 출원일자 2016년10월13일
심사청구일자 2016년10월13일
- (56) 선행기술조사문헌
Korean J. Food Sci. An., Vol. 34,
pp.645-653(2014.)*
Evidence-Based Complementary and Alternative
Medicine, Vol.2015, pp.1-9(2015.)
Evidence-Based Complementary and Alternative
Medicine, Vol.2013, pp.1-12(2013.)
KR100161653 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
건국대학교 산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 120, 건국대학교내 (화양동)
한국식품연구원
전라북도 완주군 이서면 농생명로 245
- (72) 발명자
백현동
경기도 성남시 분당구 백현로 234, 303동 1102호
(정자동, 한솔마을한일아파트)
이은정
서울특별시 중구 다산로46길 17, 웨스트동 1904호
(뚝섬에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 이룸리온

전체 청구항 수 : 총 7 항

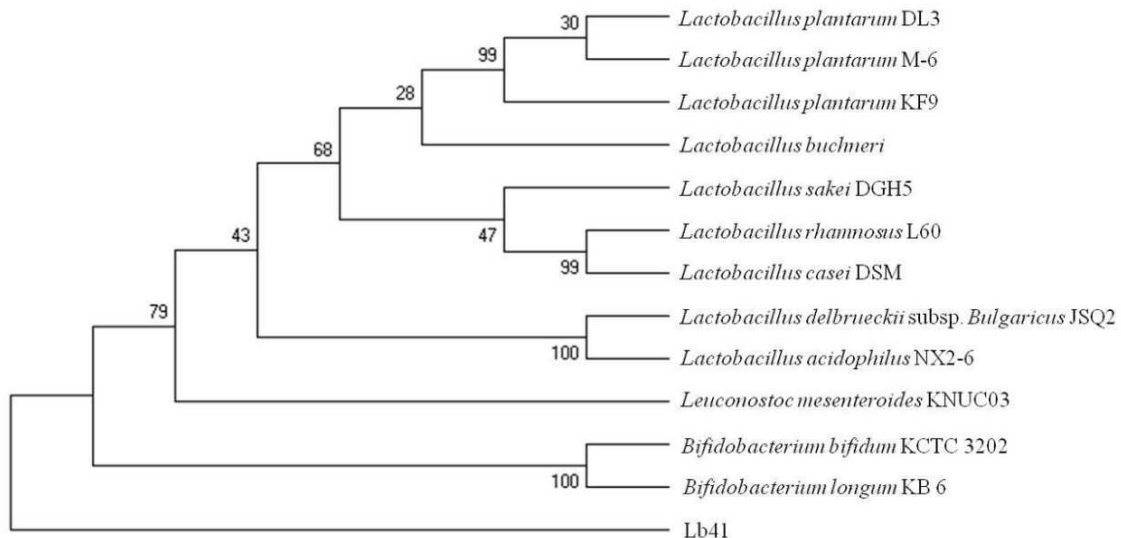
심사관 : 김지연

(54) 발명의 명칭 신규한 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주 및 이를 포함하는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 전통발효식품으로부터 분리된 프로바이오틱스인 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주 및 이의 용도를 제공하는 것이며, 보다 상세하게는 상기 균주의 항당뇨 용도를 제공한다. 김치와 같은 전통발효식품으로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 생균제로서 사용할 수 있으며, 이를 고지방식으로 유도된 당뇨 마우스 모델에 투여하였을 때, 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타낼 수 있으므로, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방, 치료 및 개선을 위한 조성물의 유효성분으로서 사용할 수 있다

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 35/747 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/3204 (2013.01)
A23Y 2220/67 (2013.01)
C12R 1/25 (2013.01)

(72) 발명자

임성일

경기도 용인시 수지구 성복2로 174, 101동 1401호
 (성복동, 성동마을 수지자이1차)

이소영

경기도 용인시 수지구 현암로 3, 101동 1503호

이나경

서울특별시 광진구 능동로4길 78, 101동 1003호
 (자양동, 우방리버파크)

남영도

경기도 성남시 분당구 산운로 97, 504 (운중동, 한
 성필하우스아파트)

손성호

강원도 춘천시 행촌로 14, 207동 1402호 (퇴계동,
 현대2차아파트)

전은비

경기도 부천시 송내대로30번길 38, 가동 504호 (송
 내동, 옥일아파트3차)

김재호

경기도 용인시 수지구 상현로 27, 173동 1306호 (상
 현동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015A0080033

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술개발

연구과제명 [단독](2차)식품산업활용 중군의 상용화를 위한 기반구축 연구

기 여 율 1/1

주관기관 한국식품연구원

연구기간 2015.12.17 ~ 2016.12.16

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

β -글루쿠로니다제(β -Glucuronidase) 및 N-아세틸- β -글루코사미니다제(N-acetyl- β -glucosaminidase)를 생산하지 않고, 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것을 특징으로 하는, 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는

- i) pH 2.5 조건에서 3시간 반응시 우수한 내산성;
- ii) 0.3% oxgall 조건에서 24시간 반응시 우수한 내담즙성;
- iii) 우수한 장부착능; 및
- iv) 제타마이신(Gentamycin), 시프로플록사신(Ciprofloxacin), 가나마이신(Kanamycin) 및 스트렙토마이신(Streptomycin)을 포함하는 항생제에 대한 내성을 가지는 것을 특징으로 하는, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주.

청구항 4

수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하고,

상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 β -글루쿠로니다제(β -Glucuronidase) 및 N-아세틸- β -글루코사미니다제(N-acetyl- β -glucosaminidase)를 생산하지 않고, 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것을 특징으로 하는,

프로바이오틱스 제제.

청구항 5

수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하고,

상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 β -글루쿠로니다제(β -Glucuronidase) 및 N-아세틸- β -글루코사미니다제(N-acetyl- β -glucosaminidase)를 생산하지 않고, 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것을 특징으로 하는,

당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 락토바실러스 플란타륨 Lb41 균주는 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는, 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타륨 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하고,

상기 락토바실러스 플란타륨 Lb41 균주는 β-글루쿠로니다제(β-Glucuronidase) 및 N-아세틸-β-글루코사미니다제(N-acetyl-β-glucosaminidase)를 생산하지 않고, 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것을 특징으로 하는,

당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 락토바실러스 플란타륨 Lb41 균주는 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는, 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 전통발효식품으로부터 분리된 프로바이오틱스인 락토바실러스 플란타륨 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주 및 이의 용도를 제공하는 것이며, 보다 상세하게는 상기 균주의 항당뇨 용도를 제공한다.

배경 기술

[0003] 당뇨병은 혈당 농도가 정상인에 비하여 높아 소변으로 포도당이 배출되는 질환으로, 췌장 내의 랑게르한스섬의 β-세포에서 인슐린(insulin)의 비정상적 대사과정 또는 이상 생리활성에 의하여 발병된다. 또한 당뇨병은 만성 대사성 질환으로 오랜 시간이 경과함에 따라 혈관장애와 신경, 신장 및 망막 등의 기능 이상을 초래하고 이로 인해 생명까지 잃게 하는 질환이다. 당뇨병은 인슐린의 분비와 작용 여부에 따라 인슐린 의존성 당뇨병 및 인슐린 비의존성 당뇨병으로 나누어진다. 인슐린 의존성 당뇨병(제 1형 당뇨병)은 췌장의 베타세포가 파괴되어 인슐린을 분비하지 못하므로 심한 인슐린 결핍상태에 있으므로, 심한 고혈당증과 케톤산증, 다갈, 다음, 다뇨, 체중감소 및 피로감을 나타낸다. 반면에 전체 당뇨병 환자의 90% 이상인 인슐린 비의존성 당뇨병(제 2형 당뇨병)은 췌장의 베타세포에서 인슐린을 분비하는 능력은 있으나 인슐린의 기능 이상 상태로부터 유발되는 질환이며, 일반적으로 인슐린에 대하여 저항성을 나타낸다. 유전적인 요인과 비정상적인 식생활, 스트레스, 운동, 비만, 노화 등과 같은 환경적인 요인이 복합적으로 관련되어 유발되는 것으로 추정되고 있다. 상기 인슐린 비의존형 당뇨병은 일반적으로 당대사 및 지질대사 이상을 나타낸다. 즉, 상기 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 경우 음식 섭취 후 인슐린 분비가 늦어지거나 충분한 양이 분비되지 못하여 간에서의 당 생성이 줄어들지 못하고 근육, 간 및 지방과 같은 말초 조직에 의한 혈당의 이용률이 증가되지 못한다. 이 때문에 생긴 식후의 과혈당 증상은 인슐린 분비를 항상 촉진시켜 결과적으로 만성적인 인슐린 과다증을 유발하고 이러한 상태가 계속되면 베타세포가 더 이상 증가된 인슐린 분비율을 유지하지 못하게 되어 궁극적으로 인슐린 저항성이 나타난다. 지속적인 인슐린 저항성은 인슐린 생성에 문제를 초래하여 저인슐린혈증을 유도하게 된다. 특히 글루카곤에 대한 인슐린 비가 감소되면 간에서의 당신생이 증가된다. 또한, 인슐린 저항성의 원인으로 혈중 유리지방산의 증가가 제시되고 있다. 혈중 유리지방산의 증가는 말초조직에서 인슐린에 의한 당 이용을 억제시키고 간 조직에서 당 신생억제를 방해함으로써 혈당치를 높인다.

[0005] 한편, 다양한 채소를 사용하여 만드는 한국 전통발효식품인 김치에는 항산화, 항노화, 항비만, 항돌연변이, 항염, 항균, 항알러지, 면역증진효과와 같은 다양한 기능성이 있음이 알려져 있다. 이러한 이로인 효과는 김치 내의 영양성분과 유산균의 발효산물에서 유래되었다. 김치 내에는 락토바실러스(*Lactobacillus*), 류코노스톡(*Leuconostoc*), 페디코커스(*Pediococcus*) 등의 균이 존재하며 김치의 발효와 숙성에 관여하므로, 김치에서 분리

한 유산균을 이용하는 연구 및 이를 프로바이오틱스를 이용한 제품들이 다양하게 출시되고 있다. 프로바이오틱스(probiotics)란 살아있는 상태로 체내에 들어가서 면역 및 다양한 기능성을 주어 건강에 도움을 주는 유익한 미생물을 말한다. 현재까지 알려진 대부분의 프로바이오틱스는 유산균들이며, 그 중 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)은 미국 FDA에서 인정된 GRAS(Generally Recognized As Safe) 균주이며 오래 전부터 육류, 채소, 우유, 커피 등의 다양한 발효 식품에 사용되어왔다. 프로바이오틱스로 인정받기 위해서는 균주가 체내의 위산과 담즙산에서 생존해 소장까지 도달하여야 하며 장 상피세포에 부착하여 성장할 수 있어야 한다. 또한 독성이 없고 비병원성이어야 하며 장관 내에서 항균, 항염, 항암, 항산화, 항당뇨, 항비만 등의 유용한 효과를 나타내어야 한다. 이러한 프로바이오틱스의 기능성은 오랫동안 연구되고 있다.

[0007] 현재까지 연구된 바에 따르면, 장류 또는 김치와 같은 발효식품으로부터 분리된 유산균을 프로바이오틱스로 사용할 수 있으며, 이들의 다양한 생리적 기능을 통해 약학적 치료 용도로서 적용할 수 있음이 공지된 바 있다. 예를 들어, 대한민국 등록특허 제 10-161653호에서는 가자미식혜로부터 분리된 신규한 락토코쿠스 락티스(*Lactococcus lactis*) KR-W-2 균주를 포함하는 프로바이오틱스 조성물을 양식 어류의 병원균에 의해 생기는 질병의 치료에 사용할 수 있음을 개시하고 있고, 대한민국 공개특허 10-2015-0106093호에서는 장류로부터 분리된 바실러스 메틸로트로피쿠스(*Bacillus methylotrophicus*) C14 균주를 프로바이오틱스 제제로서 사용하여 항균용 조성물로서 사용할 수 있음을 개시하고 있다. 이 외에도 다양한 유산균을 유용 용도로서 사용하기 위한 연구가 계속되고 있다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 전통발효식품으로부터 프로바이오틱스로서 사용할 수 있는 유산균을 분리하고 이의 용도를 찾기 위해 노력한 결과, 김치와 같은 전통발효식품으로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 생균제로서 사용할 수 있으며, 이를 고지방식이로 유도된 당뇨 마우스 모델에 투여하였을 때, 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타낼 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 이에, 본 발명자들은 전통발효식품으로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 생균제로서 사용할 수 있으며, 이를 고지방식이로 유도된 당뇨 마우스 모델에 투여하였을 때 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0013] 따라서, 본 발명의 목적은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 신규한 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 제공하는 것이다.

[0014] 또한, 본 발명의 또다른 목적은 상기 균주를 포함하는 프로바이오틱스 제제를 제공하는 것이다.

[0015] 아울러, 본 발명의 또다른 목적은 상기 균주의 약학적 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 프로바이오틱스 제제를 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 아울러, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0021] 본 발명의 바람직한 일실시예에서, 상기 균주는 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것일 수 있다.

[0022] 본 발명의 또다른 바람직한 일실시예에서, 상기 균주는 내산성, 내담즙성, 장부착능 및 항생제 내성을 가지는 것을 특징한다.

[0023] 본 발명의 또다른 바람직한 일실시예에서, 상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타내는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 김치와 같은 전통발효식품으로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 생균제로서 사용할 수 있으며, 이를 고지방식으로 유도된 당뇨 마우스 모델에 투여하였을 때, 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타낼 수 있으므로, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방, 치료 및 개선을 위한 조성물의 유효성분으로서 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주의 계통도이다.
 도 2는 고지방식이에 의한 당뇨 및 대사성질환 유도 동물 모델에서 락토바실러스 플란타룸 Lb41 투여에 따른 체중 감소 효과를 나타낸다.
 도 3은 고지방식이에 의한 당뇨 및 대사성질환 유도 동물 모델에서 락토바실러스 플란타룸 Lb41 투여에 따른 내당능 개선 효과를 나타낸다.
 도 4는 고지방식이에 의한 당뇨 및 대사성질환 유도 동물 모델에서 락토바실러스 플란타룸 Lb41 투여에 따른 인슐린 저항성 수치 분석 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0030] 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41) 균주를 제공한다.

[0031] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 프로바이오틱스 제제를 제공한다.

[0032] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것이 바람직하다.

[0033] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 내산성, 내담즙성, 장부착능 및 항생제 내성을 가지는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0034] 구체적으로, 상기 내산성은 pH 2 내지 3의 배지에서 3 내지 5 시간 동안 99% 이상의 생존률을 나타낼 수 있음을 나타내며, 상기 내담즙성은 인간의 담즙과 유사한 환경에서 24 시간 동안 80% 이상의 생존률을 나타낼 수 있음이 바람직하다. 또한, 상기 장부착능을 대장 세포와 유의적인 수준으로 결합할 수 있는 능력을 나타낸다. 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 프로바이오틱스 제제로 사용하기 위해, 체내 경구투여시에도 균주의 생존능이 유지되는 것을 통해 효과가 저하 또는 증진될 수 있으므로, 소화기관에서의 환경에서 생존할 수 있도록 내산성, 내담즙성 및 장부착능을 가지는 것에서 유의적인 효과를 나타낼 수 있다. 또한, 상기 항생제 내성은 제타마이신, 시프로플록사신, 가나마이신 및 스트렙토마이신에 대해서 내성을 가지는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0036] 본 발명의 구체적인 실시예에 있어서, 본 발명자들은 전통발효식품으로부터 프로바이오틱스로 사용할 수 있는 유산균을 분리하여, 서열번호 1로 기재되는 염기서열로 구성된 16S rRNA를 포함하는 신규 균주를 분리하였으며, 이의 상동성 분석을 통해 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 신규한 균주임을 확인하였고(도 1), 이를 2016년 09월 22일 한국미생물보존센터(KCCM)에 기탁하였다(기탁번호 KCCM 11896P).

[0037] 또한, 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 특징을 확인한 결과, 락토바실러스 플란타룸 Lb41은 내산성, 내담즙성, 장부착능 및 일부 항생제에 대한 내성을 나타내는 것을 확인하였고, 이에 비해 발암의 원인이 되는 효소를 생산하지 않고 정상 세포에 대하여 독성 역시 나타내지 않음을 확인하여(표 1 내지 표 4), 이러한 특징을 통해 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 생균체 또는 사멸체의 형태로 프로바이오틱스 제제에 사용할 수 있을 것으로 확인하였다.

- [0039] 따라서, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 신규한 균주로서 정상 세포에 대하여 안전하고 내산성, 내담즙성 및 장 부착능의 특징을 가지고 있으므로, 상기 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 프로바이오틱스 제제의 유효성분으로 유용하게 사용할 수 있다.
- [0041] 또한, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0042] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것이 바람직하다.
- [0043] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 내산성, 내담즙성, 장부착능 및 항생제 내성을 가지는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0044] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효과를 나타내는 것을 통해 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군에 대하여 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0046] 본 발명의 또다른 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주의 항당뇨 효과를 확인하기 위해, 고지방식이를 통해 대사성증후군이 유발된 마우스 모델을 제작하였다. 상기 마우스 모델에 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 투여하였을 때, 고지방식이에 의한 체중 증가의 수준이 감소하는 것을 확인하였으며(도 2), 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성이 감소하여 항당뇨 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다(도 3 내지 도 4).
- [0048] 따라서, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 생균체로서 투여하였을 때 당뇨병 유발된 실험체에서 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있으므로, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 치료용 약학적 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 미생물 제제는 통상적인 생균제 조성물 제조방법에 따라 제조될 수 있으며, 일반적으로, 배양현탁액이나 건조분말 형태일 수 있다. 또한, 주성분인 상기 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 또는 이의 배양액의 유효량에 1종 또는 2종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 통상적인 담체 또는 1종 또는 2종 이상의 첨가제를 선택하여 통상적인 제형의 조성물로 제조할 수 있다.
- [0051] 담체는 희석제, 활택제, 결합제, 붕해제, 감미제, 안정제, 방부제 중에서 1종 또는 2종 이상을 선택하여 사용할 수 있으며, 첨가제로는 향료, 비타민류, 항산화제 중에서 1종 또는 2종 이상을 선택하여 사용할 수 있다.
- [0052] 본 발명에 있어서, 담체 및 첨가제는 약제학적으로 허용 가능한 것은 모두 사용이 가능하며, 구체적으로는 희석제로는 유당(lactose monohydrate), 트레할로스(Trehalose), 옥수수 전분(cornstarch), 콩기름(soybean oil), 미결정 셀룰로오스(microcrystalline cellulose) 또는 만니톨(D-mannitol)이 좋고, 활택제로는 스테아린산 마그네슘(magnesiumstearate) 또는 탈크(talc)가 바람직하며, 결합제로는 폴리비닐피롤리돈(PVP: polyvinylpyrrolidone) 또는 하이드록시프로필셀룰로오스(HPC: hydroxypropylcellulose) 중에서 선택함이 바람직하다. 또한, 붕해제로는 카르복시메틸셀룰로오스칼슘(Ca-CMC: carboxymethylcellulose calcium), 전분글리콜산나트륨(sodium starchglycolate), 폴라크릴린칼륨(polacrylin potassium) 또는 크로스포비돈(cross-linked polyvinylpyrrolidone)중에서 선택함이 바람직하고, 감미제로는 백당, 과당, 소르비톨(sorbitol) 또는 아스파탐(aspartame) 중에서 선택되고, 안정제로는 카르복시메틸셀룰로오스나트륨(Na-CMC: carboxymethylcellulose sodium), 베타-사이클로덱스트린(β -cyclodextrin), 백납(white bee's wax) 또는 잔탄검(xanthan gum) 중에서 선택되며, 방부제로는 파라옥시안식향산메틸(methyl p-hydroxy benzoate, methylparaben), 파라옥시안식향산프로필(propyl p-hydroxybenzoate, propylparaben), 또는 소르빈산칼륨(potassium sorbate) 중에서 선택하는 것이 바람직하다.
- [0054] 아울러, 본 발명은 수탁번호 KCCM 11896P로 기탁된 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주, 이의 배양액 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0055] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 서열번호 1로 기재되는 16S rRNA 염기서열을 가지는 것이 바람직하다.
- [0056] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 내산성, 내담즙성, 장부착능 및 항생제 내성을 가지는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0057] 본 발명의 “락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주”는 내당능 개선, 인슐린 내성능 개선 및 인슐린 저항성 감소 효

과를 나타내는 것을 통해 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군에 대하여 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[0058] 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 생균체로서 투여하였을 때 당뇨병 유발된 실험체에서 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있으므로, 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 건강기능식품의 유효성분으로 사용할 수 있다.

[0060] 본 발명에 따른 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마야말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식품 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주와 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

[0061] 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주를 건강음료로 이용하는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0062] 또한, 본 발명의 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주는 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선의 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 식품 조성물은 락토바실러스 플라타룸 Lb41 균주과 함께 당뇨 또는 인슐린 저항성 증후군의 예방 및 개선용 조성물에 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0063] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0065] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

실시예 1

[0067] **김치로부터 유용 프로바이오틱스 균주의 분리 및 확보**

[0068] <1-1> 김치 유래 미생물의 순수 분리

[0069] 본 발명의 실시예를 수행하기 위해서, 김치로부터 미생물을 순수 분리하였다.

[0070] 구체적으로, 배추김치, 열무김치, 깍두기 등의 김치 국물을 증류수에 10⁻¹ 내지 10⁻⁷의 비율로 단계 희석하여 김치 시료를 준비하였다. 그런 다음, 상기 김치 시료를 유산균 선택 배지인 MRS 한천 배지, LBS 한천 배지 또는 PES 한천 배지에 도말하였다. 도말한 배지는 37℃에서 정지 배양하여, 생성된 콜로니를 수득하고 형태를 관찰하

여, 새로운 배지에 여러 차례 희석도말하고 미생물을 순수 분리하였다.

[0072] <1-2> 분리된 유산균의 동정

[0073] 유산균 선택 배지를 통해서 순수 분리한 미생물이 어떠한 균주인지 확인하기 위해서, 분리한 미생물을 동정하였다.

[0074] 구체적으로, 상기 실시예 <1-1>에서 분리한 균주에서 유전체 DNA를 추출하고, 염기서열을 분석하여(Bionics 사, 한국에 의뢰) 16S rRNA의 유전자 염기서열을 확보하였다. 상기 16S rRNA의 염기서열은 BLAST 프로그램을 이용하여 데이터베이스에 등록된 다른 표준 균주와 상동성을 분석하고, 98% 이상의 상동성을 나타내는 균주로 동정하였다. 또한 클러스탈 X, 메가 7 프로그램(Clustal X, Mega 7 program)을 사용하여 상동성을 분석하고 계통도를 구축하였다.

[0075] 그 결과, 도 1에서 나타난 바와 같이 김치로부터 분리된 유산균은 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)으로 보고된 균주들과 상동성을 나타내는 것으로 락토바실러스 플란타룸 Lb41(*Lactobacillus plantarum* Lb41)로 명명하여, 2016년 09월 22일 한국미생물보존센터(KCCM)에 기탁하였다(기탁번호 KCCM 11896P).

실시예 2

[0077] 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주의 특징 확인

[0078] <2-1> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 내산성 및 내담즙성 확인

[0079] 김치로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 특징을 확인하기 위하여, 내산성 및 내담즙성을 확인하였다.

[0080] 구체적으로, 먼저 내산성을 확인하기 위해서 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 0.3% 펩신(pepsin) 수용액의 인공 위액 배지(pH 2.5)에 접종하여 3 시간 동안 정치배양하였다. 배양 후, 균을 수득하여 평판배지에 도말하고 37℃에서 48 시간동안 배양한 다음, 생성된 콜로니 수를 계수하여 생존 균수를 측정하여 용매 대조균의 생존 균수에 대한 상대적인 생존 균수를 확인하였다.

[0081] 또한, 내담즙성을 확인하기 위해서 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 0.3% 옥스갈(oxgall)의 배지에 접종하여 24 시간 동안 정치배양하였다. 배양 후, 균을 수득하여 동일한 방법으로 상대적인 생존 균수를 확인하였다. 내산성 및 내담즙성의 비교를 위해, 상업용 균주인 *L. plantarum* KCTC 10782BP 균주 및 *L. acidophilus* KCTC 11906BP 균주를 위와 동일한 조건에서 배양하여 안정성을 확인하였다.

[0082] 그 결과, 하기 [표 1]에서 나타난 바와 같이 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 인공 위액 배지에서도 3 시간 동안 배양하였을 때 초기 균수에서 0.06 Log CFU/ml 만큼 균수가 감소하여, 우수한 내산성을 나타내는 것으로 확인하였다(표 1). 또한, 내담즙성에 대해서도 24 시간 동안 배양하였을 때 초기 균수와 비교했을 때 1.36 Log CFU/ml 만큼 감소하여 내담즙성을 나타내는 것을 확인하였으며, 이러한 내산성 및 내담즙성의 특징은 상업용 균주의 대조균주보다 유의적으로 높은 수준의 안정성을 나타내는 것을 확인하였다.

표 1

[0084] 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주의 내산성 및 내담즙성의 확인

처리군	균수 (Log CFU/mL)		
	<i>L. plantarum</i> Lb41	<i>L. acidophilus</i> KCTC 11906BP	<i>L. plantarum</i> KCTC 10782BP
초기 균수	8.54±0.05	9.02±0.02	8.62±0.01
인공 위액(pH 2.5, 0.3% pepsin, 3 h)	8.48±0.01	7.99±0.01	8.47±0.03
인공 담즙(0.3% oxgall, 24 h)	7.18±0.07	6.55±0.07	5.91±0.13

[0086] <2-2> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 효소 생산능 확인

[0087] 김치로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 특징을 확인하기 위하여, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주가 발암의 원인이 되는 β-글루쿠로니다제(β-glucuronidase) 등 다양한 효소를 생산할 수 있는지의 여부를 확인하였다.

[0088] 구체적으로, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 대수 증식기까지 배양한 다음, 10,000×g에서 10 분 동안 원심 분리하여 상층액의 배지를 제거하였다. 배지를 제거한 후 수득한 균주를 PBS 완충용액으로 세척(washing)한 후, API ZYM 키트의 기질을 세척한 균주와 혼합하여 4 시간 동안 배양하였다. 그런 다음, 상기 키트의 용액 A 및 B 를 각각 첨가하고 높은 광원에서 5 분간 반응시킨 후, 발색 정도에 따라 효소 생산 여부를 확인하였다.

[0089] 그 결과, 하기 [표 2]에 나타난 바와 같이 락토바실러스 플란타룸 Lb41은 발암의 원인이 되는 β-글루쿠로니다제, N-아세틸-β-글루코사미니다제(N-acetyl-β-glucosaminidase)를 생산하지 않는 것을 확인하여 인체에 안전한 것을 확인하였다(표 2).

표 2

[0091] 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주의 효소 생산능 확인

Enzyme	Enzyme activity (nmole)
	<i>Lactobacillus plantarum</i> Lb41
Control	0
Alkaline phosphatase	0
Esterase	0
Esterase lipase	0
Lipase	0
Leucine arylamidase	2
Valine arylamidase	1
Cystine arylamidase	0
Trypsin	0
α-Chymotrypsin	0
Acid phosphatase	1
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	1
α-Galactosidase	0
β-Galactosidase	5
β-Glucuronidase	0
α-Glucosidase	0
β-Glucosidase	5
N-Acetyl-β-glucosaminidase	0
α-Mannosidase	0
α-Fucosidase	0

[0092] (상기 표에서 0은 0 내지 5 nmol의 효소를 생산하는 것을 나타내고; 1은 5 내지 10 nmol의 효소를 생산하는 것을 나타내며; 2은 10 내지 20 nmol의 효소를 생산하는 것을 나타내고; 3은 20 내지 30 nmol의 효소를 생산하는 것을 나타내며; 4는 30 내지 40 nmol의 효소를 생산하는 것을 나타내고; 및 5는 40 nmol 이상의 효소를 생산하는 것을 나타낸다.)

[0094] <2-3> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 장 부착능 확인

[0095] 김치로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 특징을 확인하기 위하여, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주의 장 부착능을 확인하였다.

[0096] 구체적으로, 대장암 세포인 HT-29 세포를 96웰 플레이트에 접종한 다음, 24 시간 동안 배양하여 MRC-5 세포를 1 × 10⁵ 세포/ml 농도로 준비하였다. 그리고 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 대수 증식기까지 배양한 다음, 10,000×g에서 10 분 동안 원심분리하여 상층액의 배지를 제거하였다. 배지를 제거한 후 수득한 균주를 PBS 완충용액으로 세척한 후, 상기 준비한 HT-29 배양 플레이트에 수득한 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 8.68 ± 0.16 log CFU/웰의 농도로 접종하여 2 시간 동안 배양하였다. 배양 후, PBS 완충용액으로 3 번 반복 세척한 다음, 트리톤-X100 1 ml을 가하여 10 분 동안 처리하고 원심분리하고, 상등액을 수득하고 lactobacilli MRS 한천 배지에 도말하고 37℃에서 48 시간 동안 배양한 다음 생성된 콜로니 수를 확인하여, 대장암세포주에 부착한 균수와 배지에 남은 균수(생성된 콜로니 수)를 비교하여 장부착능을 확인하였다.

[0097] 그 결과, 하기 [표 3]에서 나타난 바와 같이 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주는 7.5%의 세포가 부착되어 매우 우수한 장 부착능을 가지는 것을 확인하였으며, 이는 상업용의 대조균주에 비해 유의적으로 높은 수준을 나타냄

을 확인하였다.

표 3

락토바실러스 플란타룸 Lb41의 장 부착능 확인

[0099]

처리군		균수 (Log CFU/mL)
<i>L. plantarum</i> Lb41	초기 균수 (0 h)	8.68±0.16
	부착된 균수 (2 h)	7.57±0.06
<i>L. acidophilus</i> KCTC 11906BP	초기 균수 (0 h)	7.94±0.10
	부착된 균수 (2 h)	6.55±0.08
<i>L. plantarum</i> KCTC 10782BP	초기 균수 (0 h)	8.65±0.02
	부착된 균수 (2 h)	7.58±0.08

[0101]

<2-5> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 항생제 내성 확인

[0102]

김치로부터 분리된 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 특징을 확인하기 위하여, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주가 CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012) 기준에 사용되는 항생제에 대하여 내성을 나타내는 지 여부를 확인하였다.

[0103]

구체적으로, 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주를 대수 증식기까지 배양한 다음, 10,000×g에서 10 분 동안 원심 분리하여 상층액의 배지를 제거하였다. 배지를 제거한 후 수득한 균주를 PBS 완충용액으로 세척한 후, 10⁵ CFU/ml 농도로 희석하여 lactobacilli MRS 한천 배지에 도말하여 배지 표면을 락토바실러스 플란타룸 Lb41로 포화될 때까지 배양하였다. 그런 다음, 멸균한 종이 디스크(paper disc)를 0.2 mg/ml 암피실린(ampicillin), 0.6 mg/ml 테트라사이클린(Tetracycline), 0.2 mg/ml 제타마이신(Gentamycin), 0.1 mg/ml 시프로플록사신(Ciprofloxacin), 0.6 mg/ml 가나마이신(Kanamycin), 0.6 mg/ml 클로람페니콜(Chloramphenicol), 0.2 mg/ml 스트렙토마이신(Streptomycin) 또는 0.6 mg/ml 독소시클린(Doxycycline)에 각각 적시고, 이를 상기 배양한 락토바실러스 플란타룸 Lb41 균주 배지 표면에 올려놓았다. 그리고 37℃에서 24 시간 동안 배양하여 생성된 생육저지 환(inhibition zone)의 크기에 따라 항생제 저항성 정도를 판별하였다.

[0104]

그 결과, 하기 [표 4]에 나타난 바와 같이 락토바실러스 플란타룸 Lb41은 암피실린, 테트라사이클린, 클로람페니콜 및 독소시클린에 대하여 민감하고, 제타마이신, 시프로플록사신, 가나마이신 및 스트렙토마이신에 대하여 내성을 나타내는 것을 확인하였다(표 4).

표 4

락토바실러스 플란타룸 Lb41의 항생제 내성 확인

[0106]

Antibiotics	<i>Lactobacillus plantarum</i> Lb41	Antibiotics	<i>Lactobacillus plantarum</i> Lb41
Ampicillin	S	Tetracycline	S
Gentamycin	R	Ciprofloxacin	R
Kanamycin	R	Chloramphenicol	S
Streptomycin	R	Doxycycline	S

[0107]

(상기 표에서, R는 항생제 내성(resistant)를 나타내고, S는 항생제 민감성(sensitive)을 나타낸다.)

실시예 3

[0109]

락토바실러스 플란타룸 Lb41의 생균체 및 사균체의 제조

[0110]

본 발명의 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 약학적 효능을 시험관 내(in vitro) 및 생체 내(in vivo)에서 확인하기 위해, 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 생균체와 사균체를 제조하였다.

[0111]

구체적으로, 상기 <실시에 1>에서 분리 동정한 락토바실러스 플란타룸 Lb41을 lactobacilli MRS 액체 배지에 접종하고 37℃에서 18 시간 동안 배양한 다음, 5,000×g에서 10 분 동안 원심분리하여 균체의 침전물과 배양액의 상등액으로 분리하였다. 그런 다음, 분리한 침전물을 동결건조하여 이를 생균체로서 수득하였고, 생균체를 121

℃에서 5 분 동안 열처리하여 사균체를 제조 및 수득하였다.

실시예 4

[0113] 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 항당뇨 효과 확인

[0114] <4-1> 고지방식이에 의한 당뇨 유도 동물 모델의 제조

[0115] 락토바실러스 플란타룸 Lb41이 대사성질환이 유도된 동물모델에서 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있는지 여부를 확인하기 위해, 대상 실험 동물인 당뇨 유도 마우스 모델을 제작하였다.

[0116] 구체적으로, 상기 <실시예 3>에서 제조한 락토바실러스 플란타룸 Lb41 생균체를 증류수에 2.5×10^9 CFU/ml 농도로 현탁하여 균주 시료를 준비하였다. 그런 다음, 6 주령의 C57/BL6 마우스에 고지방 사료를 자유 급여하면서 상기 준비한 균주 시료를 매일 0.2 ml씩 경구투여하여 매일 5×10^8 CFU를 투여하였다. 상기 고지방 사료는 전체 사료의 열량(kcal)을 기준으로, 21.0% 단백질, 24.6% 탄수화물 및 54.4% 지방을 포함하는 펠릿 형태를 사용하였다. 총 5 주간 동일한 환경에서 균주 시료 투여 및 고지방 사료 급여한 후의 마우스를 락토바실러스 플란타룸 Lb41 투여 당뇨 유도 실험군(Lb41)로 사용하였다. Lb41 실험군의 결과를 비교하기 위해, 동일한 환경에서 사육하면서 생균체를 투여하면서 정상 사료를 자율급여한 군은 정상 대조군(Control)으로서 사용하였고, 동일한 환경에서 사육하면서 생균체를 투여하지 않고 고지방 사료를 자율급여한 군을 고지방식이 유도군(HFD)으로서 사용하였다. Lb41 실험군, 정상 대조군 및 HFD 유도군은 각각의 체중을 확인하여 고지방식이에 의해 당뇨 및 대사성질환이 유도되었는지 여부를 확인함과 동시에, 락토바실러스 플란타룸 Lb41에 의한 체중 감소 효과가 나타나는지를 확인하였다.

[0117] 그 결과, 도 2에서 나타난 바와 같이 정상 대조군에 비해 HFD 유도군의 체중이 현저히 증가하였으며, 이러한 체중 증가에 비해 Lb41 생균체 경구 투여군(Lb41)에서 유의적으로 체중이 감소하는 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 2).

[0119] <4-2> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 내당능 개선 효능 분석

[0120] 락토바실러스 플란타룸 Lb41이 대사성질환이 유도된 동물모델에서 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있는지 여부를 확인하기 위해, 대사성질환을 유도시킨 동물모델에서 내당능 개선 효과를 확인하였다.

[0121] 구체적으로, 상기 실시예 <4-1>의 방법으로 4주 동안 대사성질환을 유도한 Lb41 생균체 투여군(Lb41) 및 대조군을 15 시간 동안 공복 상태를 유지시킨 뒤, 꼬리 끝을 살짝 잘라 채혈하였다. 채혈한 혈액의 혈당을 측정 한 후, 이 후 포도당을 1 g/kg의 투여량으로 각각의 마우스 모델에 경구투여하고, 시간의 흐름에 따라 채혈 및 혈당 측정하였다. 총 120분의 혈당 측정을 완료한 후, 시간별 평균 혈당을 그래프로 그리고 그래프의 면적(AUC, area under the curve)을 구하여 락토바실러스 플란타룸 Lb41 투여에 따른 마우스 모델에서의 내당능을 확인하였다.

[0122] 그 결과, 도 3에서 나타난 바와 같이 정상 식이로 급여한 대조군과 비교하였을 때, 고지방식이를 유도한 대조군(HFD) 및 실험군(Lb41)에서 포도당 투여에 따른 혈당의 상승 수준이 높은 것으로 나타났으나, HFD 대조군에 비해 Lb41 실험군에서 혈당 상승 수준이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다(도 3).

[0124] <4-3> 락토바실러스 플란타룸 Lb41의 인슐린 저항성 분석

[0125] 락토바실러스 플란타룸 Lb41이 대사성질환이 유도된 동물모델에서 유의적인 항당뇨 효과를 나타낼 수 있는지 여부를 확인하기 위해, 대사성질환을 유도시킨 동물모델에서 인슐린 저항성을 확인하기 위해 HOMA-IR(인슐린 저항성 수치)를 측정하였다.

[0126] 구체적으로, 상기 실시예 <4-1>의 방법으로 5주 동안 대사성질환을 유도한 Lb41 생균체 투여군(Lb41) 및 대조군을 5 시간 동안 공복 상태를 유지시킨 뒤, 꼬리 끝을 살짝 잘라 채혈하였다. 채혈한 혈액의 혈당을 측정 한 후, 추가로 혈액을 추출하여 10,000×g에서 5 분 동안 원심분리하여 혈장을 분리한 다음, 분리한 혈장으로부터 인슐린 분비량을 측정하고 하기 [수학식 1]을 통해 인슐린 저항성을 계산하였다.

[0127] [수학식 1]

$$HOMA-IR = \frac{[공복\ 혈당(mM)] \times [공복\ 인슐린\ 농도(mU/L)]}{22.5} = \frac{[공복\ 혈당(mg/dL)] \times [공복\ 인슐린\ 농도(mU/L)]}{405}$$

[0128]

[0129] 그 결과, 도 4에서 나타난 바와 같이 정상 식이로 급여한 대조군과 비교하였을 때, 고지방식을 유도한 대조군(HFD) 및 실험군(Lb41)에서 높은 수준의 인슐린 저항성을 나타내었으나, HFD 대조군에 비해 Lb41 실험군의 인슐린 저항성이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다(도 4).

수탁번호

[0131]

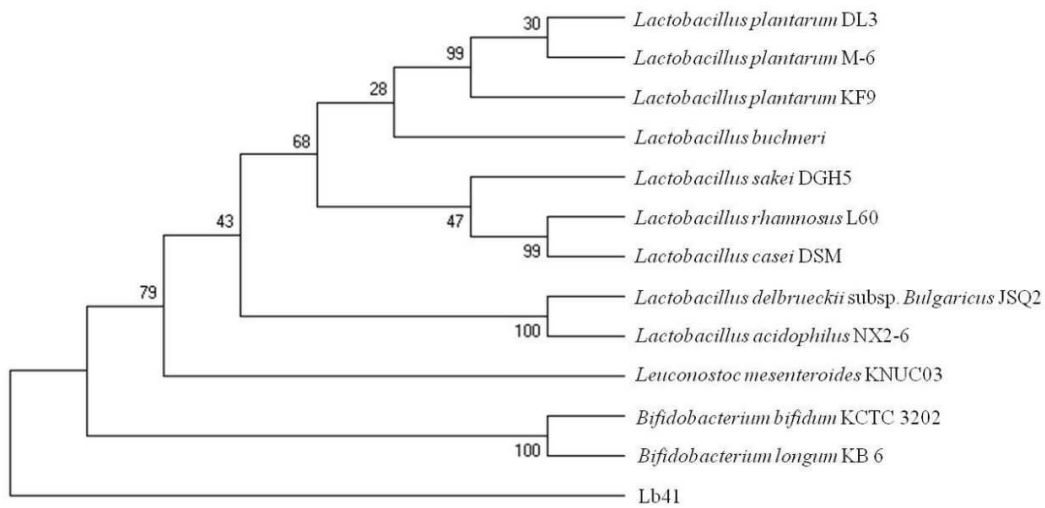
기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM11896P

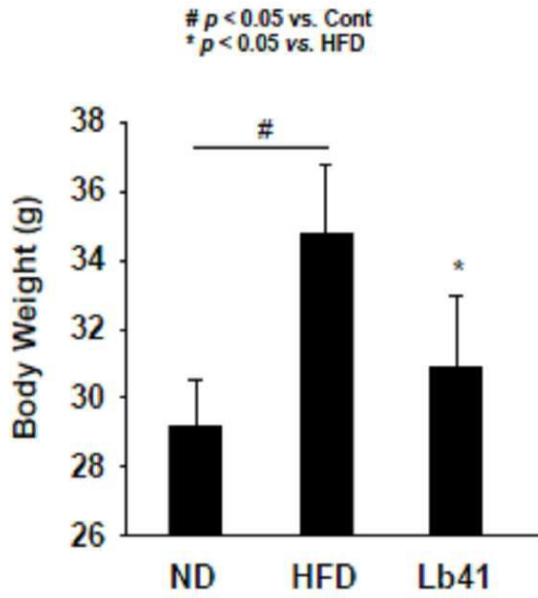
수탁일자 : 21060922

도면

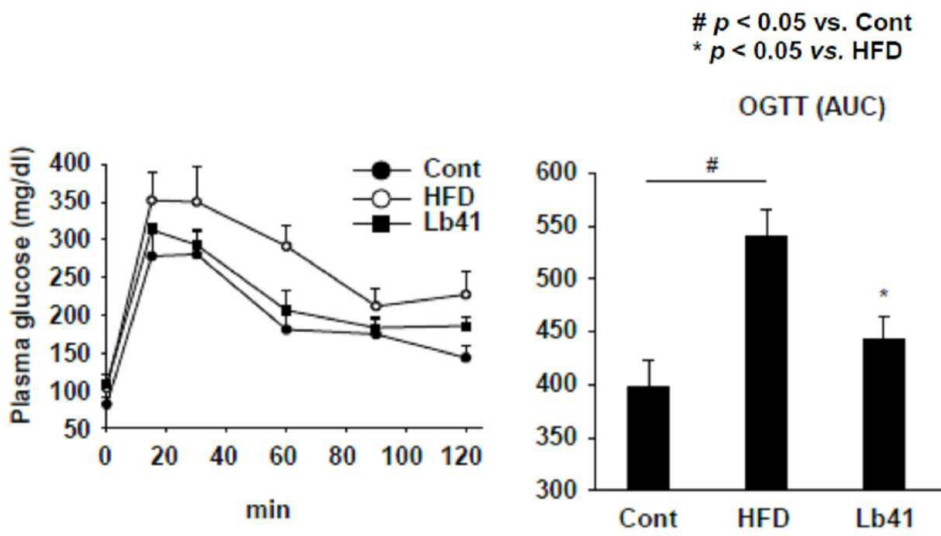
도면1



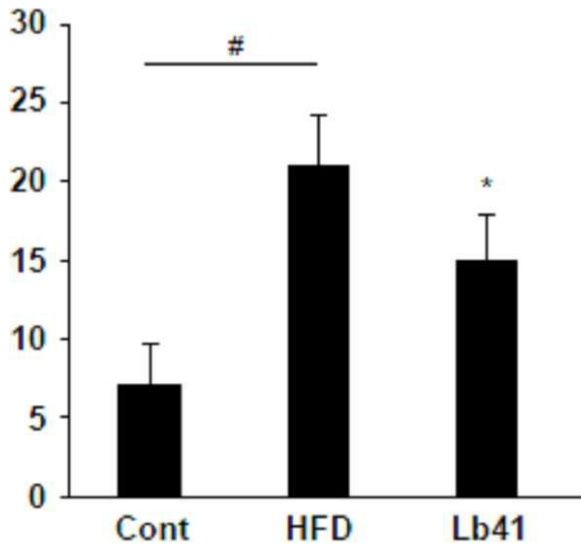
도면2



도면3



도면4



서열 목록

- <110> Konkuk University Industrial Cooperation Corp
KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE
 - <120> Novel Lactobacillus plantarum Lb41 strain and compositions for
the prevention and treatment of diabetes or insulin resistance
syndrome containing the same
 - <130> 1061537
 - <160> 1
 - <170> Kopatent In 2.0
 - <210> 1
 - <211> 1404
 - <212> RNA
 - <213> Lactobacillus plantarum
 - <400> 1
- ```

aaggttacc caccgacttt ggggtttaca aactctcatg gtgtgacggg cgggtgtgtac 60

aaggccccggg aacgtattca ccgcggcatg ctgateccgg attactagcg attccgactt 120
catgtaggcg agttgcagcc tacaatccga actgagaatg gctttaagag attagcttac 180
tctcgcgagt tcgcaactcg ttgtaccatc cattgtagca cgtgtgtagc ccaggtcata 240
aggggcatga tgatttgagc tcatecccaac ctctctcggg tttgtcaccg gcagttctac 300
cagagtgcc aacttaatgc tggcaactga taataagggt tgcgctcgtt gcgggactta 360
accacacatc tcacgacag agctgacgac aaccatgcac cacctgtatc catgtccccg 420

```

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| aagggaacgt ctaatctctt agatttgcac agtatgtcaa gacctggtaa ggttcttcgc | 480  |
| gtagcttcga attaaaccac atgtccacc gcttgtgcgg gccccgtca attccttga    | 540  |
| gtttcagcct tgcggccgta ctccccagc ggaatgetta atgcgttagc tgcagcactg  | 600  |
| aagggcggaa accctccaac acttagcatt catcgtttac ggtatggact accagggat  | 660  |
| ctaatctgt ttgctacca tactttcgag cctcagcgtc agttacagac cagacagccg   | 720  |
| ccttcgccac tgggtgttctt ccatatctt acgcatttca ccgctacaca tggagtcca  | 780  |
| ctgtcctctt ctgcactcaa gtttcccagt ttccgatgca cttcttcggt tgagccgaag | 840  |
| gctttcacat cagacttaaa aaaccgctg cgctcgttt acgccaata aatccggaca    | 900  |
| acgcttgcca cctacgtatt accgcggctg ctggcacgta gttagccgtg gctttctggt | 960  |
| taaataccgt caatacctga acagttactc tcagatatgt tcttctttaa caacagagtt | 1020 |
| ttacgagccg aaaccttct tcactcacgc ggcgttgctc catcagaact tegtccattg  | 1080 |
| tggaagattc cctactgctg cctcccgtag gagtttgggc cgtgtctcag tcccaatgtg | 1140 |
| gccgattacc ctctcaggtc ggctacgtat cattgccatg gtgagccgtt accccacat  | 1200 |
| ctagctaata cgccggggga ccatcaaaa gtgatagccg aagccatctt tcaagctcgg  | 1260 |
| accatgcggt ccaagttggt atgcggtatt agcatctggt tccaggtggt atccccgct  | 1320 |
| tctgggcagg tttcccagct gttactcacc agttcggcac tcaactcaat gtaaatcatg | 1380 |
| atgcaagcac caatcaatac caga                                        | 1404 |