



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월03일
(11) 등록번호 10-1793552
(24) 등록일자 2017년10월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/64 (2015.01) A23L 1/30 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A61K 38/17 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/64 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0067411

(22) 출원일자 2016년05월31일

심사청구일자 2016년05월31일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020040073153 A*

KR1020050040124 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

대한민국(농촌진흥청장)

전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

지상덕

경기도 화성시 영통로 27번길 35, 308동 1502호(반월동, 신영통현대아파트)

김기영

전라북도 완주군 이서면 갈산1로 71 이노힐스 아파트 808동 701호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이성렬, 이한욱, 이성준

전체 청구항 수 : 총 6 항

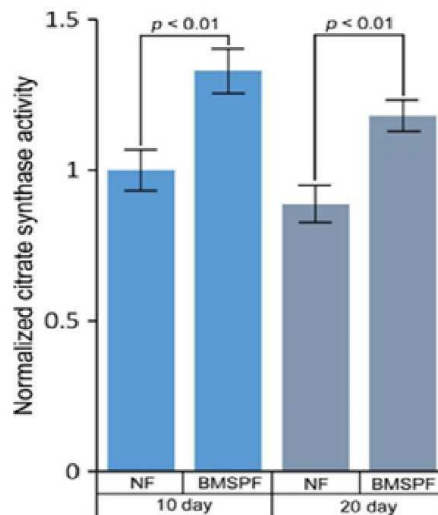
심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 견사단백질을 갖는 누에가 포함된 약학 조성물 또는 건강기능식품은 운동기능개선, 파킨슨병 유도 물질에 대한 저항성이 증가하고 파킨슨 관련 유전자의 발현 변화를 유도하여 파킨슨병의 치료용 조성물 또는 예방과 개선을 위한 건강기능식품으로서 용이하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A23L 33/18 (2016.08)

A61K 38/1767 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/204 (2013.01)

(72) 발명자

김남숙

전라북도 완주군 이서면 출판로 25 혁신에코르1단지 105동 1205호

권해용

경기도 수원시 영통구 영통로 154번길 51-16, 305동 1801호(센트럴하이츠)

강필돈

전라북도 완주군 이서면 지사제로 29 에코르아파트 2단지 205동 1305호

김미자

전라북도 완주군 이서면 지사제로 29, 205동 905호

고영호

경기도 안양시 동안구 흥안대로 223번길 47 샘마을 대우아파트 101동 1404호

김아영

인천광역시 남동구 호구포로 739번길 82-1, 3동 202호(구월동, 롯데한타빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ01082804

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 농업정책지원기술개발연구

연구과제명 익힌 숙잠의 건강기능효과 구명_익힌 숙잠의 생산기술개발 및 특성구명

기 여 율 1/1

주관기관 국립농업과학원

연구기간 2015.01.01 ~ 2017.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중에서 선택되는 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 조성물로서, 상기 견사단백질을 갖는 누에는 생누에를 55~125℃의 온도에서 30분~24시간 동안 물에 넣어 익히거나 증기의 열로 익힌 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 견사단백질을 갖는 누에를 익힌 후, 열풍건조 또는 진공동결건조 중 선택된 어느 하나를 통해 건조시켜 분말화하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

분말화된 누에를 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물 형태로 제조하는 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중에서 선택되는 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 식품으로서, 상기 견사단백질을 갖는 누에는 생누에를 55~125℃의 온도에서 30분~24시간 동안 물에 넣어 익히거나 증기의 열로 익힌 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 견사단백질을 갖는 누에를 익힌 후, 열풍건조 또는 진공동결건조 중 선택된 어느 하나를 통해 건조시켜 분말화하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제9항에 있어서,

분말화된 누에를 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물 형태로 제조하는 것을 특징으로 하는 파킨슨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 보다 자세하게는 5령3일 이후의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에로부터 선택되는 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익힌 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 누에고치를 생산하는 양잠산업은 고조선시대부터 이어온 우리나라의 전통산업으로써 1970년대에는 연간 100만 상자 이상의 누에를 농가에서 사육하였으나, 경제발전과 고급 화학섬유의 영향으로 현재는 크게 위축된 상황이다. 이에, 현재의 양잠산업은 건조누에, 솜뎀데기, 동충하초 등 건강기능식품원료를 생산하는 산업으로 전환하였는데, 그 중 농가의 주 생산품목은 5령3일 건조누에이다. 5령3일 건조누에를 이용하는 이유는 4면잠의 경우 5령3일이 지나 5령 4일부터는 견사단백질이 누에의 몸속에서 급속히 증가하여 누에의 강도가 강해지며 비대해져 식용으로 사용하기에 매우 어려워지기 때문이다. 견사단백질은 견사선의 형태로 누에 몸속에 저장되어 있다가 누에가 숙잠(grown-up silkworm)이 되면 이 견사단백질을 뱉어내면서 실크의 원료인 누에고치를 짓게 된다.

[0003] 이처럼 식용가능한 시기를 지난 숙잠은 실크의 생산을 위한 용도로 사용되는 것 이외에는 특별하게 이용되지 못하고 있었으나, 본 발명자들이 대한민국 등록특허 제10-1388455호와 대한민국 등록특허 제10-1546446호에서 처음으로 이러한 견사단백질이 함유된 누에를 가압 또는 상압 조건하에서 80~125℃로 익혀 이를 피부개선용 화장료 조성물로서 개발한 바 있다. 그렇지만 아직까지도 누에와 관련된 의약품에 관한 연구에 있어서는 주로 실크캡타이드와 관련된 연구만이 진행되고 있을 뿐, 이러한 견사단백질이 함유된 누에(또는 숙잠)를 활용한 연구는 미비한 편이다.

[0004] 파킨슨병(Parkinson's disease)은 뇌의 흑질(substantia nigra)에 분포하는 도파민의 신경세포가 점차 소실되어 발생하며 안정떨림, 경직, 운동완만(운동느림) 및 자세 불안정성이 특징적으로 나타나는 신경계의 만성 진행성 퇴행성 질환이다. 파킨슨병 환자는 60세 이상에서 인구의 약 1% 정도로 추정된다. 파킨슨병의 원인은 아직까지 밝혀지지 않았다. 현재 유전적 인자와 환경적 인자가 서로 상호작용을 일으킨다는 ‘다인성 가설’이 가장 보편적으로 받아들여지고 있다. 대부분의 파킨슨병 환자들은 가족력 없이 발병하지만 약 10% 정도에서는 가족성 파킨슨병이 나타나고 있다. 현재까지 여섯 개의 유전자가 유전자 돌연변이에 의한 가족성 파킨슨병의 원인으로 밝혀지고 있는데 이들 유전자의 돌연변이가 아니더라도 해당 유전자가 암호화하고 있는 단백질의 기능에 문제가 생기면 가족력이 없는 파킨슨병의 발병에 영향을 미칠 수 있다고 생각되고 있다. 또한 파킨슨병은 나이가 증가할수록 발생 빈도가 높아지고 있다. 파킨슨병은 도시 거주자보다 농촌 거주자에게서 많이 발생하는데, 이는 농약이나 오염된 우물물에 노출된 것이 원인일 수 있다는 가설이 있다. 대부분의 파킨슨병 환자들은 60대에 이르러 임상 증상이 나타나기 시작한다. 10~15%의 환자는 50세 이전에 발병하는 경우도 있는데, 이를 조기발현 파킨슨병이라고 부른다. 파킨슨병의 초기 증상이 통증이나 우울 증상으로 표현되는 경우도 있지만 일반적으로 처음 병원을 찾는 초기 증상의 환자들은 손이나 팔에서 떨림이 일어나고 관절의 움직임이 어색하며 불편하다는 호소를 많이 한다. 파킨슨병을 의미하는 4대 주요 증상 및 징후들로는 안정떨림, 경직, 느린 운동 및 자세불안정성 등이 있다. 파킨슨병에서의 떨림은 동작이나 행동을 중단하고 편안한 상태에 있을 때 주로 손가락이나 손목 관절과 같은 말단 관절에서 율동적 떨림이 나타나고, 주파수는 4~6Hz 범위로 일어나는 특성이 있다. 파킨슨병 초기에는 증상들이 주로 신체의 한쪽에서 나타나지만 병이 진행된 경우에는 양측으로 나타나며 다리나 턱, 혹은 혀에서도 떨림이 발생하게 된다. 간혹 환자가 서 있는 경우나 걷는 경우에 손에서 엄지와 검지가 떨림의 방향이 서로 다르게 나타나는 형태인 환약말이떨림(pill rolling tremor) 증상이 발생하기도 한다. 파킨슨병 환자에게는 근육의 긴장도가 증가되고 관절을 수동적으로 움직여 보면 경직이 관찰되는데, 특징적으로 자전거 바퀴를 돌릴 때와 같은 톱니바퀴경직(cogwheel rigidity)이 발생할 수 있다. 운동완만이란 움직임이 느린 상태를 의미하며 초기 파킨슨병 환자에게서 흔히 나타나는 장애이다. 흔히 옷 단추 잠그기 또는 글씨 쓰기와 같은 세밀한 작업 활동에 어려움을 겪고 걸을 때 팔 흔들기가 자연스럽지 않은 형태로 나타난다. 결국 일상 생활에서 세수, 화장, 목욕, 식사, 옷 입기 등에서 시간이 오래 걸리고 지장이 발생하기 시작한다. 얼굴에 표정이 없는 현상을 초래하기도 하는데 이를 표정감소(hypomimia)라고 부른다. 파킨슨병이 어느 정도 진행되면 점차 자세의 변화가 일어난다. 전형적인 파킨슨병 자세는 모든 관절을 약간 굴곡시키고 중력에 대해 안정감을 얻기 위해 구부정하게 있는 것이다. 이러한 현상은 자세 반사의 소실에서 일어나는 것이며 몸의 균형을 상실한 이러한 상태를 자세 불안정성이라고 말한다. 병이 더 진행되면 반사 능력이 떨어져 자주 넘어지게 된다. 이러한 전형적인 이상 운동증

상 이외에 흔히 발생하는 파킨슨병의 임상적 증상으로는 자율신경계증상, 신경정신과적 증상, 인지기능장애, 수면장애, 통증, 피로, 후각장애 등이 있다. 일부에서 동반되는 자율신경계 이상 증상은 위장관 장애 현상을 포함하여 침흘림, 삼킴곤란, 변비, 기립저혈압, 다한증, 배뇨장애, 성기능장애 및 안구건조증 등이 있다.

[0005]

한편, 본 발명자들은 대한민국 등록특허 제10-1388455호와 대한민국 등록특허 제10-1546446호에 개시된 익힌 숙잠이 갖는 다양한 생리활성을 연구하던 중, 상기 익힌 숙잠의 분말을 먹인 초파리의 운동능력이 증가되며, 파킨슨병 유도물질로부터의 생존능력, 미토콘드리아의 활성 등을 유도하며, 파킨슨병 관련 유전자의 변화가 있는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다. 이와 관련된 선행문헌으로서 실크피브로인의 분해물(대한민국 등록특허 제10-0575229호)이 파킨슨병의 치료제로서 사용될 수 있음은 알려져 있지만 실크피브로인 또는 이의 분해물과 이 실크피브로인을 생산할 수 있는 시기의 누에는 함유된 활성성분이 다르다고 할 수 있다. 또한 백강잠 유래 화합물(대한민국 등록특허 제10-048711호)이 파킨슨병의 치료제로 사용할 수 있음이 알려져 있기는 하지만, 백강잠은 누에의 새끼벌레가 흰가루병에 걸려 군사체로 가득차 죽은 것을 말린 것으로서 상기 백강잠으로부터 분리된 화합물과 본 발명의 견사단백질을 갖는 누에로부터 유도된 조성물은 전혀 다른 물질이라고 할 수 있다. 견사단백질을 갖는 누에는 본 발명자가 관련 기술(대한민국 등록특허 제10-1388455호 및 대한민국 등록특허 제10-1546446호)을 개발하기 전까지는 식품, 화장품 또는 의약품으로서의 사용용도가 전무하였기에 이러한 견사단백질을 갖는 누에를 이용하여 파킨슨병을 치료할 수 있는 치료제로서 사용할 수 있다는 것에서 큰 의의가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006]

(특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0487113호 (발명의 명칭 : 백강잠 101A로부터 분리, 정제한 뇌신경성장 촉진물질 (4E,6E,2S,3R)-2-N-도코사노일-4,6-테트라데카스핀가디에닌, 출원인 : 대한민국(농촌진흥청) 외 1인, 등록일 : 2005.04.25)

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-0575229호 (발명의 명칭 : 뇌신경질환의 예방 또는 치료용 식품 조성물, 출원인 : 대한민국(농촌진흥청) 외 1인, 등록일 : 2006.04.24)

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-1388455호 (발명의 명칭 : 견사단백질을 갖는 누에의 가공방법 및 그 누에가공물, 출원인 : 대한민국(농촌진흥청), 등록일 : 2014.04.17)

(특허문헌 0004) 대한민국 등록특허 제10-1546446호 (발명의 명칭 : 견사단백질이 함유된 누에가공물을 포함하는 건강기능식품 및 화장품 조성물, 출원인 : 대한민국(농촌진흥청), 등록일 : 2015.08.17)

비특허문헌

[0007]

(비특허문헌 0001) Doty, R.L., 2012. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. Nature Review Neurology 8, 329-339.

(비특허문헌 0002) Inden, M., Kitamura, Y., Abe, M., Tamaki, A., Takata, K., Taniguchi, T., 2011. Parkinsonian Rotenone Mouse Model: Reevaluation of Long-Term Administration of Rotenone in C57BL/6 Mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin 34, 92-96.

(비특허문헌 0003) Krishna, G., Muralidhara, 2015. Aqueous extract of tomato seeds attenuates rotenone-induced oxidative stress and neurotoxicity in Drosophila melanogaster. Journal of the Science of Food and Agriculture, n/a-n/a 10.1002/jsfa.7281.

(비특허문헌 0004) Lanza, I.R., Nair, K.S., 2009. Functional Assessment of Isolated Mitochondria In Vitro. Methods in enzymology 457, 349-372.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다. 보다 자세하게는 5령3일 이후의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에로부터 선택되는 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익힌 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0010] 상기 건사단백질을 갖는 누에는 바람직하게는 5령3일 이후의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중 선택될 수 있다.
- [0011] 또한 상기 건사단백질을 갖는 누에는 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익힌 것을 사용할 수 있다.
- [0012] 상기 건사단백질을 갖는 누에를 익힌 후, 열풍건조 또는 진공동결건조 중 선택된 어느 하나를 통해 건조시켜 분말화하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0013] 상기 건사단백질을 갖는 누에는 추출물 형태로 제조될 수도 있다. 상기 추출물은 건사단백질을 갖는 누에를 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 제조될 수 있다.
- [0014] 본 발명은 상기 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0015] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0016] 본 발명은 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기 건사단백질을 갖는 누에는 3면잠, 4면잠 등의 건사단백질이 포함된 모든 누에를 의미한다. 즉, 건사단백질을 갖는 누에는 바람직하게는 4면잠 누에 중 5령3일 이후의 누에부터 또는 숙잠기까지의 누에 중 선택될 수 있다. 이 때, 바람직하게는 5령3일 이후의 누에로서 바람직하게는 5령4일의 누에부터 사용할 수 있으며, 더 바람직하게는 숙잠기의 누에를 사용하는 것이 가장 좋다. 5령 3일의 누에도 사용할 수는 있으나 5령 4일 이후의 누에에 비해서 누에가 갖는 건사선이 작은 편이다.
- [0017] 또한 상기 건사단백질을 갖는 누에는 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익힌 것을 사용할 수 있다.
- [0018] 한편, 숙잠기의 누에라 함은 누에 몸 속에 건사단백질이 가득 차 있는 누에로서 고치를 짓기 전까지의 누에를 의미한다. 숙잠기의 누에는 누에똥이 대부분 배출되어 있기 때문에 건사단백질을 갖는 누에로서 가장 사용하기에 적합하다.
- [0019] 상기 생누에는 5~10℃에서 냉장보관된 것을 사용할 수 있다. 상기 생누에를 익히는 시간은 특별히 제한되지는 않으나 바람직하게는 55~125℃의 온도에서 30분~24시간 동안 익힐 수 있으며, 바람직하게는 80~104℃의 온도에서 90분~15시간 동안 익힐 수 있다. 상기 생누에를 익히는 과정은 1~3회 반복될 수 있다.
- [0020] 상기 건사단백질을 갖는 누에는 익힌 후, 통상의 방법으로 건조할 수 있으며, 자연건조, 열풍건조 또는 진공동결건조 중 선택된 어느 하나를 통해 건조시켜 분말화하는 단계를 더 포함하는 것이 특징이며, 바람직하게는 진공동결건조 방법이 가장 적합하다. 상기 건사단백질을 갖는 누에는 익힌 후 가공하여 건조분말, 겔 또는 액상 형태로 제조할 수도 있다.
- [0021] 상기 건사단백질을 갖는 누에는 추출물 형태로 제조될 수 있다. 이 때, 상기 건사단백질은 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익힌 것을 추출물 형태로 제조할 수도 있고, 익히기 전의 생누에를 추출물 형태로 제조할 수도 있다. 바람직하게는 생누에를 물에 넣어 익히거나 증기의 열로 익힌 것을 사용하는 것이 상기 건사단백질을 갖는 누에의 유용성분을 추출하기에 더 바람직하다.
- [0022] 또한 상기 추출물은 다시 가공하여 건조분말, 겔 또는 액상 형태로 제조될 수 있다.
- [0023] 상기 추출물은 건사단백질을 갖는 누에를 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 제조될 수도 있다. 상기 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 이소부탄올로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 상기 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용액은 건사단백질을 갖는 누에 사용 중량 기준 1~40배 부피(1kg 기준 1~40ℓ)를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 5~40배 부피를 사용할 수 있다. 상기 추출물의 추출조건은 20~100℃에서 1분~48시간일 수 있다. 상기 파

정은 1~4번까지 반복할 수 있다. 또한, 당분야의 통상적인 방법으로서 건사단백질을 갖는 누에의 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용액 추출물을 물에 녹인 후에 n-헥산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 이상의 용매를 사용하여 추가적으로 분획하여 분획물로 제조할 수 있다.

[0024] 또 다른 방법으로는, 건사단백질을 갖는 누에를 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출 농축하여 얻은 추출물에, 물을 가하여 현탁한 후, 바람직하게는 추출물의 중량의 1~1000배, 더 바람직하게는 1~500배, 가장 바람직하게는 1~50배의 물을 가하여 현탁한 후, 상기 현탁물에 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 및, 부탄올로 이루어진 군에서 선택되는 용매를 가하여 얻은 분획물로 제조할 수 있다.

[0025] 상기 추출물 또는 이의 분획물의 제조온도는 20 내지 100℃일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 추출 또는 분획 시간은 특별히 제한되는 것은 아니나, 10분 내지 2일 이내에 추출하는 것이 바람직하며, 추출용 기기로는 통상의 추출기기, 초음파분쇄추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다. 이렇게 제조된 추출물 또는 분획물은 열풍건조, 감압건조 또는 동결건조하여 용매를 제거할 수 있다. 또한, 상기 추출물 또는 분획물은 칼럼크로마토그래피를 이용하여 정제하여 사용할 수도 있다. 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명은 건사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 건사단백질을 갖는 누에는 본 발명의 약학 조성물에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 추출물 또는 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0028] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0029] 또한, 본 발명은 건사단백질을 갖는 누에 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 파킨슨병의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건사단백질을 갖는 누에는 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100 중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를

포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스낵류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제 등이 있다.

발명의 효과

[0030] 본 발명은 견사단백질을 갖는 누에를 함유하는 파킨슨병의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 견사단백질을 갖는 누에가 포함된 약학 조성물 또는 건강기능식품은 운동기능개선, 파킨슨병 유도 물질에 대한 저항성이 증가하고 파킨슨 관련 유전자의 발현 변화를 유도하여 파킨슨병의 치료용 조성물 또는 예방과 개선을 위한 건강기능식품으로서 용이하게 이용될 수 있다. 기존에 백강잠, 누에 또는 실크펩타이드를 이용한 건강기능식품이 다양하게 이용되고 있기는 하지만, 실크펩타이드가 갖는 성분과 누에의 성분이 다른 명백하며, 누에의 각 시기별에 있어서도 생것일 때와 이를 익혔을 때의 각 성분의 함량이 다름이 확인된다. 백강잠 또한 누에의 성장시기가 다르고 군사 배양이 된 것이기 때문에 견사단백질을 갖는 누에와 비교할 때 약리학적 활성을 갖는 구성성분이 다른 것이라고 할 수 있다. 따라서, 기존에는 식용하지 못하고 견사 생성용 누에고치를 만들기 위해 사육하는 것 이외에는 별다른 용도가 없었던 견사단백질을 갖는 누에를 파킨슨병의 치료제로서 이용할 수 있다는 점에서 본 발명이 의의가 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지 또는 일반 배지에서 배양된 초파리의 운동성을 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 2는 이스트가 더 함유된 배지 또는 일반 배지에서 배양된 초파리의 운동성을 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 3은 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지 또는 일반 배지에 파킨슨병 유발 물질인 로테논의 첨가 유무(도 3A는 로테논 무처리, 도 3B는 로테논 10 μ M 처리)에 따른 초파리의 생존율을 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 4는 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지(BMSPF) 또는 일반 배지(NF)에서 10일 및 20일 동안 배양된 초파리의 미토콘드리아 내의 시트르산 합성효소(citrate synthase)의 활성을 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 5는 마이크로어레이 결과에서 발현이 변화된 유전자들의 기능을 표현한 그림이다.

도 6은 마이크로어레이 결과에서 발현이 변화된 유전자들의 상호작용 관계를 표현한 그림이다.

도 7은 마이크로어레이 결과에서 발현이 증가한 냄새감각 관련 유전자인 Obp83a와 Os-C의 mRNA 변화량을 확인하여 나타낸 그래프이다(BMSPF-익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리, NF-일반 배지에서 배양된 초파리).

도 8은 강한 냄새를 나타내는 각종 물질에 대해 반응한 초파리의 개체수를 나타내는 그래프이다(노란색-일반 배지에서 배양된 초파리, 청색-익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지도록, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0033] <실시예 1. 견사단백질을 갖는 누에 분말(익힌 숙잠 분말)의 제조>

[0034] 견사단백질을 갖는 생누에로서 숙잠기의 누에(백옥잠)를 준비하였다. 이를 위해 흰색의 고치를 짓는 누에 품종을 이용하여 누에를 사육하여 5령 7일경이 되어 숙잠기에 이른 누에를 준비하였고, 100℃ 수증기로 10시간 동인 익힌 후 식혀 이를 진공동결건조하였다. 건조된 익힌 숙잠은 햄머밀과 롤러밀을 이용하여 0.1mm이하의 직경을 가지는 가루로 분쇄하여, 최종적으로 익힌 숙잠 분말을 제조하였다. 이 때 성분 분석용 비교군으로 사용하기 위해 익히기 전의 숙잠 또한 생것인채로 바로 급속냉동하여 진공동결건조 후 분말로 제조하였다.

[0035] <실시예 2. 익힌 숙잠의 성분 분석>

[0036] 익히기 전의 숙잠과 익힌 숙잠의 주요성분 분석을 실시하여 표 1 내지 표 4에 나타내었다.

표 1

[0037]

구분	익히기 전의 숙잡	익힌 숙잡
수분	4.15	2.85
조단백질	62.43	68.66
조지방	11.66	10.99
조회분	3.63	3.26
조섬유	1.74	1.77

표 2

[0038]

구분	익히기 전의 숙잡	익힌 숙잡
시스테인(CYS)	0.463	0.427
메치오닌(MET)	0.756	0.644
아스파르트산(ASP)	4.850	4.679
트레오닌(THR)	2.265	2.185
세린(SER)	6.194	6.757
글루탐산(GLU)	4.071	3.824
글리신(GLY)	9.265	12.335
알라닌(ALA)	7.460	9.778
발린(VAL)	2.292	2.399
이소루신(Ile)	1.181	1.214
루신(Leu)	2.114	1.983
타이로신(Tyr)	3.901	4.560
페닐알라닌(Phe)	1.740	1.746
라이신(Lys)	2.396	2.193
히스티딘(His)	1.160	1.083
아르기닌(Arg)	2.123	1.958
프롤린(Pro)	1.217	1.148
트립토판(Trp)	0.437	0.425

표 3

[0039]

구분	익히기 전의 숙잡	익힌 숙잡
Myristicacid (C14:0)	0.15	0.17
Palmiticacid (C16:0)	23.98	24.49
Palmitoleicacid (C16:1Ω7)	0.82	0.86
Stearicacid (C18:0)	8.37	8.55
Oleicacid (C18:1Ω9)	31.13	31.22
Vaccenicacid (C18:1Ω7)	0.00	0.00
Linoleicacid (C18:2Ω6)	6.42	6.50
γ-Linoleicacid (C18:3Ω6)	0.09	0.13
Linolenicacid (C18:3Ω3)	28.75	27.86
Eicosenoicacid (C20:1Ω9)	0.28	0.23
Arachidonicacid (C20:4Ω6)	0.00	0.00
Eicosapentaenoicacid(EPA) (C20:5Ω3)	0.00	0.00
Docosatetraenoicacid (C22:4Ω6)	0.00	0.00
Docosahexaenoicacid(DHA) (C22:6Ω3)	0.00	0.00
지방산(합계)	100.00	100.00
포화지방산	32.51	33.21
불포화지방산	67.49	66.79
-단가 지방산	32.23	32.31
-다가 지방산	35.27	34.49

표 4

구분	익히기 전의 숙잡	익힌 숙잡
Ca(칼슘)	197.83	198.90
Cu(구리)	1.04	1.20
Fe(철)	8.49	3.17
K(칼륨)	1176.37	1045.44
Mg(마그네슘)	211.94	199.25
Mn(망간)	1.70	1.60
Na(나트륨)	11.03	14.93
P(인)	749.79	688.27
Zn(아연)	5.99	5.76
S(황)	289.61	327.00

상기 결과를 통해, 익히기 전의 숙잡 내에 있던 각종 구성성분의 함량이 익힌 숙잡이 되면서 다양하게 변화된 것으로 확인된다. 특히 표 1에서 조단백질의 함량, 표 2에서 세린, 글리신, 알라닌의 함량이 현저하게 증가한 것을 알 수 있으며 이러한 익힌 숙잡의 성분 변화로 인해 상기 익힌 숙잡이 갖는 약리학적 효과에도 변화가 있을 것임을 확인할 수 있다.

<실시예 3. 초파리 및 배양용 배지의 준비>

실험용 초파리로는 w1118종을 준비하였고, 초파리 배양을 위한 일반 배지는 7.7g Agar, 62.4g dried yeast, 40.8g corn starch, 84.0g dextrose, 13.0 ml 당밀, 12.5 ml mold inhibitor를 포함하여 총 1ℓ 가 되도록 증류수에 혼합하여 멸균하였다. 익힌 숙잡 분말이 포함된 배지는 일반 배지에 익힌 숙잡 분말 3.12 g ~ 12.48g(dried yeast양의 5% ~ 20%)을 추가하여 제조하였다. 이스트가 더 포함된 배지에는 일반 배지에 익힌 숙잡 분말과 동량의 이스트를 더 넣어주었다.

<실시예 4. 초파리의 운동성 확인>

초파리의 배양은 각 실험군마다 100마리를 사용하였고, 3일마다 한번씩 새로운 배지로 변경을 하였고, 3일 간격의 시기별로 일반 배지, 숙잡 분말이 함유된 배지, 이스트가 더 함유된 배지에서 각각 초파리의 운동성을 확인하였다. 초파리의 운동성 확인을 위해서는 동일 시기의 초파리들을 초파리 배양 바이알(25mm × 95 mm)에 넣은 후 진동혼합기를 이용하여 10초간 진동을 준 후에 20초 동안 실험대 위에 세워 놓고 휴식을 취한 후 초파리 바이알의 상부나 벽으로 날아다니거나 걸어 다니는 초파리의 숫자를 계산하였고, 운동력에 대한 비교는 Kaplan Meier 생존분석을 R 프로그램을 이용하여 분석하여 도 1 및 도 2에 나타내었다.

도 1은 익힌 숙잡 분말이 함유된 배지 또는 일반 배지에서 배양된 초파리의 운동성을 비교하여 나타낸 그래프이고, 도 2는 익힌 숙잡 분말 대신 이스트가 더 함유된 배지 또는 일반 배지에서 배양된 초파리의 운동성을 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 1을 참고하면, 익힌 숙잡 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리(black line)가 일반 배지에서 배양된 초파리(red line)에 비해 각 측정일 단위로 운동력이 현저하게 증가되어 있음을 확인할 수 있다.

한편, 통상적으로 초파리의 원활한 배양을 위해 주로 이스트를 추가로 첨가하고는 하는데, 도 2를 참고하면, 일반 배지에서 배양된 초파리(black line)보다 이스트가 더 함유된 배지에서 배양된 초파리(red line)가 오히려 운동성이 더 낮음을 알 수 있다. 따라서 상기 결과들을 통해 익힌 숙잡 분말이 초파리의 운동성을 증가시키는 활성이 있음을 확인할 수 있다.

<실시예 5. 로테논 독성 반응 확인>

초파리의 배양조건은 실시예 4와 동일하게 하되, 로테논을 10 μM의 농도로 일반 배지와 익힌 숙잡 분말이 함유된 배지에 첨가하여 초파리의 상태를 확인하였고 초파리의 상태를 관찰하여 도 3에 나타내었다. 상기 도 3은 익힌 숙잡 분말이 함유된 배지 또는 일반 배지에 파킨슨병 유발 물질인 로테논(Inden, M. et al, 2011; Krishna, G., 2015)의 첨가 유무(도 3A는 로테논 무처리, 도 3B는 로테논 10 μM 처리)에 따른 초파리의 생존율을 비교하여 나타낸 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3A를 참고하면, 로테논을 처리하지 않은 초파리에서는 초파리의 생존이 50%(0.5)가 될 때의 날짜를 확인할 때, 익힌 숙잡 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리(black line)와 일반 배지에서 배양된 초파리(red line)를

비교하여 약 6일의 차이가 나는 것을 알 수 있다.

[0052] 반면, 도 3B를 참고할 때, 로테논 10 μ M의 처리시, 초파리의 생존이 50%(0.5)가 될 때의 날짜를 확인한 바, 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리(black line)와 일반 배지에서 배양된 초파리(red line)를 비교할 때 약 12일의 차이가 나는 것을 알 수 있다.

[0053] 이와 같은 이유는 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리는 로테논의 유무에 따라 생존율의 차이가 거의 나지 않지만, 일반 배지에서 배양된 초파리는 로테논이 첨가될 때 생존율이 현저하게 감소되기 때문이다. 따라서 상기 결과를 통해서 익힌 숙잠 분말이 로테논에 대한 저항성으로 인해 파킨슨병의 예방 또는 치료 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0054] <실시예 6. 미토콘드리아 기능 확인>

[0055] 파킨슨병의 환자들이 미토콘드리아의 기능이 약화되는 것으로 알려져 있기에(Lanza, I.R. et al., 2009), 배양 조건을 실시예 4와 동일하게 하여 10일 및 20일간 초파리를 각각 배양한 후 각 초파리의 미토콘드리아 내의 시트르산 합성효소(citrate synthase)의 활성을 비교하여 확인하여 도 4에 나타내었다.

[0056] 초파리의 미토콘드리아를 분리하기 위해서는 각 5쌍씩의 초파리를 얼음에 보관된 차가운 미토콘드리아 분리 용액(250 mM sucrose, 5 mM Tris-HCl, 2 mM EGTA, 1% (w/v) bovine serum albumin, pH 7.4, 4°C; Sigma-Aldrich)에 넣고 균질화한 후 4°C에서 150 $\times$ g의 조건으로 5분간 원심분리하고, 다시 4°C에서 9,000 $\times$ g의 조건으로 10분간 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 펠릿(pellets)을 150 μ l의 차가운 미토콘드리아 분리 용액에 현탁시켰다. 시트르산 합성효소의 활성은 Mitocheck Citrate Synthase Activity Assay Kit (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 측정하였다.

[0057] 도 4를 참고하면, 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 10일 및 20일 동안 배양된 초파리(BMSPF)가 일반 배지에서 10일 및 20일 동안 배양된 초파리(NF)보다 미토콘드리아 내의 시트르산 합성효소(citrate synthase)의 활성이 현저하게 증가되어 있음을 확인할 수 있다.

[0058] 따라서 상기 결과를 통해서도 익힌 숙잠 분말이 파킨슨병을 억제할 수 있는 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0059] <실시예 7. 숙잠 분말 함유 배지에서 배양된 초파리에서의 유전자 증감 확인>

[0060] Agilent사의 Drosophila Oligo micro-array를 이용하여 정상 초파리가 50%만 생존하는 시점에서 일반배지 배양 초파리와 익힌 숙잠배지 배양초파리에서 머리를 절제하여 바로 액체 질소로 냉동을 시킨 후, TRIzol reagent를 이용하여 총RNA를 추출하였다. 상기 총RNA의 품질은 ND-2000 Spectrophotometer (NanoDrop-2000, ThermoFisher Scientific)로 측정하여, RNA 6000 Nano Chip (Agilent Technologies, Amstelveen, Netherlands)과 Agilent 2100 bioanalyzer로 분석하였다. 타겟 cRNA 프루브의 합성 및 혼성화는 Low RNA Input Linear Amplification Kit (Agilent Technology)를 이용하여 진행되었다. 이를 위해 총 RNA 1 μ g을 T7 프로모터 프라이머에 65°C에서 10분간 반응한 후, The cDNA master mix (5x first strand buffer, 0.1 M DTT, 10 mM dNTP mix, RNase-Out, and MMLV-RT)를 반응시킨후 40°C에서 두시간 동안 반응하였다. reverse transcription (RT)과 dsDNA 합성은 65°C에서 15분간 진행하였다. dsDNA의 합성은 transcription master mix (4X Transcription buffer, 0.1 M DTT, NTP mix, 50% PEG, RNase-Out, Inorganic pyrophosphatase, T7-RNA polymerase, and Cyanine 3/5-CTP)를 이용하여 40°C에서 2시간 동안 수행하였다. cRNAs의 정제, 증폭, 표지(label)를 위해, cRNA Cleanup Module (Agilent Technology)이 사용되었다. 표지된 cRNA 타겟은 ND-2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific)으로 정량되었다.

[0061] cDNA의 조각화(fragmentation)는 10X blocking agent와 25X fragmentation buffer를 더해 65°C에서 30분간 수행하였고, 이후 cRNA target의 표지 효율을 확인하였다. 조각화된 cRNA는 2X hybridization buffer에 현탁하여 assembled Drosophila Oligo Microarray (44K; Agilent Technology)에 적용하였고, 혼성화된 마이크로어레이를 세척한 후 이미지 스캔하였다. 혼성화된 이미지를 스캔하기 위해서는 DNA 마이크로어레이 스캐너를 사용하였다. 유전자 정량화를 위해서는 Feature Extraction Software (Agilent Technology)를 사용하였다. 데이터 정규화와 유전자 종류, 각 유전자 발현 변화량은 GeneSpringGX 7.3 (Agilent Technology)로 확인하였다.

[0062] 유전자의 기능에 대한 설명은 Flybase (<http://flybase.org>)와 Medline databases (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)를 참고하였다. Gene ontology enrichment 분석은 GOEAST Gene Ontology Enrichment Analysis Software Toolkit (<http://omicslab.genetics.ac.cn/GOEAST/index.php>), 유전자의 증감에 따른 확인은 Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (STRING; [- 11 -](http://www.string-</p>
</div>
<div data-bbox=)

db.org/)를 통해 확인하였다.

[0063] 상기 마이크로어레이 결과로서, 일반배지 배양 초파리 기준으로, 익힌 숙잠 배지에서 발현이 증감된 유전자들은 하기의 표 5에 나타내었다.

표 5

[0064]

Gene	GB No (Flybase No.)	fold change	P value
ZAP3	NM_001258679	6.753	8.35E-05
CG45781	FBgn0267428	5.589	1.05E-04
Blot	Bgn0027660	4.970	1.06E-04
Obp19a	NM_167700	4.897	9.15E-04
CG7609	NM_143463	4.265	1.49E-04
Obp83a	NM_079517	4.185	4.73E-04
Obp83b	NM_079518	4.006	7.70E-04
CG3071	FBgn0023527	3.887	4.81E-05
Obp83a	NM_079517	3.779	0.007227
a5	NM_001103573	3.673	1.27E-05
a5	NM_001103573	3.616	1.40E-04
csk reverse stranded	chr3R:007476356-007476 415	3.590	0.0026401
Shaw1	NM_001103661	3.555	2.09E-04
CG42587	FBgn0260955	3.545	2.53E-04
CG12985	NM_133027	3.511	2.81E-05
Mink	NM_143055	3.490	2.24E-04
ARY	FBgn0058064	3.417	2.02E-04
Os-C	FBgn0010401	3.238	0.004033
CG14301	FBgn0038632	3.175	2.52E-04
Intragenic near Nvd	NP1389802	3.108	0.004058
Os-C	NM_001170072	3.047	0.0047095
dpr8	FBgn0052600	3.041	2.94E-05
CG14438	FBgn0029899	2.983	3.15E-04
CG11168	NM_001276011	2.956	2.68E-05
CR43159	NR_048278	2.953	3.77E-04
CG34446	FBgn0085475	2.882	4.85E-05
CG33159	NM_176277	2.803	0.0018736
CG9377	NM_135796	2.793	0.0029165
bou	BP541206	2.611	1.88E-04
fzo	NM_170060	2.591	3.96E-04
Hr38	NM_057771	2.529	3.89E-04
CG11391	NM_142573	2.518	0.0027435
a10	NM_079397	2.516	0.0032642
CG17167	NM_001015257	2.509	0.0055163
Intragenic near CG6672	RE72238	2.490	4.06E-04
CG11391	NM_142573	2.490	0.0034129
CG3328	FBgn0034985	2.460	4.40E-04
a10	NM_079397	2.438	0.0053588
Obp69a	NM_079315	2.398	6.72E-05
Obp69a	NM_079315	2.372	9.89E-05
Cklalpha	FBtr0345163	2.341	5.36E-04
fru	FBgn0004652	2.315	6.36E-04
CG7107	FBgn0004169	2.286	2.55E-04
Ir21a	NM_001103573	2.250	6.01E-04
CG6443	FBgn0032290	2.198	0.001406
Atf3	NM_13898	2.189	7.78E-04
CG43102	FBgn0262562	2.164	0.0088477
CG32473	NM_169504	2.155	0.0014204

CG6388	FBgn0032430	2.145	7.48E-04
CG7342	NM_001260267	2.131	4.56E-06
CG31323	NM_143210	2.130	0.0044611
lush	NM_001169997	2.047	2.99E-05
Jhedup	NM_137241	2.041	0.0050025
CG42675	NM_001275373	2.039	8.89E-04
Alg-2 reverse strand	JV212243	2.032	9.45E-04
drpr	NM_001274347	2.029	3.84E-04
reverse exon CG11966	DQ327803	2.027	0.0015397
Jhedup	NM_137241	2.020	0.0056317
CG31279	NM_001275702	2.014	0.0024906
Amy-p	NM_080421	0.486	7.46E-04
Amy-p	NM_080421	0.454	0.001201
Amy-d	NM_079044	0.442	5.08E-04
PGRP-SC2	JV222873	0.434	0.0013486
CG14273	NM_135369	0.358	0.0025524
CG15418	NM_134950	0.337	0.0062776
Prm	NM_001259752	0.324	0.009951
CG14273	NM_135369	0.286	5.07E-04
CG8560	NM_139863	0.240	0.0032412
Cht4	NM_080223	0.227	2.59E-04
lectin-37Db	NM_001201918	0.213	0.00804
betaTry	NM_080165	0.179	4.99E-06
CG5399	NM_142224	0.146	0.005501
Phae2	NM_135707	0.120	6.21E-04
gammaTry	NM_165824	0.113	2.63E-06
deltaTry	NM_078970	0.111	3.15E-06
Cht9	NM_137699	0.109	6.54E-06
pgant4	NM_164539	0.105	9.03E-04
Cda9	NM_137348	0.102	0.0076524
CG34220	NM_001103783	0.089	5.31E-09
alphaTry	AY071341	0.088	5.83E-05
Jon65Aiv	NM_139755	0.088	1.92E-06
Phae1	NM_135706	0.087	7.00E-04
yip7	NM_079220	0.086	4.27E-04
alphaTry	FBgn0003863	0.081	2.41E-04
Jon65Aiv	NM_139755	0.079	7.73E-06
Kaz-m1	NM_001276051	0.077	0.006634
CG30025	NM_165824	0.069	5.35E-05
pgant4	NM_164539	0.069	3.82E-05
CG6839	NM_140819	0.068	7.98E-06
Jonah 65Aiii	AY095514	0.068	1.23E-04
Cht8	NM_137698	0.064	0.0014875
Ag5r	NM_080031	0.063	0.0077141
CG43673	NM_001272651	0.058	0.0069406
CG3906	NM_137958	0.056	3.87E-09
Phae2	NM_135707	0.054	0.0052409
CG34324	NM_001103502	0.044	4.04E-05
CG3906	AY075320	0.041	4.00E-05
CG4783	NM_142594	0.038	4.18E-05
CG5506	NM_140764	0.035	0.0010399
CG34324	NM_001103502	0.024	2.69E-09
CG14645	BT031033	0.018	3.48E-05
CG14645	JV217442	0.015	1.99E-10

[0065] 또한 표 5의 결과를 통해 발현이 변화된 유전자들의 기능을 도 5에 나타내었고, 상기 유전자들의 상호작용 관계

는 도 6에 나타내었다.

- [0066] 상기 표 5, 도 5 및 6의 결과를 분석하여 유전자 발현이 변화된 유전자들의 기능을 비교한 결과 냄새감각과 관련된 유전자들의 발현이 증가되고, 탄수화물 및 단백질대사 관련 유전자의 발현은 감소됨이 확인되었다. 파킨슨병 환자의 특징 중 하나가 냄새를 잘 맡지 못하는 것으로 알려져 있기에(Doty, R.L., 2012), 상기 결과를 통해서도 숙잠 분말이 파킨슨병의 예방, 치료 또는 개선 효과가 있음을 알 수 있다.
- [0067] <실시예 8. 숙잠 분말 함유 배지에서 배양된 초파리에서의 냄새감각 유전자 증가 확인>
- [0068] 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리 3쌍, 일반 배지에서 배양된 초파리 3쌍으로부터 각각 total RNA를 추출하여 reverse transcriptase를 이용하여 cDNA를 제조하였고, 상기 cDNA를 이용하여 마이크로어레이 분석 결과를 통해 증가된 것으로 밝혀진 냄새감각 관련 유전자인 Obp83a와 Os-C의 mRNA 발현량을 확인하였다. 이를 위한 실시간 PCR용 프라이머는 하기에 나타내었다. 이 때 하우스키핑(house keeping) 유전자로는 RP49를 이용하였다.
- [0069] Obp83a F: CCGGGCATCCTGAAAATGG
- [0070] Obp83a R: CTTGATGGCAGCCTCGGTTA
- [0071] Os-C F: TGGCGAGGAGACAGAGGTG
- [0072] Os-C R: TGGCGTGTGTGTCCTATTAC
- [0073] RP49 F: CAGTCGGATCGATATGCTAAGCTGT
- [0074] RP49 R: TAACCGATGTTGGGCATCAGATACT
- [0075] mRNA 정량분석은 Applied Biosystems StepOnePlus에서 SYBR green PCR master mix를 이용하였고, 95℃에서 10분 진행 후 95℃ 15초, 62℃ 20초, 72℃ 30초를 한번의 사이클로 40회 진행하면서 유전자의 증폭을 확인하였으며, 이에 대한 결과는 도 7에 나타내었다.
- [0076] 도 7은 마이크로어레이 결과에서 발현이 증가한 냄새감각 관련 유전자인 Obp83a와 Os-C의 mRNA 변화량을 확인하여 나타낸 그래프로써(BMSPF-익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리, NF-일반 배지에서 배양된 초파리), 마이크로어레이 분석결과에 개시된 것처럼 Obp83a와 Os-C의 mRNA가 익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리에서 증가하는 것을 확인할 수 있다.
- [0077] <실시예 9. 냄새 물질에 반응하는 초파리의 개체수 확인>
- [0078] 숙잠 분말이 함유된 배지와 일반 배지에서 각각 4일간 배양된 초파리와, 도 10에 개시된 강한 냄새를 나타내는 각종 물질을 각각 메탄올에 1%(w/v), 2%(w/v)로 희석하여 준비하였다. 다음으로는 빈 초파리 배양바이알(25mm × 95 mm)에 초파리 100마리씩을 넣고 2시간 동안 안정화한 후, 초파리가 들어있는 바이알을 상기 냄새물질이 희석된 메탄올 용액(냄새물질)이 0.1ml씩 담긴 새로운 바이알에 연결하였다. 바이알을 연결한지 2분 후에 냄새 물질 용액이 포함된 바이알로 이동한 초파리의 숫자를 세어 도 8에 나타내었다.
- [0079] 도 8은 강한 냄새를 나타내는 각종 물질에 대해 반응한 초파리의 개체수를 나타내는 그래프로써(노란색-일반 배지에서 배양된 초파리, 청색-익힌 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리), 상기 도 8의 결과를 참고하면, 숙잠 분말이 함유된 배지에서 배양된 초파리가 일반 배지에서 자란 초파리보다 냄새 물질에 더 민감하게 반응함을 알 수 있다. 따라서, 상기 결과를 통해서도 숙잠 분말이 파킨슨병의 치료 또는 개선 효과가 있음을 확인할 수 있다.
- [0080] <제제예 1. 약학적 제제>
- [0081] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말) 200g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.
- [0082] <제제예 2. 식품 제조>
- [0083] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조
- [0084] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말)를 조리용 양념에 1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 조리용

양념을 제조하였다.

[0085] **제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조**

[0086] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말)를 밀가루에 0.1 중량%로 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0087] **제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**

[0088] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말)를 스프 및 육즙에 0.1 중량%로 첨가하여 건강 증진용 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0089] **제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조**

[0090] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말)를 우유에 0.1 중량%로 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0091] **제제예 2-5. 야채주스 제조**

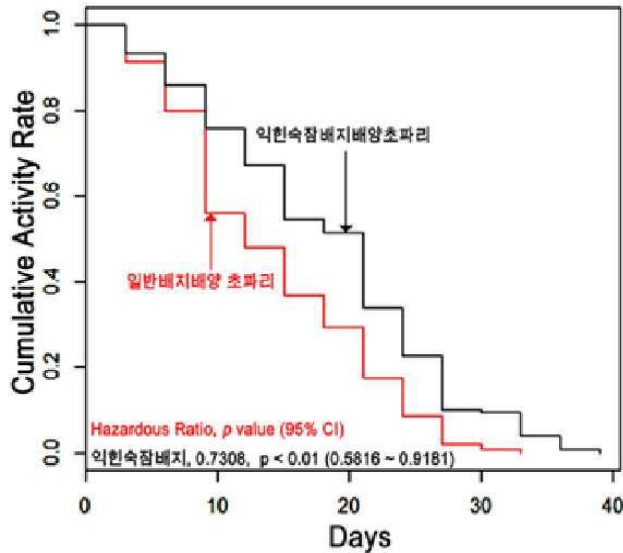
[0092] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말) 0.5g을 토마토주스 또는 당근주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0093] **제제예 2-6. 과일주스 제조**

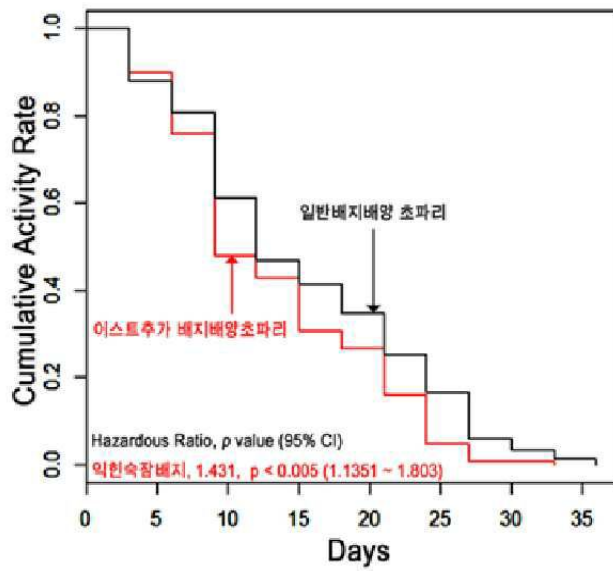
[0094] 실시예 1의 건사단백질을 갖는 누에(익힌 숙잠 분말) 0.1g을 사과주스 또는 포도주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

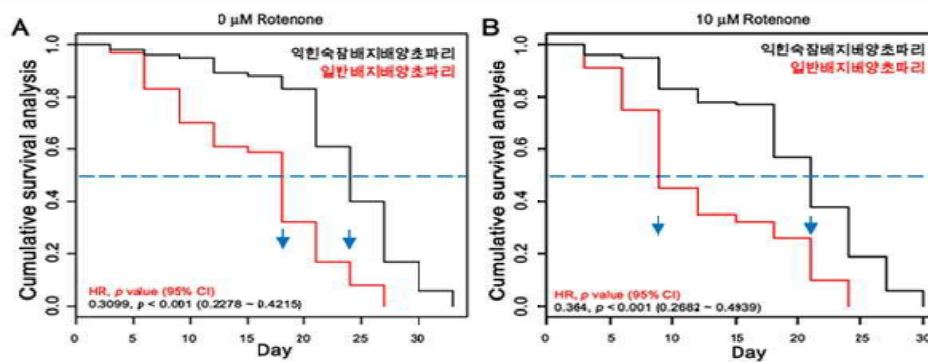
도면1



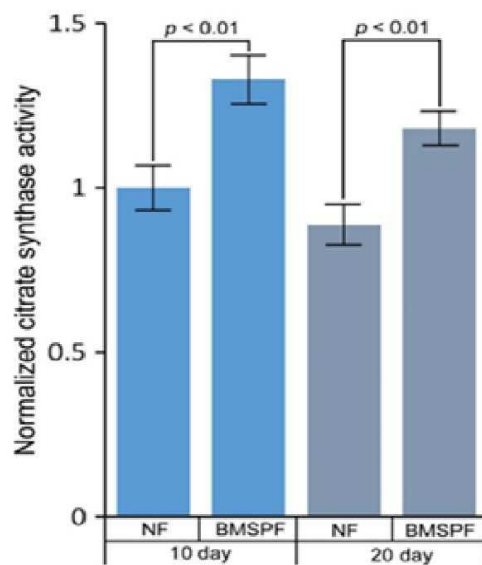
도면2



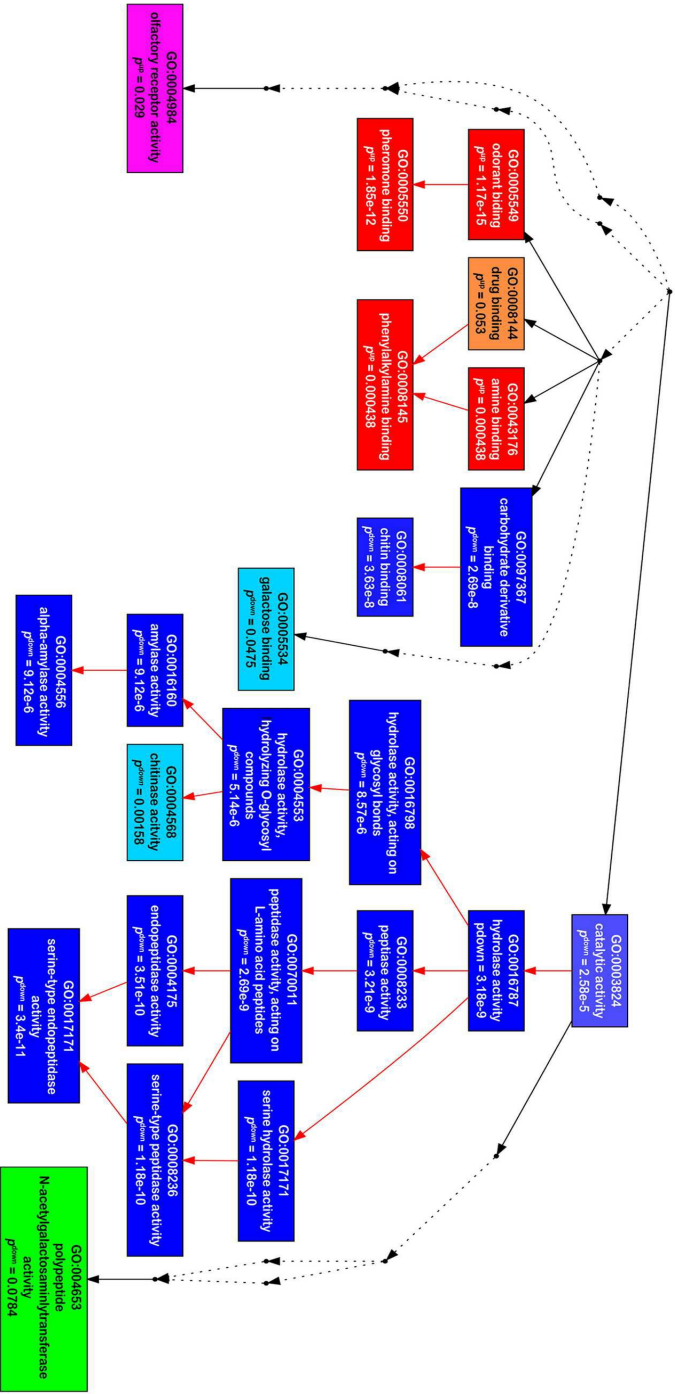
도면3



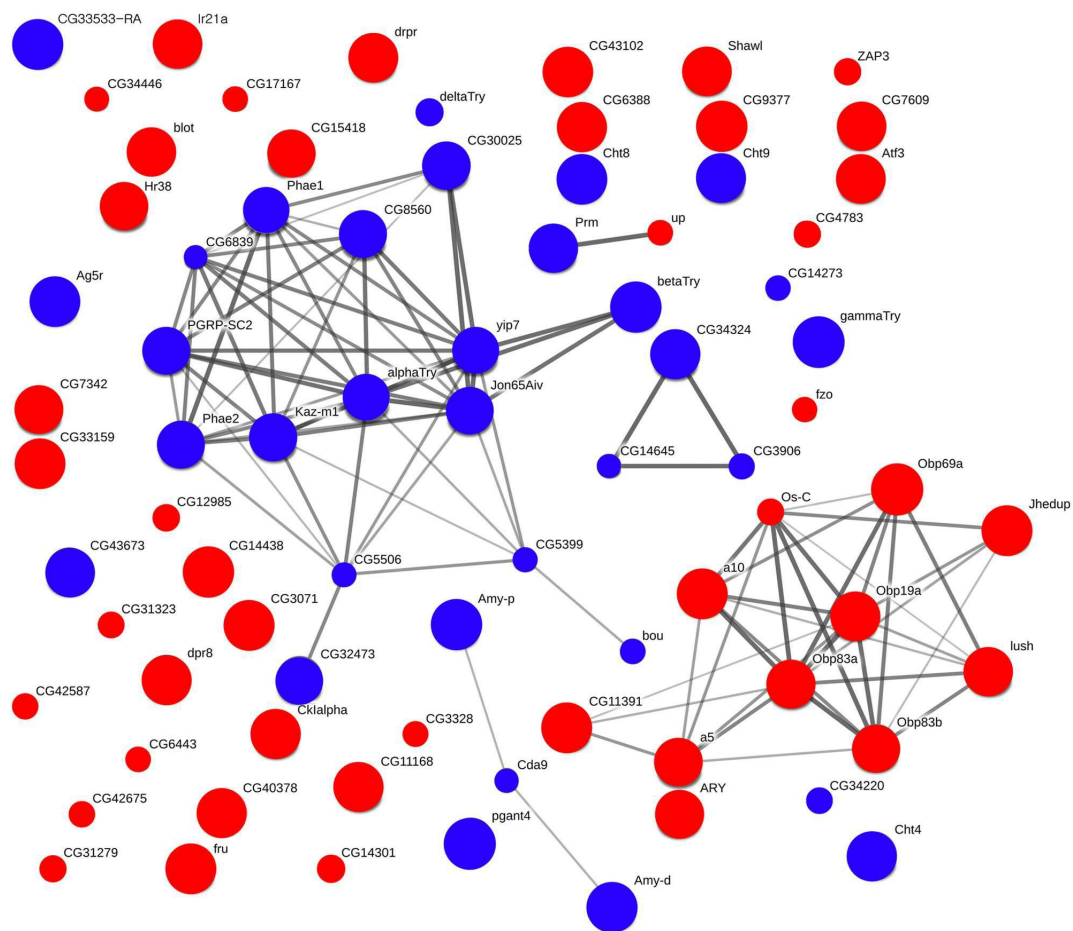
도면4



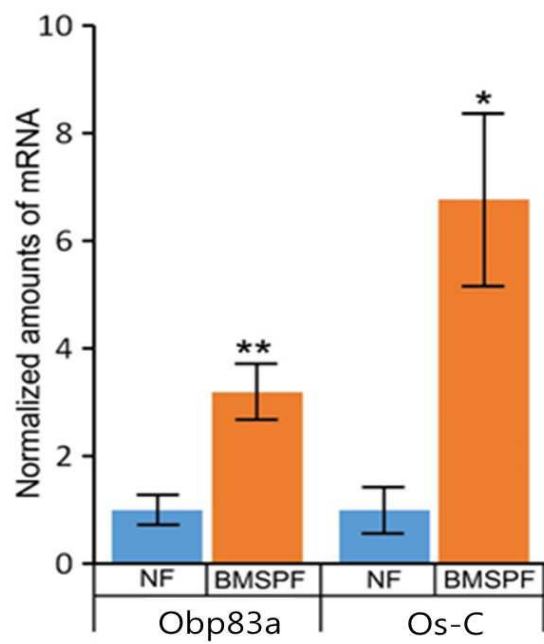
도면5



도면6



도면7



도면8

