



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0019309
(43) 공개일자 2019년02월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/08 (2006.01) A23K 20/147 (2016.01)
A23K 20/195 (2016.01) A23L 3/3463 (2017.01)
A61K 38/00 (2006.01) A61K 47/62 (2017.01)
A61K 8/64 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 7/08 (2013.01)
A23K 20/147 (2016.05)
- (21) 출원번호 10-2017-0104030
(22) 출원일자 2017년08월17일
심사청구일자 2017년08월17일
- (71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
- (72) 발명자
조주현
경상남도 진주시 강변길 31, 103동 1401호(가좌동, 가호 에일린의 뜰 아파트)
김현
경상남도 사천시 사천읍 샘골길 47, 403호
장주혜
경상남도 사천시 사천읍 샘골길 47, 403호
- (74) 대리인
김순웅

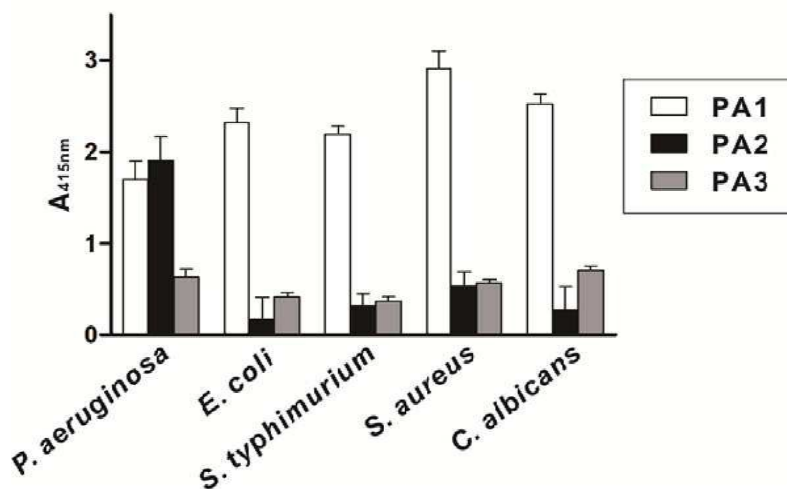
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 슈도모나스 속 균주 특이적 항균펩타이드 및 이를 포함하는 항균용 조성물

(57) 요약

본 발명은 슈도모나스 속 균주에 특이적인 항균펩타이드 및 이를 포함하는 항균용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 항균펩타이드는 슈도모나스 속 균주에 대한 특이적인 항균 활성 효과를 가지고 있어, 의약·화장품·식품 분야에서 항균용 약학적 조성물, 식품방부제, 화장품 첨가제 및 사료 첨가제로 활용될 수 있다. 또한 상기 항균펩타이드는 종래 항생제의 대체물질 및 신규 감염치료제로서의 활용방안을 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23K 20/195 (2016.05)
A23L 3/34635 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
A61K 47/62 (2017.08)
A61K 8/64 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61K 2800/524 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2014R1A2A1A11050944
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 중견연구자지원사업(도약연구지원사업)
연구과제명 병원균-특이적 생체방어펩타이드의 개발 및 표적 항생제로의 활용 연구
기 여 율 30/100
주관기관 경상대학교
연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2016M3A6A8949166
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 글로벌프런티어사업(지능형 바이오 시스템 설계 및 합성 연구)
연구과제명 접착 scaffold 활용 스마트 항균코팅 바이오시스템 개발
기 여 율 30/100
주관기관 경상대학교
연구기간 2017.05.01 ~ 2018.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2017R1A2B4007453
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 중견연구자지원사업
연구과제명 독농균-특이적 생체방어펩타이드의 작용기작 연구 및 이를 이용한 신규 감염치료제 개발
기 여 율 40/100
주관기관 경상대학교
연구기간 2017.03.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 내지 3으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 펩타이드는 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속 균주에 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 슈도모나스 속 균주는 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)인 것을 특징으로 하는 펩타이드.

청구항 4

서열번호 1 내지 3으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시되는 표적 도메인(TD; targeting domain) 및

서열번호 4의 아미노산 서열로 표시되는 항균 활성 도메인(KD; killing domain)을 포함하는 항균펩타이드.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 표적 도메인과 항균 활성 도메인은 하기 구조식 1의 형태로 배열된 것을 특징으로 하는 항균펩타이드.

[구조식 1]

TD-링커-KD

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 항균펩타이드는 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속 균주에 특이적인 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 항균 펩타이드.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 슈도모나스 속 균주는 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)인 것을 특징으로 하는 항균펩타이드.

청구항 8

제4항의 항균펩타이드를 유효성분으로 포함하는 항균용 약학적 조성물.

청구항 9

제4항의 항균펩타이드를 유효성분으로 포함하는 항균용 식품 방부제.

청구항 10

제4항의 항균펩타이드를 유효성분으로 포함하는 항균용 화장품 첨가제 .

청구항 11

제4항의 항균펩타이드를 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 슈도모나스 속 균주에 특이적인 항균펩타이드 및 이를 포함하는 항균용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)은 원내감염(healthcare-associated infections)의 주요 원인균으로 패혈증, 전신감염, 만성기도 감염증 등 심각한 난치성 감염을 일으킬 수 있는 균주이다.

[0003] 최근 세 가지 이상 계열의 항생제에 대해 저항성을 가지는 다제내성녹농균(multidrug-resistant *P. aeruginosa*)에 의한 감염이 문제가 되고 있다. 다제내성녹농균은 대부분의 항생제 계열에 대해 내성을 나타내는 것으로 보고되어, WHO(world health organization)에 의해 새로운 치료제 개발이 가장 시급한 병원균으로 지정되어 있다.

[0004] 이러한 항생제 내성균에 의한 질병을 치료하기 위해 많은 신규 항생제가 개발되고 있으나 항생제 대부분은 기존의 항생제와 유사한 작용기전을 가지며, 항생작용 후 분해되지 않고 체내에 잔류함으로써 지속적인 항생제 내성 문제를 일으키고 있다.

[0005] 또한 기존의 항생제는 내성을 유발할 뿐만 아니라, 비 특이적인 항균작용으로 정상세균총을 파괴하여 다른 질병의 원인이 된다. 특히 항생제 복용으로 인한 장내 정상세균총의 파괴로 발생하는 항생제 연관 장염(*Clostridium difficile* infection, CDI)은 대표적인 항생제의 부작용으로 떠오르고 있으며, 화상치료에 사용되는 광범위 항생제를 대체할 새로운 패러다임의 감염 치료제가 필요한 실정이며, 종래 항생제의 문제점을 해결할 수 있는 방안으로 항균펩타이드가 주목 받고 있다.

[0006] 항균펩타이드는 자연면역체계(innate defense system)의 하나로 모든 생물체가 가지고 있는 10 내지 50개의 아미노산으로 구성된 작은 크기의 펩타이드이다. 항균펩타이드는 생물체가 병원균에 감염되었을 때 1차 방어물질로 작용한다. 항균펩타이드는 전체적으로 +2 내지 +9의 양전하를 띠며, 30% 정도의 소수성 아미노산 잔기를 포함하고 있다. 이러한 특징으로 인하여, 항균펩타이드는 음전하를 띤 세균 세포막과 접촉한 뒤 양친성 α -나선구조(amphipathic α -helix) 혹은 β -병풍구조(β -sheet)를 형성하여 세포막 속으로 끼어 들어가 세포막의 전위를 변화시키거나 세포막 자체에 구멍을 내어 세포막을 파괴함으로써 세균을 죽인다. 또한 일부 항균펩타이드는 세포 내로 들어간 다음 세포내 타겟을 공격하여 세포 기능을 마비시킴으로써 항균 활성을 나타낸다. 그러므로 항균펩타이드는 특정 수용체를 타겟으로 하는 기존의 항생제에 비해 내성을 유발할 가능성이 현저히 낮다. 또한 항균펩타이드는 신속한 작용기전, 기존 항생제 내성균에 작용 및 항내독성(anti-endotoxicity) 등의 특징을 가지고 있어 신규 감염치료제로서 개발하기에 적합하다.

[0007] 하지만 항균펩타이드 역시 광범위한 항균작용을 가지기 때문에 병원균뿐만 아니라 숙주의 정상세균총(microflora)에도 작용하여 미생물 무리에 변화를 주고, 이로 인해 다른 질병을 일으킨다는 한계가 있다. 따라서 항균펩타이드를 항생제 대체물질로 개발하기 위해서는 병원균에 특이성을 증진 시켜야 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 전술한 바와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여 슈도모나스 속 균주에 특이적인 항균 활성을 갖는 항균펩타이드를 제조함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0009] 본 발명의 목적은 병원균 중에서도 슈도모나스 속 균주에 특이적인 항균활성을 가지는 펩타이드 및 이를 포함하는 항균펩타이드를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 항균펩타이드를 종래 항생제의 대체물질로 활용하는 방안을 제공하는 것으로서, 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 약학적 조성물, 식품방부제, 화장품 첨가제 및 사료첨가제를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 1 내지 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드를 제공한다.

[0013] 또한 본 발명은 서열번호 1 내지 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시되는 표적도메인(TD; targeting domain) 및 서열번호 4의 아미노산 서열로 표시되는 항균 활성도메인(KD; killing domain)을 포함하는 항균펩타이드를 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 식품 방부제를 제공한다.

[0016] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 화장품 첨가제를 제공한다.

[0017] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 사료 첨가제를 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 따른 항균펩타이드는 슈도모나스 속 균주에 대한 특이적인 항균 활성 효과를 가지고 있어, 의약·화장품·식품 분야에서 항균용 약학적 조성물, 식품방부제, 화장품 첨가제 및 사료 첨가제로 활용될 수 있다. 또한 상기 항균펩타이드는 종래 항생제의 대체물질 및 신규 감염치료제로서의 활용방안을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 펩타이드 PA1 내지 3의 녹농균에 대한 특이성(specificity)을 확인한 도이다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 펩타이드 PA2의 녹농균에 대한 타겟 물질 동정 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 실시예에 따른 펩타이드 PA2와 제조합 단백질 OprF의 결합을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 항균펩타이드의 적혈구 용혈 활성을 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 항균펩타이드의 녹농균에 대한 특이성을 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 본 발명의 실시예에 따른 항균펩타이드의 항균활성을 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 7은 녹농균 감염 마우스 모델에서 본 발명의 실시예에 따른 항균펩타이드의 항균활성을 확인한 것으로, 항균 펩타이드가 처리된 마우스의 생존율(a) 및 마우스 조직에 존재하는 녹농균 수(b)를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0023] 본 발명은 서열번호 1 내지 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드를 제공한다.
- [0024] 본 발명에 있어서, “펩타이드”는 펩타이드 결합에 의해 아미노산 잔기들이 서로 결합되어 형성된 선형의 분자를 의미한다. 상기 펩타이드는 당업계에서 공지된 화학적 합성방법에 따라 제조될 수 있으며, 바람직하게는 고체상 합성 기술에 따라 제조될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.
- [0025] 상기 펩타이드는 그람음성균에 결합할 수 있다. 더 구체적으로 상기 펩타이드는 바람직하게는 그람음성균 중 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속 균주에 결합할 수 있으며, 더 바람직하게는 녹농균 (*P. aeruginosa*)에 결합할 수 있다.
- [0027] 또한 본 발명은 표적도메인(TD; targeting domain) 및 항균 활성 도메인(KD; killing domain)을 포함하는 항균 펩타이드를 제공한다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 표적도메인(TD)은 서열번호 1 내지 3의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 아미노산 서열로 표시될 수 있다. 또한 상기 표적 도메인은 녹농균의 OprF와 결합하는 펩타이드 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있으며, 바람직하게는 서열번호 2로 표시되는 펩타이드를 포함한다. 상기 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드는 녹농균 외막단백질인 OprF에 특이적으로 결합하는 서열로서, 녹농균 특이적 결합을 통해 항균활성을 높일 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서 항균활성 도메인(KD)은 항균활성을 가지는 펩타이드를 의미하는 것으로, 바람직하게는 서열번호 4의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드이다.
- [0030] 본 발명의 실시예에 따르면 상기 표적도메인(TD)과 항균활성 도메인(KD)은 하기 구조식 1의 형태로 배열되는 것이 바람직하다.
- [0031] [구조식 1]
- [0032] TD-링커-KD
- [0033] 본 발명의 링커(linker)는 당업계에서 공지된 다양한 링커를 포함하며, 바람직하게는 2 내지 10개의 글라이신 또는 세린 아미노산과 기타 아미노산들로 구성될 수 있다. 또한 상기 링커는 3개의 글라이신(Gly) 잔기로 이루어질 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0034] 또한 상기 항균펩타이드는 그람음성균에 대한 항균활성을 나타낼 수 있다. 더 구체적으로 상기 항균펩타이드는 그람음성균 중 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속 균주에 특이적인 항균활성을 갖는 것이 바람직하며, 녹농균 (*P. aeruginosa*)에 특이적인 항균활성을 갖는 것이 더 바람직하다.
- [0036] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [0037] 본 발명에서, 항균용 조성물은 균주나 곰팡이와 같은 미생물의 생육을 억제하는 활성을 가진 조성물로서, 항균 효과가 요구되는 다양한 분야에 사용되는 모든 형태가 포함될 수 있다. 예를 들면 항균용 조성물은 의약품, 의약외품, 식품첨가제, 또는 사료첨가제 등의 형태일 수 있다. 또한 의약에 있어서는 항생제나 오염방지제와 같은 목적으로, 식품에 있어서는 방부나 항균 목적으로, 농업에 있어서는 항균, 살균, 소독의 목적으로 화장품이나 생활용품에 있어서는 비듬억제용, 무좀방지용, 거드랑이 채취억제용, 세정제 등에 방부나 항균 또는 살균 목적으로 사용되어 질 수 있으며, 전술한 목적으로만 한정되는 것은 아니다. 따라서 본 발명의 제제예에 따른 항균용 조성물은 약학적 조성물인 항생제, 식품 방부제, 화장품첨가제 또는 사료 첨가제의 형태로 제조될 수 있다. 본 발명의 항균용 조성물은 바람직하게는 슈도모나스 속 균주에 대한 항균용 조성물일 수 있으며, 보다 바람직하게는 녹농균에 대한 항균용 조성물일 수 있다.
- [0038] 이에 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0039] 상기 항균용 약학적 조성물은 감염성 질환의 예방 또는 치료 용도이며, 구체적으로 감염성 질환은 슈도모나스

속 균주, 바람직하게는 녹농균에 의해 발병되는 질환으로, 예를 들어, 폐렴, 폐혈증, 피부감염, 요로감염(urinary tract infection), 전신감염(systemic infection), 만성기도 감염증(chronic infection of respiratory tract), 슈도모나스 감염(*Pseudomonas* infection), 및 다제내성녹농균(multidrug-resistant *P. aeruginosa* : MRPA) 감염증을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0041] 본 발명의 항균용 약학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 이상의 성분을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화 할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적절한 방법으로 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.

[0042] 본 발명의 제제에 따른 항균용 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 투여량은 개체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 항균펩타이드의 일일 투여량은 2~10 mg/kg, 바람직하게는 4~8mg/kg이나 임상결과에 따라 가감될 수 있으며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[0044] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 식품 방부제를 제공한다.

[0045] 본 발명의 제제에 따른 항균용 식품 방부제는 공지의 식품 방부제 중 1종 이상 포함하여 제조될 수 있다. 식품 방부제로는 데히드로초산, 소르빈산칼륨, 소르빈산칼슘, 안식향산나트륨, 안식향산칼륨, 안식향산칼슘, 파라옥시안식향산메틸, 파라옥시안식향산프로필, 프로피온산나트륨, 프로피온산칼슘 등이 사용되고 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0046] 본 발명의 제제에 따른 항균용 식품 방부제는 상기 항균펩타이드를 식품 방부제 총 중량에 대해 0.01 내지 1 중량% 포함하는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0048] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 화장품 첨가제를 제공한다.

[0049] 본 발명의 제제에 따른 항균용 화장품 첨가제는 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조될 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 또한, 본 발명의 화장품 첨가제는 상기 항균펩타이드 외에 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 포함함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소적용 또는 전신적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다. 또한, 적합한 화장품의 제형으로는, 예를 들면 상기 항균펩타이드를 첨가한 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립 구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한 폼(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 포함한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다. 또한 화장품 첨가제에 사용되는 부형제로서 알부틴(arbutin), 코직산(kojic acid), 루시놀(rucinol), 비타민 C(vitamin C) 및 비타민 C 유도체 등을 추가로 포함할 수 있으며, 주름개선 효과를 목적으로 레티놀(retinol) 및 그 유도체, 인돌아세트산(indol acetic acid) 및 그 유도체, 아데노신(adenosin), 토코페롤(tocopherol) 및 그 유도체, 카이니틴 등을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 부형제에는 화장품 첨가제에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.

[0050] 본 발명의 제제에 따른 항균용 화장품 첨가제에는 상기 항균펩타이드를 화장품 첨가제 총 중량에 대해 0.01 내지 1 중량%를 포함하는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0052] 또한 본 발명은 상기 항균펩타이드를 포함하는 항균용 사료 첨가제를 제공한다.

[0053] 본 발명의 제제에 따른 사료 첨가제는 사료 원료에 적절하게 배합하여 사료로 제공되는데, 상기 사료 원료로

곡물유, 조강류, 식물성 유박류, 동물성 사료 원료, 기타 사료 원료, 정제품 등이 사용되고 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0055] 이하, 실시예, 실험예 및 제제예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예, 실험예 및 제제예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0057] 실시예 1 : 박테리오파지 디스플레이를 이용한 녹농균 특이성이 증진된 펩타이드 발굴

[0058] 녹농균 특이적 펩타이드를 발굴 하기 위하여 녹농균을 대상으로 박테리오파지 랜덤 펩타이드 라이브러리 스크리닝을 수행하였다. 박테리오파지 랜덤 펩타이드 라이브러리는 Ph.D.-12 (New England biolab, Herts, UK)을 사용하였으며, 총 6회의 패닝 (panning)을 수행하였다.

[0059] 보다 구체적으로, 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)를 이용하여 고정한 녹농균을 50mM 탄산염-중탄산염 코팅 버퍼(carbonate-bicarbonate coating buffer)를 이용하여 1×10^8 CFU/ml 농도가 되도록 희석한 다음, 96-웰 플레이트에 100ul를 넣고 4° C에서 하룻밤 동안 반응시켜 녹농균을 코팅하였다. 5% 소혈청알부민(bovine serum albumin; BSA)을 포함하는 TBST[0.05% 트윈-20(Tween-20)을 포함하는 TBS(tris buffered saline)]를 이용하여 웰을 블로킹(blocking) 한 다음 랜덤화 된 펩타이드를 포함하는 박테리오파지를 웰에 넣고 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 녹농균에 결합하지 않은 박테리오파지는 TBST를 이용하여 씻어주었으며, 최종적으로 녹농균에 특이적으로 결합하는 박테리오파지는 100ul의 0.2M glycine-HCl (pH 2.2)을 이용하여 용출하였고, 15 ul의 Tris-HCl (pH 9.0)이 첨가하여 중화(neutralization)시켰다. 상기 과정을 통하여 녹농균에 결합하는 박테리오파지 후보군을 1차적으로 선별하였고, DNA 시퀀싱(sequencing)을 통해 아미노산 서열을 확인하였다 (표 1).

표 1

후보군	아미노산 서열
PA1	SCSSLTTLRPGC (서열번호 1)
PA2	SQRKLAALKTSK (서열번호 2)
PA3	VILTGPEAEYFW (서열번호 3)

[0062] 표 1에 나타낸 3종의 펩타이드들은 자동화합성기(PeptrEx-R48, 펩트론사)를 이용하여 Fmoc 고체상 방법으로 합성하였으며, 합성된 3종의 펩타이드는 C18 분석 RP 칼럼(Shiseido capcell pak)을 사용한 역상 HPLC(Prominence LC-20AB, Shimadzu사, 일본)로 정제하고, 질량분석기(HP 1100 Series LC/MSD, Hewlett-Packard사, Roseville, 미국)를 이용하여 동정 및 확인하였다.

[0064] 실험예 1 : 펩타이드 후보군의 녹농균 특이적 결합 확인

[0065] 펩타이드 후보군의 녹농균 특이적 결합을 확인하기 위해 효소면역측정법(ELISA)를 이용하였다. 먼저 녹농균, 대장균(*Escherichia coli*), 살모넬라 티피머리움(*Salmonella typhimurium*), 포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)를 상기(실시예 1)와 같이 96웰 플레이트에 코팅하고 5% 소혈청알부민(BSA)을 포함하는 TBST를 이용하여 블로킹(blocking) 하였다. 바이오틴 표지된 3종의 펩타이드 후보군(10uM)을 세균 및 곰팡이가 코팅된 웰에 처리하여 상온에서 1시간 반응한 다음 TBST로 웰을 씻어준 후, 스트렙타아비딘-HRP(streptavidin-HRP)와 ABTS를 이용하여 415nm에서 흡광도 값을 측정 비교하였다. 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에 나타낸 바와 같이, PA2 펩타이드가 녹농균에 특이적으로 결합하는 것을 알 수 있다.

[0067] 실험예 2 : PA2 펩타이드의 타겟 물질 동정

[0068] 상기 실험예 1에서 가장 우수한 녹농균에 대한 결합력을 보인 PA2 펩타이드의 타겟 단백질을 확인하기 위해 파-웨스턴 블로팅(far-western blot analysis), 풀-다운 분석(pull-down assay) 및 ESI-MS/MS를 이용하여 PA2 펩

타이드와 결합하는 녹농균 외막단백질(outer membrane protein)을 확인 및 동정 하였다.

[0070] **2-1 파-웨스턴 블로팅(far-western blot analysis)**

[0071] 먼저 녹농균으로부터 외막단백질을 추출하여 SDS-PAGE를 통해 단백질을 분리하였고, 젤 속의 단백질들을 PVDF 멤브레인 위로 트랜스퍼(transfer) 하였다. 블롯(blot)들을 1% 소혈청알부민(BSA)를 포함하는 TBST를 상온에서 1시간 처리하여 블로킹(blocking) 한 다음, TBST를 이용하여 씻어주었다. 바이오틴 표지된 PA2 펩타이드(20ug/ml)를 상온에서 1시간 처리한 후 TBST로 씻어주고 스트렙타아비딘-HRP(streptavidin-HRP)를 처리하여 다시 상온에서 1시간 반응하였다. 고성능 화학발광 시스템(enhanced chemiluminescence system)을 이용하여 PA 펩타이드와 녹농균 외막단백질의 결합 여부를 확인하였고 그 결과를 도 2a에 나타내었다.

[0072] 도 2a에 나타낸 바와 같이 본 발명의 PA2 펩타이드가 녹농균 외막단백질과 결합하는 것을 확인하였다.

[0074] **2-2 풀-다운 분석(pull-down assay) 및 ESI-MS/MS 분석**

[0075] PA2 펩타이드의 타겟 단백질을 특정하기 위해 풀-다운 분석(pull-down assay)을 실시하였다. 녹농균 외막단백질(600ug)과 바이오틴 표지된 PA2 펩타이드(50ug)를 4° C에서 하룻밤동안 반응시킨 다음, 스트렙타아비딘 결합된 비드(streptavidin-conjugated bead)를 처리하고 다시 4° C에서 하룻밤동안 반응시켰다. PBS를 이용하여 비드(bead)를 씻어준 다음 50ul의 전기영동 샘플 버퍼(electrophoresis sample buffer)를 처리하고 100° C에서 5분간 끓임으로써 비드(bead)에 부착된 단백질을 회수하였다. 회수된 단백질은 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동법(SDS-PAGE)을 통해 분리하였고 쿠마시 블루 염색(coomassie blue staining)을 통해 확인하였다. 그 결과를 도 2b에 나타내었다.

[0076] 도 2b에서 나타낸 바와 같이 본 발명의 PA2 펩타이드가 약 35kDa 크기의 녹농균 외막단백질과 강하게 결합한 것을 확인하였다. 이 밴드를 회수하여 젤 내 분해(in-gel digestion) 후 Proteinworks(대전, 대한민국)의 MicroQ-TOP III mass spectrometer(Bruker Daltonics, 255748, Germany)를 이용하여 ESI-MS/MS를 수행하였다. 얻어진 MS spectra data 값은 MASCOT ver.2.3의 데이터베이스에서 검색하고, 수집된 펩타이드 서열 정보를 바탕으로 NCBI 단백질 데이터베이스를 통해 결합 단백질을 동정한 결과, 분리된 단백질이 녹농균의 포린(porin) 단백질인 OprF임을 확인하였다.

[0078] **2-3 재조합(recombinant) OprF와 PA2 펩타이드의 결합 확인**

[0079] PA2 펩타이드와 녹농균 OprF의 결합을 확인하기 위해 재조합 OprF를 제작하였다. 데이터베이스에 등록된 녹농균 PA01의 oprF 유전자[Genbank(accession:PA1777)]를 이용하여 oprF 유전자 특이적 프라이머 세트(oprF gene specific primer set)(forward, 5' -CATATGAACTGAAGAACACCTTA -G-3' ; reverse, 5' -CTCGAGCTTGCTTCAGCTTC-3')를 제작하였고 이를 이용하여 녹농균 유전체 DNA(genomic DNA)로부터 중합효소연쇄반응(PCR)를 통해 oprF 유전자를 확보하였다. 확보된 oprF 유전자는 pET-21a 벡터에 클로닝 한 후, BL21(DE3) 대장균 균주를 이용하여 재조합 OprF 단백질을 발현(expression)한 다음 봉입체(inclusion body)를 회수하여 8M 우레아(urea)를 이용하여 봉입체(inclusion body)를 녹인 후, 니켈-친화크로마토그래피(Ni-affinity chromatography)를 이용하여 OprF를 분리하였다. 분리된 OprF는 150mM NaCl과 10% glycerol을 포함하는 20mM Tris-HCl, pH 7.5 buffer를 이용하여 투석(dialysis) 하였다. 100ul의 재조합 OprF(recombinant OprF)(100ug/ml)를 96웰 플레이트에 코팅한 다음, OprF와 PA2 펩타이드의 결합 여부를 상기(실험예 1)와 같이 ELISA를 이용하여 확인하였으며, 이때 대조군으로 PA1 펩타이드를 사용하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0080] 도 3에 나타낸 바와 같이 PA1 펩타이드는 OprF와 결합하지 않는 반면 본 발명의 PA2 펩타이드는 OprF와 결합하는 것을 확인 하였다. 이를 통해 PA2 펩타이드가 OprF와 결합함으로써 녹농균에 특이성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0082] **실시예 2 : 항균펩타이드의 제조**

[0083] 상기 실시예 1에서 발굴한 표적도메인(TD; targeting domain)을 항균 활성 도메인(KD; killing domain)의 N-말

단에 위치시키고, 그 사이를 GGG의 서열로 표시되는 링커(linker)로 연결하여 항균펩타이드를 제조하였다. 이때 표적도메인은 실시예 1에서 발굴한 PA2이며, 항균 활성 도메인은 기 개발된 항균펩타이드 GNU7를 이용하였다. 제조된 항균펩타이드를 PA-GNU7으로 명명하였으며, 그 구체적인 서열 및 구조는 표 2에 나타내었다.

표 2

펩타이드	서열(Sequence)		
	표적 도메인(TD)	링커 (linker)	항균 활성 도메인(KD)
PA-GNU7	SQRKLAAKLTSK (서열번호2)	GGG	RLLRPLLQLLKQKLK (서열번호4)

표 2에 나타낸 항균펩타이드는 상기와 같이 자동화합성기를 이용하여 FMOC 고체상 방법으로 합성하였으며 역상 HPLC로 정제하고, 질량분석기를 이용하여 동정 및 확인하였다.

실험예 3 : 항균펩타이드의 최소저해농도 (minimal inhibitory concentration, MIC) 측정

상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드의 녹농균에 대한 항균력을 확인하기 위해 브로스 극소 희석 분석법(broth microdilution assay)을 이용하였다. 보다 구체적으로, 대수 증식기의 녹농균을 PSB(phosphate buffered saline)를 이용하여 1×10^6 CFU/ml 농도가 되도록 희석하였다. 폴리프로필렌 96-웰 플레이트의 각 웰에 녹농균 희석액($50 \mu\text{l}$)과 2배수로 연속 희석된 펩타이드($50 \mu\text{l}$)를 섞어준 다음, 37°C 에서 3시간 배양하고 여기에 다시 새로운 배지(TSB) $100 \mu\text{l}$ 를 넣은 뒤 37°C 에서 18~20 시간 배양하였다. 그 후 Bio-Rad사의 마이크로플레이트 리더(microplate reader)를 이용하여 각 웰의 흡광도(absorbance)를 595nm에서 측정하여 미생물의 성장을 완전히 억제하는 가장 낮은 펩타이드 농도를 최소저해농도(MIC)로 결정하였다. MIC 값들은 한번에 3개씩, 3번의 독립적인 실험을 통해 얻은 수치의 평균값으로 결정하였다.

상기 방법을 이용하여 측정한 항균펩타이드의 최소저해농도를 측정하였으며, 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

미생물	최소 저해 농도(MIC)(μM)			
	PA2	GNU7	PA-GNU7	PA2 + GNU7 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	>32	32	2	32

* ^a PA2 펩타이드와 GNU7 펩타이드의 등몰 용액(equimolar mixture)

표 3에 나타낸 바와 같이, 항균 활성 도메인으로만 구성된 펩타이드인 GNU7에 비해 표적 도메인인 PA2 펩타이드와 연결된 항균펩타이드(PA-GNU7)의 녹농균에 대한 항균활성이 크게 증가한 것을 확인하였다. 이에 반해 단독으로 PA2 펩타이드를 처리할 경우 항균활성을 나타내지 않았으며, PA2 펩타이드와 GNU7의 등몰 용액의 경우 GNU7과 동일한 항균활성을 가지는 것을 확인하였다.

실험예 4 : 항균펩타이드(PA-GNU7)의 적혈구 용혈 활성 측정

상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드의 인간세포에 대한 독성을 적혈구 용혈활성 측정을 통해 확인하였다. 인간 혈액 3ml로부터 분리한 적혈구를 PBS를 이용하여 씻어준 다음 총 부피가 20ml가 되도록 희석하였다. 준비된 적혈구 용액 190 μl 에 항균펩타이드 10 μl 를 처리하고 37°C 에서 30분간 반응하였다. 그 후 반응액을 원심 분

리하여 얻은 상층액을 PBS를 이용하여 10배 희석한 다음, 567nm에서의 흡광도를 측정하여 적혈구 막 손상에 따른 헤모글로빈(hemoglobin)의 유출을 측정하였다. 용혈 활성[hemolysis (%)]은 하기 수학적 식 1로 계산하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0100] [수학적 식 1]

[0101] 용혈 활성 (%) = $\{(A_s - A_0) / (A_{100} - A_0)\} \times 100\%$

[0102] A_s : 상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드를 처리한 시료의 흡광도;

[0103] A_0 : 상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드를 처리하지 않은 대조군의 흡광도;

[0104] A_{100} : 0.2% Triton X-100을 처리한 시료의 흡광도.

[0105] 도 4에 나타난 바와 같이 본 발명의 항균펩타이드인 PA-GNU7이 측정 농도 범위에서 용혈활성이 매우 낮음을 확인하였다.

[0107] 실험예 5 : 항균펩타이드(PA-GNU7)의 녹농균 특이적 결합 확인

[0108] 상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드(PA-GNU7)의 녹농균 특이성을 확인하기 위해 공초점 주사 레이저 현미경(confocal laser scanning microscopy)을 이용하였다. 보다 구체적으로, PBS를 이용해 희석한 세균(1×10^7 CFU)에 바이오틴 표지된 PA-GNU7(1 μ M)을 처리하여 상온에서 30분간 반응한 다음, poly-L-lysine이 코팅된 슬라이드글라스 표면에 세균을 고정하였다. PBS를 이용하여 세균에 부착하지 않은 PA-GNU7을 씻어준 후, 5 μ g/ml의 스트렙타비딘-알렉사-플루오르 488(streptavidin-Alexa fluor 488)(Invitrogen, CA, USA)을 처리하여 추가로 30분간 반응한 다음 FV1000 공초점 주사 레이저 현미경(confocal laser scanning microscopy)(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 세균 표면에 존재하는 항균펩타이드(PA-GNU7)를 확인하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0109] 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명의 항균펩타이드(PA-GNU7)가 대장균 또는 살모넬라 티피머리움에는 거의 결합하지 않는 반면, 녹농균에 강하게 결합하여 녹농균 표면에 높은 농도로 존재하는 것을 확인하였다.

[0111] 실험예 6 : 항균펩타이드(PA-GNU7)의 녹농균 특이적 항균작용 확인

[0112] 상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드의 녹농균 특이적 항균작용을 확인하기 위해 콜로니 카운팅 분석법(colony counting assay)을 이용하였다. 보다 구체적으로, 녹농균과 2종의 그람음성균(*E. coli*, *S. typhimurium*) 각각을 PBS에 4×10^6 CFU/ml 농도가 되도록 희석하였다. 녹농균 희석액(50 μ l)과 그람음성균 중 1종의 희석액(50 μ l)을 1:1 (v/v)으로 혼합한 다음, 녹농균과 1종의 그람음성균이 포함된 희석액에 항균펩타이드(2 μ M) 100 μ l를 37℃에서 1, 5, 15, 30분간 처리하였다. 반응이 끝난 후 일정 용액을 취하여 순차 희석한 후, 각각 혈액천천배지(blood agar)에 분사하고, 37℃에서 하룻밤 동안 배양하였다. 살아남은 녹농균과 그람음성균은 혈액천천배지(blood agar)에 나타난 콜로니의 용혈(hemolysis) 여부에 따라 구별하였으며, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0113] 도 6에 나타난 바와 같이, GNU7에 비해 PA-GNU7이 강한 녹농균 사멸 활성을 가지는 것을 확인 하였으며 특히 PA-GNU7이 다른 그람음성균에 비해 녹농균을 선택적으로 빠르게 사멸시키는 것을 확인 하였다.

[0115] 실험예 7 : 항균펩타이드(PA-GNU7)의 생체 내(in vivo) 효능 검증

[0116] 상기 실시예 2에서 제조한 항균펩타이드의 생체 내 효능을 확인하기 위해 녹농균 감염 마우스 모델을 이용하였다. 보다 구체적으로, 경상대학교 병원체 자원은행으로부터 분양받은 다제내성녹농균(KBN 1345)을 대수 증식기에 있도록 배양한 다음 PBS를 이용하여 1×10^8 CFU/ml이 되도록 희석하였다. 다제내성녹농균 희석액 200 μ l를 BALB/c 마우스(6-8주령, 암컷)의 복강에 투여하고 30분 후에 PA-GNU7(15mg/kg, 25mg/kg), 메로페넴(meropenem)(25mg/kg), 세프트락심(cefotaxime)(25mg/kg)을 복강을 통해 각각 투여한 다음, 7일간의 생존율을 관

찰하였고 그 결과를 도 7a에 나타내었다. 또한 상기와 동일하게 다제내성균을 감염시킨 후, PA-GNU7(25mg/kg)을 복강을 통해 투여한 다음 12시간 후에 간(liver), 비장(spleen), 콩팥(kidney)을 적출하여 균 질화(homogenization)하고 순차희석한 후, 고체배지에 도말하여 조직 내에 존재하는 다제내성녹농균의 수를 비교하였고 그 결과를 도 7b에 나타내었다.

[0117] 도 7에 나타낸 바와 같이, 기존 항생제에 비해 본 발명의 항균펩타이드 PA-GNU7가 다제내성녹농균이 감염된 마우스의 생존율을 크게 증가시키는 것을 확인하였다. 이러한 생존율의 증가는 본 발명의 항균펩타이드가 녹농균 감염 마우스의 조직 내 녹농균의 수를 크게 감소시킴으로써 나타남을 확인하였다.

[0119] 종합적으로, 본 발명자들은 녹농균에 특이적 결합을 하는 PA1 내지 3 펩타이드를 발굴하였으며, 특히 PA2 펩타이드가 녹농균에 특이적으로 결합 한다는 것을 확인하였다. 또한 상기 PA2 펩타이드를 표적도메인으로 하는 항균펩타이드 PA-GNU7을 제조하였으며, 이는 체외(in vitro) 및 체내(in vivo)에서 녹농균에 대하여 특이적인 항균활성을 가지는 것을 확인하였는바, 본 발명의 항균펩타이드는 항균용 조성물로서 다양한 분야에서 활용할 수 있다.

[0121] 이하, 제제예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 제제예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 제제예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는다.

[0123] 제제예 1. 항균용 약학적 조성물의 제조

[0124] 1-1. 산제의 제조

[0125] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 20 mg

[0126] 유당 100 mg

[0127] 탈크 10 mg

[0128] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0130] 1-2. 정제의 제조

[0131] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 10 mg

[0132] 옥수수전분 100 mg

[0133] 유당 100 mg

[0134] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0135] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0137] 1-3. 캡슐제의 제조

[0138] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 10 mg

[0139] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0140] 락토오스 14.8 mg

[0141] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

- [0142] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [0144] **1-4. 주사제의 제조**
- [0145] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 10 mg
- [0146] 만니톨 180 mg
- [0147] 주사용 멸균 증류수 2974 mg
- [0148] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26 mg
- [0149] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [0151] **1-5. 액제의 제조**
- [0152] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 20 mg
- [0153] 이성화당 10 g
- [0154] 만니톨 5 g
- [0155] 정제수 적량
- [0156] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- [0158] **제제예 2. 항균용 식품 방부제의 제조**
- [0159] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 0.5%
- [0160] 테히드로초산 0.1%
- [0161] 소르빈산칼륨 0.1%
- [0162] 소르빈산칼슘 0.2%
- [0163] 안식향산나트륨 0.5%
- [0164] 안식향산칼륨 0.1%
- [0165] 안식향산칼슘 0.5%
- [0166] 파라옥시안식향산메틸 0.1%
- [0167] 파라옥시안식향산프로필 0.1%
- [0168] 프로피온산 나트륨 0.1%
- [0169] 프로피온산칼슘 0.1%
- [0170] 통상의 방부제 제조방법에 따라 각각 포함시켜 제조한다.
- [0172] **제제예 3. 항균용 화장품 첨가제의 제조**
- [0173] **3-1. 유연화장수(스킨로션)의 제조**

- [0174] 서열번호 1의 아미노산 서열을 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 0.5%
- [0175] 베타-1,3-글루칸 1.0%
- [0176] 부틸렌글리콜 2.0%
- [0177] 프로필렌글리콜 2.0%
- [0178] 카르복시비닐폴리머 0.1%
- [0179] 피이지-12 노닐페닐에테르 0.2%
- [0180] 폴리솔베이트 80 0.4%
- [0181] 에탄올 10.0%
- [0182] 트리에탄올아민 0.1%
- [0183] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0184] 정제수 to 100%

[0186] **3-2. 영양화장수(밀크로션)의 제조**

- [0187] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 0.5 %
- [0188] 베타-1,3-글루칸 1.0 %
- [0189] 밀납 4.0 %
- [0190] 폴리솔베이트 60 1.5 %
- [0191] 솔비탄세스퀴올레이트 1.5 %
- [0192] 유동과라핀 0.5 %
- [0193] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 %
- [0194] 글리세린 3.0 %
- [0195] 부틸렌글리콜 3.0 %
- [0196] 프로필렌글리콜 3.0 %
- [0197] 카르복시비닐 폴리머 0.1 %
- [0198] 트리에탄올아민 0.2 %
- [0199] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0200] 정제수 to 100 %

[0202] **3-3. 영양크림의 제조**

- [0203] 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 1.0 %
- [0204] 베타-1,3-글루칸 5.0 %
- [0205] 밀납 10.0 %
- [0206] 폴리솔베이트 60 1.5 %

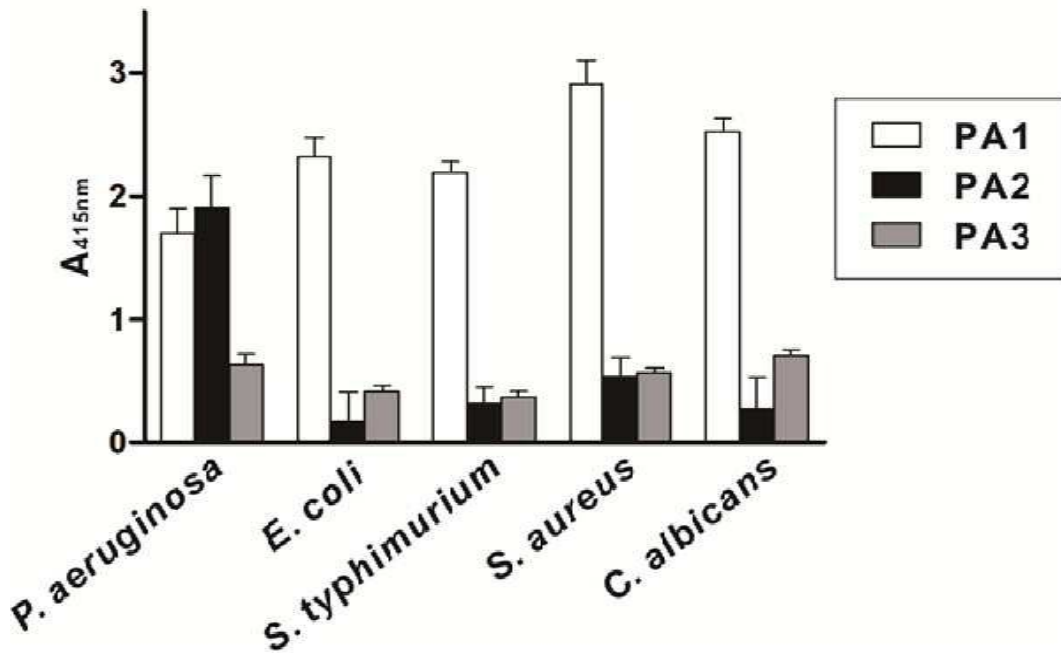
- [0207] 피이지 60 경화피마자유 2.0 %
- [0208] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 %
- [0209] 유동파라핀 10.0 %
- [0210] 스쿠알란 5.0 %
- [0211] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 %
- [0212] 글리세린 5.0 %
- [0213] 부틸렌글리콜 3.0 %
- [0214] 프로필렌글리콜 3.0 %
- [0215] 트리에탄올아민 0.2 %
- [0216] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0217] 정제수 to 100%

- [0219] **제제예 4. 사료 첨가제의 제조**
- [0220] 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 표적 도메인으로 하고, 상기 표적 도메인에 항균 활성 도메인을 링커로 연결한 항균펩타이드 2.0%
- [0221] 글루코스 2.0 %
- [0222] 펩톤 1.0 %
- [0223] 효모추출물 1.0 %
- [0224] 제이인산 0.2 %
- [0225] 황산마그네슘 0.05 %
- [0226] 시스테인 0.05 %
- [0227] 정제수 to 100 %
- [0228] 부형제 탈지강 적량

- [0230] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

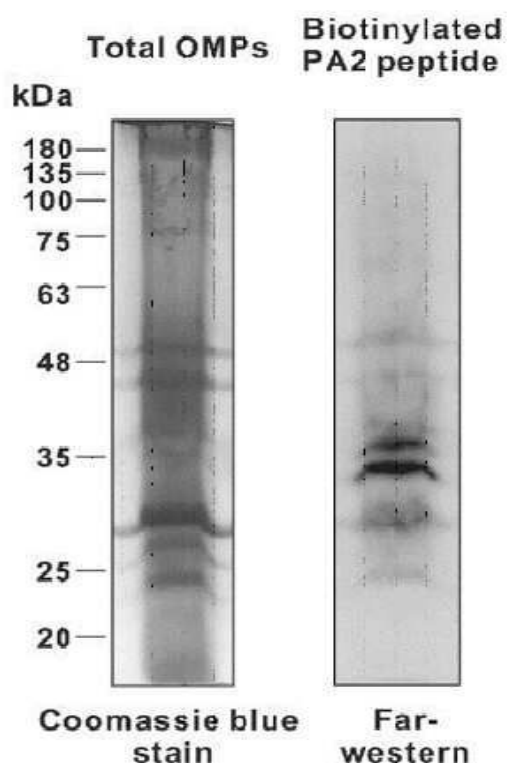
도면

도면1

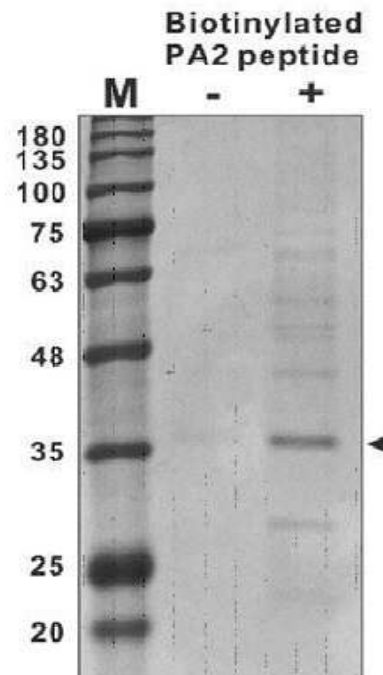


도면2

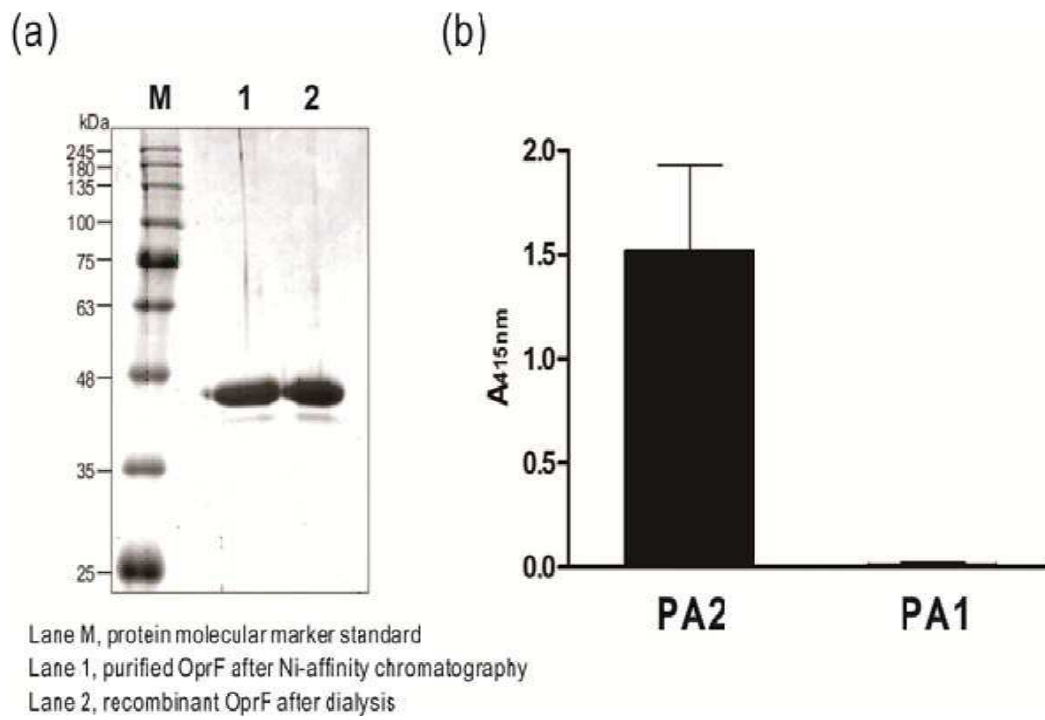
(a)



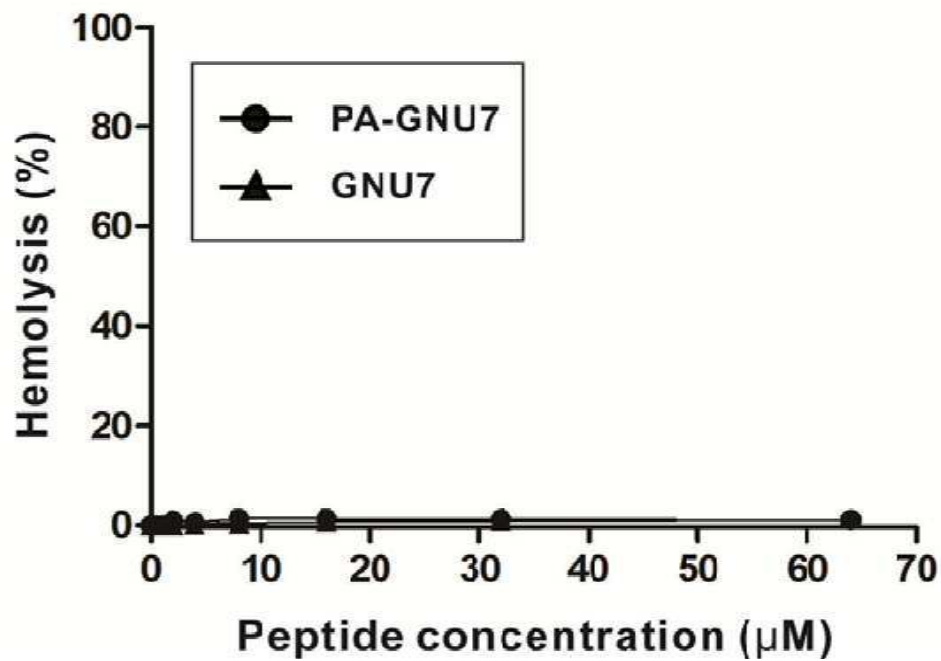
(b)



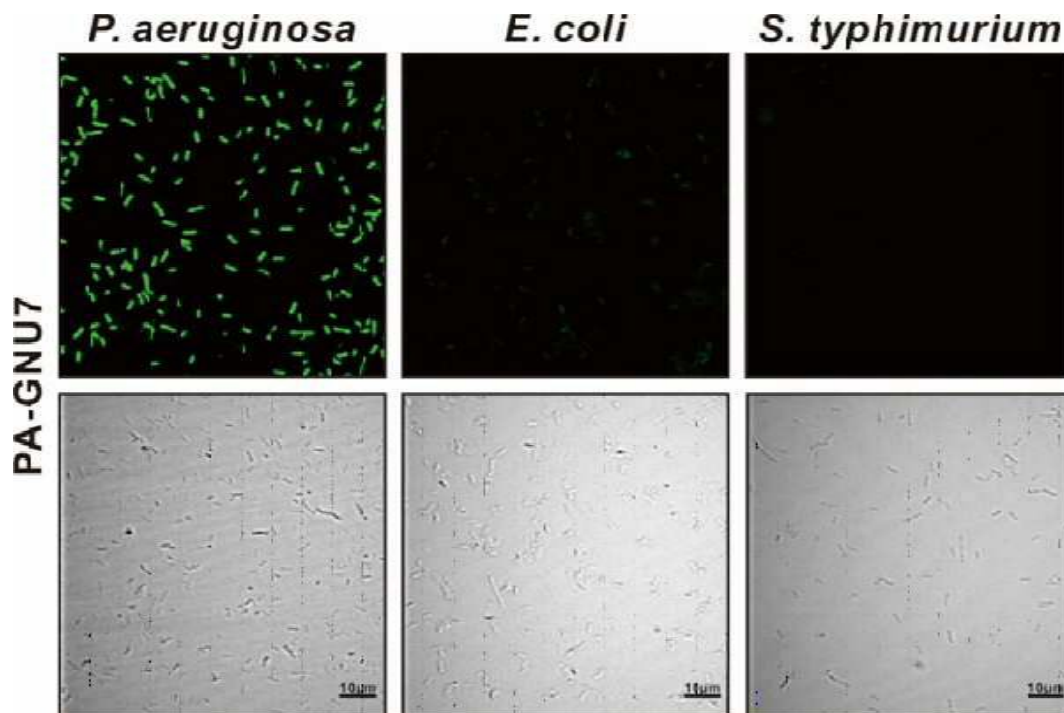
도면3



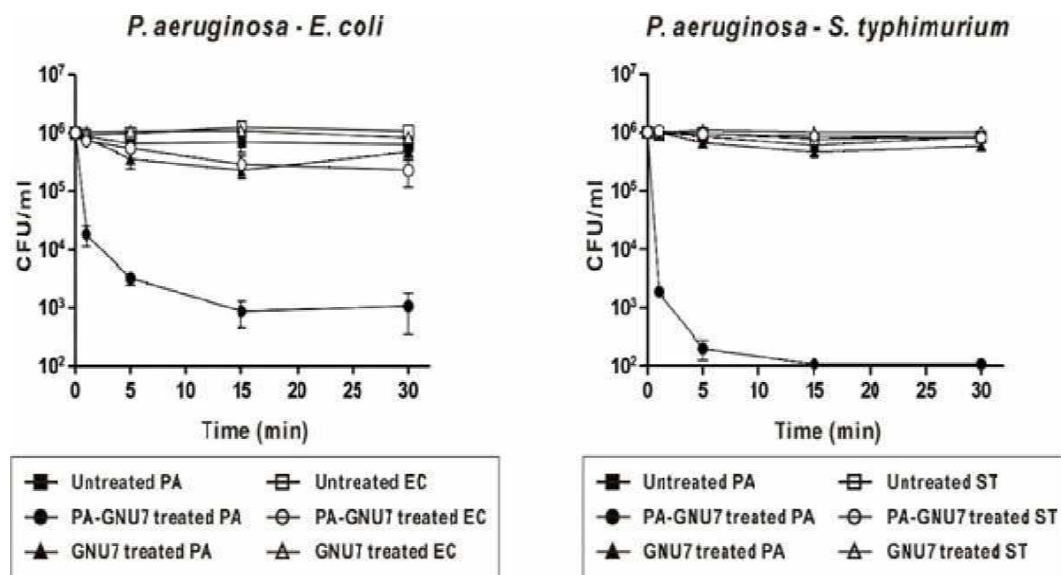
도면4



도면5

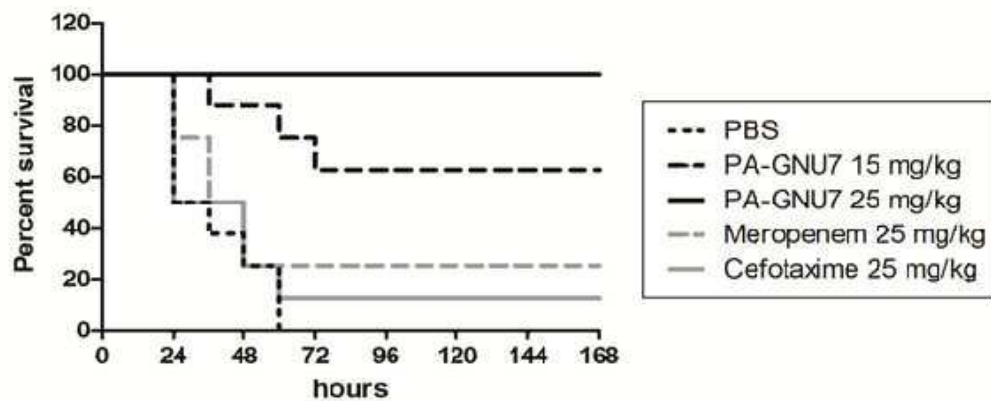


도면6

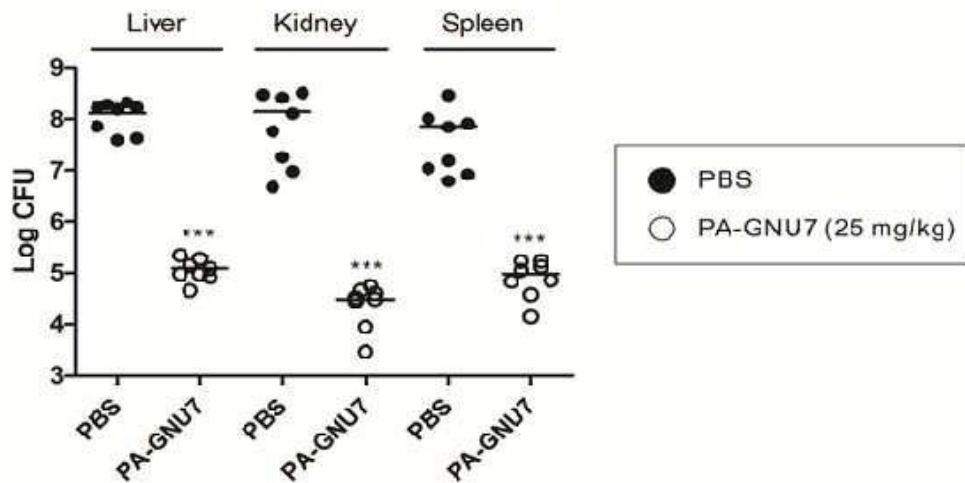


도면7

(a)



(b)



서열 목록

<110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY

<120> Pseudomonas specific antimicrobial peptide and antimicrobial composition comprising the same

<130> 1.243P

<160> 4

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PA1

<400> 1

Ser Cys Ser Ser Leu Thr Thr Leu Arg Pro Cys Gly

1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PA2

<400> 2

Ser Gln Arg Lys Leu Ala Ala Lys Leu Thr Ser Lys

1 5 10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PA3

<400> 3

Val Ile Leu Thr Gly Pro Glu Ala Glu Tyr Phe Trp

1 5 10

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GNU7

<400> 4

Arg Leu Leu Arg Pro Leu Leu Gln Leu Leu Lys Gln Lys Leu Arg

1 5 10 15