



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0046278
(43) 공개일자 2020년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/435 (2006.01) A01N 63/00 (2020.01)
A23L 3/3463 (2017.01) A61K 8/64 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/43572 (2013.01)
A01N 63/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0127192
(22) 출원일자 2018년10월24일
심사청구일자 2018년10월24일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
동아대학교 산학협력단
부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교 내 (하단동)
(72) 발명자
진병래
전라북도 완주군 이서면 출판로 25, 101동 1905호 (혁신도시 에코르 1단지 아파트)
이광식
부산광역시 사하구 하신번영로 400, 102동 2502호(하단동, 하단동에스케이뷰아파트)
김보연
부산광역시 사하구 하신번영로 400, 102동 2502호(하단동, 하단동에스케이뷰아파트)
(74) 대리인
위병갑

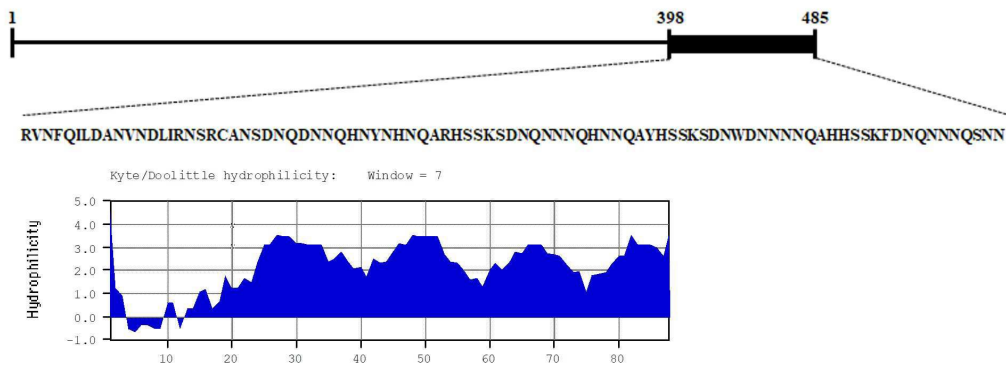
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 신규한 토종벌 유래 로열 젤리 단백질 4-C 말단 펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 토종벌 유래 로열 젤리 단백질 4-C 말단 펩타이드 및 이의 항균, 항진균 및 항효모 용도에 관한 것이다. 본 발명의 동양종 꿀벌인 토종벌(*Apis cerana*) 유래 주요 로열 젤리 단백질 4-C 말단(AcMRJP4-C) 펩타이드는 AcMRJP4 펩타이드보다 더 뛰어난 항균, 항진균 및 항효모성 활성을 나타내는 것을 발견하였고 AcMRJP4의 항균, 항진균 및 항효모성 활성이 C-말단에 기인한 것임을 확인하여, 관련 산업에 유용하게 이용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 3/34635 (2013.01)

A61K 8/64 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A61K 2800/524 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ01326401

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 동물분자유전육종사업단

연구사업명 차세대바이오그린 21사업

연구과제명 꿀벌 유용유전자 기반 질병저항성 형질 개량 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 동아대학교 산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌(*Apis cerana*) 유래 로열 젤리 단백질 4-C-말단 펩티드 (C-terminus polypeptide of major royal jelly protein 4; AcMRJP4-C) 펩타이드.

청구항 2

제1항의 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩타이드를 코딩하는 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 4

제3항의 재조합 벡터가 도입된 형질전환 세포.

청구항 5

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 조성물은 그람양성세균, 그람음성세균 및 항생제 내성 세균으로 이루어진 군에서 선택된 1종에 대하여 항균 활성을 갖는, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 세균은 곤충 병원성 세균 또는 식물 병원성 세균인 것인, 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 조성물은 곤충 병원성 진균 또는 식물 병원성 진균에 항진균 활성을 갖는, 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 조성물은 칸디다 속(*Candida*) 효모에 항효모성 활성을 갖는, 조성물.

청구항 10

서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌 유래 AcMRJP4-C를 포함하는 해충 방제 및 살충용 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 해충은 벼멸구(BPH : Brown PlantHopper), 점박이응애(TSSM : Two Spotted SpiderMite), 담배거세미나방 (TCW : Tobacco CutWorm), 청벌레, 굴파리, 진딧물, 배나무이, 과밤나방, 심식나방, 총채벌레, 온실가루이, 민달팽이, 진딧물, 벼물바구미, 이화명나방 및 흑명나방으로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 이상인 것인 조성물.

청구항 12

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 세균 감염증, 세균 감염증 및 효모 감염증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 감염증의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 13

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 식품 조성물.

청구항 14

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 화장품 조성물.

청구항 15

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 사료 조성물.

청구항 16

서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 생물 농약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 토종벌 유래 로열 젤리 단백질 4-C 말단 펩타이드 및 이의 항균, 항진균 및 항효모 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 주요 로열 젤리 단백질(major royal jelly proteins, MRJPs)은 다양한 생리학적 및 약리학적 활성을 나타내는 꿀벌 로열 젤리(Royal jelly, RJ)의 단백질 성분이다 [Fratini, et al., Microbiol. Res., 192:130-141(2016)]. RJ와 그 구성 성분은 항균 활성을 가지는 것으로 나타났다 [Fratini, et al., Microbiol. Res., 192:130-141(2016)]. RJ의 단백질 성분과 관련하여, 로알리신(royalisin)은 51개의 아미노산 잔기로 이루어져 있으며 박테리아 및 진균에 대한 항균 활성을 나타낸다 [Tseng et al., Biotechnol. Prog., 27:153-161(2011); Shen et al., PLoS One, 7:e47194(2012); Bilikova et al., Peptides, 68:190-196(2015)]. MRJP1에서 유래된 젤레인(jelleine) 1, 2 및 3은 효모 및 그람양성 및 음성세균에 대한 항균 활성을 나타낸다 [Fontana et al., Peptides, 25:919-928(2004); Romanelli et al., J. Pept. Sci., 17:348-352(2011); Cabrera et al., J. Biochemistry, 53:4857-4868(2014); Brudzynski & Sjaarda, PLoS One, 10:e0120238(2015)]. MRJP2의 항균 활성은 이전에 Bilikova et al [Apidologie, 32:275-283(2001)]에 의해 보고된 바 있다. MRJP1의 로알리신 및 MRJP2의 젤레인의 항균 활성을 잘 알려져 있지만, 현재까지 꿀벌 RJ에서 항균 작용을 나타내는 다른 MRJPs의 역할은 거의 알려져 있지 않다.

[0003] 이에 본 발명자들은 동양종 꿀벌인 토종벌(*Apis cerana*) 유래 주요 로열 젤리 단백질 4(AcMRJP4)를 코딩하는 cDNA 유전자를 클로닝하고 염기서열로부터 C-말단 서열은 Asn 및 양전하를 띤 아미노산의 함량이 높다는 점을 밝혔으며, 상기 cDNA 중 C-말단을 암호화하는 폴리펩티드(AcMRJP4-C)를 벡터에 삽입 후 곤충 세포주에 도입하여 생산한 폴리펩티드가 AcMRJP4 보다 더 뛰어난 항균, 항진균 및 항효모성 활성을 나타내는 것을 발견하였고 AcMRJP4의 항균, 항진균 및 항효모성 활성이 C-말단에 기인한 것임을 확인하여, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명의 목적은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌(*Apis cerana*) 유래 로열 젤리 단백질 4-C-말단 펩티드(C-terminus polypeptide of major royal jelly protein 4; AcMRJP4-C) 펩타이드를 제공할 수 있다.

- [0005] 또한 본 발명의 목적은 상기 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩타이드를 코딩하는 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 제공할 수 있다.
- [0006] 또한 본 발명의 목적은 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터를 제공할 수 있다.
- [0007] 또한 본 발명의 목적은 상기 재조합 벡터가 도입된 형질전환 세포를 제공할 수 있다.
- [0008] 또한 본 발명의 목적은 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 조성물을 제공할 수 있다.
- [0009] 또한 본 발명의 목적은 해충 방제 및 살충용 조성물을 제공할 수 있다.
- [0010] 또한 본 발명의 목적은 세균 감염증, 세균 감염증 및 효모 감염증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 감염증의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공할 수 있다.
- [0011] 또한 본 발명의 목적은 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 식품 조성물을 제공할 수 있다.
- [0012] 또한 본 발명의 목적은 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 화장품 조성물을 제공할 수 있다.
- [0013] 또한 본 발명의 목적은 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 사료 조성물을 제공할 수 있다.
- [0014] 또한 본 발명의 목적은 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 생물 농약 조성물을 제공할 수 있다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌(*Apis cerana*) 유래 로열 젤리 단백질 4-C-말단 펩티드(C-terminus polypeptide of major royal jelly protein 4; AcMRJP4-C) 펩타이드를 제공한다.
- [0016] 또한 본 발명은 상기 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩타이드를 코딩하는 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0017] 또한 본 발명은 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.
- [0018] 또한 본 발명은 상기 재조합 벡터가 도입된 형질전환 세포를 제공한다.
- [0019] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 조성물을 제공한다.
- [0020] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌 유래 AcMRJP4-C를 포함하는 해충 방제 및 살충용 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 세균 감염증, 세균 감염증 및 효모 감염증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 감염증의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0022] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 식품 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 사료 조성물을 제공한다.
- [0025] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종벌 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 생물 농약 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0026] 동양종 꿀벌인 토종벌(*Apis cerana*) 유래 주요 로열 젤리 단백질 4-C 말단(AcMRJP4-C) 펩타이드는 AcMRJP4 펩타이드보다 더 뛰어난 항균, 항진균 및 항효모성 활성을 나타내는 것을 발견하였고 AcMRJP4의 항균, 항진균 및 항효모성 활성이 C-말단에 기인한 것임을 확인하여, 관련 산업에 유용하게 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 토종벌 유래 485개의 아미노산으로 구성된 주요 로열 젤리 단백질 4(AcMRJP4)와 88개의 아미노산으로 친수성으로 구성된 AcMRJP4 C-말단 서열을 나타낸 도이다[실선: 주요 로열 젤리 단백질 4 부위; 검은색 박스: AcMRJP4-C 서열부위].

도 2는 본 발명의 토종벌 유래 AcMRJP4 유전자의 AcMRJP4-C 폴리펩티드 부위만을 발현시킨 재조합 단백질의 전기영동 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 재조합 펩티드(토종벌 유래의 AcMRJP4-C 폴리펩티드)의 세균, 진균 및 효모에 대한 결합능을 나타낸 웨스턴블롯 분석 및 공초점현미경 도이다.

도 4는 본 발명의 재조합 펩티드(토종벌 유래의 AcMRJP4-C 폴리펩티드)의 세균, 진균 및 효모에서 세포벽 파괴로 구조적인 손상을 유도한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종벌(*Apis cerana*) 유래 로열 젤리 단백질 4-C-말단 펩티드(C-terminus polypeptide of major royal jelly protein 4; AcMRJP4-C) 펩타이드를 제공한다.

[0029] 본 발명에 따른 펩타이드의 범위는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 상기 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 2로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. 본 발명의 펩타이드는 이의 천연형 아미노산 서열을 갖는 단백질뿐만 아니라 이의 아미노산 서열 변이체가 또한 본 발명의 범위에 포함된다.

[0030] 펩타이드의 변이체란 펩타이드의 천연 아미노산 서열과 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 삽입, 비보전적 또는 보전적 치환 또는 이들의 조합에 의하여 상이한 서열을 가지는 단백질을 의미한다. 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질 및 펩티드에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다 (H.Neurath, R.L.Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). 또한, 펩타이드 또는 이의 변이체는 천연에서 추출하거나 합성 (Merrifield, J. Amer. chem. Soc. 85:2149-2156, 1963) 또는 DNA 서열을 기반으로 하는 유전자 재조합 방법에 의해 제조될 수 있다 (Sambrook et al, Molecular Cloning, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, USA, 2판, 1989).

[0031] 상기 아미노산 변이는 아미노산 결사를 치환체의 상대적 유사성, 예컨대, 소수성, 친수성, 전하, 크기 등에 기초하여 이루어진다. 아미노산 결사를 치환체의 크기, 모양 및 종류에 대한 분석에 의하여, 아르기닌, 라이신과 히스티딘은 모두 양전하를 띤 잔기이고; 알라닌, 글라이신과 세린은 유사한 크기를 갖으며; 페닐알라닌, 트립토판과 타이로신은 유사한 모양을 갖는다는 것을 알 수 있다. 따라서, 이러한 고려 사항에 기초하여, 아르기닌, 라이신과 히스티딘; 알라닌, 글라이신과 세린; 그리고 페닐알라닌, 트립토판과 타이로신은 생물학적으로 기능 동등물이라 할 수 있다.

[0032] 변이를 도입하는 데 있어서, 아미노산의 소수성 인덱스 (hydropathic index)가 고려될 수 있다. 각각의 아미노산은 소수성과 전하에 따라 소수성 인덱스가 부여되어 있다: 아이소루이신 (+4.5); 발린 (+4.2); 루이신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스타인 (+2.5); 메티오닌 (+1.9); 알라닌 (+1.8); 글라이신 (-0.4); 쓰레오닌 (-0.7); 세린 (-0.8); 트립토판 (-0.9); 타이로신 (-1.3); 프롤린 (-1.6); 히스티딘 (-3.2); 글루타메이트 (-3.5); 글루타민 (-3.5); 아스파르테이트 (-3.5); 아스파라긴 (-3.5); 라이신 (-3.9); 및 아르기닌 (-4.5).

[0033] 단백질의 상호적인 생물학적 기능(interactive biological function)을 부여하는 데 있어서 소수성 아미노산 인덱스는 매우 중요하다. 유사한 소수성 인덱스를 가지는 아미노산으로 치환하여야 유사한 생물학적 활성을 보유했을 수 있다는 것은 공지된 사실이다. 소수성 인덱스를 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 소수성 인덱스 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.

- [0034] 한편, 유사한 친수성 값(hydrophilicity value)을 가지는 아미노산 사이의 치환이 균등한 생물학적 활성을 갖는 단백질을 초래한다는 것도 잘 알려져 있다. 미국 특허 제4,554,101호에 개시된 바와 같이, 다음의 친수성 값이 각각의 아미노산 잔기에 부여되어 있다: 아르기닌 (+3.0); 라이신 (+3.0); 아스파테이트(+3.0± 1); 글루타메이트 (+3.0± 1); 세린 (+0.3); 아스파라긴 (+0.2); 글루타민 (+0.2); 글라이신 (0); 스레오닌 (-0.4); 프롤린 (-0.5 ± 1); 알라닌 (-0.5); 히스티딘 (-0.5); 시스테인 (-1.0); 메티오닌 (-1.3); 발린 (-1.5); 루이신(-1.8); 아이소루이신 (-1.8); 타이로신 (-2.3); 페닐알라닌 (-2.5); 트립토판 (-3.4).
- [0035] 친수성 값을 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 친수성 값 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0036] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다(H. Neurath, R.L.Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다.
- [0037] 본 발명에 따른 펩타이드는 통상적인 펩타이드 합성기를 사용한 고체상 방법에 의하여 합성될 수 있다.
- [0038] 통상적으로, 사용되는 아미노산은 N-말단이 보호된 형태 그리고 반응성 측쇄가 보호된 형태로 사용된다. N-말단을 보호하는 보호기로는 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐기(Fmoc)가 일반적으로 사용된다. 반응성 측쇄를 보호하기 위한 보호기로는 트리페닐메틸, 부틸옥시카르보닐, t-부틸에스테르, 펜타메틸크로만-6-술포닐 등이 사용된다.
- [0039] 고체상 반응을 위하여 사용되는 수지는 폴리펩타이드의 C-말단의 형태가 카복실산인지 아마이드 형태인지에 따라 다르게 적용한다. C-말단의 형태가 카복실산인 경우는 2-클로로트리틸 클로라이드(2-Chlorotrityl chloride, CTC), 4-벤질옥시벤질알콜(Wang), 하이드록시메틸페녹시아세틸(HMPA) 수지가 사용될 수 있으며, C-말단의 형태가 아마이드인 경우는 수지의 말단이 아민기로 만들어진 것으로서, 예를 들어 트리알콧시벤즈하이드릴아민(Trialkoxybenzhydrylamine, Rink amide), 메틸벤즈하이드릴아민(MBHA) 수지가 사용될 수 있다.
- [0040] 위의 모든 수지를 사용함에 있어서 펩타이드는 C-말단에서부터 N-말단 방향으로 합성된다. 커플링시 아미노산의 카르복실기를 활성화제로 활성화시키고, 커플링 후 N-말단의 보호기는 피페리딘으로 제거되고, 다음 커플링이 수행된다. 카르복실기 활성화제로는 HATU(N-[(dimethylamino)-1H -1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-ylmethylene]-N-methylmethanaminium hexafluorophosphate N-oxide)와 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(1-hydroxy-7-azabenzotriazole, HOAt) 혹은 HBTU(N-[(1H-benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylene]-N-methylmethanaminium hexafluorophosphate N-oxide)와 1-히드록시벤조트리아졸(1-hydroxybenzotriazole, HOBt)에 DIEA(N,N-diisopropylethylamine)가 함께 이용 될 수 있고, N,N'-디이소프로필카르보디이미드(DIC)와 첨가 보조제로 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(HOAt) 혹은 1-히드록시벤조트리아졸(HOBt)이 함께 사용될 수 있다.
- [0041] 통상적으로, 아미노산이 커플링 된 후에는 N-말단의 아민기는 원하는 아실기를 가지는 아실 활성화체, 예를 들어, 아실안하이드라이드(acyl anhydride)와 DMAP(4-(N,N-dimethylamino)pyridine))를 함께 반응하여 N-말단에서 아마이드 결합을 형성하거나 카르복실산(Fatty acid)과 N,N'-디이소프로필카르보디이미드(DIC), 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(HOAt) 혹은 1-히드록시벤조트리아졸(HOBt)이 함께 사용되어 아마이드 결합을 형성할 수 있다. 그런 후 트리플루오로아세트산(TFA)을 포함하는 절단용액에 의하여 폴리펩타이드 유사체는 고체 수지로부터 분리되고 또한 그것의 측쇄에 결합된 보호기가 제거된다.
- [0043] 또한 본 발명은 상기 토종별 유래 AcMRJP4-C 펩타이드를 코딩하는 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0044] 상기 염기 서열의 변이체가 본 발명의 범위 내에 포함된다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 이를 구성하는 핵산 분자의 작용성 등가물, 예를 들어, 폴리뉴클레오티드의 일부 염기서열이 결실(deletion), 치환(substitution) 또는 삽입(insertion)에 의해 변형되었지만, 폴리뉴클레오티드와 기능적으로 동일한 작용을 할 수 있는 변이체(variants)를 포함하는 개념이다. 구체적으로, 상기 유전자는 서열번호 1의 염기 서열과 각각 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 염기 서열을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드에 대한 "서열 상동성의 %"는 두 개의 최적으로 배열된 서열과

비교 영역을 비교함으로써 확인되며, 비교 영역에서의 폴리뉴클레오타이드 서열의 일부는 두 서열의 최적 배열에 대한 참고 서열(추가 또는 삭제를 포함하지 않음)에 비해 추가 또는 삭제(즉, 겹)를 포함할 수 있다

- [0046] 또한 본 발명은 서열번호 1의 염기서열로 표시되는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.
- [0047] 본 명세서에서 용어 "벡터"는 숙주 세포에서 목적 유전자를 발현시키기 위한 수단으로 벡로로마이러스 벡터; 플라스미드 벡터; 파지미드 벡터; 코즈미드 벡터; 그리고 박테리오파이지 벡터, 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터 및 아데노-연관 바이러스 벡터 같은 바이러스 벡터 등을 포함될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 벡터에서 펩타이드를 코딩하는 유전자는 프로모터와 작동적으로 결합(operatively linked)되어 있다.
- [0049] 본 발명에 있어서, 용어 "작동적으로 결합된"은 유전자 발현 조절 서열(예: 프로모터, 시그널 서열, 또는 전사 조절 인자 결합 위치의 어레이)과 다른 유전자 서열 사이의 기능적인 결합을 의미하며, 이에 의해 상기 조절 서열은 상기 다른 유전자 서열의 전사 및/또는 해독을 조절하게 된다.
- [0050] 본 발명의 벡터 시스템은 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 구축될 수 있으며, 이에 대한 구체적인 방법은 Sambrook et al.(2001), Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press에 개시되어 있으며, 이 문헌은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.
- [0051] 본 발명의 벡터는 전형적으로 클로닝을 위한 벡터 또는 발현을 위한 벡터로서 구축될 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터는 원핵 세포 또는 진핵 세포를 숙주로 하여 구축될 수 있다. 본 발명의 벡터가 발현 벡터이고, 원핵 세포를 숙주로 하는 경우에는, 전사를 진행시킬 수 있는 강력한 프로모터(예컨대, tac 프로모터, lac 프로모터, lacUV5 프로모터, lpp 프로모터, pL λ 프로모터, pR λ 프로모터, rac5 프로모터, amp 프로모터, recA 프로모터, SP6 프로모터, trp 프로모터 및 T7 프로모터 등), 해독의 개시를 위한 라이보솜 결합 자리 및 전사/해독 종결 서열을 포함하는 것이 일반적이다. 숙주 세포로서 E. coli(예컨대, HB101, BL21, DH5 α 등)가 이용되는 경우, E. coli 트립토판 생합성 경로의 프로모터 및 오퍼레이터 부위(Yanofsky, C.(1984), J. Bacteriol., 158:1018-1024) 그리고 파아지 λ 의 좌향 프로모터(pL λ 프로모터, Herskowitz, I. and Hagen, D.(1980), Ann. Rev. Genet., 14:399-445)가 조절 부위로서 이용될 수 있다.
- [0052] 한편, 본 발명에 이용될 수 있는 벡터는 당업계에서 종종 사용되는 플라스미드 (예: pSC101, pGV1106, pACYC177, ColE1, pKT230, pME290, pBR322, pUC8/9, pUC6, pBD9, pHc79, pIJ61, pLAFR1, pHV14, pGEX 시리즈, pET 시리즈 및 pUC19 등), 파아지미드(예: pComb3X), 파아지 또는 바이러스 (예: SV40 등)를 조작하여 제작될 수 있다.
- [0053] 한편, 본 발명의 벡터가 발현 벡터이고, 진핵 세포를 숙주로 하는 경우에는, 포유동물 세포의 유전체로부터 유래된 프로모터(예: 메탈로티오닌 프로모터) 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터(예: 아데노바이러스 후기 프로모터, 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터, SV40 프로모터, 사이토메갈로바이러스 프로모터 및 HSV의 사 프로모터)가 이용될 수 있으며, 전사 종결 서열로서 폴리아데닐화 서열을 일반적으로 갖는다.
- [0054] 본 발명의 벡터는 단백질의 정제를 용이하게 하기 위하여, 필요에 따라 다른 서열과 융합될 수도 있으며, 융합되는 서열은 예컨대, 글루타티온 S-트랜스퍼라제(Pharmacia, USA), 말토스 결합 단백질(NEB, USA), FLAG (IBI, USA) 및 6x His(hexahistidine; Quiagen, USA) 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 본 발명의 발현 벡터는 선택표지로서, 당업계에서 통상적으로 이용되는 항생제 내성 유전자를 포함할 수 있으며, 예를 들어 암피실린, 겐타마이신, 카바페넴, 클로람페니콜, 스트렙토마이신, 카나마이신, 게네티신, 네오마이신 및 테트라사이클린에 대한 내성 유전자가 있다.
- [0056] 또한 본 발명은 상기 재조합 벡터가 도입된 형질전환 세포를 제공한다.
- [0057] 본 발명의 벡터를 안정되면서 연속적으로 클로닝 및 발현시킬 수 있는 숙주 세포는 당업계에 공지된 어떠한 숙주 세포도 이용할 수 있으며, 예컨대, 에스케리치아 콜라이(Escherichia coli), 바실러스 서브틸리스 및 바실러스 쉐린겐시스와 같은 바실러스 속 균주, 스트렙토마이세스(Streptomyces), 슈도모나스(Pseudomonas)(예를 들면, 슈도모나스 푸티다(Pseudomonas putida)), 프로테우스 미라빌리스(Proteus mirabilis) 또는 스태필로코쿠스(Staphylococcus)(예를 들면, 스태필로코쿠스 카르노수스(Staphylococcus carnosus))와 같은 원핵 숙주 세포

를 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다..

- [0058] 본 발명의 벡터를 숙주 세포 내로 운반하는 방법은, CaCl₂ 방법(Cohen, S.N. et al.(1973), Proc. Natl. Acac. Sci. USA, 9:2110-2114), 하나한 방법(Cohen, S.N. et al.(1973), Proc. Natl. Acac. Sci. USA, 9:2110-2114; 및 Hanahan, D.(1983), J. Mol. Biol., 166:557-580) 및 전기 천공 방법(Dower, W.J. et al.(1988), Nucleic. Acids Res., 16:6127-6145) 등에 의해 실시될 수 있다.
- [0060] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효 모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 조성물을 제공한다.
- [0061] 상기 조성물은 그람양성세균, 그람음성세균 및 항생제 내성 세균으로 이루어진 군에서 선택된 1종에 대하여 항 균 활성을 갖을 수 있다. 상기 그람양성세균, 항생제 내성 세균 및 그람음성세균은 바람직하게는 곤충 병원성 세균 또는 식물 병원성 세균일 수 있다. 상기 식물 병원성 세균은 *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Acidovorax*, *Erwinia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Xyella*, *Streptomyces*, *Clavibacter*, *Bacillus*, *Candidatus* *Phytoplasma* 및 *Spiroplasma*으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 곤충 병원성 세균은 *Xenorhabdus* 또는 *Photorhabdus*, *Xenorhabdus* 및 *Photorhabdus*으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 더욱 바람직하게는, 상기 그람 양성세균은 패니바 실러스 라베(*Paenibacillus larvae*)이고, 상기 그람음성세균은 슈도모나스 애루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0062] 상기 조성물은 곤충 병원성 진균 또는 식물 병원성 진균에 대하여 항진균 활성을 갖을 수 있다.
- [0063] 상기 곤충 병원성 진균은 보베리아(*Beauveria*) 속, 메탈히지움(*Metarrhizium*) 속, 이사리아(*Isaria*) 속, 엔토 모파가(*Entomophaga*) 속, 벨티시리움(*Verticillium*) 속, 노무라에(*Nomuraea*) 및 아스코스페라(*Ascosphaera*) 속 으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이나, 바람직하게는 *Ascosphaera apis*이고, 이에 제한되지 않는다.
- [0064] 상기 식물 병원성 진균은 아스퍼질러스 속(*Aspergillus*), 페니실리움 속(*Penicillium*), 푸사리움 속 (*Fusarium*), 트리코테르마(*Trichoderma*) 속, 보트리티스(*Botritis*) 속, 콜레토티리쿰(*Colletotrichum*) 속 및 디디멜라(*Didymella*) 속으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0065] 상기 항생제 내성균은 항생제 내성을 갖는 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 스탕필로코커스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*), 스탕필로코커스 표제네스(*Streptococcus pyogenes*), 슈도모나스 애루지노사 (*Pseudomonas aeruginosa*), 클로스트리듐 디피실리(*Clostridium difficile*), 살모넬라 엔테리티디스 (*Salmonella enteritidis*) 및 살모넬라 타이피뮤리움(*Salmonella typhimurium*)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0066] 본 발명에 있어서, 상기 스탕필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)는 주요 항생제 내성균으로서, 항생 제 내성 및 정도에 따라, 다제내성 황색포도상구균 (multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*, MDRSA), 메 티실린 내성 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 반코마이신 내성 황색포도 상구균(vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA) 및 반코마이신 중등도 내성 황색포도상구균 (vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*, VISA)으로 분류될 수 있다.
- [0067] 본 발명에 있어서, 상기 항생제는 베타-락탐계 또는 비 베타-락탐계로베타-나눌 수 있고, 락탐계 항생제, 페니 실린(penicillin) 계열 항생제, 세팔로스포린(Cephalosporin) 계열 항생제, 카바페넴(Carbapenem) 계열의 항생 제가 포함될 수 있다. 또한, 비 베타-락탐계 항생제는 아미노글리코사이드(aminoglycoside) 계열, 테트라사이클 린(Tetracycline) 계열, 마크로라이드(Macrolide) 계열, 퀴놀론(quinolone) 계열, 리팜피신(rifampicin) 계열, 설펜아미드(Sulfonamides) 계열, 폴리펩타이드(Polypeptide) 계열, 린코사마이드(Lincosamide) 계열, 플로르퀴 놀론(fluoroquinolone) 계열 및 세파로스포린(Cephalosporin) 계열을 포함할 수 있으며, 본 발명의 항생제 내성 균은 상기 항생제로 인하여 발생된 내성균을 포함할 수 있다.
- [0069] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 토종별 유래 AcMRJP4-C를 포함하는 해충 방제 및 살충용 조성물을 제공한다.
- [0070] "살충 조성물"은 해충 방제용 조성물로서 해충의 예에는 바람직하게는 나비 목 해충 또는 딱정벌레목 해충일 수

있으나 이에 제한되지 않고 적용 가능한 모든 일반적인 해충에 사용 가능하다. 바람직하게는, 상기 해충은 벼멸구(BPH : Brown PlantHopper), 점박이응애(TSSM : Two Spotted SpiderMite), 담배거세미나방 (TCW : Tobacco CutWorm), 청벌레, 굴파리, 진딧물, 배나무이, 과밤나방, 심식나방, 총채벌레, 온실가루이, 민달팽이, 진딧물, 벼물바구미, 이화명나방 및 흑명나방으로 이루어진 군 중에 선택된 1종 이상이나, 이에 제한되지 않는다.

[0071] 해충 방제용 조성물로 제조함에 있어서 예를 들어, 에스테르 화합물, 포화 탄화수소 및 에스테르 그리고 필요에 따라 기타 살충 활성 성분, 살비 활성 성분, 반발적 활성 성분, 상승제, 향미제 등을 실온 또는 가열 하에 혼합 및 용해함으로써 제조될 수 있다. 상기 조성물이 해충 방제를 위해 사용되는 경우, 그 자체로 또는 상기 조성물을 포함하는 해충 방제제 제형의 형태로 적용될 수 있는데 제형에는 예를 들어, 오일, 유제, 수-분산가능한 분말, 플로우블제(flowable agent)(수성 현탁액, 수성 유제 등), 분말, 과립, 에어로솔, 가열된 증기화제(살충 코일(insecticide coil), 전기 살충 매트(matt), 액체-흡수 샤프트(shaft)를 가진 가열된 살충-증기화제 등), 가열된 훈증제(자기-연소형 훈증제, 화학-반응형 훈증제, 다공-세라믹판 훈증제 등), 비가열된 증기화제(수지 증기화제, 함침지 증기화제 등), 분무제(포깅(fogging) 등), ULV 제, 및 유독성 먹이(poisonous bait)가 포함된다.

[0073] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 세균 감염증, 세균 감염증 및 효모 감염증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 감염증의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0074] 본 발명에 따른 펩타이드는 세균 감염증에 의한 감염 질환에 대한 항균 효과를 나타내어 감염 질환의 예방 및 치료 효과를 나타낼 수 있다. 상기 감염 질환은 여드름, 아토피 피부염, 화농증, 염증 치주질환, 위질환, 식중독, 패혈증, 패혈성 쇼크, 심장 내막염, 장염, 뇌수막염, 골수염, 척추 카리예스, 폐렴, 골수염, 임균 감염 및 수막구균 감염으로 이루어진 질환에서 선택된 1종 이상이나, 이에 제한되지 않는다.

[0075] 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 진균 감염증 또는 효모 감염증에 의한 감염 질환에 대한 항진균 및 항효모성 효과를 나타내어 감염 질환의 예방 및 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[0077] 본 발명의 약학 조성물에는 펩타이드 이외에 보조제(adjutant)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 보조제는 당해 기술분야에 알려진 것이라면 어느 것이나 제한 없이 사용할 수 있으나, 예를 들어 프로인트(Freund)의 완전 보조제 또는 불완전 보조제를 더 포함하여 그 효과를 증가시킬 수 있다.

[0078] 본 발명에 따른 약학 조성물은 유효성분을 약학적으로 허용된 담체에 혼입시킨 형태로 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용된 담체는 제약 분야에서 통상 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학 조성물에 이용할 수 있는 약학적으로 허용된 담체는 이들로 제한되는 것은 아니지만, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0079] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0080] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 그러한 고형 제제는 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카르보네이트, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 일반적으로 사용되는 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수용성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0081] 본 발명에 따른 약학 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면 경구, 정맥, 근육, 피하, 복강내 주사에 의해 투여될 수 있다.

- [0082] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 성별, 신체 상태 등을 고려하여 선택된다. 상기 약학 조성물 중 포함되는 펩타이드의 농도는 대상에 따라 다양하게 선택할 수 있음은 자명하며, 바람직하게는 약학 조성물에 0.01 ~ 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 포함되는 것이다. 그 농도가 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 미만일 경우에는 약학 활성이 나타나지 않을 수 있고, 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 초과할 경우에는 인체에 독성을 나타낼 수 있다.
- [0084] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 식품 조성물을 제공한다.
- [0085] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 펩타이드를 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0086] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.
- [0087] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0088] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0090] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0091] 본 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 각종 크림, 로션, 스킨, 에센스 등과 같은 화장품류와 샴푸, 린스, 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 팩, 미용액 등이 있다.

- [0092] 본 발명의 화장료는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 추출물로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 포함한다.
- [0093] 수용성 비타민으로서의 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 엽산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등을 들 수 있으며, 그들의 염 (티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체 (아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)도 본 발명에서 사용할 수 있는 수용성 비타민에 포함된다. 수용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.
- [0094] 유용성 비타민으로서의 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E (d1-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤) 등을 들 수 있으며, 그들의 유도체(팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산d1-알파 토크페롤, 니코틴산d1-알파 토크페롤비타민 E, DL-판토텐일알코올, D-판토텐일알코올, 판토텐일에틸에테르 등) 등도 본 발명에서 사용되는 유용성 비타민에 포함된다. 유용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.
- [0095] 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴, 케라틴 등을 들 수 있다. 고분자 펩티드는 미생물의 배양액으로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 정제 취득할 수 있으며, 또는 통상 돼지나 소 등의 진피, 누에의 견섬유 등의 천연물로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0096] 고분자 다당으로서의 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 (나트륨염 등) 등을 들 수 있다. 예를 들어, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 등은 통상 포유 동물이나 어류로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0097] 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 세라미드, 피토스핑고신, 스펅고당지질 등을 들 수 있다. 스펅고 지질은 통상 포유류, 어류, 패류, 효모 또는 식물 등으로부터 통상의 방법에 의해 정제하거나 화학 합성법에 의해 취득할 수 있다.
- [0098] 해초 추출물로는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 갈조 엑기스, 홍조 엑기스, 녹조 엑기스 등을 들 수 있으며, 또, 이들의 해초 엑기스로부터 정제된 칼라기난, 아르긴산, 아르긴산나트륨, 아르긴산칼륨 등도 본 발명에서 사용되는 해초 엑기스에 포함된다. 해초 엑기스는 해초로부터 통상의 방법에 의해 정제하여 취득할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 화장료에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서의 유지성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및무기안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다. 유지 성분으로서의 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 들 수 있다.
- [0100] 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산 부틸, 팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산 에틸, 리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산다이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸올프로판, 트라이소스테아르산 트리메틸올프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타에릴슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시놀올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산 이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴, 카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리운데실산글리세릴, 트라이소팔미틴산글리세릴, 트라이소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오펜탄산헥실데실, 네오펜탄산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리세린올레인산에스테르, 폴리글리세

린이소스테아르산에스테르, 시트르산트라이소세틸, 시트르산트라이소알킬, 시트르산트라이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸, 시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리오옥틸, 말산다이소스테아릴, 히드록시스테아르산 2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산다이소부틸, 세바신산다이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴, 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 올레인산콜레스테릴, 올레인 산디히드로콜레스테릴, 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드록시스테아르산스테아릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴 등의 에스테르 계 등을 들 수 있다.

[0101] 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부텐, 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등의 탄화수소계 유지 등을 들 수 있다.

[0102] 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산 및 메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산 및 메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노 변성 실리콘유 등을 들 수 있다.

[0103] 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 들 수 있다.

[0104] 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마커테이미아너트유, 메도홍유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밍크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔테리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린, 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.

[0105] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.

[0106] 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리글리세린B(중합도 $n = 2$ 이상), 락트산, 락트산염 등을 들 수 있다.

[0107] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.

[0108] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성키틴, 키토산, 텍스트린 등을 들 수 있다.

[0109] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈 및 에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈 및 헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다. 에몰리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.

[0110] 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

[0111] 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린 지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE(폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비탄지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE 및 POP(폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌) 공중합체, POE 및 POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드, 수소첨가대두인지질 등을 들 수 있다.

[0112] 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인산염, 알킬아미드 인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술폰숙신산염, 알킬술폰아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩티드염, 퍼플루오로알킬인산에스테르 등을 들 수 있다.

[0113] 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산 디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염 등을 들 수 있다. 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형,

술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드 술포 베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

[0114] 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 텔크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체등의 무기 안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 디비닐벤젠 및 스티렌 공중합체, 실리카파우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트오렌지 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료 등을 들 수 있다.

[0115] 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염 ; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염 ; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술포산 다가금속염 ; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파-파리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지 지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산 ; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드 ; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의 알파-아미노지방산 ; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠 및 스티렌 공중합체, 사불화에틸렌 등을 들 수 있다.

[0116] 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모 노-2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시 계피산 이소프로필, 디이소프로필 및 디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술포산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술포산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert-부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p-(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진, 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸 등을 들 수 있다.

[0117] 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301 호, 모노니트로파이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

[0118] 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리스르빈산 등을 들 수 있다.

[0119] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.

[0120] 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 들 수 있다.

[0121] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.

[0122] 본 발명의 화장료는 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.

[0123] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.

[0124] 본 발명의 피부 미백 및 피부 노화방지용 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액, 모발화장료 등을 들 수 있다.

[0125] 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 밀크 로션, 아스트린젠트, 로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 헤어로션, 헤어토닉, 헤어에센스, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 바디로션 및 바디클렌저의 제형을 포함한다.

[0126] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전

분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화 아연 등이 이용될 수 있다.

[0127] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0128] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0129] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0130] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0132] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 사료 조성물을 제공한다.

[0133] 본 발명의 사료 조성물은 기존의 항균제, 항진균제 항효모제를 대체하고 유해한 식품 병원성균의 생장을 억제하는 바, 동물체의 건강상태를 양호하게 하고, 가축의 증체량과 육질을 개선시키며, 산유량 및 면역력을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다. 본 발명의 사료 조성물은 발효사료, 배합사료, 펠렛 형태 및 사일리지 등의 형태로 제조될 수 있다. 상기 발효사료는 본 발명의 펩타이드 이외의 여러 가지 미생물균 또는 효소들을 첨가함으로써 유기물을 발효시켜 제조할 수 있으며, 배합사료는 여러 종류의 일반사료와 본 발명의 펩타이드를 혼합하여 제조할 수 있다. 펠렛 형태의 사료는 상기 배합사료 등을 펠렛기에서 열과 압력을 가하여 제조할 수 있으며, 사일리지는 청예 사료를 본 발명에 따른 미생물로 발효시킴으로써 제조할 수 있다. 습식발효사료는 음식물 쓰레기 등과 같은 유기물을 수집 및 운반하여 살균과정과 수분조절을 위한 부형제를 일정비율로 혼합한 후, 발효에 적당한 온도에서 24시간 이상 발효하여, 수분함량이 약 70%로 포함되도록 조절하여 제조할 수 있다. 발효건조사료는 습식 발효 사료를 건조과정을 추가로 거쳐 수분함량이 30% 내지 40% 정도 함유되도록 조절하여 제조할 수 있다.

[0134] 본 발명의 사료 조성물은 종래 사료에 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있다. 이러한 사료에 첨가되는 성분의 일례로서 곡류분말, 고기분말, 및 두류 등을 포함할 수 있다. 상기에서 곡류분말은 쌀가루, 밀가루, 보리가루, 및 옥수수가루 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 상기에서 고기분말은 닭고기, 소고기, 돼지고기, 및 타조고기 중에서 선택된 어느 하나 이상을 분말화한 고기분말을 사용할 수 있다. 상기에서 두류는 대두, 강낭콩, 완두콩, 및 검정콩 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

[0135] 본 발명의 사료 조성물은 상기에서 언급한 종래 사료에 첨가되는 성분인 곡류분말, 고기분말, 및 두류 이외에도 사료의 영양성을 증대시키기 위해 영양제, 및 무기물 중에서 선택된 어느 하나 이상을 첨가할 수 있으며, 사료 품질의 저하를 막기 위해 항곰팡이제, 항산화제, 항응고제, 유화제, 및 결착제 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0137] 또한 본 발명은 서열번호 2로 표시되는 토종별 유래 AcMRJP4-C 아미노산을 포함하고, 항균용, 항진균용 및 항효모용으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용도를 갖는 생물 농약 조성물을 제공한다.

[0138] 본 발명의 용어 "생물농약(biotic pesticide)"이란, 천적곤충, 천적미생물, 길항미생물 등을 이용하여 화학농약과 같은 형태로 살포 또는 방사하여 병해충 및 잡초를 방제하는 약제를 의미하는데, 천적곤충제, 천적미생물제

와 같은 해충방제용 생물농약, 균핵을 살멸하는 병해방제용 생물농약, 잡초방제용 생물농약 등을 포함한다.

[0139] 본 발명의 용어 "생물농약 보조용 조성물"이란, 상술한 해충방제용 생물농약, 병해방제용 생물농약, 잡초방제용 생물농약의 활성을 향상시키거나 또는 범위를 확장시키는 등의 보조적인 역할을 수행하는 조성물을 의미한다

[0141] 상기 조성물은 의료기기, 의료용 재료 또는 의료용 이식물에 코팅될 수 있다. 일례로, 상기 코팅용 조성물로 피부, 치아와 같은 생물체 유래 조직 또는 기관을 코팅할 수 있으며, 각종 의료용 설비, 장비, 기구, 임식 또는 영구용 인공삽입 보형물인 렌즈, 인공관막, 페이스메이커, 수술용 핀, 삽입 도관, 카테터 등 의료용 물건을 코팅할 수 있으나, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[0143] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0145] [실시예 1] 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩티드를 코딩하는 유전자 클로닝

[0146] 토종벌(*Apis cerana*) 충체로부터 추출한 poly(A) 및 mRNA를 이용하여 상용화된 키트인 Uni-ZAP XR 벡터와 Gigapack III Gold Packing Extract(Stratagene 사, 미국)에 의해 cDNA 라이브러리를 제작하고, 유전자 발현 꼬리표(expressed sequence tags, ESTs)를 분석하였다. DNA 추출은 상용화 키트인 Wizard mini-preparation 키트(Promega 사, 미국)를 사용하였다. DNA 염기서열은 자동화 DNA 서열분석기(Applied Biosystems 사, 미국)로 서열을 분석하였다.

[0147] 이의 결과, 토종벌 ESTs 분석에 의해 485개의 아미노산을 코딩하고 있는 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드 유전자의 cDNA를 클로닝하였고, 이를 서열번호 1에 나타내었다. 또한, 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드 유전자의 cDNA로부터 번역한 아미노산 서열의 데이터베이스 분석 결과를 서열번호 2에 나타내었다.

[0148] 상기 서열의 분석결과를 도 1에 나타내었다.

[0149] 도 1에 나타난 바와 같이, 벌로부터 보고된 AcMRJP4 C-말단 펩티드는 88개의 아미노산 잔기로 이루어진 친수성 펩티드이고 특이하게도 Asn과 양전하를 띤 아미노산을 많이 가지고 있다는 것을 밝혔다.

[0150]

[0151] [실시예 2] 재조합 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩티드를 발현하는 벡터의 제조 및 곤충세포주에서 발현 확인.

[0152] 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드를 발현하기 위하여, 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드 cDNA의 성숙 펩티드 부분을 곤충 베칼로바이러스(*Autographa californica* nucleopolyhedrovirus) 전이벡터 pBAC8(Clontech 사, 미국)에 삽입한 뒤, 전이벡터(500 ng)와 비에이시고자(*bAcGOZA*) 바이러스 DNA(100 ng) [Je et al., Biotechnol. Lett., 23:575-582(2001)]를 함께 리포펙틴(Lipofectin; Clontech 사)을 이용하여 곤충세포주 Sf9(*Spodoptera frugiperda* 9)에 공-형질감염(co-transfection)하였다. 5일 후 배양액을 수거하여 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드를 발현하는 재조합 베칼로바이러스를 제작하였다. 재조합 베칼로바이러스는 Sf9 세포주에서 증식하였고, 재조합 AcMRJP4 C-말단 펩티드는 MagneHisTM protein purification system(Promega 사, 미국)을 이용하여 분리하였다. 분리된 토종벌 유래 AcMRJP4-C 펩티드 전기영동사진은 도 2에 나타내었다.

[0153] 도 2에 나타난 바와 같이, 토종벌 유래 AcMRJP4 C-말단 펩티드는 전기영동 상에서 약 15 kDa의 분자량을 나타내는 염색 결과를 확인할 수 있었다. AcMRJP4-C는 높은 양전하를 띤 아미노산을 함유하고 있기 때문에 항균 활성을 나타낼 것으로 기대하고 항균 활성을 분석하였다.

[0155] [실시예 3] 토종벌 유래 재조합 AcMRJP4-C 펩티드의 활성 검증

[0156] 1. 항균 활성 분석

[0157] 재조합 AcMRJP4-C 펩티드의 항균 활성 분석을 위해 그람양성세균 *Paenibacillus larvae*, 그람음성세균인 *Pseudomonas aeruginosa*, 곤충병원성 진균인 *Ascosphaera apis*, 효모 *Candida albicans*를 본 연구에 사용되었

다.

[0158] 보다 구체적으로, *P. larvae* 및 *P. aeruginosa*를 Luria-Bertani(LB) 배지에, *A. apis*는 potato dextrose broth에 그리고 *C. albicans*는 yeast malt 배지에서 배양하였다. 96-well 플레이트에 여러 가지 농도의 재조합 AcMRJP4-C 펩티드와 세균(2×10^3 cfu/well), 진균(1×10^3 conidia/well), 또는 효모(1×10^3 cfu/well) 200 μ l를 혼합하여 세균 및 효모는 37℃에서 24시간, 진균에 대하여는 22℃에서 48시간 동안 220 rpm의 속도로 진탕배양하고 595 nm에서 세균 성장 저해 활성을 측정하였다.

[0159] 표 1에 나타난 바와 같이 그람양성균인 *P. larvae*의 50% 성장 억제 활성 MIC₅₀은 11.2 ± 0.9 μ M, 그람음성균인 *P. aeruginosa*에서 MIC₅₀은 13.7 ± 0.3 μ M로 나타났으며 곤충병원균인 *A. apis*의 50% 성장 억제 활성 IC₅₀은 8.2 ± 0.7 μ M로, 효모 *C. albicans*의 IC₅₀은 4.1 ± 0.3 μ M로 확인되었다.

표 1

[0160] 표 1. 세균, 진균 및 효모에 대한 AcMRJP4-C 펩티드의 항균 활성

	Microorganism	MIC ₅₀ (μ M)
Gram-positive bacteria	<i>P. larvae</i>	11.2 ± 0.9
Gram-negative bacterium	<i>P. aeruginosa</i>	13.7 ± 0.3
		IC ₅₀ (μ M)
Fungi	<i>A. apis</i>	8.2 ± 0.7
Yeast	<i>C. albicans</i>	4.1 ± 0.3

[0162] 2. 미생물 결합능 확인

[0163] 본 발명의 토종별 유래 AcMRJP4-C 펩티드의 항균제로서의 사용가능성을 확인하기 위하여, AcMRJP4-C의 결합능을 확인하였다.

[0164] 보다 구체적으로, *P. larvae*, *P. aeruginosa*, *A. apis* 및 *C. albicans*를 배양하여 배양액이 OD₆₀₀에서 0.4에 이르렀을 때, 수거하여 PBS를 이용하여 세척하고 0.8 μ g의 재조합 AcMRJP4-C 펩티드를 포함한 40 μ l에 세균, 진균 또는 효모와 혼합하여 상온에서 10분간 반응시켰다. 10분후, 원심분리하여 상등액과 세균, 진균 또는 효모를 분리시키고 세균, 진균 또는 효모를 다시 PBS로 세척하여 각각의 균과 상등액을 15% SDS-PAGE를 실시하고 His-tag 항체를 이용하여 웨스턴블랏 분석을 실시하였다. AcMRJP4-C는 그람양성균인 *P. larvae*, 그람음성균인 *P. aeruginosa*, 곤충병원성 곰팡이인 *A. apis* 및 효모 *C. albicans*에 결합하였다 (도 3A).

[0165] AcMRJP4-C의 결합능을 가시적으로 확인하기 위하여 세균, 진균 또는 효모와 AcMRJP4-C를 반응시키고 세균, 진균 또는 효모를 슬라이드위에 고정시켰다. His-tag 항체 및 형광 항체를 이용하여 염색시키고 공초점현미경을 이용하여 관찰 및 사진 촬영 하였다. 그 결과, 웨스턴블랏 분석 결과와 마찬가지로, 세균, 진균 또는 효모에 AcMRJP4-C가 결합되어 있었다 (도 3B).

[0167] 3. 재조합 AcMRJP4-C 펩티드에 의한 세균, 진균 및 효모의 형태 분석

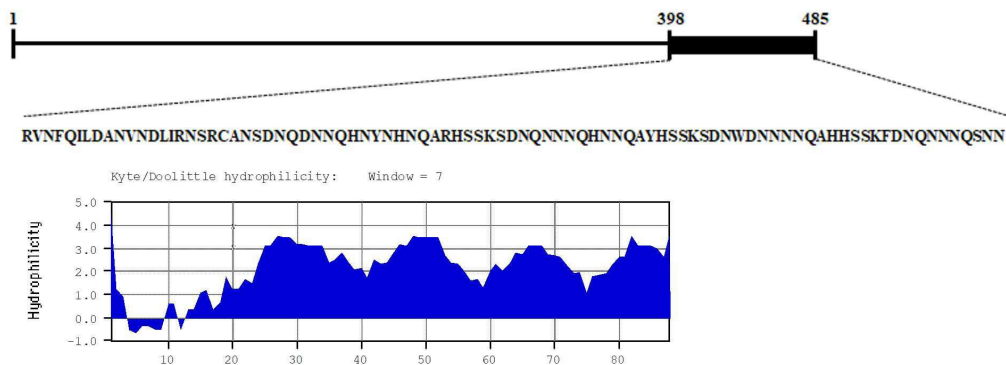
[0168] 재조합 AcMRJP4-C 펩티드가 세균, 진균 및 효모에 대하여 항균 활성을 나타내는 바, 항균 활성의 기작을 알아보기 위하여 주사 전자 현미경을 이용하여 관찰하였다. 먼저, *P. larvae*, *P. aeruginosa*, *A. apis* 및 *C. albicans*를 0.8 μ g/well의 재조합 AcMRJP4-C 펩티드가 있거나 없는 96-well plate에서 24 시간 동안 배양 하였다. 220 rpm으로 흔들며 주면서 37℃ (*P. larvae*, *P. aeruginosa* 및 *C. albicans*) 또는 22℃ (*A. apis*)에서 배양 한 후, 각각의 샘플을 2.5 % glutaraldehyde(EM 등급, 시그마)를 TBS (pH 7.3)에 실온에서 15 분간 처리 하였다. 고정 후, 각 샘플들을 다양한 농도의 에탄올 용액을 사용하여 탈수 및 공기 건조시키고 금으로 코팅 하였다. 히타치 S-530 주사 전자 현미경(히타치, 일본)을 사용하여 샘플의 표면을 관찰 하였다.

[0169] SEM 관찰 결과, 재조합 AcMRJP4-C 펩티드는 세균, 곰팡이 및 효모에서 세포벽 파괴로 인한 구조적 손상을 유도 한다는 것을 나타내었다 (도 4).

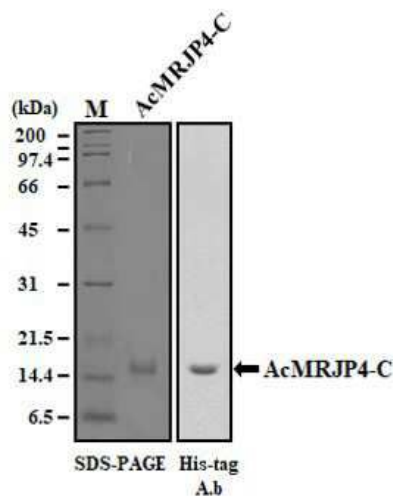
[0171] 항균 펩티드 (AMPs)의 작용 기전이 미생물 세포벽 및 막 파괴와 투과성화와 상호 작용한다는 것을 고려하면 [Brogden, Nat. Rev. Microbiol., 3:238-250(2005); Jenssen et al., Clin. Microbiol. Rev., 19:491-511(2006); Fratini et al., Microbiol. Res., 192:130-141(2016)], 이러한 결과는 AcMRJP4-C는 광범위한 항균 활성 스펙트럼을 갖는 AMP-유사 펩티드로서 작용한다. 또한, 이러한 결과는 AcMRJP4-C가 로알리신 및 젤린과 유사하게 작용한다는 것을 나타내어[(Shen et al., PLoS One, 7:e47194(2012); Brudzynski and Sjaarda, PLoS One, 10:e0120238(2015)], AcMRJP4-C가 효과적인 항균제로서 기능할 수 있음을 시사한다.

도면

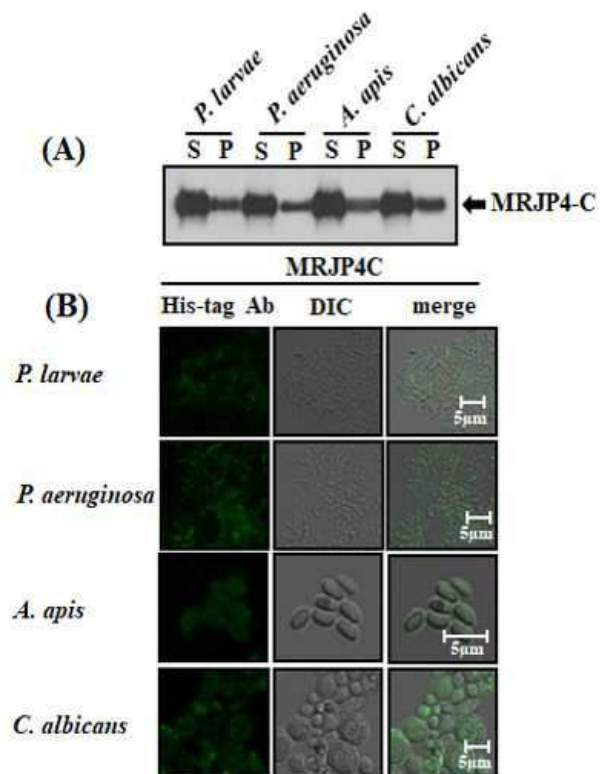
도면1



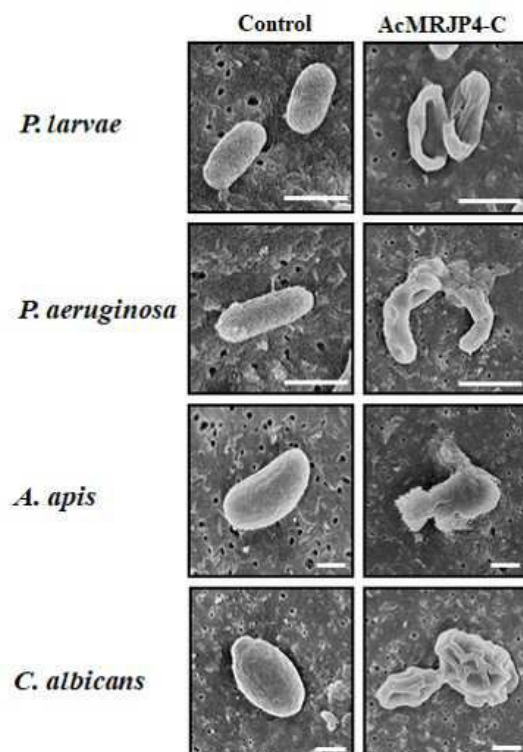
도면2



도면3



도면4



서열 목록

- <110> Dong-A University Research Foundation For Industry-Academy Cooperation
- <120> Novel peptide of C-terminus polypeptide of major royal jelly

protein 4 from Apis cerana and uses thereof

<130> PN1810-410

<160> 2

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 267

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AcMRJP4-C of polynucleotide

<400> 1

cgtgtgaact tccaaatttt ggatgctaata gtaaagcact tgatacggaa tagtcgttgc 60

gcaaattctg acaatcagga taataatcaa cataattata atcataatca agctcgtcat 120

tcttcaaaat ctgacaatca gaataacaat caacataaca atcaagctta tcattcttca 180

aagtctgaca attgggataa caataacaat caagctcatt attctcaaa atttgataat 240

cagaataaca atcaatataa caattag 267

<210> 2

<211> 88

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AcMRJP4-C of amino acid

<400> 2

Arg Val Asn Phe Gln Ile Leu Asp Ala Asn Val Asn Asp Leu Ile Arg

1 5 10 15

Asn Ser Arg Cys Ala Asn Ser Asp Asn Gln Asp Asn Asn Gln His Asn

20 25 30

Tyr Asn His Asn Gln Ala Arg His Ser Ser Lys Ser Asp Asn Gln Asn

35 40 45

Asn Asn Gln His Asn Asn Gln Ala Tyr His Ser Ser Lys Ser Asp Asn

50 55 60

Trp Asp Asn Asn Asn Asn Gln Ala His His Ser Ser Lys Phe Asp Asn

65 70 75 80

Gln Asn Asn Asn Gln Ser Asn Asn

85