

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 6월 18일 (18.06.2020) WIPO | PCT



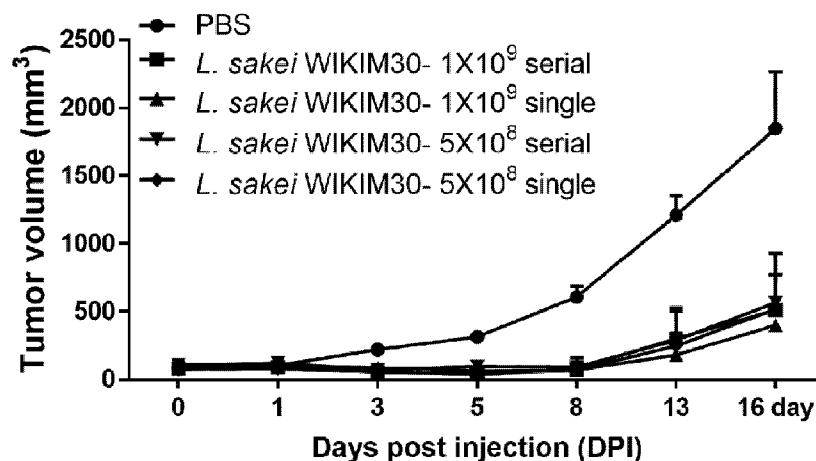
(10) 국제공개번호
WO 2020/122476 A1

- (51) 국제특허분류: A61K 35/747 (2014.01) A23L 33/135 (2016.01)
A61P 35/00 (2006.01) A23K 10/18 (2016.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/016627
- (22) 국제출원일: 2019년 11월 28일 (28.11.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2018-0158674 2018년 12월 10일 (10.12.2018) KR
10-2019-0082026 2019년 7월 8일 (08.07.2019) KR
- (71) 출원인: 한국식품연구원 (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) [KR/KR]; 55365 전라북도 완주군 이서면 농생명로 245, Jeollabuk-do (KR).
- (72) 발명자: 최학중 (CHOI, Hak Jong); 62065 광주광역시 서구 풍암순환로 54 새한아파트 107동 1204호, Gwangju (KR). 윤미선 (YUN, Mi Sun); 60265 광주광역시 서구 풍암순환로 38 한신아파트 103동 401호, Gwangju (KR).
- (74) 대리인: 한광현 (HAN, Kwang Hyun); 07803 서울시 강서구 공항대로 247 11층 1124호(나인국제특허법률사무소), Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING LACTOBACILLUS SAKEI WIKIM30 AS ACTIVE INGREDIENT FOR PREVENTION OR TREATMENT OF CANCER

(54) 발명의 명칭: 락토바실러스 사케이아이 WIKIM30을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물

[도2]



(57) Abstract: The present invention relates to novel Lactobacillus sakei WIKIM30 (accession number KCCMI1878P) isolated from Kimchi, and a composition comprising same as an active ingredient. Exhibiting excellent anticancer activity in animal models into which cancer cells have been transplanted and cancer cell lines, Lactobacillus sakei WIKIM30 according to the present invention can be advantageously used as a composition for treatment, prevention, or alleviation of cancer in humans or animals.

(57) 요약서: 본 발명은 김치로부터 분리된 신규한 락토바실러스 사케이아이 WIKIM30(Lactobacillus sakei, WIKIM30, 기탁번호 KCCMI1878P) 및 이를 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 락토바실러스 사케이아이 WIKIM30은 암세포가 이식된 동물모델 및 암 세포주에서 우수한 항암 활성을 나타내므로, 사람 또는 동물의 암의 치료, 예방 또는 개선 등의 용도를 위한 조성물로서 유용하게 이용될 수 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2020/122476 A1

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 김치로부터 분리된 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, 기탁번호 KCCM11878P)을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 암은 세계적으로 높은 사망률을 보이며, 서구 사회에서는 심혈관 질환 다음으로 가장 일반적인 사망 원인이다. 특히, 식생활이 서구화되어 고지방식의 섭취가 일반화되고, 환경 오염 물질의 급격한 증가, 음주량의 증가 등으로 대장암, 유방암, 전립선암 등이 지속적으로 증가하는 추세에 있으며, 인구의 고령화와 더불어 흡연 인구의 증가 및 대기 오염으로 인해 폐암이 증가하고 있는 실정이다. 이러한 실정에서 암의 조기 예방 및 치료를 가능하게 하여 인간 건강의 증진, 건강한 삶의 질 향상 및 인류 보건 증진에 기여할 수 있는 항암 물질의 창출이 절실히 요구되고 있다.

[4]

- [5] 한편, 유산균은 인간과 동물의 구강, 장, 질, 분변, 그리고 김치와 같은 발효식품 등에 널리 분포하면서 사람과 동물의 건강과 밀접한 관련을 맺고 있다. 유산균은 정장작용, 유해균 억제, 면역조절, 혈중 콜레스테롤 저하, 항암 등 다양한 건강증진 효과를 나타내고 있다.

[6]

현재, 한국공개특허 제10-2015-0068061호에서는 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) PNU (KCCM11352P) 또는 락토바실러스 메센테로이드(*Lactobacillus mesenteroides*) PNU (KCCM11353P)의 항암 활성을 개시하고 있고, 한국등록특허 제10-1287120호에서는 락토바실러스 플란타룸 DSR CK10[기탁번호: KFCC-11433P] 또는 락토바실러스 플란타룸 DSR M2[기탁번호: KFCC-11432P]를 유효성분으로 함유하는 암 치료용 약학 조성물을 개시하고 있으나, 락토바실러스 사케아이에 관한 항암 활성 및 우수성에 대해서는 보고된 바 없다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 목적은 락토바실러스 사케아이 균주를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하기 위한 것이다.
- [9] 또한 본 발명의 다른 목적은 신규한 김치 유산균 락토바실러스 사케아이

균주를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물 또는 식품 첨가제 조성물을 제공하기 위한 것이다.

[10] 또한 본 발명의 또 다른 목적은 신규한 김치 유산균 락토바실러스 사케아이 균주를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 사료 조성물 또는 사료 첨가제 조성물을 제공하기 위한 것이다.

[11] 또한 본 발명의 또 다른 목적은 상기 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공하기 위한 것이다.

[12]

과제 해결 수단

[13] 이에, 본 발명자들은 김치로부터 프로바이오틱스로서 우수한 효과를 나타내면서 암의 예방 및 치료 효과를 나타내는 유산균 균주를 찾고자 노력한 결과, 항암 활성을 갖는 유산균 균주인 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30)을 분리, 동정하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[14]

[15] 상기 목적을 달성하기 위하여, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[16] 또한, 본 발명은 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물 또는 식품 첨가제 조성물을 제공한다.

[17] 또한, 본 발명은 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 가축의 암 예방 또는 개선용 사료 조성물 또는 사료 첨가제 조성물을 제공한다.

[18] 또한 본 발명의 또 다른 목적은 상기 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[19]

발명의 효과

[20] 본 발명에 따른 락토바실러스 사케아이 WIKIM30은 암 세포가 이식된 동물모델 및 암 세포주에서 우수한 항암 활성을 나타내므로, 사람 또는 동물의 암의 치료, 예방 또는 개선 등의 용도를 위한 조성물로서 유용하게 이용될 수 있다.

[21]

도면의 간단한 설명

[22] 도 1은 본 발명에 따른 조성물을 CT26 세포 이식 마우스에 1회(Single) 또는 3회(Serial) 정맥 주사한 후 시간이 경과함에 따라 종양 세포의 크기가 변화하는 것을 관찰하기 위한 마우스의 종양 부분 사진을 나타낸 도이다.

[23] 도 2는 본 발명에 따른 조성물을 CT26 세포 이식 마우스에 1회(Single) 또는

3회(Serial) 정맥 주사한 후 시간이 경과함에 따라 종양 세포의 부피 변화를 측정한 그래프를 나타낸 도이다.

- [24] 도 3은 본 발명에 따른 조성물을 B16F10 피부 흑색종 마우스에 정맥 주사한 후 시간이 경과함에 따라 종양 세포의 크기가 변화하는 것을 관찰하기 위한 마우스의 종양 부분 사진을 나타낸 도이다.
- [25] 도 4는 본 발명에 따른 조성물을 B16F10 피부 흑색종 마우스에 정맥 주사한 후 시간이 경과함에 따라 종양 세포의 부피 변화를 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [26] 도 5는 마우스 유래 대장암 CT26 세포주, 사람 유래 대장암 SW620 세포주 및 HCT116 세포주에 본 발명에 따른 조성물을 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [27] 도 6은 사람 유래 비소폐암세포 H1650 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [28] 도 7은 사람 유래 췌장암 ASPC1 세포주 및 PANC1 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [29] 도 8은 사람 유래 간암 HepG2 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [30] 도 9는 사람 유래 방광암 T24 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.
- [31] 도 10은 사람 유래 정상피부 CCD-986-sk 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하고 세포 성장률(cell viability assay)을 측정한 그래프를 나타낸 도이다.

[32]

발명의 실시를 위한 형태

- [33] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[34]

- [35] 본 발명의 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 암의 예방 또는 치료 효과를 가지며, 약제학적 조성물로 이용될 수 있다.

- [36] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30)은 김치 유래의 유산균 균주이다. 비록 본 발명에서의 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30)을 김치에서 분리, 동정하기는 했으나, 이의 입수 경로가 이에 한정되는 것은 아니다.

- [37] 상기 락토바실러스 사케아이 WIKIM30의 동정 및 분류를 위한 16S rRNA 염기서열 분석 결과, 서열번호 1(SEQ ID NO: 1)의 핵산서열을 갖는 것으로 나타났다.
- [38] 따라서, 서열번호 1(SEQ ID NO: 1)의 16S rRNA 염기서열을 갖는 본 발명의 미생물을 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*)로 명명하였으며, 한국미생물보존센터에 2015년 9월 10일자로 기탁하였다(기탁번호 KCCM11878P).
- [39] 본 발명의 락토바실러스 사케아이 WIKIM30은 프로바이오틱스로서, 유산균의 일반적인 정장 효과 및 면역 증강 효과를 갖는다. 락토바실러스 속의 유산균이 정장 효과 면역 증강 효과를 갖는 것은 잘 알려진 사실이다.
- [40] 본 발명에 있어서, '프로바이오틱스(probiotics)'는 사람을 포함한 동물의 위장관 내에서 숙주의 장내 미생물 환경을 개선하여 숙주의 건강에 유익한 영향을 주는 살아있는 미생물'이라는 의미로 이해된다. 프로바이오틱스는 프로바이오틱 활성을 갖는 살아있는 미생물로 단일 또는 복합균주 형태로 사람이나 동물에 건조된 세포 형태나 발효산물 형태로 급여될 경우, 숙주의 장내 균총에 유익한 영향을 미칠 수 있다.
- [41] 상기 암은 방광암, 유방암, 흑색종양, 갑상선암, 부갑상선암, 직장암, 인후암, 후두암, 식도암, 췌장암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 두담낭암, 구강암, 결장암, 항문 부근암, 간암, 폐암 및 대장암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나의 암일 수 있으며, 바람직하게는 대장암, 피부암, 폐암, 췌장암, 간암 또는 방광암일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [42] 본 발명에 따른 조성물에 포함되는 락토바실러스 사케아이 WIKIM30은 생균체 또는 사균체로서 존재할 수 있으며, 또한 건조 또는 동결건조된 형태로 존재할 수도 있다. 다양한 조성물 내에 포함시키기 적합한 유산균의 형태 및 제제화 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.
- [43] 상기 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있다. 비경구 투여인 경우에는 정맥 내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 내피 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐 내 투여 및 직장 내 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 정맥 내 주입방법으로 투여할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [44] 상기 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여시간, 투여경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다.
- [45] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 활용될 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [46] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로

바람직하게 제제화할 수 있다.

- [47] 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연당, 옥수수감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐아세테이트, 소듐클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충식염수, 알부민 주사 용액, 텍스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분이상을 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 제제화할 수 있다.
- [48] 나아가 해당 분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [49] 본 발명의 락토바실러스 사케이 WIKIM30(Lactobacillus sakei, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물 또는 식품 첨가제 조성물로 이용될 수 있다.
- [50] 상기 식품 조성물은 건강기능식품의 형태일 수 있다.
- [51] 상기 "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률에 따라 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미(제3조 제1호)하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것(동조 제2호)을 의미한다.
- [52] 상기 식품 조성물은 식품 첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, "식품첨가물"로서의 적합여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전청에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [53] 상기 "식품첨가물공전"에 수재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 게피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합 제제류 들을 들 수 있다.

- [54] 본 발명의 유효성분이 포함된 식품으로는 빵, 떡류, 건과류, 캔디류, 초콜릿류, 츄잉껌, 잼류와 같은 과자류 아이스크림류, 빙과류, 아이스크림 분말류와 같은 아이스크림 제품류 우유류, 저지방 우유류, 유당분해 우유, 가공유류, 산양유, 발효유류, 버터유류, 농축유류, 유크림류, 버터유, 자연치즈, 가공치즈, 분유류, 유청류와 같은 유가공품류 식육가공품, 알가공품, 햄버거와 같은 식육제품류 어묵, 햄, 소세지, 베이컨 등의 어육가공품과 같은 어육제품류 라면류, 건면류, 생면류, 유탕면류, 호화건면류, 개량숙면류, 냉동면류, 파스타류와 같은 면류 과일음료, 채소류음료, 탄산음료, 두유류, 요구르트 등의 유산균음료, 혼합음료와 같은 음료 간장, 된장, 고추장, 춘장, 청국장, 혼합장, 식초, 소스류, 토마토케첩, 카레, 드레싱과 같은 조미식품 마가린, 쇼트닝 및 피자를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [55] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [56] 본 발명의 유효성분을 포함한 음료 조성물은 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, (예를 들어, 포도당, 과당 등); 디사카라이드, (예를 들어 말토스, 슈크로스 등); 및 폴리사카라이드, (예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등)과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [57] 또한, 본 발명의 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 가축의 암 예방 또는 개선용 사료 조성물 또는 사료 첨가제 조성물로 이용될 수 있다.
- [58] 상기 조성물이 사료 첨가제로서 제조될 경우, 상기 조성물은 20 내지 90% 고농축액이거나 분말 또는 과립 형태로 제조될 수 있다. 상기 사료 첨가제는 구연산, 후말산, 아디픽산, 젯산, 사과산등의 유기산이나 인산 나트륨, 인산 칼륨, 산성 피로인산염, 폴리인산염(중합인산염) 등의 인산염이나, 폴리페놀, 카테킨, 알파-토코페롤, 로즈마리 추출물, 비타민 C, 녹차 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산, 피틴산 등의 천연 항산화제 중 어느 하나 또는 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 사료로서 제조될 경우, 상기 조성물은 통상의 사료 형태로 제제화될 수 있으며, 통상의 사료 성분을 함께 포함할 수 있다.

- [59] 상기 사료 및 사료 첨가제는 곡물, 예를 들면 분쇄 또는 파쇄된 밀, 귀리, 보리, 옥수수 및 쌀; 식물성 단백질 사료, 예를 들면 평지, 콩, 및 해바라기를 주성분으로 하는 사료; 동물성 단백질 사료, 예를 들면 혈분, 육분, 골분 및 생선분; 당분 및 유제품, 예를 들면 각종 분유 및 유장 분말로 이루어지는 건조성분 등을 더 포함할 수 있으며, 이외에도 영양보충제, 소화 및 흡수향상제, 성장촉진제 등을 더 포함할 수 있다.
- [60] 상기 사료 첨가제는 동물에게 단독으로 투여하거나 식용 담체 중에서 다른 사료 첨가제와 조합하여 투여할 수도 있다. 또한, 상기 사료 첨가제는 탑드레싱으로서 또는 이들을 동물사료에 직접 혼합하거나 또는 사료와 별도의 경구제형으로 용이하게 동물에게 투여할 수 있다. 상기 사료 첨가제를 동물사료와 별도로 투여할 경우, 당해 기술분야에 잘 알려진 바와 같이 약제학적으로 허용 가능한 식용 담체와 조합하여, 즉시 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 고체 또는 액체, 예를 들어 옥수수전분, 락토오스, 수크로오스, 콩플레이크, 땅콩유, 올리브유, 참깨유 및 프로필렌글리콜일 수 있다. 고체 담체가 사용될 경우, 사료 첨가제는 정제, 캡슐제, 산제, 트로키제 또는 함당정제 또는 미분산성 형태의 탑 드레싱일 수 있다. 액체 담체가 사용될 경우, 사료 첨가제는 젤라틴 연질 캡슐제, 또는 시럽제나 현탁액, 에멀전제, 또는 용액제의 제형일 수 있다.
- [61] 또한, 상기 사료 및 사료 첨가제는 보조제, 예를 들어 보존제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제, 용액 촉진제 등을 함유할 수 있다. 상기 사료 첨가제는 침주, 분무 또는 혼합하여 동물의 사료에 첨가하여 이용될 수 있다.
- [62] 본 발명의 사료 또는 사료 첨가제는 포유류, 가금 및 어류를 포함하는 다수의 동물 식이에 적용할 수 있다.
- [63] 상기 포유류로서 돼지, 소, 말, 양, 토끼, 염소, 설치동물 및 실험용 설치동물인 쥐, 햄스터, 기니피그뿐만 아니라, 애완동물(예: 개, 고양이) 등에게 사용할 수 있으며, 상기 가금류로서 닭, 칠면조, 오리, 거위, 꿩, 및 메추라기 등에도 사용할 수 있고, 상기 어류로서 잉어, 붕어 및 송어 등에 이용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [64] 또한, 본 발명의 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 인간을 제외한 개체에 투여하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공할 수 있다.
- [65]
- [66] **실시예 1. 균주의 분리 및 배양**
- [67] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(기탁번호 KCCM11878P)은 세계김치연구소 미생물 유전자은행으로부터 분양받아 실험을 진행하였다.
- [68] 분양받은 락토바실러스 사케아이 WIKIM30의 단일 콜로니를 MRS agar 배지에 계대하여 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 배양된 단일 콜로니를 MRS 액체배지

10ml에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 200rpm으로 진탕배양하였다. 배양 후, 균체를 8,000rpm에서 5분 동안 원심분리하여 배양액을 제거하고, PBS(Phosphate Buffered Saline)용액으로 3회 세척하여 남아 있는 배지 성분을 제거하였다.

[69]

[70] **실시예 2. 실험동물(마우스)의 조건**

[71] 실험에 사용된 실험동물은 수컷 5주령의 BALB/c 마우스, C57BL/6 마우스(오리엔트바이오, 한국)를 공급받았고, 실내 온도 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 15\%$ 가 유지되는 SPF 환경의 동물 사육실에서 1주일의 안정화 기간을 거쳐 실험기간 동안 사육하였다. 사료는 항생제가 첨가되지 않은 일반적인 펠릿 사료를 공급하였고, 물은 수시로 섭취할 수 있게 하였다. 실험 진행은 세계김치연구소 동물실험윤리위원회에서 승인된 프로토콜에 따라 모든 동물 사육, 실험 및 안락사를 실시하였다. 종양 크기 변화의 관찰은 $3.14 \times (\text{길이} \times \text{높이} \times \text{넓이})/6$ 의 식을 사용하여 종양의 부피(mm^3)를 측정하여 진행하였다.

[72]

[73] **실시예 3. CT26 마우스 대장암 세포 이식 동물모델의 제작**

[74] **3-1. 세포배양**

[75] CT26 생쥐 대장암 세포(한국세포주은행, 한국)는 구입하여 사용하였다. CT26 생쥐 대장암 세포는 10% 우태아혈청과 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin)을 포함한 DMEM 배지(Hyclone, 미국)를 사용하여 5% CO_2 , 37°C 조건에서 배양하였다.

[76]

[77] **3-2. 세포 이식 암 동물모델의 제작**

[78] CT26 세포 이식 동물모델 제작을 위해서 6주령 BALB/c 마우스(18-21g)를 실험에 이용하였다. 배양한 생쥐 대장암 세포 CT26은 1×10^5 cell를 수확(harvest)한 후, $50\mu\text{l}$ 의 PBS에서 재부유한 후 마우스의 오른쪽 대퇴부(thigh) 피하에 주입하였다.

[79]

[80] **실시예 4. CT26 세포 이식 동물모델에서의 항종양 효과 분석**

[81] 종양이 약 $80\sim 100\text{mm}^3$ 의 부피로 형성된 CT26 세포 이식 마우스의 꼬리에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 정맥 내 주사하였다.

[82] 투여용량 및 투여주기에 따른 항종양 효과를 분석하기 위해 상기 CT26 세포 이식 마우스에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30이 함유된 조성물을 PBS를 이용하여 1×10^9 CFU/0.1ml와 5×10^8 CFU/0.1ml로 준비하여 각각 종양 이식 마우스에 1회 또는 3회 정맥주사하고, 음성대조군에는 PBS를 투여하였다. 시간 경과에 따라 CT26 세포 이식 마우스의 대장암의 종양 크기의 변화를 육안으로 확인한 결과를 도 1에 나타내었다. 또한, 시간 경과에 따라 CT26 세포 이식 마우스에서 종양 크기의 부피 변화를 측정한 결과를 도 2에 나타내었다.

[83] 도 1에 나타난 바와 같이, 음성대조군(PBS)에 비해 락토바실러스 사케아이

WIKIM30을 정맥 주입한 경우 13일이 경과한 후에 종양 세포가 육안으로 확인가능할 정도로 줄어든 것을 관찰하였다. 또한, 도 2에 나타난 바와 같이, CT26 세포 이식 마우스의 대장암 종양 크기가 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 1×10^9 CFU/0.1ml로 1회 또는 3회 주사하였을 경우 13일 후에 음성대조군 대비 약 4.6배, 약 3.5배의 항종양 효과가 있음을 확인할 수 있었고, 5×10^8 CFU/0.1ml로 1회 또는 3회 주사하였을 경우 13일 후에 음성대조군 대비 약 3.5배, 약 2.8배의 항종양 효과가 관찰되었다. 이에 따라 투여의 용량 및 주기는 1×10^9 CFU/0.1ml로 1회(single) 투여한 것이 항종양 효과가 가장 우수함을 확인할 수 있었다.

[84]

[85] 실시예 5. 마우스 피부 흑색종 B16F10 세포의 종양 크기 변화[86] 5-1. 세포배양

[87] B16F10 마우스 흑색종 세포(한국세포주은행, 한국)는 구입하여 사용하였다. B16F10 마우스 흑색종 세포는 10% 우태아혈청과 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin)을 포함한 DMEM 배지(Hyclone, 미국)를 사용하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 배양하였다.

[88]

[89] 5-2. 세포 이식 암 동물모델의 제작

[90] B16F10 세포 이식 동물모델 제작을 위해서 6주령 C57BL/6 마우스 (18-21g)를 실험에 이용하였다. 배양한 마우스 흑색종 세포 B16F10은 각각 1×10^5 cell를 수확(harvest)한 후, 50 μ l의 PBS에서 재부유한 후 마우스의 오른쪽 대퇴부(thigh) 피부에 주입하였다.

[91]

[92] 5-3. B16F10 세포 이식 동물모델에서의 항종양 효과 분석

[93] 종양이 약 80~100mm³의 부피로 형성된 B16F10 세포 이식 마우스의 꼬리에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 정맥 내 주사하였다. 락토바실러스 사케아이 WIKIM30은 PBS를 이용하여 1×10^{10} CFU/ml 균수로 정량하여 준비하였으며, 0.1ml(1×10^9 CFU)를 실험동물에 정맥주사하고, 음성대조군에는 PBS를 투여하였다. 시간 경과에 따라 B16F10 세포 이식 마우스의 대장암 종양 크기의 변화를 육안으로 확인한 결과를 도 3에 나타내었다.

[94] 도 3에 나타난 바와 같이, 음성대조군(PBS)에 비해 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 정맥 주입한 경우 14일이 경과한 후에 종양 세포가 육안으로 확인가능할 정도로 줄어든 것을 관찰하였다.

[95] 또한, 시간 경과에 따라 B16F10 세포 이식 마우스에서 종양 크기의 부피 변화를 측정한 결과를 도 4에 나타내었다.

[96] 도 4에 나타난 바와 같이, B16F10 세포 이식 마우스의 대장암 종양 크기가 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 주사하였을 경우 14일 후 음성대조군 대비 약 3.5배의 항종양 효과가 있음을 확인하였다.

[97]

[98] 실시예 6. In vitro 항암 활성 효능 분석[99] 6-1. 세포주의 준비

[100] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30의 항암 활성 효과를 관찰하기 위해 Cell counting Kit-8을 이용하여 세포 성장률(cell viability assay)을 측정하였다. 항암 활성 효능실험에 사용된 세포는 마우스 유래 대장암 CT26 세포주, 사람 유래 대장암 SW620 및 HCT116 세포주, 사람 유래 비소세포폐암 H1650 세포주, 사람 유래 췌장암 ASPC1 및 PANC1 세포주, 사람 유래 간암 HepG2 세포주, 사람 유래 방광암 T24 세포주, 그리고 정상 피부 세포주인 CCD-986-sk 세포주를 이용하였다.

[101] 마우스 유래 대장암 CT26 세포주는 10% FBS(fetal bovine serum)과 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 계대배양하여 성장기의 세포를 사용하여 실험하였다. 배양된 B16F10 세포는 0.25% trypsin-EDTA로 배양기에 37°C에서 3분간 처리하여 세포를 탈착한 다음 DPBS로 2회 세척 후 1 X 10⁴ cells/well로 준비하였다.

[102] 사람 유래 암세포 SW620, HCT116, H1650, ASPC1, PANC1, HepG2 및 T24 세포주는 10% FBS(fetal bovine serum)과 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 첨가한 RPMI 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 계대배양하여 성장기의 세포를 사용하여 실험하였다. 배양된 SW620, HCT116, H1650, ASPC1, PANC1, HepG2 및 T24 세포는 0.25% trypsin-EDTA로 배양기에 37°C에서 3분간 처리하여 세포를 탈착한 다음 DPBS로 2회 세척 후 1 X 10⁴ cells/well로 준비하였다.

[103] 사람 유래 정상 피부 세포 CCD-986-sk 세포주는 10% FBS(fetal bovine serum)과 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 첨가한 RPMI 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 계대배양하여 성장기의 세포를 사용하여 실험하였다. 배양된 CCD-986-na 세포는 0.25% trypsin-EDTA로 배양기에 37°C에서 3분간 처리하여 세포를 탈착한 다음 DPBS로 2회 세척 후 1 X 10⁴ cells/well로 준비하였다.

[104]

[105] 6-2. 세포 성장률(cell viability assay) 측정 결과

[106] 본 발명은 대장암(3종), 폐암(1종), 췌장암(2종), 간암(1종) 및 방광암(1종) 세포를 배양한 후 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 세포의 세포 성장률(cell viability assay)을 측정하였으며 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하지 않는 암세포들의 흡광도를 100%의 성장률 기준으로 항암활성 효능을 확인하였다.

[107] 세포 성장률(cell viability assay)는 MOI1 농도로 처리한 다음 72시간 동안 배양하였고, 배양 후 Cell counting Kit-8 시약을 처리한 후 흡광도(OD 450nm)를

측정하였다. 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하지 않은 세포(control)의 흡광도를 100% 기준으로, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 세포의 성장률을 계산하였으며, 실험 결과를 하기에 기재하였다.

- [108] 마우스 유래 대장암 CT26 세포주, 사람 유래 대장암 SW620 및 HCT116 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 5에 나타내었다.
- [109] 도 5에 나타난 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 마우스 유래 CT26 세포주에서 61.0%, 사람 유래 대장암 SW620 세포주에서 83.3%, 사람 유래 대장암 HCT116 세포주에서 67.3%의 세포 성장률이 측정되었다. 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 대장암 세포주의 경우 세포 성장률이 현저하게 저해되므로 대장암에 대해 우수한 항암 활성 효능을 가짐을 확인할 수 있다.
- [110]
- [111] 또한, 사람 유래 비소세포폐암 H1650 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 6에 나타내었다.
- [112] 도 6에 나타난 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 사람 유래 비소세포폐암 H1650 세포주에서 59.1%의 세포 성장률이 측정되었다. 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 폐암 세포주의 경우 세포 성장률이 현저하게 저해되므로 폐암에 대해 우수한 항암 활성 효능을 가짐을 확인할 수 있다.
- [113]
- [114] 또한, 사람 유래 췌장암 ASPC1 및 PANC1 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 7에 나타내었다.
- [115] 도 7에 나타난 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 사람 유래 췌장암 ASPC1 세포주에서 35.6%, 사람 유래 췌장암 PANC1 세포주에서 51.6%의 세포 성장률이 측정되었다. 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 췌장암 세포주의 경우 세포 성장률이 현저하게 저해되므로 췌장암에 대해 우수한 항암 활성 효능을 가짐을 확인할 수 있다.
- [116]
- [117] 또한, 사람 유래 간암 HepG2 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 8에 나타내었다.
- [118] 도 8에 나타난 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 사람 유래 간암 HepG2 세포주에서는 18.8%의 세포 성장률이 측정되었다. 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 간암 세포주의 경우 세포 성장률이 현저하게 저해되므로 간암에 대해 우수한 항암 활성 효능을 가짐을 확인할 수 있다.
- [119]
- [120] 또한, 사람 유래 방광암 T24 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을

처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 9에 나타내었다.

- [121] 도 9에 나타낸 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 사람 유래 방광암 T24 세포주에서 53.9%의 세포 성장률이 측정되었다. 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 방광암 세포주의 경우 세포 성장률이 현저하게 저해되므로 방광암에 대해 우수한 항암 활성 효능을 가짐을 확인할 수 있다.

[122]

- [123] 상기 실험과 대비하여 사람 유래 정상 피부 CCD-986-sk 세포주에 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리하여 세포 성장률을 측정한 결과를 도 10에 나타내었다.

- [124] 도 10에 나타낸 바와 같이, 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 처리한 정상 피부 세포주에서는 세포 성장률이 97.4%로 측정되었으며, 상기 결과로부터 락토바실러스 사케아이 WIKIM30이 정상 피부 세포주에 대해서는 독성을 갖지 않음을 확인할 수 있다.

[125]

- [126] 양방검정 t-test는 음성대조군과 락토바실러스 사케아이 WIKIM30 처리군 사이에 종양 성장에서 통계적으로 유의미한 차이를 결정하였다. $P < 0.05$ 는 모든 종양성장 그래프 분석에 대하여 유의미하게 고려되었다.

[127]

PCT

(전자적 형태가 원본)

0-1	Form PCT/RO/134 기탁된 미생물 또는 기타 생물학적 물질에 관한 표시사항(PCT 규칙 13의 2) 0-1-1 우측에 기재된 바와 같이 작성되었다.	PCT-SAFE 버전 3.51.088.264 MT/FOP 20190701/0.20.5.24
0-2	국제출원번호	PCT/KR2019/016627
0-3	출원인 또는 대리인의 서류참조기호	PCT19-0014-WIKIM30

1	아래 표시된 사항은 명세서 내의 아래 부분에서 언급된 기탁된 미생물 또는 기타 생물학적 물질에 관한 것이다.	
1-1	단락번호	38
1-3	기탁표시	
1-3-1	기탁기관명	KCCM 한국 미생물 배양소
1-3-2	기탁기관 주소	대한민국 03641 서울시 서대문구 홍제내2가길 45(홍제동) 유림빌딩 3F
1-3-3	기탁 일자	2015년 09월 10일 (10.09.2015)
1-3-4	기탁 번호	KCCM 11878P
1-5	표시사항은 다음 지정국을 위한 것이다.	모든 지정국

수리관청 전용

0-4	국제 출원서와 함께 이 서식을 수리하였다. 네 또는 아니오	
0-4-1	승인 사무관	

국제 사무국 전용

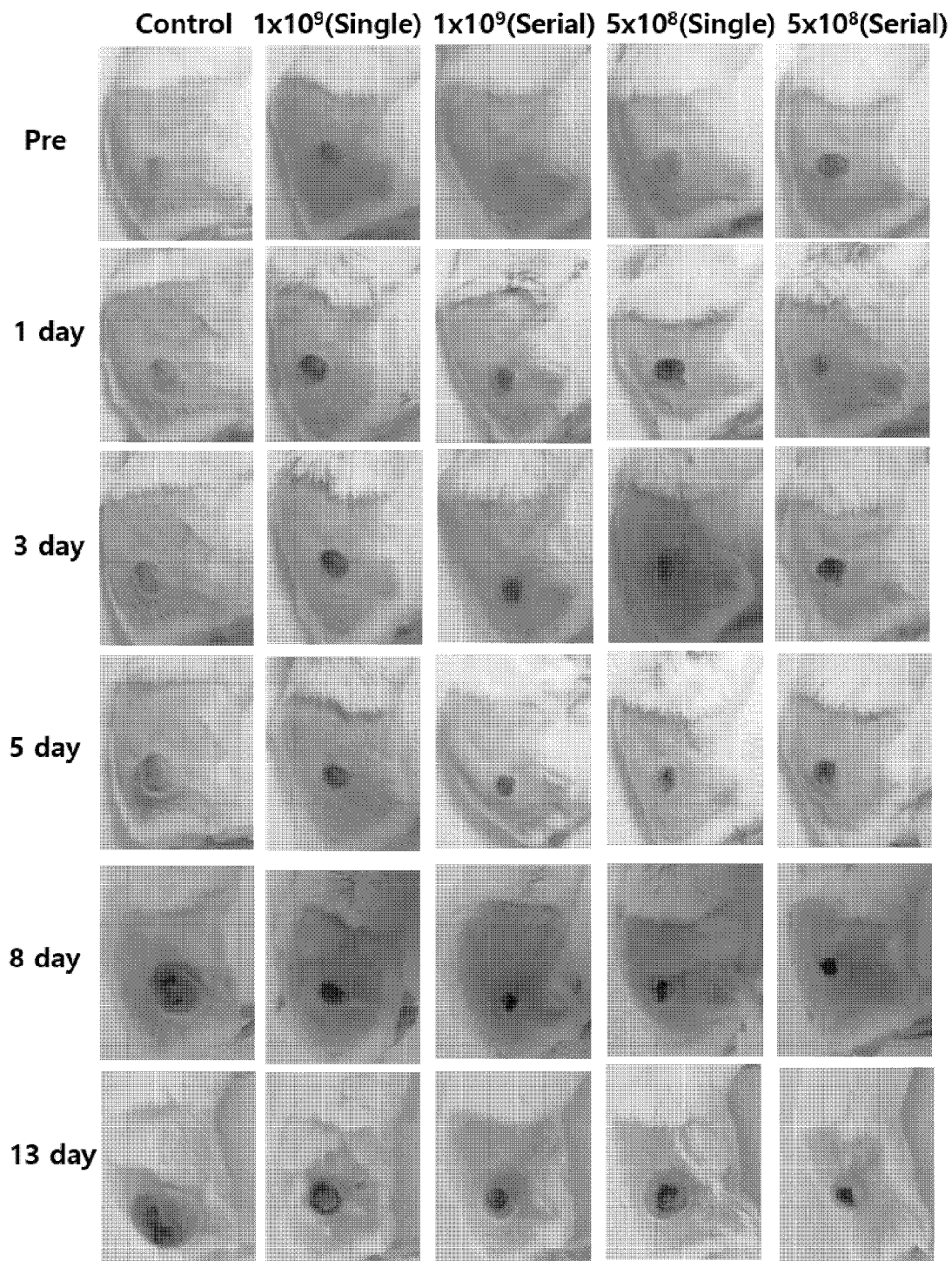
0-5	국제 사무국(IB)이 이 서식을 수리하였다.	
0-5-1	승인 사무관	

청구범위

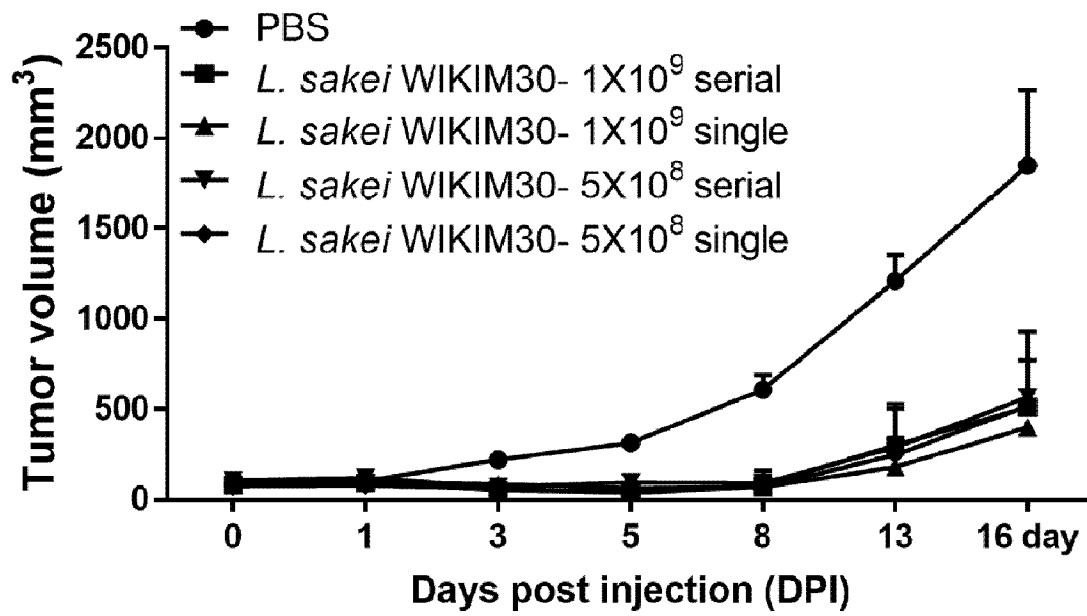
- [청구항 1] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 락토바실러스 사케아이 WIKIM30은 서열번호 1의 핵산서열을 갖는 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 암은 대장암, 피부암, 폐암, 췌장암, 간암 및 방광암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나의 암인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 폐암은 비소세포폐암인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 피부암은 흑색종인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여의 방법으로 투여 가능한 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
상기 비경구 투여의 방법은 정맥주사 투여인 것인, 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 생균 형태인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 9] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 식품은 건강기능식품인, 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 식품은 빵, 떡, 캔디, 초콜릿, 껌, 아이스크림, 우유, 치즈, 식육가공품, 어육가공품, 김치, 간장, 된장, 고추장, 춘장, 청국장, 식초, 케첩, 카레, 드레싱, 음료 및 발효유로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나의 식품인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 12] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30,

- 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 개선용 식품 첨가제 조성물.
- [청구항 13] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 가축의 암 예방 또는 개선용 사료 조성물.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 가축은 돼지, 소, 말, 양, 토끼, 염소, 쥐, 햄스터, 기니피그, 개, 고양이, 닭, 칠면조, 오리, 거위, 꿩, 메추라기, 잉어, 붕어 및 송어로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것인, 가축의 암 예방 또는 개선용 사료 조성물.
- [청구항 15] 락토바실러스 사케아이 WIKIM30(*Lactobacillus sakei*, WIKIM30, 기탁번호 KCCM11878P) 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 가축의 암 예방 또는 개선용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 16] 제1항 내지 제8항 중 어느 하나의 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 암의 예방 또는 치료 방법.
- [청구항 17] 제16항에 있어서,
상기 투여의 방법 및 투여량은 정맥주사의 방법으로 락토바실러스 사케아이 WIKIM30을 1×10^{10} CFU/ml 농도로 0.1ml 투여하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서,
상기 투여의 횟수는 1회 투여하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

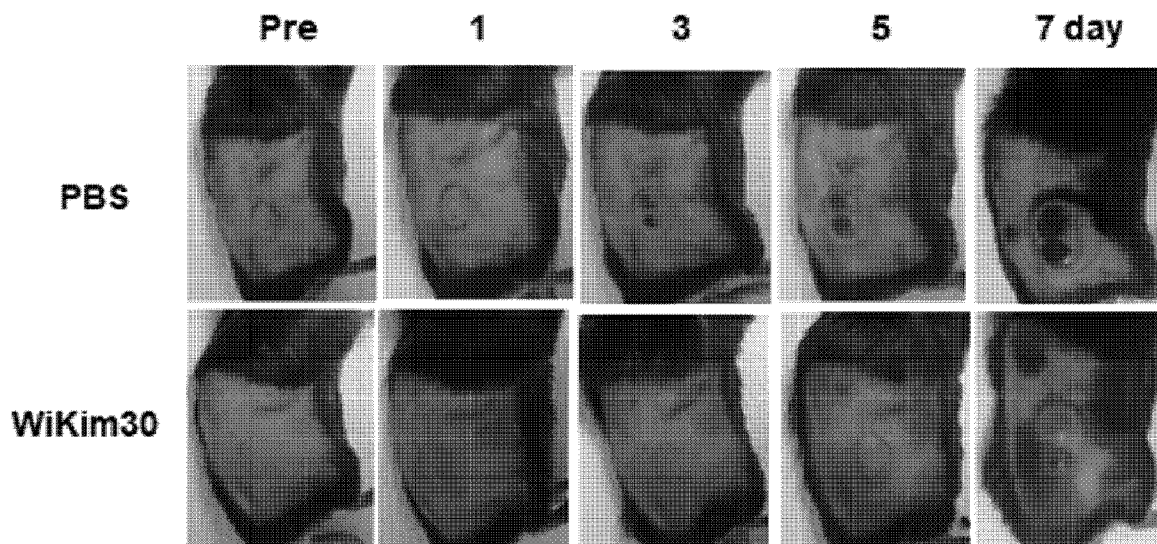
[도1]



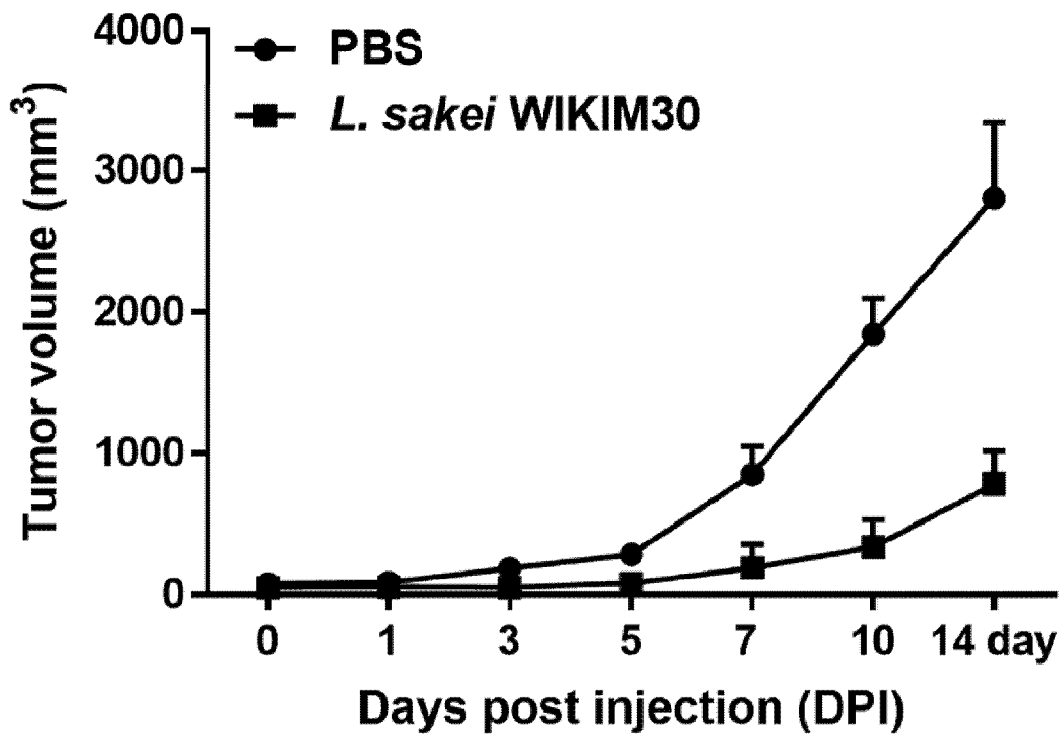
[도2]



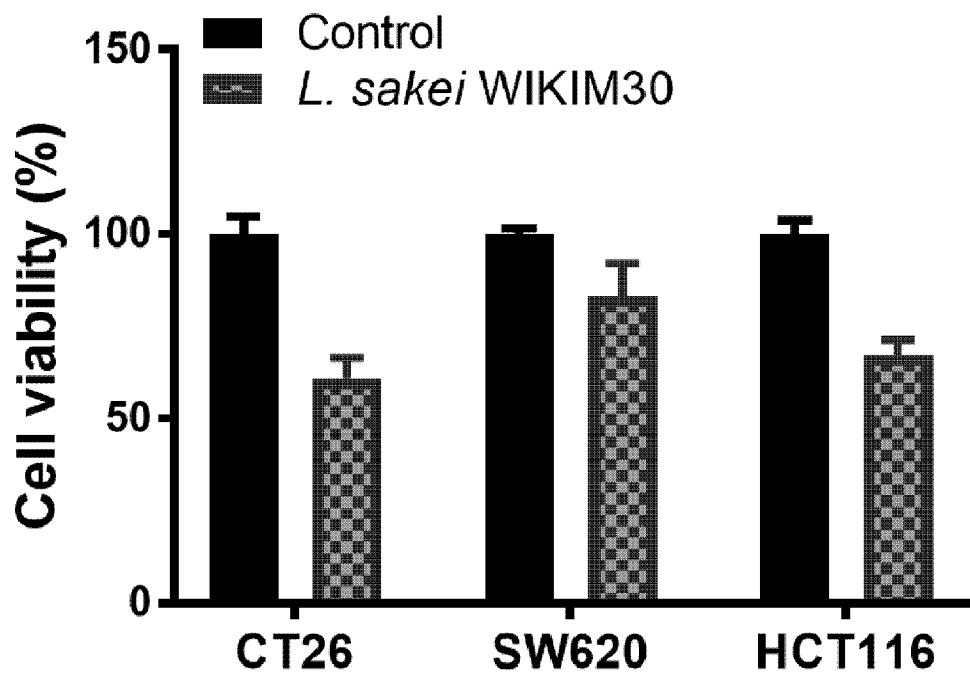
[도3]



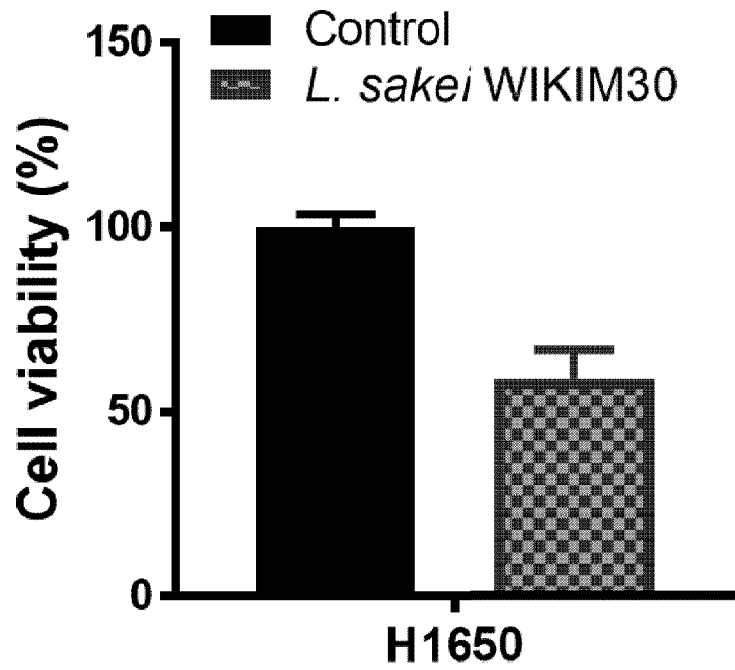
[도4]



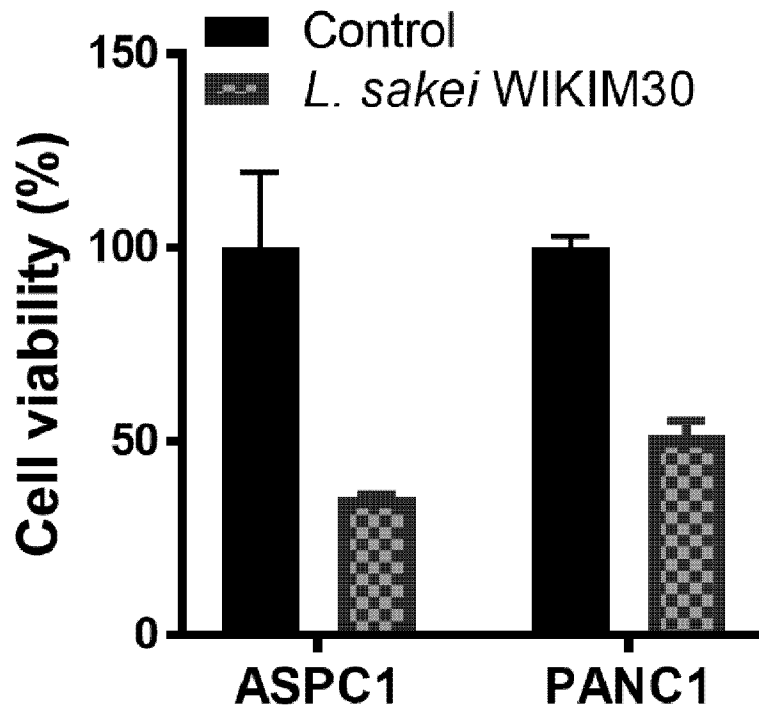
[도5]



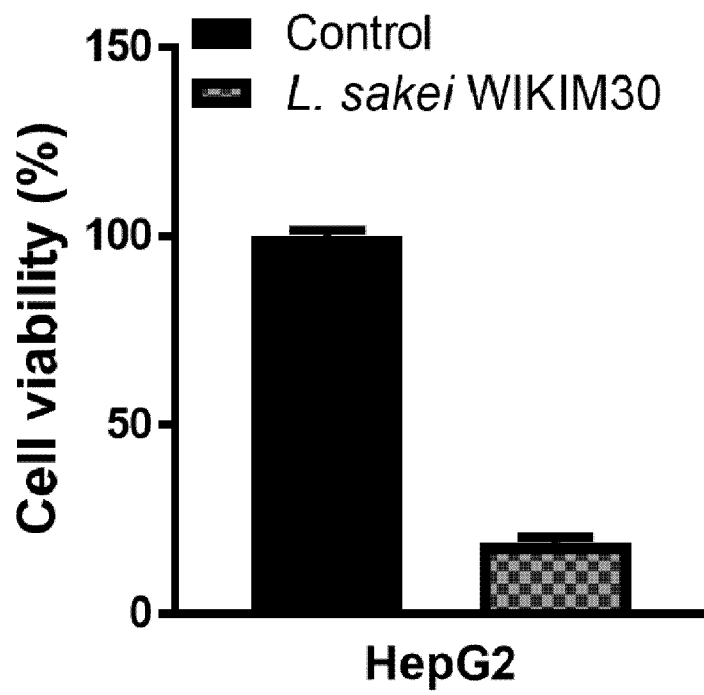
[도6]



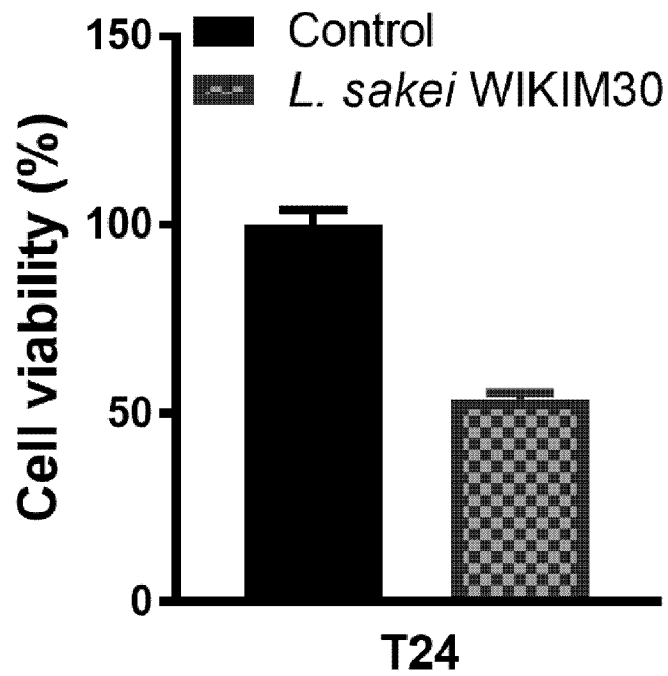
[도7]



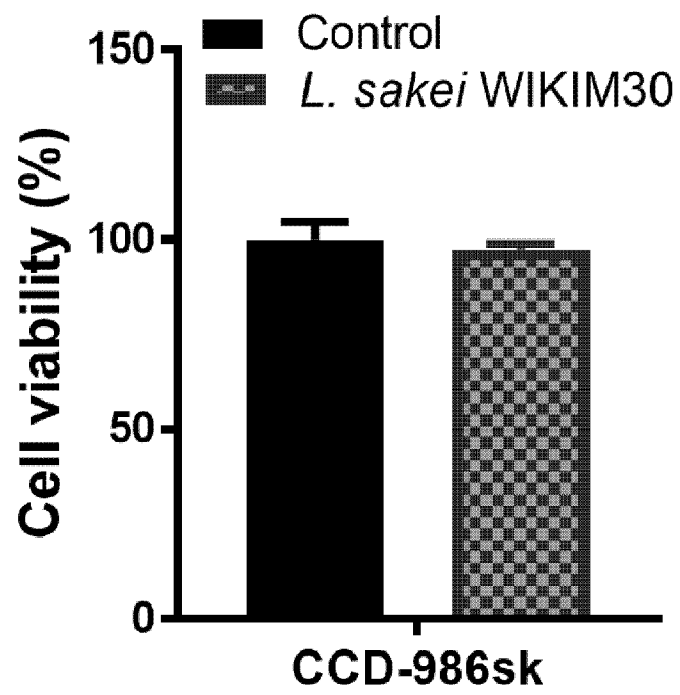
[도8]



[도9]



[도10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/016627

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/747(2014.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A23L 33/135(2016.01)i, A23K 10/18(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 35/747; A61K 35/74; A61K 35/741; A61K 35/745; C12N 1/20; A61P 35/00; A23L 33/135; A23K 10/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: lactobacillus sakei, cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2004-0076183 A (PROBIONIC INC.) 31 August 2004 See abstract; claims 1, 2, 4, 5; page 12-3, first paragraph; page 12-4, ninth paragraph; examples 2-5.	1-18
X	KR 10-2012-0100608 A (RNA INC.) 12 September 2012 See abstract; claims 2, 3, 5; paragraphs [0021], [0022], [0027], [0031], [0035]-[0038].	1-18
X	YU, Byeong Hee. Effect on antitumor and modulating immune responses with probiotics of lactobacillus sakei Y1207. Ph.D. thesis, 성균관대학교 대학원, 식품 • 생명자원학과 유가공 및 식품학 전공(Major in Milk Processing and Food Science, Dept. of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Sungkyunkwan University). 2002, pages 1-288 See pages 120, 121, 127, 150, 151, 280-288.	1-18
A	KR 10-1678317 B1 (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) 21 November 2016 See the entire document.	1-18
A	KR 10-2018-0011262 A (THE UNIVERSITY OF CHICAGO) 31 January 2018 See the entire document.	1-18
A	KR 10-0508109 B1 (PROBIONIC INC.) 18 August 2005 See the entire document.	1-18



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 MARCH 2020 (24.03.2020)

Date of mailing of the international search report

24 MARCH 2020 (24.03.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/016627

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2004-0076183 A	31/08/2004	KR 10-0574527 B1	27/04/2006
KR 10-2012-0100608 A	12/09/2012	None	
KR 10-1678317 B1	21/11/2016	None	
KR 10-2018-0011262 A	31/01/2018	AR 104859 A1	23/08/2017
		AU 2016-270750 A1	14/12/2017
		BR 112017025813 A2	14/08/2018
		CA 2987129 A1	08/12/2016
		CL 2017003024 A1	06/07/2018
		CN 107847530 A	27/03/2018
		EP 3303401 A1	11/04/2018
		IL 255940 A	31/01/2018
		JP 2018-521013 A	02/08/2018
		MX 2017015473 A	15/08/2018
		PE 6732018 A1	19/04/2018
		RU 2017141448 A	15/07/2019
		RU 2017141448 A3	19/11/2019
		TW 201717975 A	01/06/2017
		US 2016-0354416 A1	08/12/2016
		US 2018-0015131 A1	18/01/2018
		US 2019-0183942 A1	20/06/2019
		US 9855302 B2	02/01/2018
		UY 36701 A	30/12/2016
		WO 2016-196605 A1	08/12/2016
KR 10-0508109 B1	18/08/2005	None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 35/747(2014.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A23L 33/135(2016.01)i, A23K 10/18(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 35/747; A61K 35/74; A61K 35/741; A61K 35/745; C12N 1/20; A61P 35/00; A23L 33/135; A23K 10/18

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 락토바실러스 사케이(lactobacillus sakei), 암(cancer)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2004-0076183 A (주식회사 프로바이오틱) 2004.08.31 요약; 청구항 1, 2, 4, 5; 페이지 12-3, 첫번째 단락; 페이지 12-4, 아홉번째 단락; 실시예 2-5	1-18
X	KR 10-2012-0100608 A (주식회사 알엔에이) 2012.09.12 요약; 청구항 2, 3, 5; 단락 [0021], [0022], [0027], [0031], [0035]-[0038]	1-18
X	유병희, 'Effect on antitumor and modulating immune responses with probiotics of lactobacillus sakei Y1207', 박사 논문, 성균관대학교 대학원, 식품·생명자원학과 유가공 및 식품학 전공, 2002, 1-288 페이지 페이지 120, 121, 127, 150, 151, 280-288	1-18
A	KR 10-1678317 B1 (한국식품연구원) 2016.11.21 전체 문헌	1-18
A	KR 10-2018-0011262 A (더 유니버시티 오브 시카고) 2018.01.31 전체 문헌	1-18
A	KR 10-0508109 B1 (주식회사 프로바이오틱) 2005.08.18 전체 문헌	1-18

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 03월 24일 (24.03.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 03월 24일 (24.03.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



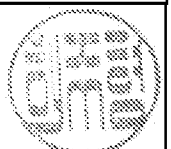
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2004-0076183 A	2004/08/31	KR 10-0574527 B1	2006/04/27
KR 10-2012-0100608 A	2012/09/12	없음	
KR 10-1678317 B1	2016/11/21	없음	
KR 10-2018-0011262 A	2018/01/31	AR 104859 A1 AU 2016-270750 A1 BR 112017025813 A2 CA 2987129 A1 CL 2017003024 A1 CN 107847530 A EP 3303401 A1 IL 255940 A JP 2018-521013 A MX 2017015473 A PE 6732018 A1 RU 2017141448 A RU 2017141448 A3 TW 201717975 A US 2016-0354416 A1 US 2018-0015131 A1 US 2019-0183942 A1 US 9855302 B2 UY 36701 A WO 2016-196605 A1	2017/08/23 2017/12/14 2018/08/14 2016/12/08 2018/07/06 2018/03/27 2018/04/11 2018/01/31 2018/08/02 2018/08/15 2018/04/19 2019/07/15 2019/11/19 2017/06/01 2016/12/08 2018/01/18 2019/06/20 2018/01/02 2016/12/30 2016/12/08
KR 10-0508109 B1	2005/08/18	없음	