



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0105220
(43) 공개일자 2025년07월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/135 (2016.01) A23K 10/16 (2017.01)
A61K 35/747 (2015.01) A61P 25/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A23L 33/135 (2016.08)
A23K 10/16 (2016.05)
- (21) 출원번호 10-2024-0195892
(22) 출원일자 2024년12월24일
심사청구일자 2024년12월24일
- (30) 우선권주장
1020230195370 2023년12월28일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
주식회사 메디오젠
충청북도 제천시 바이오밸리1로 120(왕암동)
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
- (72) 발명자
최수임
충청북도 제천시 바이오밸리1로 120
이지연
충청북도 제천시 바이오밸리1로 120
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인정진

전체 청구항 수 : 총 9 항

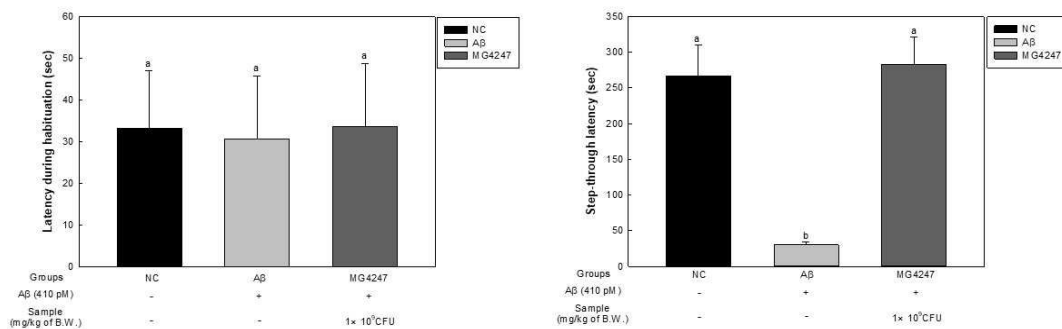
(54) 발명의 명칭 락토바실러스 가세리 MG4247을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 락토바실러스 가세리 MG4247을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 일 실시예에 따른 락토바실러스 가세리 MG4247 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 식품 조성물은 아세틸콜린 에스테라제 저해 활성능 및 항산화 효소 단백질 발현 촉진능이 뛰어나므로, 인지기능 장애 또는 기억장애 관련 질환의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61K 35/747 (2013.01)

A61P 25/28 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2400/145 (2023.08)

(72) 발명자

허호진

경상남도 진주시 초장로 120 이지더원아파트 504동
504호

김병국

충청북도 제천시 바이오밸리1로 120

박정용

충청북도 제천시 바이오밸리1로 120

김용경

충청북도 제천시 바이오밸리1로 120

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2420012873

과제번호 S3366186

부처명 중소벤처기업부

과제관리(전문)기관명 중소기업기술정보진흥원

연구사업명 지역특화산업육성+

연구과제명 마이크로바이옴 기반 신규 프로바이오틱스를 활용한 고령친화형 인지기능 개선 기능

성 소재 개발 및 제품화

과제수행기관명 (주)메디오젠

연구기간 2023.04.01 ~ 2024.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 락토바실러스 가세리 MG4247 균주는 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해 활성을 나타내는 것인, 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 락토바실러스 가세리 MG4247 균주는 SOD (superoxide dismutase) 또는 CAT (catalase) 단백질 발현을 촉진하는 것인, 식품 조성물.

청구항 4

락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환은 퇴행성 뇌신경계 질환인 것인, 약학 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환은 경도 인지 장애(Mild cognitive impairment, MCI), 알츠하이머 병(Alzheimer's disease) 또는 파킨슨병(Parkinson's disease)인 것인, 약학 조성물.

청구항 7

제4항의 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는, 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 치료방법.

청구항 8

락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 가세리 MG4247을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인지장애(Cognitive impairment)란 정상 노인에 비해 인지 기능이 저하되었지만, 독립적 일상생활이 가능하므로 치매라고 진단할 수 없는 중간 상태로 치매가 발생할 위험이 매우 큰 상태를 의미한다. 인지 기능 저하는 정상적인 노화 과정에서 발생하는 자연스러운 현상과는 구분되며, 일상생활을 방해할 정도로 심각할 수 있다.

[0003] 경도인지장애(Mild cognitive impairment, MCI)는 치매로 진행될 위험이 있는 초기 단계로, 인지 기능 저하가 나타나지만 일상생활에는 큰 영향을 미치지 않는 상태를 뜻한다. 일반적으로 치매 발생 5년 전부터 경도인지장애 상태가 시작되며, 6년 후에는 이들 중 약 80%가 치매 상태에 이르게 된다.

[0004] 인지장애의 발생 원인은 다양하나, 신경세포 손상과 소실로 이어지는 세포 사멸이 그 궁극적 원인인 것으로 알려져 있다. 퇴행성 신경계 뇌질환의 가장 큰 원인인 신경 세포 사멸의 주요 원인으로 세포를 손상시키는 산화력이 강한 산소인 활성산소가 지적되고 있다. 활성산소로 인한 산화적 스트레스는 뇌세포에 비가역적인 손상을 주며, 미토콘드리아의 구조와 기능에 변화를 일으킴으로써 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머 병(Alzheimer's disease) 등과 같은 인지장애를 일으키게 된다.

[0005] 인구 초고령화 사회에 진입함에 따라 신경 정신 질환 및 알츠하이머 병의 발병률이 증가하고 있으나, 완치가 불가능하기 때문에 완치보다는 증상 완화와 진행 속도를 늦추는 데 중점을 두고 있다.

[0006] 현재까지 국내에는 많은 인지장애 치료, 인지능력 개선 또는 기억력 향상 효능을 갖는 조성물 관련 특허가 공개 및 등록되어 있으며, 공개번호 제2014-0144785호는 유자 추출물을 유효성분으로 포함하는 기억력 및 학습능력 증진용 조성물에 관한 것이고, 등록번호 제10-1823892호는 기억력 개선, 인지능력 개선, 치매 예방, 지연 또는 치료 효과를 나타내는 봉선화 추출물에 관한 것이다.

[0007] 또한 인지장애 치료를 위해 시판되고 있는 대표적인 약물로는 콜린에스터라제 억제제(도네페질, 리바스티그민, 갈란타민)와 NMDA 수용체 길항제(메만틴)가 있다. 도네페질은 뇌에서 아세틸콜린 분해를 억제하여 신경전달물질의 농도를 높이며, 메만틴은 신경세포의 과도한 자극을 억제하여 세포 손상을 막는 효능이 있다. 그러나 도네페질의 경우 메스꺼움, 설사, 근육 경련, 수면 장애 등의 부작용이 보고된 바 있고, 메만틴의 경우에도 두통, 졸음, 현기증, 구토 증의 부작용이 존재할 수 있다.

[0008] 따라서, 인체 적합성을 가진 천연물 소재를 이용한 치료제 개발이 발전 중에 있으며, 또한 부작용이 적은 신소재의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 상술한 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명자들은 장내 미생물총의 균형을 개선하여 건강상의 이점을 제공하는 유산균을 이용하여 인지기능장애 또는 기억력 저하 예방, 치료 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다.

단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

- [0013] 또한, 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시 예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0014] 본 발명에서 중복된 내용 또는 용어의 경우, 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략하였다.
- [0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 양태에 따르면 락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명에서 사용되는 용어 "인지기능"이란, 주의력, 지각력, 기억력, 언어능력, 집행능력등의 다양한 지적 능력으로서, "인지능력" 또는 "인지능" 등과 혼용되어 쓰일 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 용어, "기억" 또는 "기억력"은 시간이 지나도 지속되는 학습의 결과물로, 주위 환경으로부터 얻은 새로운 정보나 학습된 경험, 지식을 습득하여 뇌의 특정부위에 부호화하여 저장하고 이를 다시 회상할 수 있는 능력을 말한다.
- [0019] 본 발명에서 사용되는 용어 "식품"이란, 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능 식품, 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [0020] 본 발명의 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에, 인지기능 또는 기억력 개선 효과를 기대할 수 있으므로, 건강 증진 목적으로 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [0021] 상기 건강 기능(성) 식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 '기능(성)'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품은 인지기능 또는 기억력 개선 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0022] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강 식품, 건강보조식품의 용어는 혼용된다.
- [0023] 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 본 발명의 화합물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [0024] 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.
- [0025] 또한, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예들 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트

(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄; 및 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0026] 또한, 상기 식품 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니솔(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 식품 조성물의 일 예로 건강음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강음료 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 001 내지 004 g, 구체적으로 약 002 내지 003 g이 될 수 있다.

[0028] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하지는 않지만 본 발명의 건강음료 조성물 100 중량부당 001 ~ 01 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0030] 본 발명의 다른 양태에 따르면 락토바실러스 가세리 MG4247 균주, 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명에서 사용되는 용어 "인지기능 장애"란, 상기와 같은 인지기능이 저하되어 생기는 상태, 그에 따른 질환, 그를 증상으로 하는 모든 질환을 포함할 수 있는 개념으로써, 바람직하게는 뇌 신경세포의 손상으로 발생하는 장애를 의미할 수 있다.

[0032] 본 발명에서 사용되는 용어 "기억 장애(memory disorder)"란, 일시적 또는 지속적으로 기억을 형성하고 유지하거나 회상하는 능력에 문제가 생기는 상태를 말하며, 기억과다증 또는 기억감퇴를 포함한다. 기억장애는 기억의 기명(記銘), 유지, 재생의 3과정 중 어느 하나가 손상되더라도 발병할 수 있다.

[0033] 본 발명에서, 인지기능 장애 또는 기억장애 관련 질환은 구체적으로 퇴행성 뇌신경계 질환일 수 있고, 보다 구체적으로 인지기능 장애 또는 기억장애 관련 질환은 경도인지장애(Mild cognitive impairment, MCI), 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머 병(Alzheimer's disease), 건망증, 치매, 피크병, 및 헌팅톤병으로 이루어지는 군에서 선택되는 퇴행성 뇌질환을 의미할 수 있다.

[0034] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"이란, 본 발명의 락토바실러스 가세리 MG4247로 인해 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환이 억제되거나 그 발병이 지연되도록 하는 모든 행위를 의미한다.

[0035] 본 발명에서 사용되는 용어 "개선" 또는 "치료"란, 본 발명의 락토바실러스 가세리 MG4247로 인해 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도가 호전되거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미한다.

[0036] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 상기 조성물을 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충진제, 증량제, 결합제, 야주반트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 봉해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0037] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함),

칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 텍스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필 메틸-셀룰로즈 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다.

[0038] 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 향응집제, 향료, 유화제, 가용화제, 분산제, 향미제, 향산화제, 포장제, 안료 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0039] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제 또는 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있으며, 비경구 투여시 피부외용; 주사제; 경피 투여제; 또는 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법에 따라 제형화할 수 있다.

[0041] 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매 질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵크스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 텍스트로오스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.

[0042] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를 들면, 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 팩 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기체의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할 수 있다.

[0043] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 약제학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0044] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있다.

[0045] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용될 수 있다.

[0047] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면 상기 약학 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는, 인지

기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0048] 상기 "인지기능장애", "기억장애", "예방", "개선"은 전술한 바와 같다.

[0049] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면 락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0050] 상기 "인지기능장애", "기억장애", "예방", "개선", "식품 조성물"은 전술한 바와 같다.

[0051] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면 락토바실러스 가세리 MG4247(*Lactobacillus gasseri* MG4247) 균주(수탁번호 KCTC15052BP; NCBI Accession No. MN069036.1), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 장애 또는 기억 장애 관련 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.

[0052] 상기 "인지기능장애", "기억장애", "예방", "개선"은 전술한 바와 같다.

[0053] 본 발명에서 사용되는 용어, "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다.

[0054] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박 류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0055] 본 발명의 일 실시예에 따른 락토바실러스 가세리 MG4247 균주(수탁번호 KCTC15052BP), 균주 배양액 및 균주의 무세포 상등액(cell free supernatant)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 인지기능 또는 기억력 개선용 식품 조성물은 아세틸콜린 에스테라제 저해 활성능 및 항산화 효소 단백질 발현 촉진능이 뛰어나므로, 인지기능 장애 또는 기억장애 관련 질환의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1은 락토바실러스 가세리 MG4247의 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해 활성 효과를 나타낸 도이다.

도 2는 2.5 및 5% 농도의 락토바실러스 가세리 MG4247을 처리한 후 세포 생존율을 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 2.5 및 5% 농도의 락토바실러스 가세리 MG4247 및 H₂O₂를 동시 처리한 후 세포 생존율을 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 2.5 및 5% 농도의 락토바실러스 가세리 MG4247 처리에 따른 세포 손상도를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 5는 락토바실러스 가세리 MG4247 처리 후 SOD (superoxide dismutase) 및 CAT (catalase)와 같은 항산화 효소 단백질 발현 변화를 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 동물 모델에서 대조군, Amyloid beta 유발군 및 MG4247 투여군에 대하여 수동 회피 평가(Passive avoidance test)를 실시한 결과를 나타낸 도이다.

도 7은 동물 모델에서 대조군, Amyloid beta 유발군 및 MG4247 투여군에 대하여 Y-미로 평가(Y-maze test)를 실시한 결과를 나타낸 도이다.

도 8은 동물 모델에서 대조군, Amyloid beta 유발군 및 MG4247 투여군에 대하여 모리스 수중미로 평가(Morris water maze test)를 실시한 결과를 나타낸 도이다.

도 9는 동물 모델에서 대조군, Amyloid beta 유발군 및 MG4247 투여군에 대하여 활성 산소(ROS) 및 미토콘드리아 막 전위(MMP) 측정을 통한 미토콘드리아 기능 평가를 실시한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0057] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 이하 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0059] **실시예 1. 샘플 제조**
- [0060] 본 연구에 사용된 락토바실러스 가세리 MG4247 (수탁번호 KCTC 15052BP) 균주는 메디오젠(제천, 대한민국)에서 수집하였으며 건강한 여성의 질 내벽을 면봉으로 채취한 검체에서 분리하였다. 모든 프로바이오틱스 균주는 16S rRNA 유전자 염기서열분석 (㈜솔젠타코리아)에 의해 동정하였으며, 그 DNA 염기서열은 Basic Local Alignment Search Tool (ON668170.1)을 사용하여 국립 생명 공학 정보 센터 (NCBI) 데이터베이스에 등록되었다(NCBI Accession No. MN069036). 락토바실러스 가세리 MG4247 균주의 16S rRNA 서열은 서열번호 1로 나타내었다.
- [0061] 락토바실러스 가세리 MG4247은 37℃의 혐기성 조건에 MRS 브로스(BD Biosciences, NJ, USA) 배지에서 배양되었다. 18시간 후, 4℃에서 15분 동안 원심분리 (4000×g)하였다. 상층액은 0.22 μm 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 막을 사용해서 여과하여 수집하고 pH를 7.2로 맞추어 세포실험에 무세포 상층액 (CFS; Cell-free supernatants)을 사용하였다. 원심분리 후 남은 펠릿은 동결건조 하여 말토텍스트린과 혼합하여 최종 농도가 1×10^{11} CFU/g가 되도록 희석한 후, 동물실험에 사용하였다.
- [0063] **실시예 2. 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해활성능 측정**
- [0064] 아세틸콜린 에스테라제 저해활성능은 제조된 MG4247 무세포 상층액을 이용하여 PicoSens™Acetylcholinesterase Activity Assay Kit (Biomax, Korea)를 사용해 측정하였다. 마이크로플레이트 리더기를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 균을 배양하지 않은 MRS 브로스를 처리하여 저해능을 측정하였다.
- [0066] **실시예 3. 세포 배양**
- [0067] PC12 세포를 10% FBS 및 1% P/S를 포함하는 DMEM에서 배양하였다. 세포는 5% CO₂ 인큐베이터에서 37℃로 유지되었고 세포가 70-80% 융합상태에 새로운 성장 배지로 옮기면서 성장시켰다.
- [0069] **실시예 4. 세포 생존율 및 손상도 측정**
- [0070] 세포 손상도는 PC12 세포를 96 well plate에 분주하여 24시간 배양하였다. 제조된 MG4247 무세포 상층액을 2.5 및 5%의 농도로 DMEM에 희석하고 24시간 처리한 후에 H₂O₂ 600 μM을 무세포 상층액과 함께 8시간 동안 배양하였다. 이 후, 각 웰의 상층액을 취득하여 LDH 키트(Biomax, Korea)를 이용해 세포 손상도를 측정하였으며 남아있는 세포는 MTT assay 방법을 이용하여, 세포 생존율을 측정하였다. MTT (1 mg/ml) 용액을 넣어 2시간 동안 동일한 조건에서 배양하여 MTT formazan crystal 형성을 유도한 후 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 처리하여 녹인 후 마이크로플레이트 리더기를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0072] **실시예 5. 항산화 효소 단백질 발현 분석**
- [0073] 대표적인 항산화 효소인 SOD (superoxide dismutase) 및 CAT (catalase) 단백질에 대한 균주의 영향을 평가하였다. PC12 세포를 배양 접시에 7-80% 정도 되도록 세포를 분주한 뒤 37℃에서 24시간 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 DMEM 배지에 제조된 MG4247 무세포 상층액을 적정농도로 희석하여 배양 접시에 분주하고 24시간 처리한 후에 H₂O₂ 600 μM을 무세포 상층액과 함께 8시간 동안 배양하였다. 이후 DMEM를 제거하고 1X DPBS 완충액으로 세척한 후 RIPA 완충액을 처리하여 세포 스크래퍼(Cell Scraper)를 이용해 시료를 수확하였다. 수확한 시료는 원심분리(13,000 rpm, 10분) 후 상층액만 취하여 SDS-PAGE 시료로 사용하였다. SDS-PAGE 후 PVDF 멤브레인(membrane (Millipore Corp., Bedford, MA)을 사용하여 단백질 트랜스퍼(transfer)를 진행하였다. 멤브레인

인은 5-min Fast Blocking Buffer(Biomax, Korea)로 5분간 블로킹(blocking)한 후 1X TBST로 10분간 세척하고, CAT 및 SOD (Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA)를 처리하여 항체 반응(4℃ overnight)시켰다. 이후 1X TBST로 10분간 3회 세척한 후 Goat anti-Mouse IgG (H+L)-HRP (GenDEPOT) 항체로 1-2시간 맵핑(mapping)한 후 10분간 3회 세척하고, ECL 용액을 처리하고 약 1분 후 화학발광 이미징 시스템(Atto, WSE-6370)을 이용해 단백질의 발현양을 확인하였다.

실시예 6. 동물 시험 평가

6-1. 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군의 준비

4주령의 수컷 생쥐(ICR mice)를 일주일동안 적응기간을 거친 후 총 3군으로 나누어 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군으로 구분하였다. Amyloid beta를 주입하기 전 21일 동안 대조군 및 Amyloid beta 유발군은 PBS를 경구투여 하였으며 MG4247 투여군은 MG4247균주를 균질화하여 1×10^9 CFU/day/mouse 농도로 경구투여 하였다. 21일 후 대조군을 제외한 모든 Amyloid beta 유발군 및 MG4247 투여군은 0.85% 염화나트륨용액에 Amyloid beta 1-42 (410 pM, Merck)를 녹여 26-gauge needle이 장착된 Hamilton microsyringe 42 (Hamilton Co., Reno, NV, USA)을 사용하여 정수리점(bregma)을 기준으로 2.5 mm 깊이의 양측 뇌실에 1회 주입하였고, 대조군에는 0.85% 염화나트륨 용액만 주입을 하였다. Amyloid beta를 주입 후, 3일 동안 실험동물을 회복시켰으며, 회복이 끝난 뒤 *in vivo* 실험을 진행하였다.

6-2. 행동실험 평가

인지장애 동물모델에서의 행동 개선 효과를 평가하기 위해 수동회피(Passive avoidance), Y-미로(Y-maze) 및 모리스 수중미로(Morris water maze) 평가를 수행하였다.

6-2-1. 수동 회피 평가(Passive avoidance test)

수동 회피 평가는 마우스의 불쾌 자극에 대한 단기 기억력을 평가하는 실험으로, 조명이 있는 밝은 공간과 어두운 공간이 작은 통로로 이어져 있는 서틀 상자에서 수행되었다. 마우스를 밝은 공간에서 조명을 켜지 않은 채 1분 동안 적응시킨 후, 조명을 켜고 2분 동안 적응을 시킨다. 이후 마우스가 어두운 공간으로 이동하자마자 전기충격을 0.5 mA, 3초 동안 가하여 공포학습을 시킨다. 학습을 시킨 다음 날 각각의 마우스들을 대상으로 기억 실험을 실시하였으며 조명을 켜 공간에 마우스를 놓고 마우스의 네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time)을 300초까지 측정하였다.

6-2-2. Y-미로 평가(Y-maze test)

Y-미로 평가는 마우스의 자발적인 교대 행동 능력을 평가하기 위한 실험으로, 길이 33cm, 높이 15cm, 넓이 10cm 인 검은색 플라스틱 재질로 3개의 구역으로 구성된 상자에서 수행되었다. 각 구역을 A, B, C로 정한 후에 한쪽 구역에 마우스를 조심스럽게 놓고 8분 동안 마우스가 들어간 구역의 이동 경로를 video tracking system (SMART v3.0, Panlab SL, Energia, Barcelona, Spain)을 사용하여 분석하였다. 3개의 서로 다른 구역에 연속으로 들어간 경우를 1점씩 부여하고, 변경 행동력(alternation behavior)은 총 통과횟수와 점수를 이용하여 계산하였다.

6-2-3. 모리스 수중미로 평가(Morris water maze test)

모리스 수중 미로 실험은 마우스의 장기 기억 능력을 평가하기 위한 실험으로, 물을 채운 수조에 쥐를 빠뜨린 후 숨겨진 플랫폼을 찾아가는데 걸리는 시간을 측정하는 방법이다. 수조 4분면의 한 구역(W 구역)에 도피대를 설치하고 실험 첫날은 수조에서 플랫폼을 보이게 하여 60초간 자유롭게 수영하도록 하여 적응훈련을 시키고, 4일 동안은 도피대를 수면 아래로 1cm로 놓고 보이지 않게 설정한 수조에서 매번 입수하는 위치를 다르게 하고 반복 훈련시키며 video tracking system (SMART v3.0, Panlab SL)을 이용하여 기록하였다. 실험동물이 60초 안에 도피대에 도달하는 경우에는 10초 동안 도피대에 머물게 하였으며, 도피대를 찾지 못할 경우에는 손으로 위치를 안내해주어 도피대에 위치하도록 하고 20초 동안 있도록 훈련시켰다. 실험 5일째에는 도피대를 제거하고

작업 기억을 측정하기 위하여 60초 동안 도피대가 있었던 W 구역에 머무르는 시간을 기록하였다.

[0091] **6-3. 미토콘드리아 기능 평가**

[0092] **6-3-1. 미토콘드리아 추출**

[0093] 마우스 뇌 조직의 미토콘드리아 활성을 평가하기 위해 뇌 조직에서 미토콘드리아를 추출하였다. 215 mM mannitol, 75 mM sucrose, 0.1% bovine serum albumin (BSA), 20 mM HEPES (Na⁺)로 이루어진 isolation buffer (pH 7.2)와 20 mM ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N, N, N, N' -tetraacetic acid (EGTA) 가 혼합된 버퍼를 이용해 뇌 조직을 균질화하였고, 균질액은 1,300 ×g에서 5분 동안 원심분리하였다. 이를 통해 얻어진 상등액은 13,000 ×g에서 10분 동안 원심분리하였고, 펠렛을 얻었다. 얻어진 펠렛에 20 mM EGTA와 0.1% digitonin이 함유된 isolation buffer를 첨가하여 ice에서 5분 동안 방치시킨 후, 이는 13,000 ×g에서 15분 동안 원심분리하였다. 이를 통해 얻어진 펠렛은 isolation buffer와 혼합하여 10,000 ×g에서 10분 동안 원심분리하였고, 최종적으로 얻어진 펠렛을 이용하여 미토콘드리아 활성을 평가하였다.

[0095] **6-3-2. Reactive oxygen species (ROS) 함량 측정**

[0096] 뇌 조직으로부터 추출된 미토콘드리아 추출물에서 미토콘드리아 내 ROS 함량을 측정하기 위해, 단백질 농도를 맞추어 사용하였으며 이는 25 μM DCF-DA 시약과 혼합하여 암흑에서 20분 동안 반응시켰다. 이 반응액은 형광광도계 (Infinite F200, Tecan)를 사용하여 excitation wave 485 nm 및 emission wave 535 nm에서 측정하였다.

[0098] **6-3-3. Mitochondrial membrane potential (MMP) 측정**

[0099] 뇌 조직으로부터 추출된 미토콘드리아 추출물은 mitochondrial membrane potential (MMP) 활성을 측정하기 위해 단백질 농도를 맞추어 사용하였으며, 미토콘드리아 추출물은 5 mM pyruvate와 5 mM malate가 함유된 미토콘드리아 isolation buffer와 혼합하였고, 이후 1 μM JC-1을 첨가하여 20분 동안 암흑에서 반응시켰다. 반응액은 형광광도계 (Infinite F200, Tecan)를 이용하여 excitation wave 530 nm 및 emission wave 590 nm에서 측정하였다.

[0101] **6-3-4. ATP level 측정**

[0102] 뇌 조직으로부터 추출된 미토콘드리아 추출물에서 ATP level을 측정하기 위해, 추출물은 10,000 ×g에서 10분 동안 원심분리하였고, 얻어진 펠렛은 1% trichloroacetic acid (TCA)와 혼합하여 ice에서 10분 동안 반응시켰다. 이후 25 mM Tris-acetate buffer (pH7.7)과 혼합한 뒤, 10,000 ×g에서 15분 동안 원심분리하였다. 이를 통해 얻어진 상등액은 ATP level을 측정하는데 사용되었고, ATP level은 ATP assay kit (Promega, Madison, WI, USA)를 사용하여 luminometer (GloMax-Multi Detection System, Promega, Corp., Madison, WI, USA)를 이용하여 측정하였다.

[0104] 이하, 본 발명의 효과를 실험예를 통하여 설명한다. 그러나 본 발명의 효과가 하기 실험예에만 한정되는 것은 아니다.

[0106] **실험예 1. 락토바실러스 가세리 MG4247의 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해 활성 효과**

[0107] 본 발명의 락토바실러스 가세리 MG4247의 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해 활성을 확인하기 위하여, 실시예 1과 같은 방법으로 제조된 무세포 상층액을 이용하여, 실시예 2와 같은 방법으로 대조군 대비 아세틸콜린 에스테라제(AChE) 저해활성능을 측정한 결과를 도 1에 나타내었다.

[0108] 도 1에 나타난 바와 같이, 대조군과 비교 시 제조된 MG4247 무세포 상층액 5% 농도가 현저히 높은 저해 효능을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

[0110] **실험예 2. 락토바실러스 가세리 MG4247 처리에 따른 세포 생존율 확인**

[0111] **2-1. 락토바실러스 가세리 MG4247 단독 처리 시 세포 생존율 확인**

[0112] 락토바실러스 가세리 MG4247의 세포 독성을 확인하기 위하여, 실시예 4와 같은 방법으로 2.5 및 5% 농도의 MG4247 무세포 상층액을 배양한 뒤, 상등액 취득 후 남아있는 세포를 MTT assay 방법을 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 이와 같이 2.5 및 5% 농도의 락토바실러스 가세리 MG4247을 처리한 후 세포 생존율을 측정한 결과를 도 2에 나타내었다.

[0113] 도 2에 나타난 바와 같이, 제조된 MG4247의 무세포 상층액 2.5 및 5% 농도까지 세포 독성을 나타내지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0115] **2-2. 락토바실러스 가세리 MG4247 및 H₂O₂ 동시 처리 시 세포 생존율 확인**

[0116] H₂O₂ 처리군에 락토바실러스 가세리 MG4247를 처리한 경우 세포 생존율을 확인하기 위하여, 실시예 4와 같은 방법으로 2.5 및 5% 농도의 MG4247 무세포 상층액을 배양한 뒤 H₂O₂ 600 μ M을 무세포 상층액과 함께 처리하여 8 시간 동안 배양하였다. 이 후, 각 웰의 상등액을 취득 후 남아있는 세포를 MTT assay 방법을 이용하여 세포 생존율을 측정한 결과를 도 3에 나타내었다.

[0117] 도 3에 나타난 바와 같이, H₂O₂만 처리한 실험군에서는 생존율이 현저히 감소하였으나, H₂O₂ 및 5% 락토바실러스 가세리 MG4247 무세포 상등액을 동시 처리한 경우 우수한 세포 생존율의 증가를 확인할 수 있었다.

[0119] **실험예 3. 락토바실러스 가세리 MG4247 처리에 따른 세포 손상도 확인**

[0120] H₂O₂ 처리군에 락토바실러스 가세리 MG4247를 처리한 경우 세포 손상도를 확인하기 위하여, 실시예 4와 같은 방법으로 2.5 및 5% 농도의 MG4247 무세포 상층액을 배양한 뒤 H₂O₂ 600 μ M을 무세포 상층액과 함께 8시간 동안 배양하였다. 이 후, 각 웰의 상등액을 취득하여 LDH 키트(Biomax, Korea)를 이용해 세포손상도를 측정한 결과를 도 4에 나타내었다.

[0121] 도 4에 나타난 바와 같이, H₂O₂만 처리한 실험군에서는 세포 손상이 현저히 증가하였으나, H₂O₂ 및 5% 락토바실러스 가세리 MG4247 무세포 상등액을 동시 처리한 경우 대조군과 비슷한 수준으로 현저히 우수한 세포 손상도의 감소를 확인할 수 있었다.

[0123] **실험예 4. 락토바실러스 가세리 MG4247의 항산화 효소 단백질 발현 촉진 효과 확인**

[0124] 락토바실러스 가세리 MG4247의 SOD (superoxide dismutase) 및 CAT (catalase) 단백질 발현 촉진 효능을 확인하기 위하여, 실시예 5와 같은 방법을 이용하여 SOD (superoxide dismutase) 및 CAT (catalase) 단백질의 발현 변화를 확인하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0125] 도 5에 나타난 바와 같이, 대조군 및 H₂O₂만 처리한 실험군 대비 5% 락토바실러스 가세리 MG4247 무세포 상등액을 처리한 경우 SOD 및 CAT 단백질 발현이 유의미하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[0127] **실험예 5. 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과 확인**

[0128] **5-1. 동물행동시험 평가**

[0129] **5-1-1. 수동 회피 평가(Passive avoidance test)**

[0130] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-2-1와 같은 방법으로 수동 회피

평가를 실시하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0131] 도 6에 나타난 바와 같이, 마우스 적응 첫째 날에는 밝은 챔버에서 어두운 챔버로 들어가는데 걸리는 시간이 그룹 간 편차를 보이지 않았지만, 전기 충격을 받은 다음날, 밝은 챔버에서 어두운 챔버로 들어가는데 걸리는 시간이 대조군(NC 그룹) 대비 Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서 감소하였으며, MG4247 투여군(MG4247 그룹)이 Amyloid beta 유발군에 비해 유의적인 개선을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

[0133] 5-1-2. Y-미로 평가(Y-maze test)

[0134] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-2-2와 같은 방법으로 Y-미로 평가를 실시하였고, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0135] 도 7에 나타난 바와 같이, 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군에서 마우스가 Y-미로의 각 팔에 들어간 횟수는 동일하였다. 그러나, 교대로 각 팔에 들어간 횟수를 계산한(변경 행동력) 결과, Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서는 대조군(NC그룹) 대비 변경 행동력이 감소한 반면, MG4247 투여군(MG4247 그룹)에서 대조군과 유사한 수준의 변경 행동력을 보여 Amyloid beta 유발군 대비 유의적인 개선을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

[0137] 5-1-3. 모리스 수중미로 평가(Morris water maze test)

[0138] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-2-3와 같은 방법으로 모리스 수중미로 평가를 실시하였고, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0139] 도 8에 나타난 바와 같이, 마우스가 수조 안에서 플랫폼을 찾아가는 데 걸리는 시간이 대조군(NC 그룹) 대비 Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서 더딘 양상을 보였으며, hidden 4일차 때 대조군 대비 Amyloid beta 유발군에서 플랫폼을 찾는데 걸리는 시간이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 그러나 MG4247 투여군의 경우 Amyloid beta 유발군과 비교하여 플랫폼을 찾는데 걸리는 시간이 획기적으로 감소하여, 대조군과 비슷한 정도의 시간이 소요되는 것을 확인할 수 있었다.

[0140] 이후 마지막 날 플랫폼을 제거하고 마우스가 플랫폼이 있던 구역에 머무르는 시간을 측정한 결과, Amyloid beta 유발군에서는 대조군 대비 머무르는 시간이 감소하였으나, MG4247 투여군에서는 대조군과 유사한 수준으로 머무르는 시간이 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0142] 5-2. 미토콘드리아 기능 평가

[0143] 5-2-1. Reactive oxygen species (ROS) 함량 측정

[0144] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-3-1와 같은 방법으로 마우스 뇌 조직에서의 미토콘드리아 추출을 수행한 다음 실시예 6-3-2와 같은 방법으로 ROS 함량 측정을 실시하였고, 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0145] 도 9에 나타난 바와 같이, 마우스 뇌 조직을 활용하여 미토콘드리아 내 ROS 함량은 대조군(NC 그룹) 대비 Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서 높은 함량을 보였다. 그러나 MG4247 투여군의 경우 Amyloid beta 유발군과 비교하여 미토콘드리아 내 ROS 함량이 감소하여, 대조군과 유사한 정도의 ROS 함량을 확인할 수 있었다.

[0147] 5-2-2. Mitochondrial membrane potential (MMP) 측정

[0148] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-3-1와 같은 방법으로 마우스 뇌 조직에서의 미토콘드리아 추출을 수행한 다음 실시예 6-3-3와 같은 방법으로 MMP 측정을 실시하였고, 그 결과 도 9에 나타내었다.

[0149] 도 9에 나타난 바와 같이, 마우스 뇌 조직을 활용하여 미토콘드리아 막 전위 (MMP)를 평가한 결과 대조군(NC 그룹) 대비 Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서 낮은 함량을 보였다. 그러나 MG4247 투여군의 경우 Amyloid beta 유발군과 비교하여 미토콘드리아 막 전위가 증가하여, 대조군과 유사한 정도의 MMP 수준을 확인할 수 있었다.

[0151] 5-2-3. ATP level 측정

[0152] 락토바실러스 가세리 MG4247의 인지기능장애 및 기억력 저하에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 실시예 6-1과 같이 대조군, Amyloid beta 유발군, MG4247 투여군을 준비한 후 실시예 6-3-1와 같은 방법으로 마우스 뇌 조직에서의 미토콘드리아 추출을 수행한 다음 실시예 6-3-4와 같은 방법으로 ATP level 측정을 실시하였고, 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[0153] 도 9에 나타난 바와 같이, 마우스 뇌 조직을 활용하여 미토콘드리아 ATP 함량을 평가한 결과 대조군(NC 그룹) 대비 Amyloid beta 유발군(A β 그룹)에서 낮은 함량을 보였다. 그러나 MG4247 투여군의 경우 Amyloid beta 유발군과 비교하여 미토콘드리아 ATP 함량이 감소하여, 대조군과 유사한 정도의 ATP 함량을 확인할 수 있었다.

수탁번호

[0154]

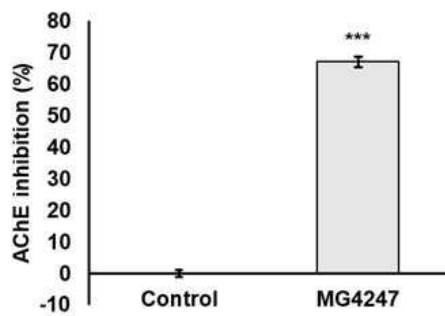
기탁기관명 : 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)

수탁번호 : KCTC15052BP

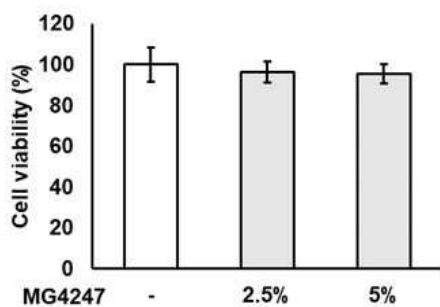
수탁일자 : 20220816

도면

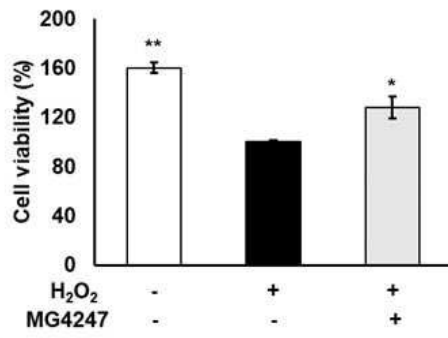
도면1



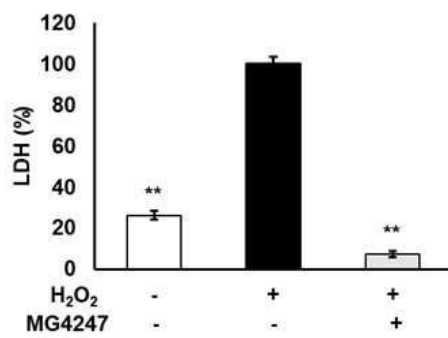
도면2



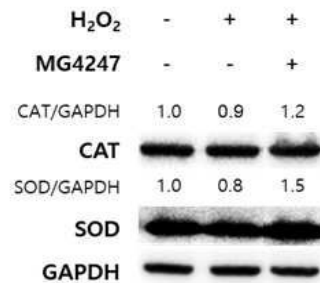
도면3



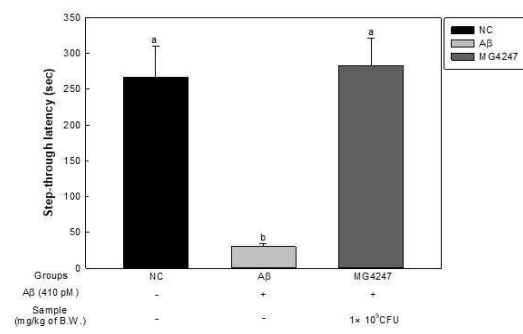
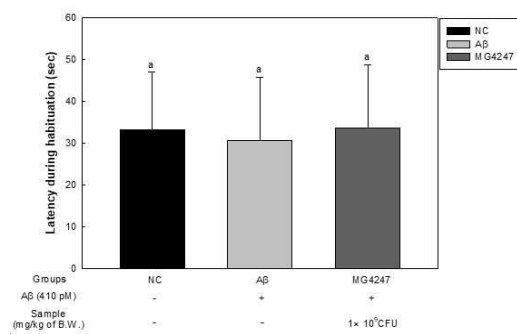
도면4



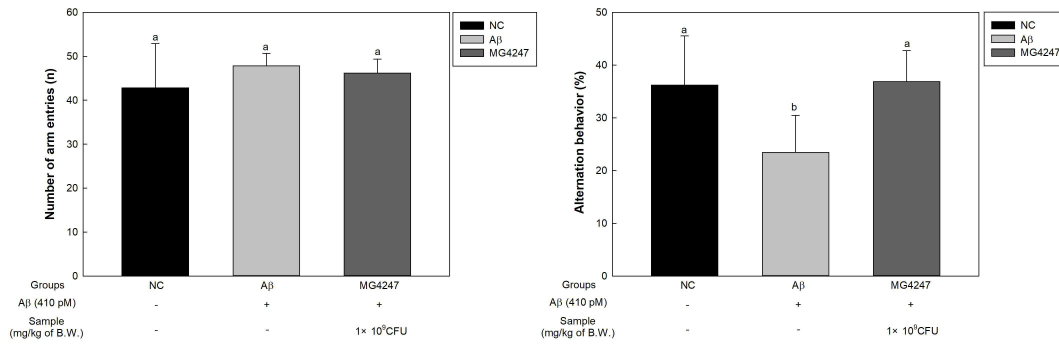
도면5



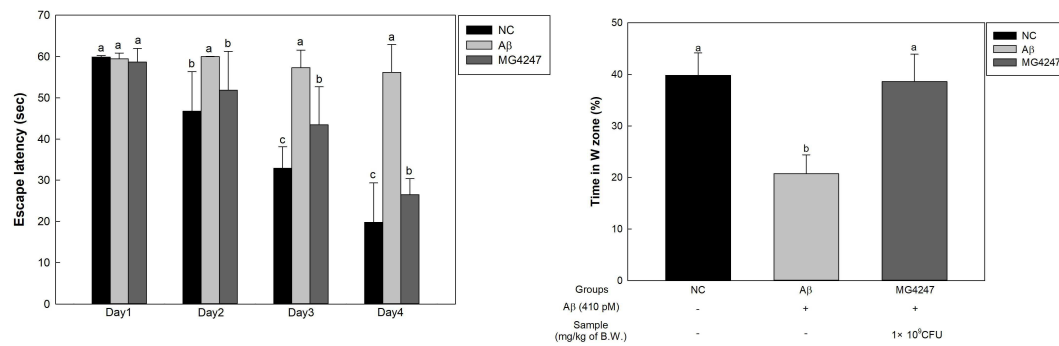
도면6



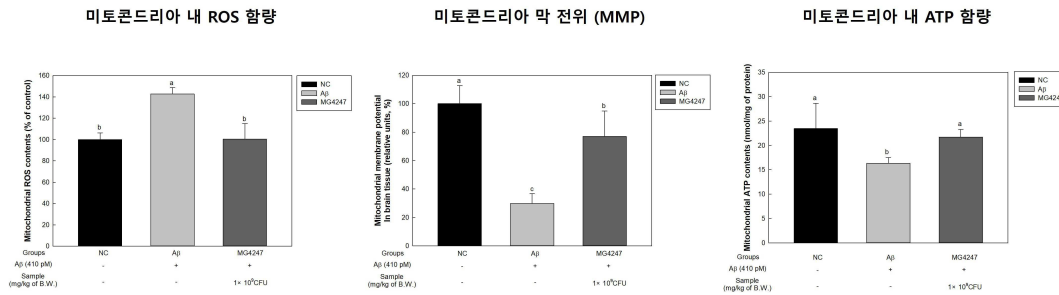
도면7



도면8



도면9



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.