



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0117749
(43) 공개일자 2016년10월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/435 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01)
A23K 20/195 (2016.01) A61K 38/17 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/43504 (2013.01)
A23K 20/147 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2015-0044857
(22) 출원일자 2015년03월31일
심사청구일자 2015년03월31일

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)
(72) 발명자
박남규
부산광역시 수영구 광안해변로 100 (남천동, 삼익
비치아파트) 212동 606호
이예진
부산광역시 부산진구 당감로 79 10동 1205호 (부
암동, 삼성래미안아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한윤호

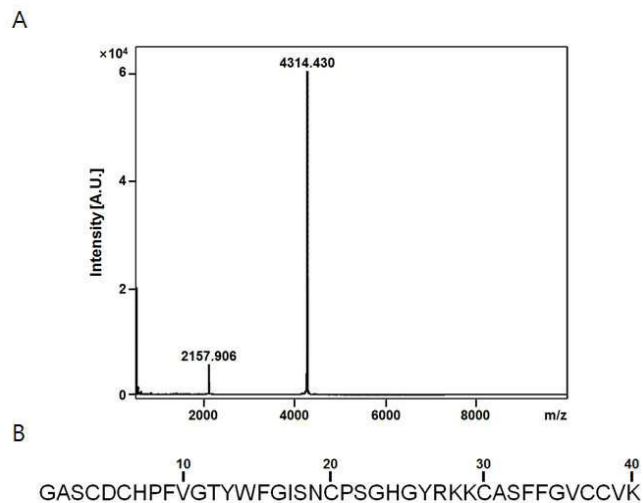
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 민가죽해변 말미잘의 인두조직 유래의 새로운 항균활성 펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 항균활성을 나타내고, 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열로 구성되는 펩타이드를 제공한다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23K 20/195 (2016.05)

A61K 38/1767 (2013.01)

(72) 발명자

조미정

부산광역시 북구 상학산북길 201 B동 302호 (만덕
동, 남문하이빌)

고혜진

부산광역시 영도구 남항동 2가 224번지

김찬희

부산광역시 동래구 명륜로75번길 31 가동 502호
(수안동, 새동래아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013000130002

부처명 환경부

연구관리전문기관 한국환경산업기술원

연구사업명 환경기술개발사업

연구과제명 연안생태계 균형유지를 위한 무척추동물 고부가가치 물질 활용기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교 산학협력단

연구기간 2013.05.01 ~ 2016.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

항균활성을 나타내고, 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열로 구성되는 펩타이드.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 펩타이드는 C-말단이 -COOH기 또는 -NH₂기인, 펩타이드.

청구항 3

제1항의 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 항생제.

청구항 4

제1항의 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 사료첨가제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항균활성 펩타이드에 관한 것으로서, 더 상세하게는 민가죽해변 말미잘의 인두조직 유래의 새로운 항균활성 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생물의 면역체계는 침입자에 관계없이 1차 방어 역할을 담당하는 선천성 면역(innate immunity)과 침입자에 대해 특이적인 반응을 담당하는 적응면역(adaptive immunity)으로 나눌 수 있다(Hancock and Diamond, *Trends Microbiol.*, 8(9): 402-410, 2000). 해양 무척추동물의 대부분은 외부침입에 대한 방어수단으로서 선천성 면역에 의존하고 있으며, 특히, 항균활성 펩타이드(antimicrobial peptide)는 생물체의 선천성 면역체계의 최전방 생체 방어인자이다. 항미생물성 펩타이드는 특정 미생물이나 항원에 반응하는 후천면역과는 달리 미생물의 종류에 크게 상관없이 작용하며 반응시간도 바로 혹은 몇 시간 내로 매우 빠르다. 지금까지 항미생물성 펩타이드에 관한 연구는 무척추 동물인 홍합(*Mytilus galloprovincialis*)의 혈액세포에서 마이티신(mytilin)(Mitta *et al.*, *Eur. J. Biochem.* 265(1): 71-78, 1999)을, 새우(*Penaeus vannamei*)의 혈림프액(hemolymph)에서 단백질이 풍부한 페네이딘(penaeidins)의 정제(Destoumie *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272(45): 28398-2406, 1997)가 보고되었고 극피동물인 별 불가사리(*Asterina pectinifera*)의 생식샘(gonad)으로부터 히스톤(Histone) H2A 단백질 또한 해양 강장동물인 해파리(*Aurelia aurita*)의 간충겔(mesoglea)로부터 Aurelin이(Ovchinnikova *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 348(2): 514-523, 2006) 정제, 보고되었다. 이 중 말미잘(sea anemone)은 바다에서 생활하며 암초 위에서 부착생활을 하지만 모래 속에 묻혀서 사는 것도 있고 족반(足盤)을 이용하여 이동하며 플랑크톤에서부터 자신의 몸보다 큰 물고기까지 잡아먹는 자포동물로 현재까지 말미잘로부터 기능성 물질에 대한 연구 특히 항균활성 펩타이드에 관한 연구는 그다지 많이 이루어지지 않은 실정이다.

[0003] 대한민국 등록특허 제491423호는 비단명게(*Halocynthia aurantium*)의 체액세포로부터 분리한 항균 펩타이드를 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 그러나, 상기 선행기술의 경우, 명게의 산 추출물로부터 분리된 펩타이드의 항균 활성이 낮아 산업이용성의 한

계가 존재한다.

[0005] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 포함하여 여러 문제점들을 해결하기 위한 것으로서, 말미잘로부터 분리된 항균 활성 펩타이드를 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러나 이러한 과제는 예시적인 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명의 일 관점에 따르면, 항균활성을 나타내고, 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열로 구성되는 펩타이드가 제공된다.

[0007] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.

[0008] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현벡터가 제공된다.

[0009] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 발현 벡터를 비인간 숙주세포에 형질 전환시킨 형질전환체가 제공된다.

[0010] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 항생제가 제공된다.

[0011] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 사료첨가제가 제공된다.

발명의 효과

[0012] 상기한 바와 같이 이루어진 본 발명의 일 실시예에 따르면, 말미잘로부터 분리 및 정제한 항균활성을 지닌 펩타이드 생산효과를 구현할 수 있다. 물론 이러한 효과에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 분리한 말미잘 추출물을 이용하여 Continuous AU-PAGE에 의해 분리된 분획들의 *B. subtilis* KCTC1021 균주에 대한 항균활성을 측정된 그래프이다.

도 2는 도 1의 활성분획에 대한 역상 HPLC 크로마토그램 및 상기 HPLC로부터 분리된 활성분획(■)의 항균활성 나타내는 방사확산 분석결과를 나타내는 사진(상기 HPLC 히스토그램 중앙)이다.

도 3은 도 2의 활성분획에 대한 역상 HPLC 크로마토그램이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따라 최종 정제된 항균활성 펩타이드에 대한 역상 HPLC 크로마토그램(A) 및 상기 정제 펩타이드의 트립신 처리 전후의 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*) KCTC1021 균주에 대한 항균활성을 분석한 방사확산 항균실험 결과를 나타낸 사진(B)이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 최종 정제된 항균활성 펩타이드의 분자량을 측정된 질량분석 결과(A) 및 상기 펩타이드 아미노산 서열(B)을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 용어의 정의:

[0015] 본 문서에서 사용되는 용어 "민가죽해변 말미잘(*Urticina crassicornis*)"은 조하대 연안 말미잘로 크기가 1 ~ 7.6 cm까지 자라며 녹색, 적색 및 갈색 등 다양한 색상을 가지고 있다. 전 세계의 많은 해안지역에 분포하고 있으며 최대 80년 동안 독립적으로 서식한다.

[0016] 본 문서에서 사용되는 용어 "이황화 결합(disulfide bonds)"은 두 개의 유황 원소(-S-S-) 사이의 단일 결합으로 생화학에서는 두 단백질간 시스테인(cysteine)잔기 사이나 혹은 한 단백질 내의 두 시스테인 잔기 사이에 형성되는 유황원소 결합을 지칭하며, 단백질의 제2차, 제3차 구조를 결정하는 데 중요한 역할을 한다.

[0017] 본 문서에서 사용되는 용어 "SAn4"는 민가죽해변 말미잘(sea anemone *Urticina crassicornis*)의 인두조직(pharynx tissue) 추출물로부터 정제된 분자량4314.430 Da 및 등전점(PI) 8.65을 나타내는 항균활성 펩타이드를 말한다.

[0018] 발명의 상세한 설명:

[0019] 본 발명의 일 관점에 따르면, 항균활성을 나타내고, 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열로 구성되는 펩타이드

드가 제공된다.

[0020] 상기 펩타이드는 C-말단이 -COOH기 또는 -NH₂기일 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.

[0022] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현벡터가 제공된다.

[0023] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 발현 벡터를 비인간 숙주세포에 형질 전환시킨 형질전환체가 제공된다.

[0024] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 항생제가 제공된다.

[0025] 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드를 포함하는 항생제는 통상의 방법에 따른 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 일 수 있다. 또한, 상기 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. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있고 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제등이 포함되며, 상기 부형제는 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose) 및 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드를 포함하는 항생제는 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 일반적으로 0.01 내지 500mg/kg의 양, 바람직하게는 0.1 내지 100mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있고 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중 및 나이 등에 따라서 증감될 수 있으나 이에 한정된 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 따른 펩타이드를 포함하는 항생제는 랫트, 마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있고 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 비경구 투여 시 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내주사, 자궁내 경막주사, 뇌혈관내 주사 또는 흉부내 주사에 의해 투여될 수 있고, 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 상기 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 사료첨가제가 제공된다.

[0029] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하의 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다.

[0030] 실시예 1: 시료 준비

[0031] 본 발명의 일 실시예에 따라 말미잘 피부 조직으로부터 항균활성을 나타내는 펩타이드를 분리하기 위하여 시료를 준비하였다.

[0032] 먼저, 실험에 사용한 민가죽해변 말미잘(*Urticina crassicornis*, 6마리, 길이 8 ~ 9 cm)는 2013년 1월에 부산광역시 기장군에서 구입하였고, 상기 살아있는 상태의 말미잘로부터 인두조직(pharynx tissue)을 분리한 후, 액체 질소로 급속 동결시켜 실험에 사용하기 전까지 -75℃에 보관하였다.

[0033] 실시예 2: 항균활성 펩타이드의 추출

[0034] 본 발명의 일 실시예에 따라 분리한 말미잘 인두조직으로부터 항균활성을 갖는 펩타이드를 추출하였다.

[0035] 구체적으로, 상기 동결 보관한 말미잘의 인두조직 및 주변 근육 조직과 예열된 1% 아세트산 용액(HAc)을 1 : 4(v/v)의 비율로 혼합하고, 100℃에서 5분간 가열하여 단백질 분해효소의 활성을 막는 동시에 물질을 추출하였다. 상기 가열된 조직은 얼음 챔버(ice chamber)안에서 냉각시킨 후 4℃에서 균질화기(speed#6, T10 basic ULTRA-TURRAX, IKA, USA)를 이용하여 균질화하였고 상기 균질화한 시료를 4℃, 13,000×g에서 25분 동안 원심분리한 후 실험에 이용하기 직전까지 -75℃에 보관하였다.

[0036] 실시예 3: 항균활성(antibacterial activity) 측정

[0037] 본 발명의 일 실시예에 따라 추출한 천연물의 정제 과정을 통해 수득한 각 분획의 항균활성은 *B. subtilis*

KCTC1021에 대해 고감도 방사확산 분석(ultrasensitive radial diffusion assay, URDA) 방법을 이용하여 측정하였다.

[0038] 구체적으로 미생물은 37℃에서 18시간 동안 액체배지(trypticase soy broth, TSB)에서 배양한 후, 상기 배양액을 McFarland 표준혼탁도 0.5(Vitek Colorimeter #52-1210; Hach, Loveland, CO, USA)가 되도록 희석하였다. 상기 희석액은 약 $\sim 10^8$ CFU/ml(세균)에 해당하는 양으로 상기 희석액 0.5 ml을 9.5 ml의 깔개 겔(underlay gel)[10 mM 인산 완충액(pH 6.6), 0.03% TSB 및 1% I형 한천(low EEO)]에 혼합하여 5×10^6 CFU/ml(세균)로 조정된 후 직경 10 cm, 높이 1.5 cm 평판 접시에 도포하여 1 mm 높이의 겔을 생성했다. 그 후, 상기 평판 접시 내에 형성된 겔에 직경 2.5 mm 크기로 구멍을 뚫어 웰(well)을 만들고 0.01% HAc 5 μ l에 녹인 시료를 웰(well)에 주입한 후 37℃에서 3시간 동안 배양하였다. 이후 배양된 깔개 겔 위에 덮개 겔(upperlay gel)[10 mM 인산완충 용액(pH 6.6), 6% TSB 및 1% 한천] 10 ml를 덮은 후, 37℃에서 16시간 동안 배양하였다. 다음 날 웰 주위에 형성된 투명지역(clear zone)의 직경(diameter)을 측정함으로써 활성을 확인하였다.

[0039] 실시예 4: 항균 펩타이드의 분리 및 정제

[0040] 본 발명의 일 실시예에 따른 항균 활성을 나타내는 말미잘 인두 추출물을 연속 산-요소-폴리아크릴아마이드 겔(continuous acid-urea-polyacrylamide gel, CAU-PAGE)과 역상 HPLC를 이용하여 정제하였다.

[0041] 먼저, CAU-PAGE는 종래의 방법(Seo *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 338: 1998-2004, 2005)인 Bio-Rad Prep Cell 491(Bio-Rad, US)을 사용하여 말미잘 인두 추출물을 초기에 정제하였다. 상기 정제에는 12% 아크릴아마이드 겔을 사용 했으며 5 % HAc 와 4.8 M Urea를 포함하고 0.48% (v/v) TEMED(tetramethylethylenediamine)와 0.22%(v/v) APS(ammonium persulphate)를 넣어 직경 28 mm 튜브를 이용하여 겔을 제작하였고, 위와 아래 챔버 모두는 5% HAc를 넣어 주고, 90분 동안 예비작동(pre-run)을 수행한 뒤 다시 위 챔버에 5% HAc를 다시 넣어주었다. 산성화된 말미잘 추출물 10 ml에 5 ml 샘플 용액(5% HAc의 3.0 M 요소)을 혼합하고 겔에 로딩한 후 30 mA로 전류를 일정하게 주어 전기영동을 수행하였다. 상기 시료는 0.8 ml/분의 속도로 용출되었고 약 10 ml씩 분획물을 7시간 12분 동안 수집하였다. 각 분획물의 1/100을 동결건조 한 후 *B. subtilis*에 대하여 항균 활성을 측정하였다.

[0042] 그 결과, 항균활성은 16~36 분획에서 나타났으며(도 1), 바(—)에 의해 지시되는 항균활성이 강한 분획들은 순수한 단일물질들을 얻기 위하여 동결 건조 후 0.01 % HAc 200 μ l로 녹여 이후 하기와 같은 연속적인 3단계의 HPLC를 이용하여 정제단계를 수행하였다.

[0043] 실시예 5: C₁₈ HPLC 컬럼을 이용한 분리

[0044] 본 발명의 일 실시예에 따라 역상 HPLC를 이용하여 실시예 4에서 수득된 활성분획을 정제하였다.

[0045] 구체적으로, 상기 실시예 4에서 수득된 항균활성 분획물 19 농축액을 역상 HPLC 단계로 CapCell-Pak C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm) 칼럼을 사용하여 하기와 같은 조건으로 정제하였다. A 용매는 0.1% TFA(trifluoroacetic acid)를 포함하는 100% D.W.(pH 2.2), B 용매는 0.1% TFA를 포함하는 100% 아세토나이트릴(CH₃CN)(pH 2.2)을 이용하여 B 용매의 농도경사 5 $\rightarrow$ 65%(60 분), 유속 1.0 mL/분, 파장 220 nm 및 온도는 실온의 조건으로 수행하였다. 또한 상기 분리한 각 분획들을 *B. subtilis*에 대한 항균활성을 측정하였다.

[0046] 그 결과, 33% 아세토나이트릴에 해당하는 바(—)에 의해 지시되는 분획에서 강한 항균활성을 나타내는 것을 확인하였다(도 2).

[0047] 실시예 6: C₄ 칼럼을 이용한 분리

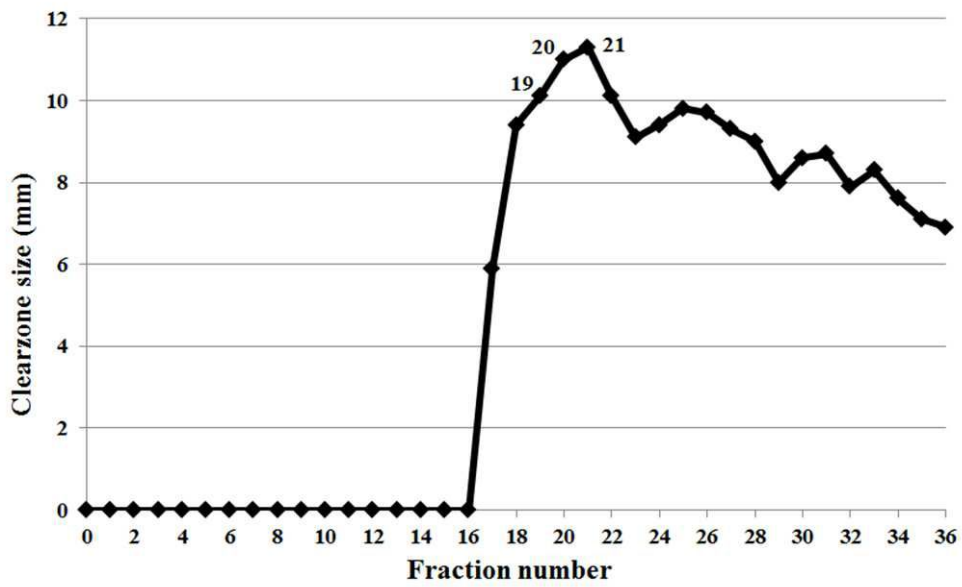
[0048] 본 발명의 일 실시예에 따라 역상 HPLC를 이용하여 실시예 5에서 수득된 활성분획을 정제하고 항균활성을 측정하였다.

[0049] 구체적으로, 상기 실시예 5에서 수득된 항균활성 분획들을 농축하였으며 상기 농축액을 역상 HPLC 단계로 Vydac 214TP5415 C₄(4.6 mm $\times$ 150 mm) 칼럼을 사용하여 하기와 같은 조건으로 정제하였다. A 용매는 0.1% TFA를 포함하는 100% D.W.(pH 2.2), B 용매는 0.1% TFA를 포함하는 100% 아세토나이트릴(CH₃CN)(pH 2.2)을 이용하여 B 용매의 농도경사 25 $\rightarrow$ 37.5%(25 분), 유속 1.0 mL/분, 파장 220 nm 및 온도는 실온의 조건으로 수행하였고 상기 각 분획들은 *B. subtilis*에 대한 항균활성을 측정하였다.

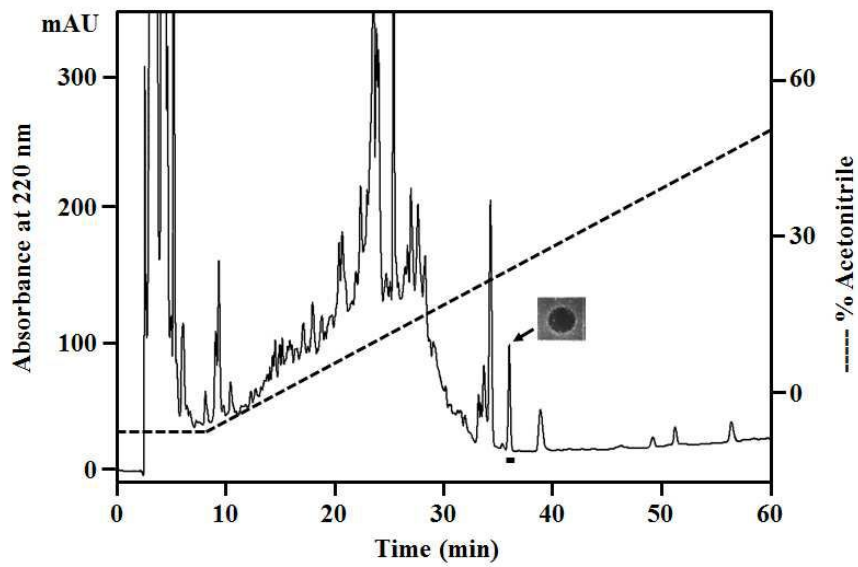
- [0050] 그 결과, 항균활성은 머무름시간(retention time, RT) 약 32% 아세트나이트릴에 해당하는 바(一)에 의해 지시되는 분획에서 강한 항균활성을 나타내는 것을 확인하였다(도 3).
- [0051] **실시예 7: 항균활성 펩타이드의 최종정제**
- [0052] 본 발명의 일 실시예에 따라 CapCell-Pak C₁₈ 칼럼을 이용하여 실시예 6에서 수득된 활성분획을 최종정제하였다.
- [0053] 구체적으로, 상기 실시예 6에서 수득된 활성분획을 32% 아세트나이트릴의 등용매(isocratic) 조건에서 CapCell-Pak C₁₈(4.6×250 mm) 칼럼을 이용한 HPLC를 통해 항균활성을 나타내는 펩타이드를 최종 정제하였다. 그 결과, 8.7 분의 머무름시간(retention time, RT)을 갖는 단일한 순수한 물질을 정제하였으며, 정제된 물질은 민가죽해변 말미잘(*sea anemone Urticina crassicornis*) 조직 추출물로부터 정제되었으므로 편의상 'SAn4'로 명명하였다(도 4A).
- [0054] **실시예 8: 항균활성 확인**
- [0055] 본 발명의 일 실시예에 따라 최종 정제된 항균물질 SAn4에 단백질 분해효소(protease)로 250 µg/ml 크리스탈 트립신(Fisher Scientific, Fairlawn, NJ, USA)을 37℃에서 60분 동안 처리한 뒤, URDA 방법을 이용하여 그람 양성균인 *B. subtilis*에 대한 항균활성을 확인하였다.
- [0056] 그 결과, 트립신을 항균물질에 처리했을 때(after)는 처리하기 전(before)과 비교하여 항균활성이 현저하게 감소되었으며, 상기 결과는 SAn4가 단백질성 항균활성물질인 것을 의미한다(도 4B).
- [0057] **실시예 9: 분자량 측정**
- [0058] 본 발명의 일 실시예에 따라 한국기초과학지원연구원의 MALDI-TOF 질량분석계(Voyager-DETM STR spectrometer, Perspective Biosystems, U.S.A.)를 사용하여 상기 정제한 펩타이드의 분자량을 측정하였다.
- [0059] 그 결과, 2개의 양성 이온 피크인 4314.430 Da과 2157.906 Da이 관찰되었는데 상기 2157.906 Da은 물질의 2가 이온화에 의해 관측된 것이며, 상기 정제된 펩타이드의 분자량은 4314.430 Da으로 확인되었다(도 5A).
- [0060] **실시예 10: 1차 서열분석**
- [0061] 본 발명의 일 실시예에 따라 PPSQ-31A/33A 단백질 서열분석기(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 에드만(Edman) 분해법으로 상기 정제한 펩타이드의 아미노산 잔기의 서열분석을 수행하였고 이론적 등전점과 분자량의 분석은 ExPASy(<http://www.expasy.ch/tools/peptide-mass.html>)를 이용하여 추정하였다.
- [0062] 그 결과, 상기 펩타이드의 아미노산 서열은 NH₂-GASCDCHPFVGTYWFGISNCPSGHG YRKKCASFFGVCCVK-OH(서열번호 1)로 확인되었고 등전점(PI)은 8.65로 나타났다. 에드만 분해법에 따른 상기 1차 서열을 토대로 이론적 분자량을 계산한 결과 6개의 시스테인(cysteine)이 이황화 결합(disulphide bond)을 하지 않았을 경우 4320.98 Da으로 나타났다. 따라서 모든 시스테인이 이황화 결합을 했다는 가정하의 이론적 분자량은 4314.98 Da으로 MALDI-TOF-MS에 의해 얻은 분자량(4314.430 Da)과 일치하며, 펩타이드 내에 구성된 시스테인이 모두 이황화 결합을 하고 있음을 증명하였다(도 5B). 본 발명의 일 실시예에 따른 항균 펩타이드는 NCBI BLAST (blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) 분석결과 종래의 펩타이드들과 상동성이 55% 미만으로서 신규한 펩타이드로 확인되었다.
- [0063] 상술한 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 항균 펩타이드는 항균 활성이 매우 우수하기 때문에, 각종 항생제 및 어류 등의 양식용 사료 첨가제로 사용 가능하다.
- [0064] 본 발명은 상술한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

도면

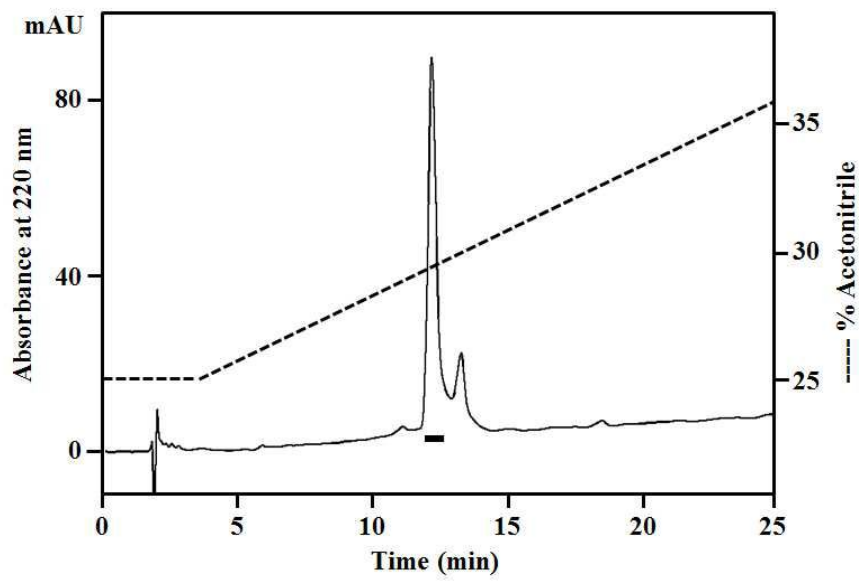
도면1



도면2

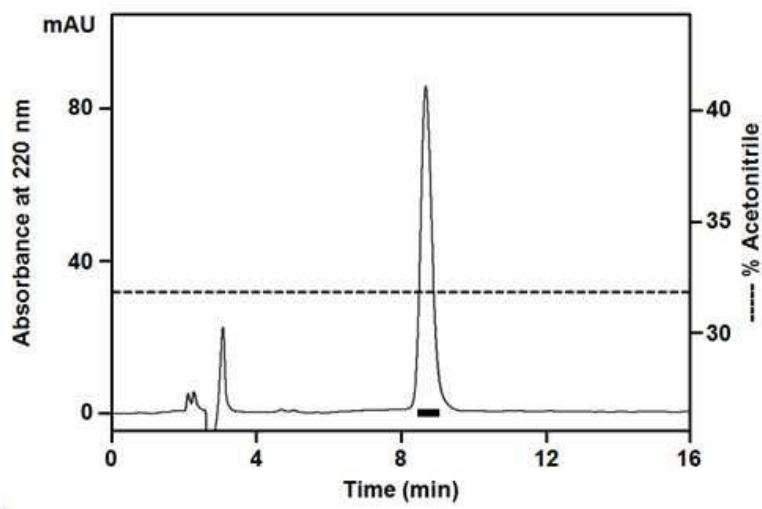


도면3

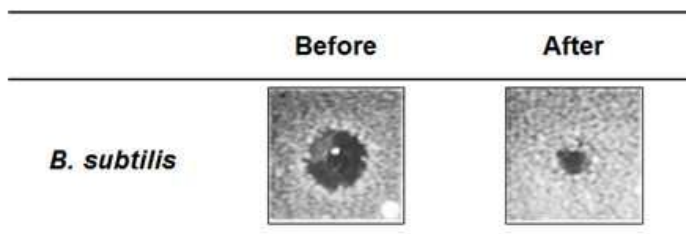


도면4

A

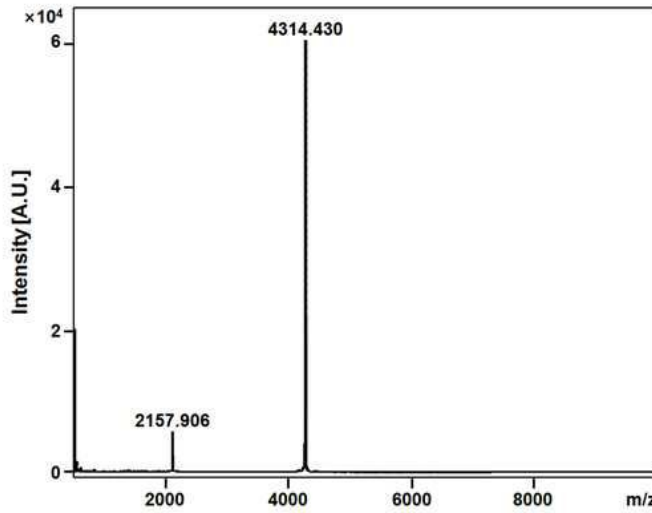


B



도면5

A



B

10 20 30 40
GASCDCHPFVGTYWFGISNCPSGHGYRKKCASFFGVCCVK

서열 목록

<110> Pukyong National University Industry-University Cooperation Foundation

<120> A Novel antimicrobial peptide from the pharynx tissue of Pharynx
of Sea anemone, *Urticina crassicornis*, and uses thereof

<130> PD15-5202

<160> 1

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 39

<212> PRT

<213> *Urticina crassicornis*

<400> 1

Ala Ser Cys Asp Cys His Pro Phe Val Gly Thr Tyr Trp Phe Gly Ile

1 5 10 15

Ser Asn Cys Pro Ser Gly His Gly Tyr Arg Lys Lys Cys Ala Ser Phe

20 25 30

Phe Gly Val Cys Cys Val Lys

35