(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0128948
(43) 공개일자 2021년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) *A23L 19/00* (2016.01)
A23L 29/00 (2016.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01) *A61K 35/747* (2014.01)
A61P 19/10 (2006.01) *C12P 17/06* (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01) *C12R 1/225* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2021.05)
A23L 19/00 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2021-0050548
(22) 출원일자 2021년04월19일
심사청구일자 2021년04월19일
(30) 우선권주장
1020200046387 2020년04월17일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
강세찬
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 생명과학대학 414호(서천동)
권정은
경기도 수원시 영통구 반달로 76, 204호(영통동)
(74) 대리인
위병갑

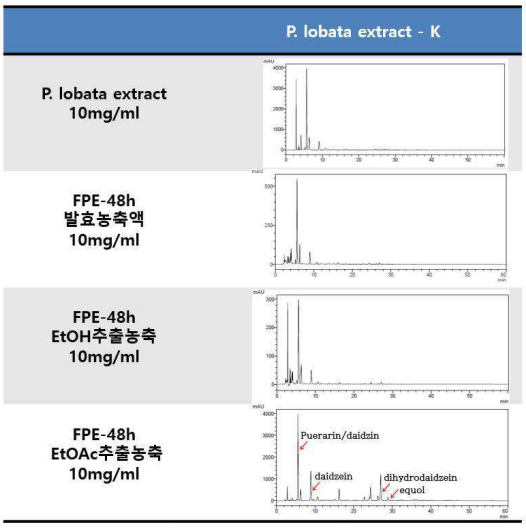
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 락토바실러스 사케이 SEQvitaP 균주 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 콩과 식물로부터 이소플라본 대사체인 다이하이드로다이드제인(dihydrodaidzein, DHD) 또는 에쿠올(Equol)으로 생체 전환할 수 있는 신규한 미생물인 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주 및 이의 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 29/065 (2016.08)
A23L 33/10 (2016.08)
A23L 33/135 (2016.08)
A61K 35/747 (2013.01)
A61P 19/10 (2018.01)
C12P 17/06 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
C12R 2001/01 (2021.05)
C12R 2001/225 (2021.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1425146199
과제번호	S3030487
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	중소기업기술정보진흥원
연구사업명	창업성장기술개발(R&D)
연구과제명	미생물 생체전환 이소플라본유도체 함유 크론병치료제 비임상연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	㈜엠바이옴쎄라퓨틱스
연구기간	2020.12.01 ~ 2022.11.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 균주는 서열번호 1로 표시되는 것인, 균주.

청구항 3

제1항의 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 식품용 조성물.

청구항 4

제1항의 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가용 조성물.

청구항 5

제1항의 균주를 이용하여, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법에서,

상기 방법은,

(a) 콩과식물을 에탄올로 추출하는 추출단계; 및

(b) 상기 (a) 단계에서 얻은 추출물에 제1항의 균주를 접종한 후 이를 교반하여 배양액을 만드는 배양단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 (b) 배양단계의 교반속도는 100 내지 300rpm인 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 (b) 배양단계의 온도는 20 내지 40℃인 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 (b) 배양단계의 배양시간은 20시간 내지 80시간인 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법.

청구항 9

제5항에 있어서,

상기 (b) 배양단계의 추출물을 배양액 총량 기준으로 0.2 내지 3 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법.

청구항 10

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성호르몬 또는 남성호르몬 조절용 건강기능식품 조성물.

청구항 11

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기 또는 남성갱년기의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 12

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 13

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 14

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 15

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 16

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 17

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규한 락토바실러스 사케이(*Lactobaillus sakei*) SEQvitaP 균주 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 콩과식물은 콩과에 속하는 식물로서 이용성과 경제성이 매우 높아서 재배대상으로 많이 이용되고 있는 식물이다. 이중에서도 칡(*Pueraria lobata*)은 한국, 일본, 중국 등에 분포하는 야생식물로서, 고대로부터 구황식품으로 이용되었으며, 이른 봄 또는 늦은 가을에 캐어서 건조하여 약재로 이용하고 있으며, 발한, 해열, 하혈, 구갈, 두통을 다스린다고 하며, 고혈압, 협심증, 당뇨, 숙취제거, 항산화 효능 등에 이용되고 있다.

[0003] 한편, 칡에는 푸에라린(puerarin), 다이드진(daidzin), 다이드제인(daidzein), 제니스테인(genistein)과 같은 이소플라본(isoflavone) 물질이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있어, 다양한 용도로 개발되어오고 있다.

[0004] 또한, 대두는 동물성 단백질에 비하여 아미노산이 적지만 식물성 단백질 및 식물 섬유가 풍부하며, 불포화 지방산을 포함하고 있기 때문에 영양적 가치가 뛰어나며, 골다공증 개선, 폐경기 증후, 항암효과, 비만증, 동맥경화, 고혈압, 항지방 혈증작용, 신장질환 등 광범위한 영역에 이용되고 있다.

[0005] 대두에는 다이드진(daidzin), 다이드제인(daidzein), 제니스틴(genistin), 제니스테인(genistein), 글리시틴(glycitin), 글리시테인(glycitein), 비오차닌(biochanin) A, 포르모노네틴(formononetin) 등이 함유되어 있다.

[0006] 본 발명의 생산 물질인 다이하이드로다이드제인은 콩의 주요 이소플라본(isoflavone) 중 하나인 다이드제인이 체내에 흡수되어 대사되는 과정 중에 생성되는 대사체 중 하나이며, 다이하이드로다이드제인은 이소플라보노이드(isoflavonoid)의 일종으로 항산화, 진통 효과 등이 있는 것으로 보고되어 있다. 또한, 본 발명의 또 다른 생산 물질인 다이하이드로제니스테인은 장 박테리아에 의한 대두 이소플라본 중 제니스테인의 대사산물이다.

[0007] 상기 콩과식물에 포함된 이소플라본은 에스트라디올과 구조가 유사하여 타 물질에 비해 체내 흡수율이 높으며, 에스트로겐 수용체와 결합력이 뛰어나 항에스트로겐 작용 및 에스트로겐 유사 작용을 갖고 있다고 보고된 바 있으며, 항에스트로겐 작용에 의한 유방암, 전립선암 등의 호르몬 의존성 암의 예방 효과나 에스트로겐 유사 작용에 의한 갱년기 장애, 폐경 후의 골다공증, 고지혈증의 개선 효과가 보고되어있다.

[0008] 특히, 이소플라본의 대사산물로는 최근 골다공증 등 여성호르몬 관련 질환의 예방 및 치료기능을 갖는 에쿠올(equol)과 같은 물질이 있으며, 에쿠올은 콩과식물의 이소플라본에 비해 에스트로겐 수용체와 결합능이 강하여, 유방이나 전립선 조직 등의 표적장기로 이행성이 현저히 높은 것이 보고되어있고, 폐경 후의 골밀도, 지질대사 개선 효과 또한 우수하다. 또한, 골다공증, 산부인과 질환, 전립선암, 위암, 유방암 등의 개선효과가 보고되어 있다. 이러한 에쿠올은 장내 미생물의 대사를 거쳐 생산 되지만, 에쿠올의 생산능에는 개인차가 있어 서양인의 에쿠올 생산자 비율은 약 20%, 동양인의 에쿠올 생산자 비율은 약 50%로 보고 되어있다.

[0009] 그러나, 현재 보고되어 있는 균주들은 혐기적인 조건에서만 사용되기 때문에, 배양 시에 한계를 지니고 있어, 호기적 조건에서 에쿠올을 생산하는 미생물 개발이 시급한 실정이다.

[0010] 한편, 현대사회의 고령화 등으로 질병치료 위주에서 질병예방으로 건강유지 방법의 인식이 변화하였고, 이에 따른 외모, 정신건강 예방/관리 등 항노화 관련 시장으로 산업범위가 확대되고 있다. 지역에 따라 특성이 다르게 나타나고 있으나, 전세계적으로 항노화와 여성지위 향상에 따른 여성 맞춤형 건강기능식품에 대한 수요가 확대되고 있으며, 현재 미국, 유럽 등에 전략지역이 치중되어있으며, 동남아시아, 아프리카 등 신흥 성장가능성 시장에 대한 공략은 매우 낮다.

[0011] 갱년기란 성호르몬의 감소로 인해 여러 증상이 나타나는 기간을 의미하며, 주로 중년 여성에게 나타나는 것으로 알려져 있지만, 30대 후반부터 성호르몬 분비가 서서히 감소하는 남성에게서도 나타난다. 주로 남성의 고환에서 생성되는 테스토스테론은 남성의 신체 건강, 정신상태 등을 조절하는데, 30대 전후부터 해마다 약 1%씩 감소하여 50~70대 남성의 약 30~50%는 테스토스테론의 수치가 정상치보다 감소된다. 남성갱년기는 여성갱년기와 달리 진행속도가 느려 인식 하지 못하고 지나치는 경우가 많아서 악화되는 경우가 많다.

[0012] 여성의 경우 난소가 노화하면 배란과 여성호르몬의 생산이 더 이상 이루어지지않아 폐경이 나타나며, 보통 폐경 후 1년 정도를 갱년기라고 칭하며, 기간과 증상은 사람에 따라 매우 다양하나, 일반적으로 골다공증이 현격하게 증가한다. 갱년기 증후군의 경우 호르몬 주사 치료법을 이용한 치료가 대부분이었으나, 장기간 호르몬 치료법을 사용할 경우 유방암, 전립선암 등 암 발생률이 매우 높아 호르몬 주사 치료법을 대체할 수 있는 안전하면서 뛰어난 치료법 개발이 필요한 실정이다.

[0013] 따라서, 본 발명은 콩과 식물로부터 이소플라본 대사체인 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol)로 생체 전환할 수 있는 신규한 미생물 3종을 개발하였고, 이는 각각 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주, 락토바실러스 파라카제이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P; 서열번호 2) 균주 및 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P; 서열번호 3) 균주이며, 상기 미생물들을 이용하여 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol)의 생산능을 확인하였다. 또한, 본 발명의 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주는 여성호르몬 또는 남성호르몬의 불균형을 조절하여 여성갱년기 또는 남성갱년기 증후군을 완화시킬 수 있음을 확인하였다. 구체적으로는 락토바실러스 사케이 SEQvitaP 균주 및 균주 발효물에 의해 ①여성갱년기 증상 중 하나인 골다공증

의 개선 효능이 뛰어난 것을 확인하였으며, ②남성호르몬 불균형으로 인하여 발생하는 전립선 비대증과 전립선암 예방/치료 효과를 확인하였다. 또한, 남성갱년기로 인하여 발생되는 근감소증이 해당 균주 및 균주 발효물에 의해 개선되는 것을 확인하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0015] (특허문헌 0001) 10-2005-0008382

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명은 이소플라본이 다량 함유되어있는 콩과식물을 이용하여 호기적 조건에서도 에쿠올(Equol)의 전구체인 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 생산할 수 있으며, 또한 최종 생산물질인 에쿠올(Equol)을 제조할 수 있는 신규한 균주를 개발함에 그 목적이 있다.

[0017] 또한, 상기 균주를 이용하여 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol)을 생산하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0018] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 여성호르몬 또는 남성호르몬 조절용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0019] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기 또는 남성갱년기의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0020] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0021] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0022] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0023] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0024] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0025] 또한, 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0026] 상기한 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁

번호 : KACC92053P) 균주를 제공한다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "균주"는 서열번호 1로 표시되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 또한, 본 발명은 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 식품용 조성물을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 상기 균주, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물 및 상기 균주의 추출물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 식품 첨가용 조성물을 제공한다.

[0030] 또한, 상기 균주를 이용하여, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법에서, 상기 "방법"은, (a) 콩과식물을 에탄올로 추출하는 추출단계; 및 (b) 상기 (a) 단계에서 얻은 추출물에 제1항의 균주를 접종한 후 이를 교반하여 배양액을 만드는 배양단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는, 콩과식물로부터 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올을 포함하는 콩과식물 발효물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 배양단계의 "교반속도"는 100 내지 300rpm인 것을 특징으로 하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 배양단계의 "온도"는 20 내지 40℃인 것을 특징으로 하는 것 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 배양단계의 "배양시간"은 20시간 내지 80시간인 것을 특징으로 하는 것 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 배양단계의 "추출물"을 배양액 총량 기준으로 0.2 내지 3 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 것 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성호르몬 또는 남성호르몬 조절용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0036] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기 또는 남성갱년기의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0037] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0038] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0039] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0040] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0041] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0042] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0043] 본 발명에 따른 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주를 이용하여 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 또는 에쿠올(Equol)을 제조하는 방법에 의하면, 호기적 조건에서도 배양가능하며, 이는 높은 생산능을 가지는 효과가 있다. 상기 신규 균주를 이용하는 경우, 여성호르몬 또는 남성호르몬의 불균형을 조절하여 여성갱년기 또는 남성갱년기 증후군을 완화시킬 수 있음을 확인하였다. 구체적으로는 락토바실러스 사케이 SEQvitaP 균주 및 균주 발효물에 의해 ①여성갱년기 증상 중 하나인 골다공증의 개선 효능이 뛰어난 것을 확인하였으며, ②남성호르몬 불균형으로 인하여 발생하는 전립

선 비대증과 전립선암 예방/치료 효과를 확인하였다. 또한, 남성갱년기로 인하여 발생되는 근감소증이 해당 균주 및 균주 발효물에 의해 개선되는 것을 확인하였다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 에쿠올(Equol)의 전환을 측정한 도이다(하기의 두 그림은 발효액 전처리방법으로 EtOH 또는 EtOAc를 이용한 것이다).

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 세포 사멸 억제 활성을 측정한 도이다(A; BPH-1 세포주, B; LNCap 세포주).

도 3은 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 안드로겐 수용체(AR) 및 전립선 특이항원(PSA) 발현 억제를 확인한 도이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)에 포함되어 있는 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 에쿠올(Equol)의 안드로겐 수용체(AR) 및 전립선 특이항원(PSA) 발현 억제를 확인한 도이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)에 포함되어 있는 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 에쿠올(Equol)의 C2C12 세포주에서의 AR과 ER의 발현 확인한 도이다.

도 6은 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 골다공증 동물모델(OVX)에서 개선 효과를 나타낸 도이다.

도 7은 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 골다공증 동물모델(OVX)에서 감소된 해면골 및 치밀골의 골밀도의 개선 효과를 나타낸 도이다.

도 8은 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 본 발명의 실시예에 따른 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용한 발효물(FPE)의 골다공증 동물모델(OVX)에서 골다공증 바이오마커인 RANKL, OPG, Osteocalcin의 분비량을 측정한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 실시예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0046] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시 예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0047] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는(w/w) %, 고체/액체는(w/v) %, 그리고 액체/액체는(v/v) %이다.

[0049] 본 발명을 상세하게 설명하면 다음과 같다.

[0050] 본 발명은 콩과식물 추출물로부터 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol) 포함하는 발효물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0051] 본 발명의 제조 방법에서 사용되는 미생물은 다음과 같다.

[0052] 본 발명은 칡 또는 대두 추출물을 이소플라본 대사체인 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol)로 전환 할 수 있는 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P) 균주 또는 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주 및 이를 이용하여 이소플라본 대사체인 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD), 다이하이드로제니스테인(Dihydrogenistein, DHG) 또는 에쿠올(Equol)을 포함하는 발효물을 제조하는 방법이다.

[0053] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 발효물을 제조하는 방법은, (a) 분쇄한 칡 또는 대두를 에탄올로 교반 추출하는 추출단계; 및 (b) 상기 (a)단계에서 얻은 추출물에 상기 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P) 균주 또는 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주들을 각각 접종한 후 이를 교반하여 배양액을 만드는 배양단계;를 포함한다.

[0054] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 칡 발효물 또는 대두 발효물을 제조하는 방법은, 상기 (a) 추출단계에서 사용되는 원료를 이용할 수 있다. 본 발명에 사용되는 칡 또는 대두의 형상에 관해서는 분말상이거나, 분쇄 또는 파쇄된 것일 수도 있고, 바람직하게는 일반적으로 분말상의 칡 또는 대두를 사용하는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0055] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 발효물을 제조하는 방법은 상기 (a) 추출단계에서 사용하는 용매로서 에탄올을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 추출의 효율성을 위하여 주정기준으로 20% 내지 90%의 에탄올을 사용하는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0056] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 칡 발효물 또는 대두 발효물을 제조하는 방법은, 호기성 균주를 사용하기 때문에, 일정한 속도로 교반을 하여 산소를 공급하도록 한다. 이를 위하여, 바람직하게는 상기 (b) 배양단계의 교반속도를 100내지 300rpm으로 하는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0057] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 칡 발효물 또는 대두 발효물을 제조하는 방법은, 상기 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P) 균주 또는 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주들 중 어느 하나를 배지에 접종한 후, 상기 균주가 생육 가능한 온도 영역에서 20 내지 80시간 동안 호기 발효시켜 배양한다. 바람직하게는 상기 온도를 28 내지 30℃로 하는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0058] 상기 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올을 포함하는 칡 발효물 또는 대두 발효물을 제조하는 방법은 바람직하게는 상기 (b) 배양단계에서 상기 (a) 추출단계에서 추출된 추출물을 배양액 총량 기준 0.2 내지 2 중량%로 포함시키는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0059] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P) 균주 또는 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주들 중 어느 하나를 이용하여 제조된 칡 발효물 또는 대두 발효물을 제공한다.

[0060] 상기 단계를 거쳐 발효 처리되어 얻어지는 칡 발효물 또는 대두 발효물에는 다이하이드로다이드제인, 다이하이드로제니스테인 또는 에쿠올이 생성되어 축적되어있다. 상기 조건으로 얻어지는 칡 발효물 또는 대두 발효물은 발효 후의 상태 그대로 식품, 의약품, 화장료 등의 소재로서 사용할 수도 있으며, 필요에 따라서는 건조 처리 단계를 통해 건조 고형물 상태로 하여 식품, 의약품, 화장료 등의 소재로서 사용할 수도 있다.

[0061] 바람직하게는 칡 발효물 또는 대두 발효물의 보존 안정성을 향상시키기 위하여, 가열 건조 처리에 의해 고형상으로 보관하는 것으로 하며, 가열 건조 처리된 칡 발효물 또는 대두 발효물은, 필요에 따라서 분말화 처리를 할

수도 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0062] 본 발명의 칡 발효물 또는 대두 발효물은, 상술한 바와 같이, 유용 생리 활성 물질인 다이하이드로다이드제인 또는 에쿠올이 포함되어 있기 때문에, 다양한 생리 활성이나 약리 활성을 발현할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 칡 발효물 또는 대두 발효물은 여성 호르몬 수용체의 조절 효과가 일반 칡 발효물 또는 대두 추출물보다 고농도에서 우수하며, 세포 독성이 완화되는 특성을 갖고 있어, 인체에 안전하면서, 골다공증 등의 질환이나 증상의 예방 내지 개선에 유용하다. 또한, 본 발명의 칡 발효물 또는 대두 발효물은, 특히 중 노년층 여성에 있어서의 여성호르몬 조절 장애에 따른 질환인 갱년기 장애 또는 폐경에 수반하는 증상의 예방 내지 개선에 유용하다.

[0063] 또한, 본 발명의 칡 발효물 또는 대두 발효물을 의약품 소재로서 사용하는 경우에는, 정제, 환제, 산제, 액제, 현탁제, 유제, 과립제, 캡슐제, 좌제 등의 형태의 의약 제제로 제조된다. 본 발명의 칡 발효물 또는 대두 발효물을 함유하는 의약 제제는 갱년기 장애, 골다공증 등의 질환이나 증상의 예방 내지 개선제 등으로서 유용하다. 특히, 중 노년층에 있어서 권태 호소 내지 폐경에 수반하는 증상의 예방 또는 치료에 바람직하게 사용된다.

[0064] 이러한 칡 발효물 또는 대두 발효물을 더욱 효과적으로 적용시키기 위해서, 본 발명은 상기 칡 발효물 또는 대두 발효물을 동결 건조하여 칡 발효물 또는 대두 발효 동결 건조물을 제조하여 제공 할 수 있다.

[0066] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성호르몬 또는 남성호르몬 조절용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0067] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기 또는 남성갱년기의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0068] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0069] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0070] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0071] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 유효성분인 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0072] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제(타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 하기 약학 조성물과 동일한 방식으로 제제화 되어 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, 알콜 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.

[0073] 또한, 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(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.

[0074] 본 발명의 건강기능식품 조성물은, 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본

발명에서 '건강기능식품 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 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능성 식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수재된 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 건강 기능성 식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강 기능성 식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캅셀 형태의 건강 기능성 식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀 기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강 기능성 식품은 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 건강 기능성 식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0076] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 여성갱년기로 인한 골다공증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0077] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성호르몬 불균형으로 인한 전립선 비대증 또는 전립선암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0078] 일측면에서, 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(Lactobaillus sakei SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주를 이용하여 제조된 발효물을 유효성분으로 포함하는 남성갱년기로 인한 근감소증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0079] 본 발명의 약학 조성물에는 유효성분 이외에 보조제(Adjuvant)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 보조제는 당해 기술분야에 알려진 것이라면 어느 것이나 제한 없이 사용할 수 있다.

[0080] 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, 덱스트로스, 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.

[0081] 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.

[0082] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 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 위텝솔(Witepsol), 트윈(TweenW) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0083] 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.

[0084] 상기 약학 조성물은 경구 또는 비경구 투여 형태로 다양하게 제형화 될 수 있다.

[0085] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경질, 연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제를 함유할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0086] 또한, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제제이며, 주사용 제제의 용매로서 물, 링거액, 등장성 생리식염수 또는 현탁액을 들 수 있다. 상기 주사용 제제의 멸균 고정 오일은 용매 또는 현탁 매질로서 사용할 수 있으며 모노-, 디-글리세라이드를 포함하여 어떠한 무자극성 고정오일도 이러한 목적으로 사용될 수 있다.

[0087] 또한, 상기 주사용 제제는 올레산과 같은 지방산을 사용할 수 있다.

[0089] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 자세히 설명한다. 다만, 상기 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0091] **<실시예 1> 균주의 동정**

[0092] 1달 동안 칡 또는 대두 추출물을 섭취한 사람의 분변을 수집하여 gifu anaerobic medium(GAM), trypticase soy agar(TSA), ethylene bromide agar(EMA), brain heart infusion(BHI), reinforced clostridial medium(RCM), Lactobacilli MRS(MRS) 6종의 배지에 도말하여 28℃에서 24시간 동안 배양하면서 생성되는 colony의 형태와 색상을 기준으로 하여, 각각의 균주를 분리하였다.

[0093] 상기 분리된 균주들은 HPLC를 이용하여 분석하여 이소플라본 생성 균주를 확인하였다. 각각의 분리 균주를 규명하기 위해 genomic DNA를 Solgent사의 genomic DNA prep kit를 이용하여 추출하였으며, 각각의 primer는 세균의 16S rRNA부위를 특이적으로 증폭하는 forward primer인 27F(5'-agagtttgatcMtggctcag-3')와 reverse primer인 1492R(5'-ggYtaccttg ttacgactt-3')를 사용하였다. PCR reaction mixture는 template 1 ㎕, 2X Taq PCR premix(QIAGEN) 10 ㎕, forward primer 2 ㎕(10 pmole/㎕), reverse primer 2 ㎕(10 pmole/㎕), dDW 5 ㎕를 섞은 뒤 PCR을 수행하였다.

[0094] PCR cycle은 94℃에서 10초, 45℃에서 20초, 72℃에서 1분 동안 수행하였으며, PCR 과정은 30번 반복하였다. 또한, Pre-denaturation과정은 94℃에서 2분 동안 수행하였고 post-elongation 과정은 72℃에서 5분 동안 수행하였으며, PCR 결과는 0.7% agarose gel에서 확인하였다. PCR product의 정제는 QIAquick Gel Extraction kit를 사용하였으며, 균주동정을 위해 정제된 DNA를 Solgent사에 의뢰하여 sequencing 한 뒤 NCBI BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)를 이용하여 균주의 서열을 분석하였다. 최종 분리된 균주는 각각 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P) 균주 및 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P) 균주이다. 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주에 관한 것이다.

[0096] **<실시예 2> 칡 또는 대두 추출물의 제조 및 배양액의 제조**

[0097] 분쇄한 칡 또는 대두를 20% 주정으로 하여 하기 표 1과 같은 조건으로 칡 또는 대두 추출물을 제조한 후, 감압 여과하였으며, 회전진공농축기를 사용하여 용매를 제거하였다. 이후, 1L 삼각플라스크에 GAM 배지 100mL을 넣고, 하기 표 1과 같은 조건으로 추출물을 배지에 넣은 후 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주, 락토바실러스 파라카세이 JS1(*Lactobacillus paracasei* JS1; 수탁번호: KCCM12288P; 서열번호 2) 균주 및 페디오코커스 펜토사세우스 SEQ0315(*Pediococcus pentosaseus* SEQ0315; 수탁번호: KACC92051P; 서열번호 3) 균주를 각각 0.1% 접종하여 배양액을 제조하였다. 본 발명은 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P; 서열번호 1) 균주에 관한 것이다.

[0098] 이 때, 배양액 제조시의 배양 시간, 배양 온도, 교반 속도 및 추출물의 함량은 하기 표1의 조건이 되도록 제조하였다.

표 1

[0100]

	배양시간 (h)	배양온도 (℃)	교반속도 (rpm)	추출물함량 (%)
실시예1	24	28	250	0.2
실시예2	24	28	250	0.4
실시예3	24	28	250	0.6
실시예4	24	28	250	0.8
실시예5	24	28	250	1.0
실시예6	24	28	250	2.0
실시예7	24	28	100	2.0
실시예8	24	28	150	2.0
실시예9	24	28	200	2.0
실시예10	24	28	300	2.0
실시예11	24	37	250	2.0
실시예12	48	28	250	2.0
실시예13	48	37	250	2.0
실시예14	72	28	250	2.0
실시예15	72	37	250	2.0

[0102] **<실시예 3> 배양액의 분석 조건**

[0103] 상기 배양액의 분석에는 DGU-20A3R(Shimadzu, Japan) HPLC를 사용하였으며, 검출기는 PDA detector(Shimadzu, SPD-M20A)로 280nm에서 측정하였다. 컬럼은 Skypack C18(SKchemical, 4.6×250mm, 5micron), Mobile phase A는 water:acetic acid = 100: 1(v/v%), B는 water: acetonitrile: acetic acid = 50 : 50 :1(v/v%), flow rate는 1mL/min, column oven은 40℃, injection volume은 50 ㎕를 사용하였다. Injection sample은 원심분리기를 이용하여 12000 rpm, 15min, 4℃의 조건으로 상등액을 분리하여 사용하였다. 그 결과 도 1에서 확인할 수 있는 것처럼 기존의 칡 추출물에서는 확인할 수 없었던 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 에쿠올(Equol)이 본 발명의 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP) 균주를 이용한 칡 발효물에서는 확인되었다. 이는 본 발명의 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP) 균주의 발효 시 대사를 통해 다이하이드로다이드제인(Dihydrodaidzein, DHD) 및 에쿠올(Equol)을 생산해냄을 확인할 수 있는 결과이다.

[0105] **<실험예 1> 락토바실러스 사케이 균주 발효물 처리에 따른 세포 사멸 억제**

[0106] 본 발명의 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주 발효물 처리에 따른 세포 사멸 억제 효과를 확인하기 위하여 DSMZ (Germany)에서 구매된 BPH-1 세포주(전립선 비대증 세포주)는 20% FBS, 1% P/S 및 insulin을 포함하는 RPMI1640 배지에서 배양되었다. 96well plate에 1×10^4

cell/well로 세포를 분주하고 24시간 배양한 후에 각각 시료를 농도별로 처리하였다. 24시간 배양 후 MTT 시약을 이용하여 세포생존율을 측정하였으며, 그 결과는 도 2(A)에 나타내었다. 도 2(A)의 결과와 같이, 본 발명의 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)는 고농도에서도 세포독성이 관찰되지 않았으며, 칡(*Pueraria lobata*) 추출물과 equol, estradiol에 의해서는 고농도에서 세포독성이 관찰되었다.

[0108] **<실험예 2> 락토바실러스 사케이 균주 발효물 처리에 따른 전립선암 치료효과**

[0109] 본 발명의 락토바실러스 사케이 SEQvitaP(*Lactobaillus sakei* SEQvitaP; 수탁번호 : KACC92053P) 균주 발효물 처리에 따른 전립선암 세포 사멸 효과를 확인하기 위하여 한국세포주은행에서 분양받은 LNCap 세포주(전립선암 세포주)는 96well plate에 1×10^4 cell/well로 세포를 분주하고 24시간 배양한 후에 각각 시료를 농도별로 처리하였다. 24시간 배양 후 MTT 시약을 이용하여 세포생존율을 측정하였으며, 그 결과는 도 2(B)에 나타내었다. 도 2(B)에서 확인할 수 있는 것처럼, 칡(*Pueraria lobata*) 추출물, 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE), equol 모두에서 전립선암세포 사멸효과가 확인되었다. 따라서, 락토바실러스 사케이 균주 발효물에 의한 전립선 암 개선 및 치료 효과가 있을 것이다.

[0111] **<실험예 3> 안드로겐 수용체(AR) 및 전립선 특이항원(PSA) 발현 억제**

[0112] **<3.1> Western blot - Protein level**

[0113] 전립선암의 주요 바이오마커인 안드로겐 수용체(AR) 및 전립선 특이항원(PSA)의 발현을 western blot을 통해 확인하였다. 60mm cell culture dish에 1×10^6 cell/well로 세포를 분주한 후 24시간 후에 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)과 칡 추출물(PL), Equol, estradiol(E2)를 각각 농도별로 처리한 후 72시간 동안 배양하였다. 이후 protein(12ug)에서 안드로겐 수용체(AR) 및 전립선 특이항원(PSA)의 발현을 확인하였다. 그 결과 도 3에서 확인 할 수 있는 것처럼, 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE), 칡 추출물(PL), Equol, E2 모두 안드로겐 수용체(AR) 발현을 억제하는 것을 확인하였으며, 전립선 특이항원(PSA)의 발현이 조절되는 것을 확인하였다. 또한, 합성에스트로겐인 estradiol과 식물성여성호르몬으로 작용하는 isoflavone을 다량 함유하고있는 칡 추출물(PL)의 농도가 증가함에 따라 전립선 특이항원(PSA)의 발현이 증가됨으로서 여성호르몬의 증가가 전립선 특이항원의 발현에 영향을 주는 것으로 보여진다.

[0115] **<3.3> qRT-PCR - mRNA level**

[0116] 위의 protein level에서 락토바실러스 사케이 균주 발효물에 의한 전립선암 억제 가능성을 확인하였으므로, 락토바실러스 사케이 균주 발효에 의해 성생되는 물질인 dihydrodaidzein(DHD)과 Equol이 전립선 관련 주요 바이오마커인 AR과 PSA의 발현에 영향을 미치는 지를 qRT-PCR을 통해 확인하였다. 60mm cell culture dish에 1×10^5 cell/well로 세포를 분주한 후 24시간 후에 락토바실러스 사케이 균주에 의해 생성되는 물질인 dihydrodaidzein(DHD)과 Equol을 25, 50, 100uM의 농도로 처리하여 72시간동안 배양하였다.

[0118] 하기 표 2의 염기서열을 이용하여 qRT-PCR을 수행하였다.

표 2

[0120]

	서열
AR Forward primer	5`-ATGTCCTGGAAGCCATTGAGCCA-3`(서열번호 1)
AR Reverse primer	5`-CAGAAAGGATCTTGGGCACTTGC-3`(서열번호 2)
PSA Forward primer	5`-TACCCACTGCATCAGGAACA-3`(서열번호 3)
PSA Reverse primer	5`-CCTTGAAGCACACCATTACA-3`(서열번호 4)
β-Actin Forward primer	5`-GATGAGATTGGCATGGCTT-3`(서열번호 5)
β-Actin Reverse primer	5`-CACCTTCACCGTTCCAGTTT-3`(서열번호 6)

[0122] 그 결과, 도 4에서와 같이 mRNA level에서는 Dihydrodaidzein(DHD)과 Equol에 의한 안드로겐 수용체(AR) 발현 감소는 확인되지 않았지만, 전립선 특이항원(PSA)의 발현은 dihydrodaidzein(DHD) 및 Equol에 의해 농도의존적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 락토바실러스 사케이 균주 발효물에 의해 전립선 특이항원(PSA)의 발현이 억제되어, 전립선 암을 억제할 수 있을 것이다.

[0124] **<실험예 4> C2C12 세포주(조골세포 분화 유도 세포주)에서의 락토바실러스 사케이 균주 발효물에 의한 AR과 ER의 발현 확인**

[0125] C2C12 세포주를 60 mm cell culture plate에 1×10^{6} cell/well로 분주 한 후 24시간 후에 TGF-β1(2ng/ml)으로 근육세포로 분화를 유도하였다. 분화 유도 후 본 발명의 락토바실러스 사케이 균주 발효물에 의해 생성되는 물질인 dihydrodaidzein(DHD) 및 Equol을 농도 별로 처리하였고, 비교군으로 testosterone과 estradiol(E2)를 처리한 후에 AR, ERα, ERβ, 근육생성인자인 MyoD, myogenin의 단백질 발현을 확인하였다.

[0126] 그 결과 도 6에서 나타난 것과 같이, TGF-β1 처리에 의해 AR, ERα, ERβ, MyoD, myogenin이 모두 억제되었으며, dihydrodaidzein(DHD)과 Equol에 의해 억제된 단백질의 발현 증가를 확인하였다. 이러한 결과는 본 발명의 락토바실러스 사케이 균주 발효물 및 균주에 의해 생성된 성분이 근감소증 예방/개선 및 치료 효과를 가질 것으로 보여지며, 억제되었던 남성호르몬 수용체와 여성호르몬 수용체의 발현을 조절함으로서 남성호르몬 및 여성호르몬 관련 질환의 예방/개선 및 치료 효과 또한 지니고 있을 것으로 보여진다.

[0128] **<실험예 5> 동물모델에서 골다공증 개선 효과**

[0129] 여성호르몬 결핍에 의하여 발생하는 골다공증에 본 발명의 락토바실러스 사케이 균주발효물이 미치는 영향을 확인하기 위하여 OVX 동물모델(난소적출 동물모델)을 이용하여 골다공증 개선 효과를 확인하였다. 암컷 ICR mouse는 ㈜라온바이오에서 구매하였고, 임의적으로 sham control, OVX control, OVX+PE(칡 추출물), OVX+FPE(본 발명의 균주 발효물), OVX+E_2 5개의 그룹으로 나누어 실험을 수행하였다.

[0130] 그 결과 도 6에서와 같이, 에스트로겐 투여에 의해 자궁무게가 증가하지만, 칡 추출물(PE)과 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)에 의하여 자궁무게가 변화되지않았다. 이러한 결과는 칡 추출물(PE)과 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)을 동물모델에 투여하였을 때, 직접적인 호르몬 조절을 하지 않는 것을 의미한다.

[0131] 도 7에서는 OVX 동물모델에서 감소된 해면골과 치밀골의 골밀도가 칡 추출물(PE)과 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)에 의하여 회복되는 것을 확인하였고, 도 8에서는 OVX 동물모델의 혈청에서 골다공증 바이오마커인 RANKL, OPG 및 Osteocalcin의 분비량을 측정하였으며, 락토바실러스 사케이 균주 발효물(FPE)에 의하여 RANKL/OPG의 비율이 감소되는 것으로 보아 파골세포 분화 억제를 통하여 골다공증을 개선시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0133] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시 예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구 범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

수탁번호

[0137]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC92053

수탁일자 : 20150409

기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM12288

수탁일자 : 20180713

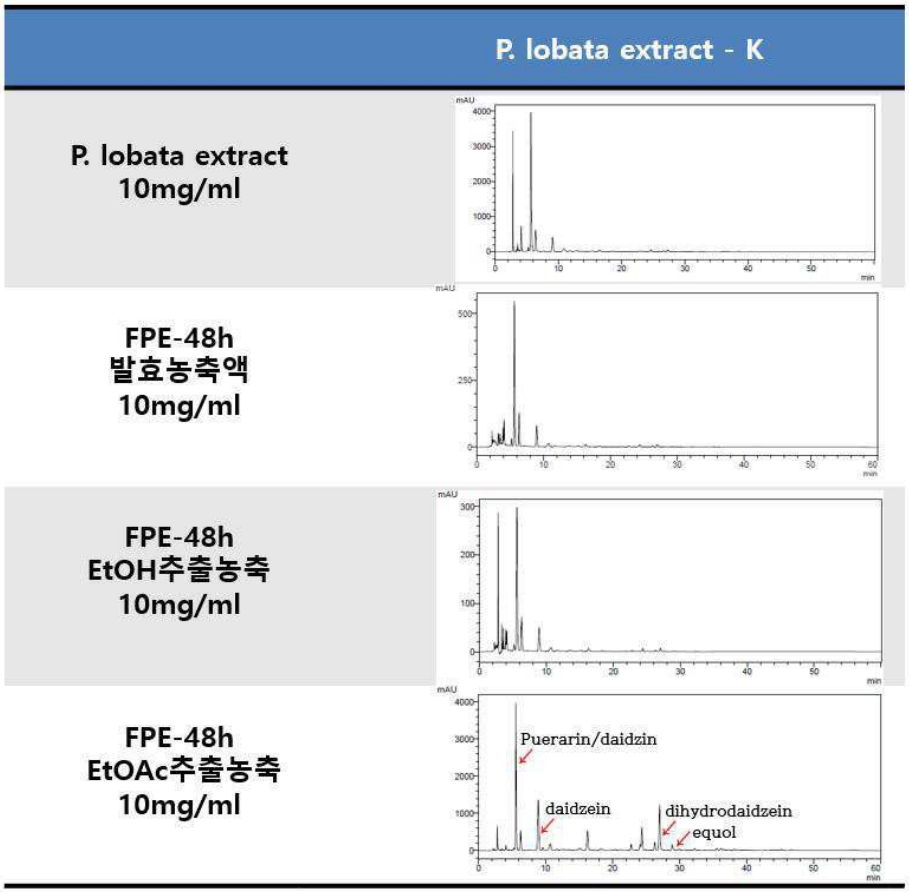
기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC92051

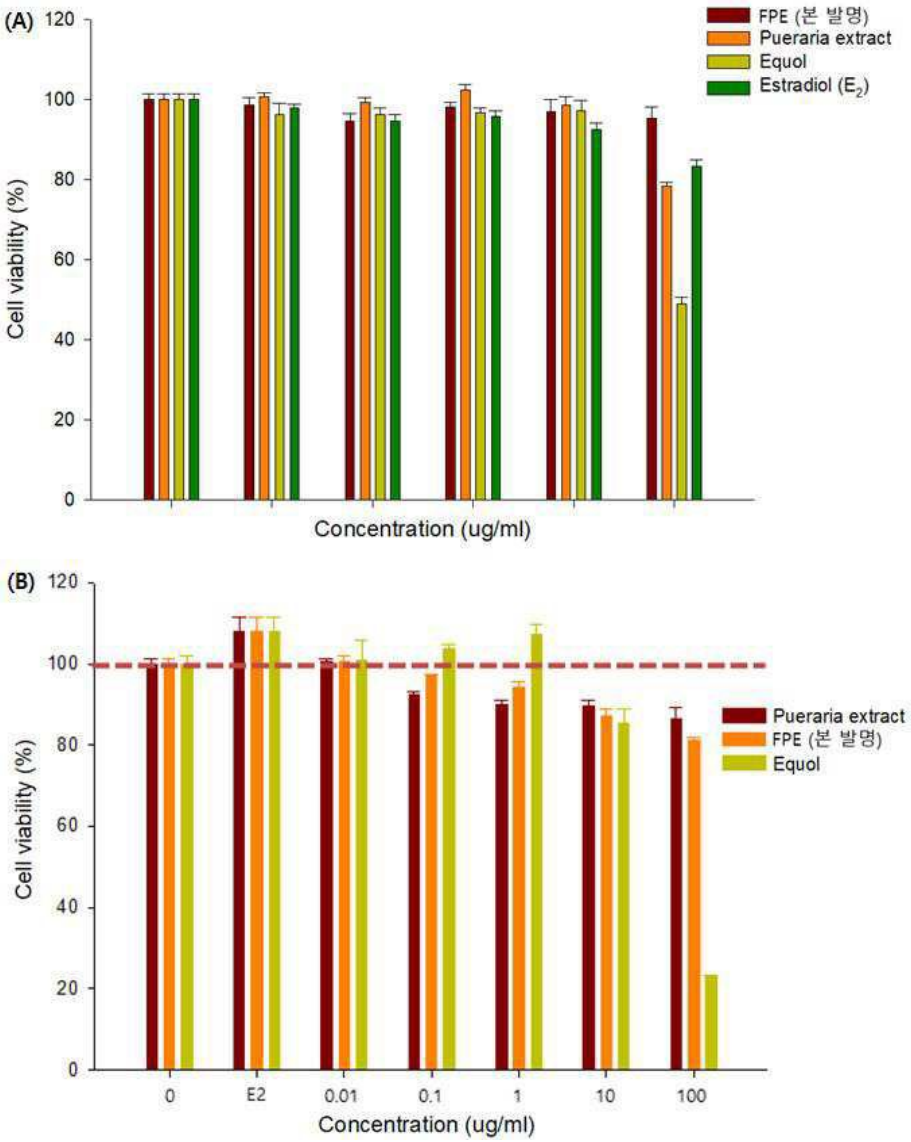
수탁일자 : 20150409

도면

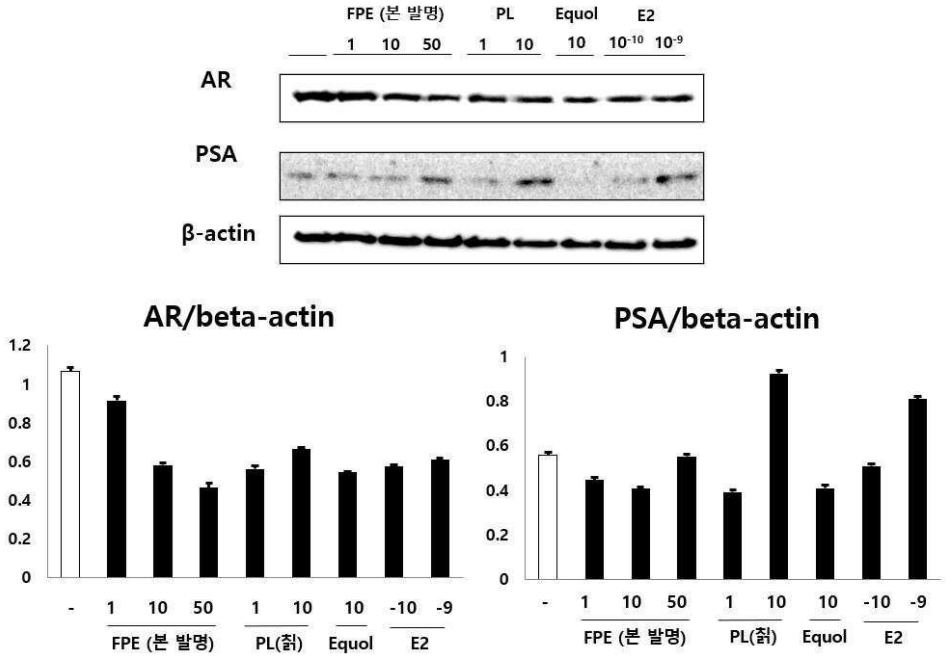
도면1



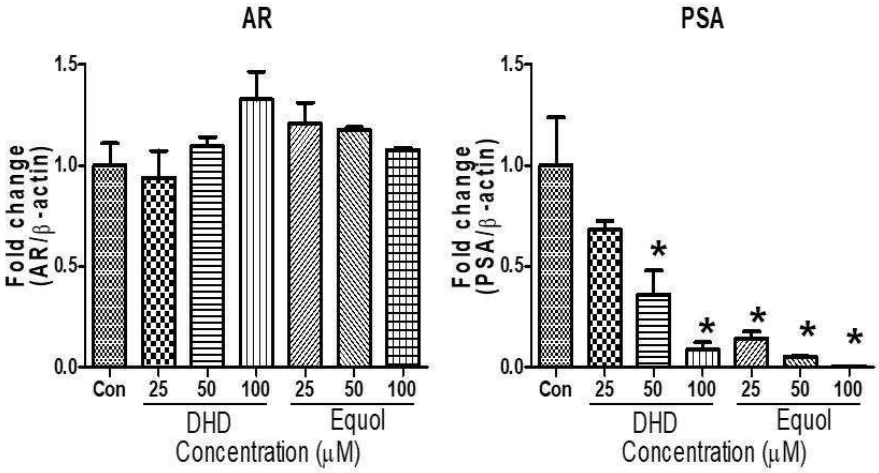
도면2


(A)
120
100
80
60
40
20
0
Cell viability (%)
Concentration (ug/ml)
FPE (본 발명)
Pueraria extract
Equol
Estradiol (E_2)
(B)
120
100
80
60
40
20
0
Cell viability (%)
0
E2
0.01
0.1
1
10
100
Concentration (ug/ml)
Pueraria extract
FPE (본 발명)
Equol

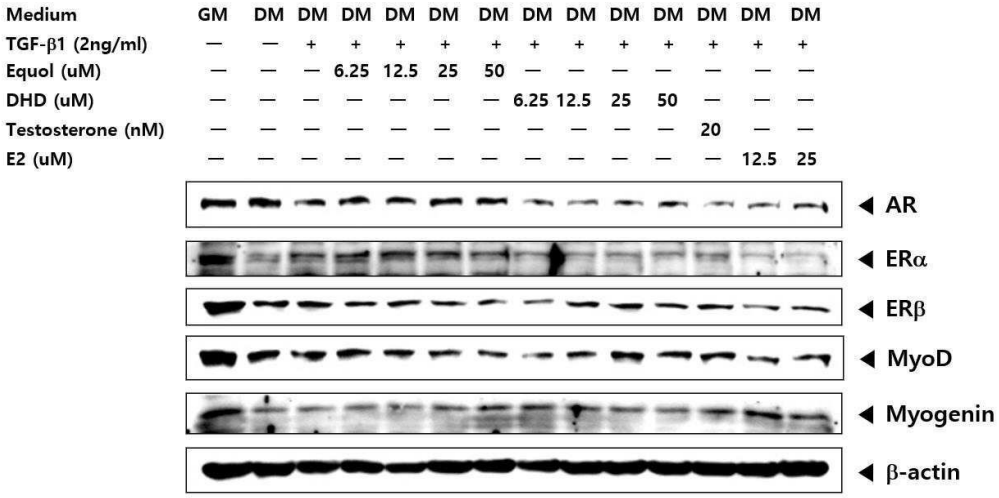
도면3


FPE (본 발명)
PL
Equol
E2
1 10 50 1 10 10 10-10 10-9
AR
PSA
β-actin
AR/beta-actin
PSA/beta-actin
- 1 10 50 1 10 10 -10 -9
FPE (본 발명)
PL(칡)
Equol
E2

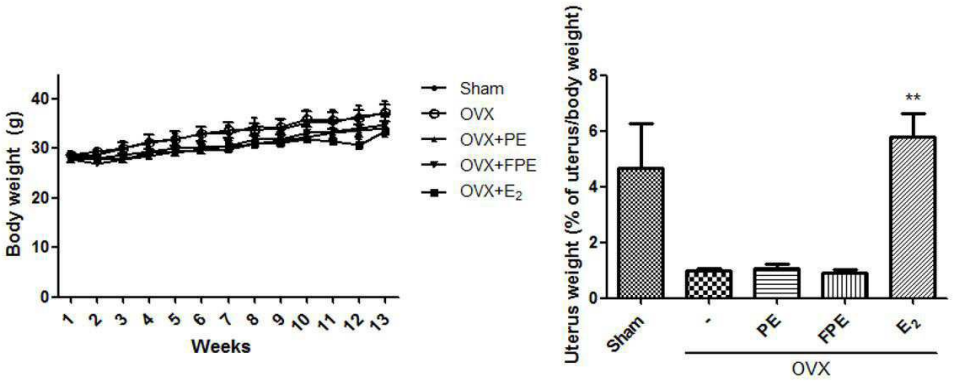
도면4


AR
PSA
Fold change (AR/β-actin)
Fold change (PSA/β-actin)
Con 25 50 100 25 50 100
DHD
Equol
Concentration (μM)

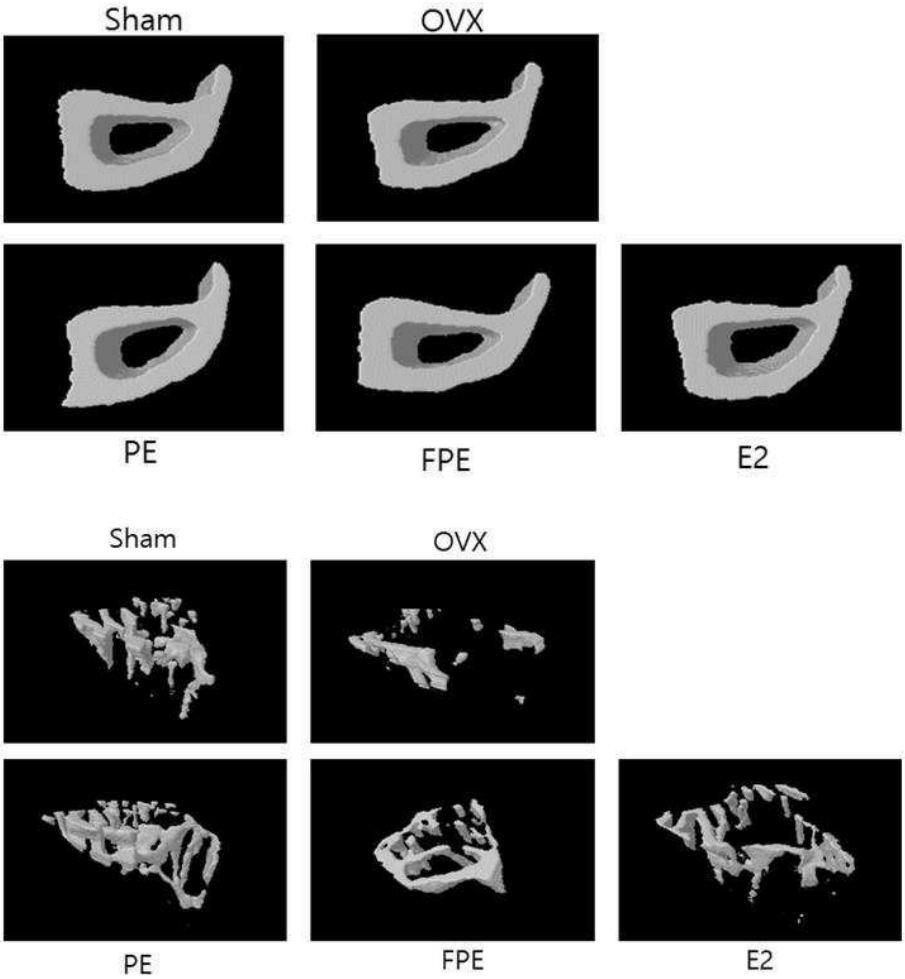
도면5


Medium GM DM DM DM DM DM DM DM DM DM DM DM DM DM
TGF-β1 (2ng/ml) — — + + + + + + + + + + + +
Equol (uM) — — — 6.25 12.5 25 50 — — — — — — —
DHD (uM) — — — — — — — 6.25 12.5 25 50 — — —
Testosterone (nM) — — — — — — — — — — — 20 — —
E2 (uM) — — — — — — — — — — — — 12.5 25
AR
ERα
ERβ
MyoD
Myogenin
β-actin

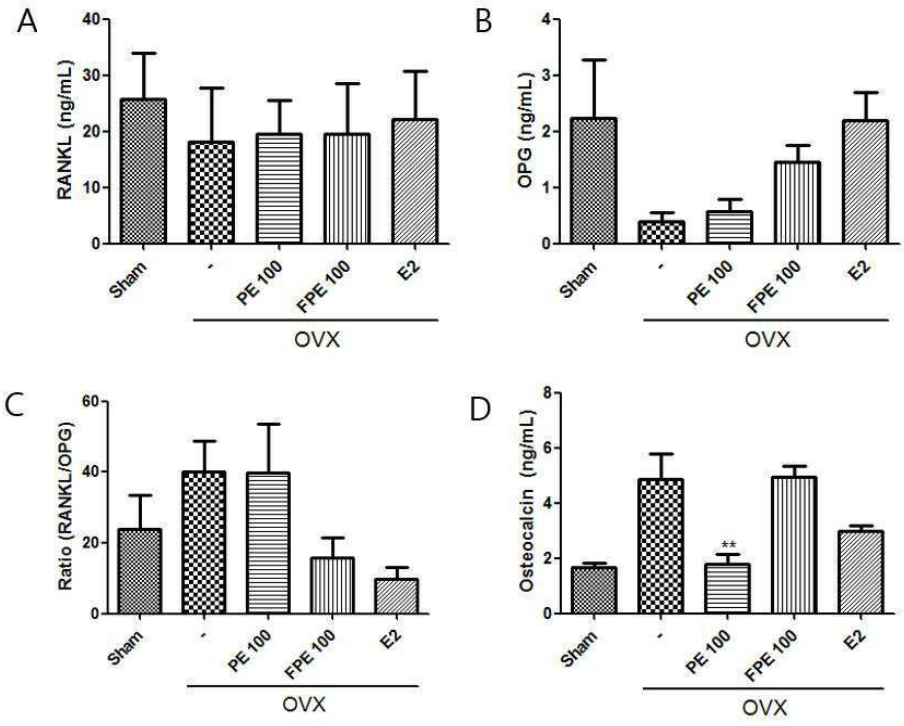
도면6


Body weight (g)
Weeks
Sham
OVX
OVX+PE
OVX+FPE
OVX+E2
Uterus weight (% of uterus/body weight)
**
Sham
-
PE
FPE
E2
OVX

도면7


Sham
OVX
PE
FPE
E2
Sham
OVX
PE
FPE
E2

도면8


A
RANKL (ng/mL)
40
30
20
10
0
Sham
-
PE 100
FPE 100
E2
OVX
B
OPG (ng/mL)
4
3
2
1
0
Sham
-
PE 100
FPE 100
E2
OVX
C
Ratio (RANKL/OPG)
60
40
20
0
Sham
-
PE 100
FPE 100
E2
OVX
D
Osteocalcin (ng/mL)
8
6
4
2
0
**
Sham
-
PE 100
FPE 100
E2
OVX

서 열 목 록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University

<120> New microorganisms for producing dihydrodaidzein, dihydrogenistein or equol, and its use

<130> PN2004-169

<160> 3

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 1002

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Lactobaillus sakei SEQvitaP

<400> 1

gggactgaga cacggcccag actcctacgg gaggcagcag tagggaatct tccacaatgg 60

acgaaagtct gatggagcaa cgccgcgtga gtgaagaagg ttttcggatc gtaaaactct 120

gttgttggag aagaatgtat ctgatagtaa ctgatcaggt agtgacggta tccanccaga 180

aagccacggc taactacgtg ccaccagccg cggtaatacg taggtggcaa gcgttgtccg 240

gatttattgg gcgtaaagcg agcgcaggcg gtttcttnag tcagatgtga aagccttcgg 300

ctcaaccgaa gaagtgcatc ggaaactgga gttgcagcct acaatccgaa ctnagaatgg 360

ttttaagaga ttagctaaac ctcgcggtct cgcaactcgt tgtaccatcc attgtagcac 420

gtgtgtagcc cangtcatan ggggnatgat gatttgacgt cgtccccacc ttcctccggt 480

ttgtcaccgg cagtctcact anagtgccca mcttaatgct ggcaactagt aataagggtt 540

gcgctcgttg cgggacttaa cccaacatct cacgacacga gctgacgaca accatgcacc 600

acctgtcact ttgtccccga agggaaagct ctatctctag agtggtcaaa ggatgtcaag 660

acctggtaag gttcttcgcg ttgcttcgaa ttaaaccaca tgctccaccg cttgtgcggg 720

cccccgtcaa ttcctttgag tttcaacctt gcggtcgtac tccccaggcg gagtgcttaa 780

tgcgttagct gcggcactga agggcggaaa ccctccaaca cctagcactc atcgtttacg 840

gcatggacta ccagggtatc taatcctgtt tgctacccat gctttcgagc ctcagcgtca 900

gttacasacc agacagccrc cttcgccact ggtgttcttc catatatcta cgcatttcac 960

cgctacacat ggagttccac tgtccacttc tgcactcaag tt 1002

<210> 2

<211> 1117

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Lactobacillus paracasei JS1

<400> 2

tgggggataa catttggaaa cagatgctaa taccgcatag atccaagaac cgcatggatt 60

cttggctgaa agatggcgta agctatagct tttggatgga cccgcggcgt attagctagt 120

tggtgaggta atggctcacc aaggcgatga tacgtagccg aactgagagg ttgatcggcc 180

acattgggac tgagacacgg cccaaactcc tacgggaggc agcagtaggg aatcttccac 240

aatggacgca agtctgatgg agcaacgccg cgtgagtgaa gaaggctttc gggtcgtaaa 300

actctgttgt tggagaagaa tggtcggcag agtaactgtt gtcggcgtga cggtatccaa 360

ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggta atacgtaggt ggcaagcgtt 420

atccggattt attgggcgta aagcgagcgc aggcggtttt ttaagtctga tgtgaaagcc 480

ctcggcttaa ccgaggaagc gcatcggaaa ctgggaaact tgagtgcaga agaggacagt 540

ggaactccat gtgtagcggt gaaatgcgta gatatatgga agaacaccag tggcgaaggc 600

ggctgtctgg tctgtaactg acgctgaggc tcgaaagcat gggtagcgaa caggattaga 660

taccctggta gtccatgccg taaacgatga atgctaggtg ttggagggtt tccgcccttc 720

agtgccgcag ctaacgcatt aagcattccg cctggggagt acgaccgcaa ggttgaaact 780

caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagcaacg 840

cgaagaacct taccaggtct tgacatcttt tgatcacctg agagatcagg tttcccccttc 900

gggggcaaaa tgacaggtgg tgcatggttg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt 960

aagtcccgca acgagcgcaa cccttatgac tagttgccag catttagttg ggcactctag 1020

taagactgcc ggtgataaac cggaggaagg tggggatgac gtcaaatcat catgcccctt 1080

atgacttggg ctacacacgt gttacaatgg atggtac 1117

<210> 3

<211> 1289

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Pediococcus pentosaceus SEQ0315

<400> 3

acttccgtta attgattatg angtacttgt actgattgag attttaacac gaagtgagtg 60

gcgaacgggt gagtaacacg atgggttaac ctgcccagaa gtaggggata acacctggaa 120

acagatgcta ataccgtata acagagaaaa ccgcatggtt ttcttttaaa agatggctct 180

gctatcactt ctggatggac ccgcggcgta ttagctagtt ggtgaggtaa aggctcacca 240

aggcagtgat acgtagccga cctgagaggg taatcggcca cattgggact gagacacggc 300

ccagactcct acgggaggca gcagtaggga atcttccaca atggacgcaa gtctgatgga 360

gcaacgccgc gtgagtgaag aagggtttcg gctcgtaaag ctctgttgtt aaagaagaac 420

gtgggtaaga gtaactgttt accccagtga cggtatttaa ccagaaagcc acggctaact 480

acgtgccagc agccgcggta atacgtaggt ggcaagcgtt atccggattt attgggcgta 540

aagcgagcgc aggcggtctt ttaagtctaa tgtgaaagcc ttcggctcaa ccgaagaagt 600

gcattggaaa ctgggagact tgagtgcaga agaggacagt ggaactccat gtgtagcggt 660

gaaatgcgta gatatatgga agaacaccag tggcgaaggc ggctgtctgg tctgcaactg 720

acgctgaggc tcgaaagcat gggtagcgaa caggattaga taccctggta gtccatgccg 780

taaacgatga ttactaagtg ttggagggtt tccgcccttc agtgctgcag ctaacgcatt 840

aagtaatccg cctggggagt acgaccgcaa ggttgaaact caaaagaatt gacgggggcc 900

cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagctacg cgaagaacct taccaggtct 960

tgacatcttc tgacagtcta agagattaga ggttcccttc ggggacagaa tgacaggtgg 1020

tgcatggttg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcaa 1080

cccttattac tagttgccag cattaagttg ggcactctag tgagactgcc ggtgacaaac 1140

cggaggaagg tggggacgac gtcaaatcat catgcccctt atgacctggg ctacacacgt 1200

gttacaatgg atggtacaac gagtcgcgag accgcgaggt taagctaatc tcttaaaacc 1260

attctcagtt cggactgtag gctgcaact 1289