



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0145435
(43) 공개일자 2016년12월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01N 59/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01N 59/00 (2013.01)

Y10S 424/10 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0082116

(22) 출원일자 2015년06월10일

심사청구일자 2015년06월10일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김욱

서울특별시 서초구 서초중앙로 188, C-709

김용균

경기도 구리시 장자대로37번길 20, 201동 503호

쿠마르, 수닐

경상북도 안동시 논골길 37-4, 208호

(74) 대리인

한양특허법인

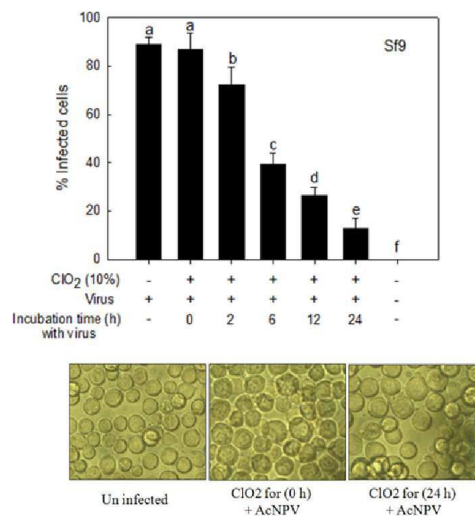
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **항바이러스용 조성물**

(57) 요약

본 발명은, 이산화염소를 포함하는 항바이러스용 조성물에 대한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

Y10S 514/919 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 114063-3

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발사업

연구과제명 저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2014.09.25 ~ 2017.09.24

명세서

청구범위

청구항 1

이산화염소를 포함하는 항바이러스용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 이산화염소는 0.1 ppm 내지 800ppm의 농도인 것인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 바이러스는 곤충 또는 식물에 병을 일으키는 것인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 바이러스는 AcNPV (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus) 또는 담배모자이크바이러스 (TMV)인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물을 곤충 또는 식물에 처리하는 것을 특징으로 하는, 곤충 또는 식물의 바이러스 제어방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 항바이러스용 조성물에 대한 것이다.

배경 기술

[0002]

감염증을 유발시키는 바이러스는 적어도 핵산과 단백질로 이루어지고 핵산으로서 DNA를 포함하는 것과 RNA를 포함하는 것으로 대별된다. 핵산에는 바이러스의 활성(감염력)이 있고 바이러스에 적합한 특정세포 가운데서 증식하고, 그 바이러스에 친화성을 지닌 조직이 감염에 의해서 병적변화를 일으킨다. 바이러스성 질환의 특징은 증상이 다양하고 수많은 종류의 바이러스에 의해서 유사증상을 불러일으키기 쉽다. 이러한 바이러스는 인체뿐 아니라 곤충에 병을 유발시키거나, 식물의 성장을 저해시키고 있으며, 일반적인 살충제나 살균제로는 제어가 어렵다. 특히, AcNPV (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus)는 이중 가닥의 DNA 계놈을 지닌 백혈로바이러스의 일종으로, 곤충에 바이러스성 병을 유발시키며, 단일가닥의 RNA 계놈을 지닌 담배모자이크바이러스(TMV)는 식물 성장을 저해하는 대표적인 바이러스이다.

[0004]

한편, 인체에 병을 유발시키는 병원성 바이러스에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나, 그에 비해 곤충에 병을 유발시키거나, 식물의 성장을 저해시키는 바이러스를 제어하기 위한 연구는 미미한 실정이다.

[0006]

대한민국 공개특허 제 2001-0029166호 등에는 이산화염소의 펄프 표백 방법에 대한 발명이 기재있으나, 이산화염소를 이용한 바이러스 제어 관련 기술은 언급되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 2001-0029166호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 곤충에 병을 유발시키거나, 식물의 성장을 저해시키는 바이러스를 제어하기 위한 조성물의 제공을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 이산화염소를 포함하는 항바이러스용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명은 이산화염소에 대한 곤충의 회피행동을 억제하기 위하여 이산화염소에 의한 곡식에 서식하는 해충의 살충효과를 극대화하기 위한 것으로, 이산화염소 처리에 열처리 혼합 처리하는 경우, 살충효과가 극대화되며, 열처리 또는 이산화염소의 단독 처리효과와 혼합처리효과를 각각의 경우에 비해 현저히 우수한 시너지 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 AcNPV의 폴리헤드린 형성에 대한 이산화염소(ClO_2)의 항바이러스 효과를 나타낸다. AcNPV (5×10^7 pfu/mL)을 최종농도 20 ppm의 이산화염소(ClO_2)와 함께 배양한 후, 상기 바이러스 샘플을 Sf9 세포 상에 오버레이 하고 28℃에서 3일동안 배양하였다. 상기 세포 내에 형성된 다면체(polyhedra)를 계수하여 바이러스 활성을 평가하였다. 각 실험은 3회 반복하였다.

도 2는 TMV에 대한 이산화염소(ClO_2)의 항바이러스 효과를 나타낸다.

도 2a는 Jeon et al. (2008) 문헌에 기재된 방법에 따른 ELISA 테스트를 나타내며, 각 평가는 3회 반복 수행되었다.

도 2b는 담배 잎의 TMV 증상을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명은, 항바이러스용 조성물 및 이를 이용한 바이러스 제어 방법에 대한 것으로, 특히 곤충 또는 식물에 병을 일으키는 바이러스용 조성물 및 이를 이용한 바이러스 제어 방법에 대한 것이다.

[0013]

[0014] 본 발명자는, 이산화염소가 곤충 또는 식물에 병을 일으키는 바이러스에 대한 우수한 억제효과가 있음을 실험적으로 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0016] 상기 이산화염소는 0.1 ppm 내지 800ppm의 농도로 포함될 수 있으며, 바람직하게는 1ppm 내지 800ppm의 농도로 포함될 수 있다.

[0018] 본 발명의 조성물에 의해 제어되는 바이러스는 곤충 또는 식물에 병을 일으키는 바이러스이면 특별히 제한되지 않으며, AcNPV (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus) 또는 담배모자이크바이러스(TMV)인 것이 바람직하다.

[0020] 상기 조성물은 목적에 따라 추가의 첨가제를 더 포함할 수 있다. 상기 첨가제는 항바이러스용 조성물에 포함되는 것으로 알려진 공지의 성분일 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명의 조성물은, 곤충의 사료 또는 식물의 배양제에 첨가되어 사용될 수 있다.

[0024] 본 발명은 상기 조성물을 곤충 또는 식물에 처리하는 것을 특징으로 하는, 곤충 또는 식물의 바이러스 제어방법을 제공한다. 상기 제어방법은 곤충의 사료 또는 식물의 배양에 적용될 수 있다.

[0026] 이하에서, 본 발명을 실시예에 기초하여 더욱 상세하게 설명한다. 그러나, 하기에 개시되는 본 발명의 실시 형태는 본 발명의 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위는 이들의 실시 형태에 한정되지 않는다. 본 발명의 범위는 특허청구범위에 표시되었고, 더욱이 특허청구범위 기록과 균등한 의미 및 범위 내에서의 모든 변경을 포함한다.

[0028] **참조예:**

[0030] **(1) 세포배양**

[0032] 대조군 세포로서 두 종류의 곤충 세포를 이용하였다. Sf9 세포주(IPLB-Sf21-AE)는 *Spodoptera frugiperda*의 번데기 난소 조직에서 유래되었으며, 5% fetal bovine serum (FBS, Hyclone) 및 antibiotic-antimycotic 복합체 (Cat. No. 15240-062, Gibco, Grand Island, NY, USA)를 첨가한 TC100 곤충세포배양액(Cat. No. LM505-01, Hyclone, Daegu, Korea)에서 배양되었다. High Five 세포주(BTI-TN-5B1-4)는 *Trichoplusia ni*에서 기원하였으며 Express Five[®] SFM (Cat. No. 10486-025, Gibco) 배양액으로 증식시켰다. 두 세포는 모두 25 cm² tissue culture flask (Cat. No. 156340, Nunc, , Roskilde, Denmark)를 이용하여 28℃ 조건에서 증식되었다.

[0033] 세포배양은 75 cm² tissue culture flask (Cat. No. 156499, Nunc)를 이용하여 37℃ 및 5% CO₂ 조건에서 이뤄졌다.

[0035] **(2) 이산화염소**

[0037] 본 연구에 이용된 이산화염소는 800 ppm의 저장 용액이었다. 이 시약은 푸르고팜(한국)에서 제공되었다.

[0039] **실시예 1: 이산화염소의 AcNPV에 대한 항바이러스 효과**

[0041] 이산화염소의 벡클로바이러스에 대한 항바이러스 생물검정은 다음과 같은 방법에 의해 수행되었다.

[0042] 벡클로바이러스는 *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV)를 이용하였다(Jung and Kim, 2005). 이 바이러스는 Sf9 세포주를 이용하여 증식하였다. AcNPV의 농도는 5 x 10⁷ pfu/mL이었으며, 이 바이러스 용액에 이산화염소를 200 ppm이 되도록 처리하였다. 처리된 용액을 상온에서 0-24 시간 동안 반응시켰다. 처리된 바이러스 용액을 Sf9 세포에 접종하여 28℃에서 3일 동안 형성되는 핵다각체를 확인하였다. 핵다각체 수는 임의로 선택된 100개의 세포에 존재하는 핵다각체 밀도로 표현하였다. 각 처리는 3회 세포 반응으로

반복하였다.

[0044] 곤충에 바이러스 병을 유발하는 벡클로바이러스의 일종인 AcNPV에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과 분석 결과를 도 1에 나타내었다. 이산화염소 노출량을 증가시킬수록 Sf9 세포에서 AcNPV의 핵다각체 형성율이 감소하였다. 또한 AcNPV의 노출 시간을 증가시킬수록 Sf9 세포에서 핵다각체 형성율이 감소하였다.

[0046] **실시예 2: 이산화염소의 담배모자이크바이러스(TMV)에 대한 항바이러스 효과**

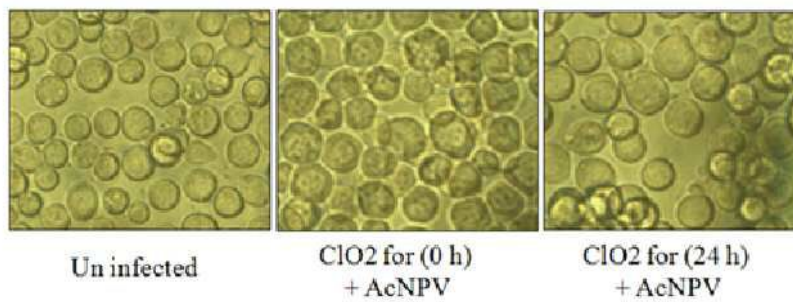
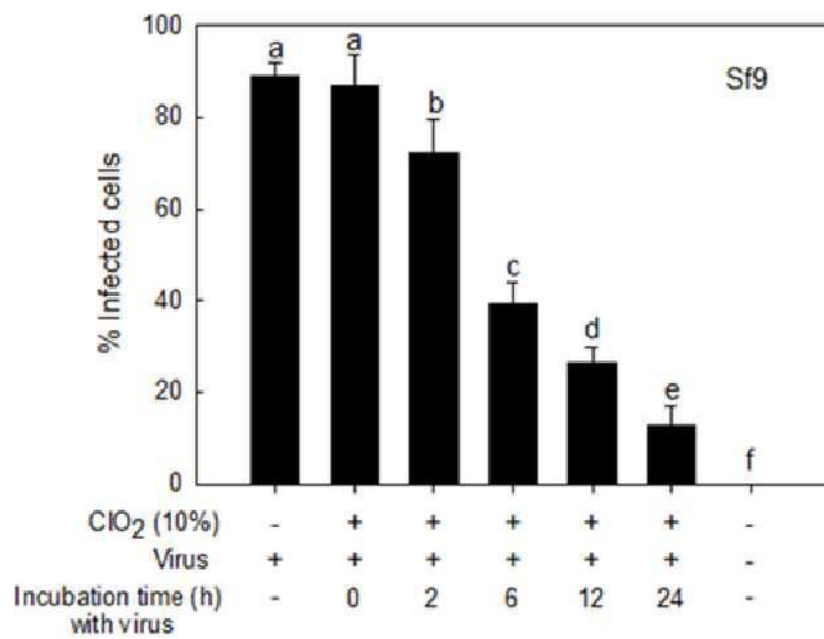
[0048] 이산화염소의 담배모자이크바이러스(TMV)에 대한 항바이러스 생물검정은 다음과 같은 방법으로 수행되었다.

[0049] 실험에 사용한 담배는 6-8엽 정도 자란 *Nicotiana tabacum* cv. NC 82 품종을 사용하였으며, TMV는 실험실에 보관중인 균주를 동일한 품종에 접종한 뒤 병징이 발현된 잎을 이용하였다. TMV 병징이 나타나는 잎 2 g을 살균수 5 mL에 마쇄하여 접종원으로 사용하였다. 0, 100, 200, 300 그리고 400 ppm의 농도로 희석한 이산화염소 용액에 바이러스 즙액을 접종하고 각 농도별로 0, 12, 24 그리고 48 시간 동안 실온 ($23 \pm 2^\circ\text{C}$)에서 배양한 뒤 담배 잎에 접종하였다. 접종한 담배는 25°C 식물생장상에 두어 병징을 관찰하였다. 접종 10 일후, Cork borer (직경 6 mm)를 이용하여 각 처리구별로 동일한 양의 잎을 회수하여 DAS-ELISA 방법 (Jeon et al., 2008)으로 TMV에 대한 방제효과를 확인하였다. ELISA reader (Gen5, BioTek, USA)를 이용하여 흡광도 405 nm로 측정하였다. 각 처리는 3회 반복하였다.

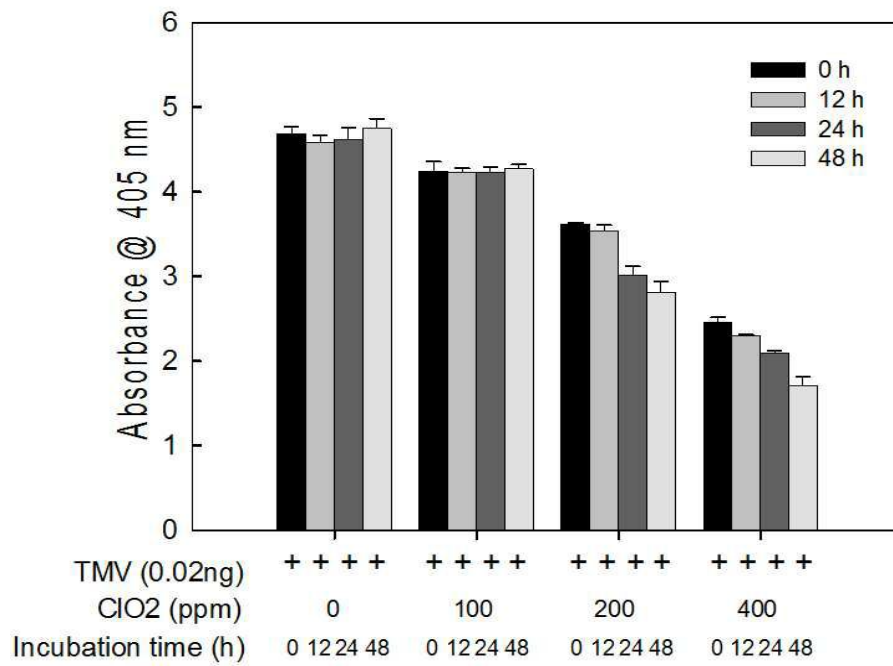
[0051] 식물바이러스에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과 확인 결과를 도 2에 나타내었다. 담배모자이크바이러스(TMV)에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과는 400ppm 에서 가장 높은 억제력을 보였다. 이산화염소 400 ppm에서 TMV를 48 시간 동안 처리한 후 담배에 접종한 결과 84.9%의 방제효과를 보였으며, 200ppm에서 48시간 처리구에서 54.1%의 효과를 보였다. 그 이하의 농도 처리구에서는 50% 이하의 억제효과를 보였다. 또한 처리 시간을 증가시킬수록 방제 효과는 증가했다.

도면

도면1



도면2a



도면2b

