



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0099991
(43) 공개일자 2014년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 1/305 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

A61K 38/38 (2006.01) A61K 31/721 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0012481

(22) 출원일자 2013년02월04일

심사청구일자 2013년02월04일

기술이전 희망 : 기술양도, 실시권허여, 기술지도

(71) 출원인

한국식품연구원

경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

최희돈

서울 송파구 올림픽로 435, 225동 2504호 (신천동, 파크리오아파트)

김윤숙

서울 성동구 독서당로 191, 6동 605호 (옥수동, 옥수동극동아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이희숙, 김석만

전체 청구항 수 : 총 9 항

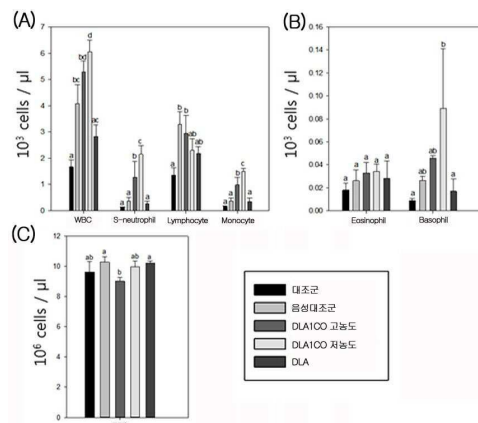
(54) 발명의 명칭 알파-락트알부민과 덱스트란의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 조성물

(57) 요약

본 발명은 알파-락트알부민과 덱스트란의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 조성물에 관한 것으로, 더 상세하게는 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 덱스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 또는 암 개선용 식품용 조성물, 면역력 저하로 인한 질환 치료용 또는 암 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 당단백질은 면역 증진에 필요한 사이토킨 및 백혈구의 수를 늘려주고, 종양을 억제하는 효능이 있어, 면역 증진용 조성물 및 암 치료용 조성물의 제조에 효과적이다.

대표도 - 도10



(72) 발명자

박호영

서울시 성북구 장위3동 145-6

하상근

경기 수원시 영통구 영통로290번길 26, 833동 130
2호 (영통동, 벽적골8단지아파트)

이상훈

부산 해운대구 반여로 68-12, 212동 601호 (반여동, 센텀롯데캐슬2차)

홍희도

경기 성남시 분당구 내정로 55, 311동 303호 (정자동, 상록마을우성아파트)

이광원

경기 성남시 분당구 양현로 220, 1104동 1901호 (이매동, 이매촌아파트)

홍승택

서울 송파구 송파대로 567, 526동 110호 (잠실동, 주공아파트)

남미현

대구 동구 안심로22길 55, 712동 1206호 (율하동, 율하휴먼시아7단지)

양재언

부산 사하구 장평로420번길 37, 101호 (괴정동, 성한주택)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 E0122100

부처명 지식경제부

연구사업명 한국식품연구원 주요사업

연구과제명 당채공학기반 전통식품 유래 생체방어식품 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한국식품연구원

연구기간 2012.01.01 ~ 2012.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 식품용 조성물.

청구항 2

알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 개선용 식품용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 텍스트란은 분자량이 64 내지 76 kDa이고, 분지 결합이 α -1,3 결합인 것을 특징으로 하는 식품용 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 마이알반응은 알파-락트알부민과 텍스트란이 1:1 내지 1:10 중량비율로 반응한 것을 특징으로 하는 식품용 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 마이알반응은 40 내지 80℃에서 12시간 내지 20일 동안 일어난 반응인 것을 특징으로 하는 식품용 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 당단백질은 분자량이 100 내지 300 kDa 인 것을 특징으로 하는 식품용 조성물.

청구항 7

알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 감기 및 만성피로로 이루어진 군에서 선택되는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 압은 대장압, 폐압, 간압, 위압, 식도압, 췌장압, 담낭압, 신장압, 방광압, 전립선압, 고환압, 자궁경부압, 자궁내막압, 용모압, 난소압, 유방압, 갑상선압, 뇌압, 두경부압, 악성흑색종, 림프종, 재생 불량성 빈혈 및 혈액암으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 알파-라트알부민과 텍스트란의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 조성물에 관한 것으로, 더 상세하게는 알파-라트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 또는 암 개선용 식품용 조성물, 면역력 저하로 인한 질환 치료용 또는 암 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 마이알반응(Maillard reaction)은 당과 단백질 간에 일어나는 비효소적 반응으로, 새로운 기능성 단백질 소재를 만드는 방법으로 각광받고 있다. 그러나 국내외적으로 이를 이용한 식품의 기능성 측면에서 응용 및 연구는 거의 이루어지고 있지 않다.

[0003] 당단백질은 단백질 및 핵산과 달리 순수한 선형 및 가지형 구조와 같은 거대한 삼차원적 구조를 지니고 있어 구조적으로 다양할 뿐만 아니라 생물학적으로 잠재적인 기능들을 많이 갖고 있다.

[0004] 면역이란 인체 내에서 외부로부터 침입하는 미생물 동종의 조직 등의 다른 물질, 특히 세포가 발생하면 면역계가 관여하여 이들을 항원으로 인식하여 특이하게 반응하여 항체를 생산하는 능력을 나타냄으로서 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말하며, 면역 반응에 관여하는 세포는 임파구, macrophage, NK cell, 수지상세포 등이 있다. 최근 생체의 면역세포로부터 cytokine 방출을 촉진시켜 암세포를 괴사시키는 면역요법이 주목받고 있다. 면역요법은 면역반응의 증강 및 억제 유도를 통해 생체의 방어능력을 조절함으로써 암세포를 사멸하기 때문에 기존의 약물에 의한 항암치료법보다 더 큰 효과를 기대할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명인은 알파-라트알부민과 텍스트란을 마이알반응으로 반응시켜 생성한 당단백질의 면역 활성화 및 암 치료 활성을 발견하여, 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서 본 발명의 목적은 알파-라트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 식품용 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 알파-라트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 개선용 식품용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 알파-라트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 감기 및 만성피로로 이루어진 군에서 선택되는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 알파-라트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명의 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 식품용 조성물을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 개선용 식품용 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 감기 및 만성피로로 이루어진 군에서 선택되는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0015] 본 발명인은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 텍스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 당단백질을 생성하였다.
- [0016] 유청 단백질의 하나인 알파-락트알부민은 우유 1 L당 약 1.2 g이 함유되어 있으며 분자량이 14,186 Da이고 등전점이 4.8인 산성 단백질로 123개의 아미노산으로 구성되어 있다. 알파-락트알부민은 우수한 영양적 성분과 여러 기능적인 특정 즉, 분산력, 용해성, 점성, 겔형성, 유화성, 안정성 등으로 인해 식품산업에 많이 이용되고 있다.
- [0017] 텍스트란은 다양한 길이의 사슬로 이루어진 복잡하고 가지가 있는 글루칸으로서, 녹말이나 글리코젠과 유사한 구조를 가지고 있다. 그러나 텍스트란은 D-글루코스가 α -1,6 결합으로 끝은 사슬 모양으로 이어지고 군데군데에 α -1,2/ α -1,3/ α -1,4 결합이 분지되어 있는데, 이것은 녹말이나 글리코젠이 α -1,4 결합을 하고 있고, 분지점이 α -1,6 결합인 것과 대조적이다. 시럽제 등의 원료로 사용되거나, 산으로 부분적 가수분해하여 생리적 식염수에 6% 정도로 녹여 대용혈청으로 사용된다.
- [0018] 텍스트란은 다양한 분자량으로 존재하는데, 본 발명의 당단백질을 구성하는 텍스트란의 분자량은 64 내지 76kDa 이고, 분지결합이 α -1,3 결합인 것을 특징으로 한다.
- [0019] 본 발명의 당단백질을 생성하기 위한 마이알 반응은 알파-락트알부민과 텍스트란이 1:1 내지 1:10 중량비율로 반응하는 것을 특징으로 한다. 상기 비율의 범위는 더 바람직하게는 1:3 내지 1:8 일 수 있고, 가장 바람직하게는 1:5 일 수 있다.
- [0020] 또한 상기 마이알 반응은 40 내지 80℃에서 12시간 내지 20일 동안 일어난 것을 특징으로 하고, 더 바람직하게는 50 내지 70℃에서 1일 내지 15일 일 수 있다.
- [0021] 또한, 본 발명의 당단백질의 분자량은 100 내지 300 kDa 인 것을 특징으로 한다. 더 바람직하게는 100 내지 300 kDa 일 수 있다.
- [0022] 상기 본 발명의 당단백질을 제조하는 방법은 실시예 1에 하나의 바람직한 예로서 기재했다.

- [0023] 본 발명의 당단백질은 면역 증진 활성 및 암 치료 활성이 있다.
- [0024] 대식세포의 일산화질소(NO) 생성능을 측정한 결과, 대조군과 비교해봤을 때, 생성이 유의적으로 높았고, 특히 100 kDa 이상의 고분자 당단백질은 월등히 높았다. 시료의 농도가 0.1 ug/mL 일 때 알파-락트알부민은 NO 생성 촉진능이 거의 없었으나, 본 발명의 고분자 당단백질(DLA1C0)은 매우 우수하게 높은 것을 알 수 있다(실시예 3-2 및 도 2의 B 참조).
- [0025] 또한, 대식세포의 TNF- α , IL-6와 IL-1 β 생성 정도를 mRNA 발현율로 측정한 결과, TNF- α 는 본 발명의 당단백질이 양성대조군보다도 높은 수준으로 발현됐고, IL-6 및 IL-1 β 는 알파-락트알부민보다도 월등하게 높은 수준으로 발현됐다(실시예 3-3 및 도 4 내지 6 참조).
- [0026] IL-6는 B세포 자극인자2(BSF2) 또는 인터페론 β 2라고도 호칭된 사이토카인이다. IL-6는 B 림프구계 세포의 활성화에 관여하는 분화인자로서 발견되고(Hirano, T. et al., Nature, 324, 73-76, 1986), 그 후, 각종 세포의 기능에 영향을 미치는 다기능 사이토카인인 것이 명확해졌다(Akira, S. et al., Adv. in Immunology, 54, 1-78, 1993). 또한 IL-6는 T 림프구계 세포의 성숙화를 유도하는 것이 보고되어 있으며 (Lotz, M. et al., J. Exp. Med. 167, 1253-1258, 1988), T cell이나 thymocytes에 co-stimulator로 작용을 하여 항암효과를 나타낸다고 알려져 있다(Kuby J. In 'Immunology' 2nd ed. 1994, Chap. 15. W.H. Freeman company. USA.).
- [0027] TNF- α 는 특정 암세포에 대한 세포독성과 항 바이러스성 작용이 있고, 급성 및 만성 염증질환에서 일어나는 여러 가지 생체반응에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Kuby J. In 'Immunology' 2nd ed. 1994, Chap. 15. W.H. Freeman company. USA.))
- [0028] IL-1 β 는 유해성 감염이나 염증 및 면역반응을 유발하는 초기 급성 반응의 중요한 매개물질 중 사이토카인중의 하나이고, 생체의 항상성 유지에 기여하는 국소호르몬이다. 따라서 IL-1 β 는 염증의 초기에 합성되는 고분자 단백질로서 이의 생물학적 효과는 거의 모든 조직이나 장기에서 발현된다. IL-1 β 의 분비는 다양한 종류의 자극에 의하여 유발되며, 다른 종류의 사이토카인에 의하여도 발현된다. IL-1 β 는 단구, 대식세포, T-세포, B-세포, 섬유아세포, 상피세포 및 내피세포를 포함한 다양한 세포 타입에서 생성되고, 주로 단구와 대식세포가 주생산자이고, 12 β -strands의 β -trefoil 구조를 가진다. 이러한 IL-1 β 는 중요한 염증 매개자로 포유류에서 interleukin-converting enzyme (ICE)에 의해 잘려서 성숙 단백질로 된다. 그리고 성숙 단백질만이 생물학적으로 활성을 가지게 된다. 생성된 IL-1 β 는 림프구, 결합조직 세포, 혈관내피 세포의 성장과 증식을 유도하여 세포 매개성 면역을 증강시키면서 염증에서 중요한 역할을 한다.
- [0029] 본 발명의 당단백질은 0.1ug/mL 농도에서도 우수한 면역 활성을 보였는데, 이 농도에서의 독성을 평가해본 결과, 독성은 보이지 않았다(실시예 4 및 도 7 참조).
- [0030] 따라서 본 발명의 당단백질은 면역 증강 활성이 있다.
- [0031] 뿐만 아니라, 상기 본 발명의 당단백질은 항종양 활성이 있는데, 이를 in vivo 수준으로 검증해보았다.
- [0032] 암을 유발한 동물에게 본 발명의 당단백질을 투여해본 결과, 비장의 무게가 눈에 띄게 증가하였다. 비장은 면역 활성을 담당하는 주요 장기로서, 본 발명의 당단백질이 비장의 활성을 증가시킨다는 것을 알 수 있다. 또한, 종양의 무게를 측정한 결과, 본 발명의 당단백질을 투여한 마우스에서 종양의 무게는 대조군과 비교해봤을 때, 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 본 발명의 당단백질은 암을 치료하는 효능이 있다는 것을 알 수 있다(실시예 5-2 및 도 8 내지 9 참조)
- [0033] 상기 동물들의 혈액 검사에서도 본 발명의 당단백질을 투여한 실험군은 백혈구의 수가 다른 실험군들보다도 월등하게 높았고, 그 중에서도 호중구, 단핵구, 호염구의 수가 유의적으로 높았다.
- [0034] 호중구는 대부분의 박테리아 및 진균 감염에 대한 방어기능 및 모든 염증반응에 있어서 초기반응을 수행한다. 급성염증 반응에서 가장 먼저 동원되어서 외부에서 침입한 미생물을 죽이고 세포사하여 고름을 형성한다. 호염구는 대개 알레르기 반응 및 항원에 대한 반응으로 히스타민을 분비하여 염증을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 단핵구는 호중구와 마찬가지로 탐식작용을 통해 외부물질을 제거한다.
- [0035] 또한, 상기 동물의 비장세포 사이토킨 분비 정도를 측정한 결과, 세포실험과 유사한 결과가 나왔다(실시예 5-4 및 도 12 참조).
- [0036] 따라서 본 발명은 알파-락트알부민(alpha-lactalbumin)과 덱스트란(dextran)의 마이알반응(Maillard reaction)을 통해 생성된 당단백질을 유효성분으로 함유하는 면역 증강용 식품용 조성물 및 암 예방 또는 치료용 식품

용 조성물을 제공한다.

- [0037] 본 명세서에서 용어 “면역 증강”은 생체 내 면역시스템의 면역 반응 또는 활성을 증가시키는 것을 의미한다.
- [0038] 본 발명에 따른 식품용 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강 식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형들은 당 업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.
- [0039] 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 당단백질 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 당단백질과 면역기능 증진 또는 암 치료의 효과가 있다고 알려진 공지의 물질 또는 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.
- [0040] 또한, 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 당단백질을 첨가하여 제조할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 식품 조성물 중 상기 본 발명의 당단백질의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 최종적으로 제조된 식품 중 0.01 내지 50 중량%이다. 본 발명의 당단백질을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.
- [0042] 본 발명은 본 발명의 당단백질을 유효성분으로 포함하는 감기 및 만성피로로 이루어진 군에서 선택되는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 면역력 저하로 인한 질환은 면역 기능이 떨어져서 정상인 보다 더 쉽게 걸리게 되는 질환 또는 면역 기능 저하로 인해 치료가 어려운 질환을 의미하는 것이다.
- [0043] 또한 본 발명은 본 발명의 당단백질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 상기 암은 대장암, 폐암, 간암, 위암, 식도암, 췌장암, 담낭암, 신장암, 방광암, 전립선암, 고환암, 자궁경부암, 자궁내막암, 유방암, 난소암, 유방암, 갑상선암, 뇌암, 두경부암, 악성흑색종, 림프종, 재생불량성 빈혈 및 혈액암으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 한다.
- [0044] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 당단백질 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 단독으로 함유하거나 또는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 당단백질은 그 자체 또는 염, 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명에서 '약학적으로 허용가능한'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 말하며, 상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하다. 상기 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있다. 상기 유기산은 이에 제한되는 것은 아니나, 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 말레인산, 푸마르산, 포름산, 프로피온산, 옥살산, 트리플로오로아세트산, 벤조산, 글루콘산, 메타술폰산, 글리콜산, 숙신산, 4-톨루엔술폰산, 글루탐산 및 아스파르트산을 포함한다. 또한 상기 무기산은 이에 제한되는 것은 아니나, 염산, 브롬산, 황산 및 인산을 포함한다.
- [0046] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0047] 본 발명의 면역력 저하로 인한 질환 또는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으

로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 약학적 조성물은 정맥내 투여될 수 있다.

[0048] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화할 수 있다.

[0049] 경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 등을 포함하는 셀룰로오스류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0050] 비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제, 겔제, 에어로졸 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 이들 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

[0051] 본 발명의 당단백질의 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. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 당단백질의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자 체중 1 kg 당 약 0.01ug 내지 1,00 mg, 가장 바람직하게는 0.1 ug 내지 10 mg일 수 있다. 그러나 상기 본 발명의 당단백질의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수 뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 당단백질을 면역기능 증진제 또는 암 치료제로서의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

발명의 효과

[0052] 본 발명의 당단백질은 면역 증진에 필요한 사이토킨 및 백혈구의 수를 늘려주고, 종양을 억제하는 효능이 있어, 면역 증진용 조성물 및 암 치료용 조성물의 제조에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0053] 도 1은 알파-락트알부민 및 당단백질의 SDS-PAGE 결과이다. (Lane 설명 : 1 - 알파-락트알부민(LA) 0일 배양물, 2 - LA 1일 배양물, 3 - LA 15일 배양물, 4 - 당단백질 0일 반응물, 5 - 당단백질 1일 반응물, 6 - 당단백질 1일 반응물을 100kDa으로 cut-off 한 시료, 7 - 당단백질 15일 반응물, 8 - 당단백질 15일 반응물을 100kDa으로 cut-off 한 시료)

도 2의 (a)는 시료들을 단백질 정량 기준으로 맞춘 0.1ug/mL 농도로 대식세포에 처리하여 대식세포의 일산화질소 생성량을 측정한 결과이다. (X축 설명 : con - 대조군, LPS - lipopolysaccharide, LA0 - 알파-락트알부민(LA) 0일 배양물, LA1 - LA 1일 배양물, LA15 - LA 15일 배양물, DLA0 - 당단백질 0일 반응물, DLA1 - 당단백질 1일 배양물, DLA1C0 - 당단백질 1일 배양물 100kDa cut-off한 시료, DLA15 - 당단백질 15일 배양물, DLA15C0 - 당단백질 15일 배양물 100kDa cut-off한 시료)

도 2의 (b)는 각 시료들을 다양한 농도로 대식세포에 처리하여 대식세포의 일산화질소 생성량을 측정한 결과이

다. (X축 : 단백질 정량 기준으로 맞춘 시료의 농도 ug/mL)

도 3은 대식세포에서 분비된 사이토킨들의 발현 정도를 전기영동으로 확인한 결과이다.

도 4는 TNF- α mRNA의 상대적인 발현 수준을 나타낸다.

도 5는 IL-1 β mRNA의 상대적인 발현 수준을 나타낸다.

도 6은 IL-6 mRNA의 상대적인 발현 수준을 나타낸다.

도 7의 A는 RAW 264.7 macrophage cell로 측정된 본 발명의 당단백질 세포독성 검사 결과이다.

도 7의 B는 HUVEC cell로 측정된 본 발명의 당단백질 세포독성 검사 결과이다.

도 8은 실험군별로 마우스의 종양 무게를 체중에 대한 비율로 나타낸 결과이다.

도 9는 실험군별로 마우스의 각 장기들 무게를 체중에 대한 비율로 나타낸 것이다.

도 10의 (A)는 실험군별로 마우스 혈액 내의 백혈구 수, 호중구 수, 림프구 수, 단핵구 수를 나타낸 것이다.

도 10의 (B)는 실험군별로 마우스 혈액 내의 호산구, 호염구의 수를 나타낸 것이다.

도 10의 (C)는 실험군별로 마우스 혈액 내의 적혈구 수를 나타낸 것이다.

도 11은 실험군별로 마우스 비장에서 분비하는 사이토킨 발현 정도를 전기영동으로 나타낸 결과이다.

도 12의 A 는 마우스 비장에서 분비하는 IL-1 β 의 상대적인 mRNA 발현 수준을 나타낸 것이다.

도 12의 B 는 마우스 비장에서 분비하는 TNF- α 의 상대적인 mRNA 발현 수준을 나타낸 것이다.

도 12의 C 는 마우스 비장에서 분비하는 IL-6의 상대적인 mRNA 발현 수준을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0054]

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0055]

단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0056]

<실시예 1>

[0057]

당단백질 제조

[0058]

alpha-lactalbumin (Sigma, L5385 / 이하 'LA')을 deionized water에 10 mg/mL의 농도로 녹인 후 dextran (Sigma, D4751 / 이하 'D')을 50 mg/mL의 농도가 되도록 넣어주었다. Vortex mixer를 이용하여 고형물을 전부 녹여준 후 실온에서 1시간 동안 방치하였다. 이렇게 준비된 sample은 petri dish에 분주하여 -75℃ 이하로 급속 냉동 후, 동결건조기를 이용하여 3일간 동결 건조하여 고체 시료를 얻었다. 이 시료들은 petri dish에 담겨, 밀폐된 incubator에서 상대습도 79% (saturated KBr solution), 60℃로 incubation을 시킨 후, Incubation을 시작한 날부터 0일 (DLA0), 1일 (DLA1), 15일 (DLA15) 마다 sample을 꺼내서 -20℃에 보관하였다.

[0059]

합성된 상기 DLA 샘플들을 deionized water에 10 mg/mL의 농도로 40mL 녹인 후 100 kDa molecular weight membrane (Milipore Co., Billerica, MA, USA)을 이용하여 cut-off 시켰다(DLACO). 100 kDa membrane 위에 남은 부분만을 40 mL의 deionized water로 5 번 연속 cut-off 하였다.

[0060]

<실시예 2>

[0061]

SDS-PAGE를 통한 당단백질 합성 검증

[0062]

SDS-PAGE는 단백질을 음전하로 코팅하여 polyacrylamide gel에서 단백질 분자량에 따라 전기영동하는 방법으로 이번 시험에 사용되었던 다당 dextran (64~76 kDa)이 단백질인 alpha-lactalbumin (14.2 kDa)과 반응하여 합성

된 것은 단백질 자체의 base band보다 upper밴드로서 나타나게 될 것으로 예상하고 실험을 진행하였다. 또한, DLA 샘플을 100 kDa pore size membrane을 사용하여 cut-off 하여 DLA 샘플의 고분자 부분만을 모은 샘플의 band는 SDS-PAGE gel 상의 100 kDa 이상의 범위에서 나타날 것으로 예상하고 실험을 진행하였다.

[0063]

시험에 사용된 방법은 Laemmli's discontinuous 법(U. K. Laemmli Nature, Vol. 227, p. 680-685, 1970)으로서, gel은 15% acrylamide gel을 사용했고, running gel과 stacking gel의 구성은 하기 [표 1]에 기재했다. 모든 loading sample 들은 BCA 정량법(The BCA™ Protein Assay is protected by U.S. Patent # 4,839,295)에 의해 동량으로 정량하여 각 well 마다 lysozyme을 11.3μg씩 loading을 실시했다. gel staining 은 Coomassie blue staining을 실시하였고, SDS-PAGE 결과는 Image J 1.45s프로그램(National Institutes of Health, USA)을 사용하여 [도 1]에 나타냈다.

표 1

[0064]

Acrylamide gel 구성

시 료	15% running gel (ml)	5% stacking gel (ml)
H ₂ O	3.45	2.753
Tris-HCl buffer	3.75 (pH 8.8)	0.5 (pH 6.8)
30% Acryl/bis Acryl	7.5	0.667
10% SDS	0.15	0.04
10% APS	0.15	0.04
TEMED	0.006	0.004

[0065]

도 1에서 알파-락트알부민만 배양한 샘플들은 배양 기간에 상관없이 단백질에 변화가 없다(Lane 1 내지 3). 또한, 텍스트란과 알파-락트알부민이 반응한 샘플들은 배양 기간이 증가함에 따라 겔 위쪽에 밴드들이 증가하는 것을 확인할 수 있고(Lane 4, 5, 7), DLA 산물에서 100kDa 멤브레인으로 cut-off 한 샘플들은 크기가 작은 LA만 있는 밴드들이 거의 다 사라지고, 위쪽에 큰 분자량의 당단백질들이 농축된 양상을 보이며, 1일차와 15일차 배양 샘플 간에 밴드 양상은 뚜렷한 차이가 없음을 알 수 있다(Lane 6, 8). 이런 결과를 통해, 당단백질의 합성이 성공적으로 이루어졌음을 확인할 수 있다.

[0066]

<실시예 3>

[0067]

당단백질의 면역 활성 측정(in vitro)

[0068]

측정 결과의 통계 방법은 one-way ANOVA(p<0.05)이다.

[0069]

<3-1> 대식세포 배양

[0070]

대식세포(macrophage)는 즉각 면역반응을 일으키는 세포 중 하나이다. 대식세포 작용 활성화 측정을 위해 mouse monocyte/macrophage cell line인 Raw 264.7을 이용하였으며 세포는 DMEM high glucose(Hyclone, Logan, UT) 배지에 1% Antibiotic/Antimycotic solution (Gibco, Ontario, CA)을 첨가, 10% FBS(Fetal bovine serum, Hyclone, Logan, UT)를 첨가하여, 37℃, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 계대에는 100 mm² cell culture dish(TPP, cat# : 931000)에 세포가 자라면 배지를 제거, pipetting을 이용하여 세포를 떼어 낸 후 한곳에 모아 1,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 4.5×10^5 cell/mL로 24 well plate에 각각 1 mL씩 분주하여 실험에 이용하였다. 모든 시료를 처리하기 전 FBS가 들어가지 않은 배지로 6시간 동안 starvation을 시켜준다.

[0071]

<3-2> Nitric oxide (NO) 생성능 측정

[0072]

대조군(미처리), 양성대조군(LPS, Lipopolysaccharide from E.coli 011:B4), 알파-락트알부민 0일 반응물(LA0), 1일 반응물(LA1) 및 15일 반응물(LA15), 당단백질 0일 반응물(DLA0), 1일 반응물(DLA1) 및 15일 반응물(DLA15), 당단백질 100kDa cut-off 1일 반응물(DLA1C0) 및 15일 반응물(DLA15C0)을 0.1μg/mL 농도로 처리한 총 10개 실험군으로 진행하였다. 상기 농도는 단백질량 기준으로 측정한 것이고, 측정은 BCA 정량법을 사용하여

다.

[0073] Nitric oxide 측정은 Griess method(Peter et al. 1858)로 측정했다. 세포가 분비하는 NO가 sulfanil amide(Sigma aldrich, S9251), N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (Sigma aldrich, 222488) 시약들과 azo compound를 형성하게 한 후, ELISA reader 로 540nm에서의 흡광도를 측정한다. 이때 NO^{2-} 농도에 대한 표준 곡선은 NaNO_2 를 serial dilution하여 작성하였다. 음성대조군에 대하여 유의적 증가가 있는지는 one way ANOVA / Tukey's multiple range test를 실시한 후 SAS program 9.2(USA)를 통해 $p < 0.05$ 수준에서 유의적 차이를 조사하였다. 결과는 [도 2]의 A에 표시하였다.

[0074] 도 2의 A에서 100kDa 이상 분자를 cut-off한 고분자 당단백질(DLACO)을 처리한 두 실험군은 다른 샘플들과 달리 NO 활성이 급격하게 증가함을 알 수 있고, DLACO 1일차 반응물과 15일차 반응물의 NO 활성 차이가 유의적으로 없었다. 따라서 1일 반응만으로도 면역 활성이 활발함을 판단할 수 있다.

[0075] 고분자 당단백질 1일 반응물의 면역 활성이 15일 반응물과 비슷하여, 1일 배양물만으로 면역활성 비교 실험을 수행했다. 양성대조군으로는 0.1ug/mL 농도의 LPS (Lipopolysaccharide from E.coli 011:B4)를 사용하였고, 알파-락트알부민 0일(LA0) 및 1일 반응물(LA1), 당단백질 1일 반응물(DLA1), 당단백질 100 kDa cut-off 1일 반응물(DLA1CO)을 0.01 ug/mL 부터 10ug/mL 까지 공비 10으로 농도를 설정하여 세포에 처리하였다. 텍스트란은 400 및 600ug/mL 농도로 처리하였다.

[0076] Nitric oxide 측정은 상기 방법과 동일하게 하였다. 결과는 도 2의 B에 기재하였다. DLA1CO 처리군은 모든 농도에서 다른 실험군에 비해 월등히 우수하였고, 양성 대조군과 비슷한 수준의 활성을 보였다. 특히 0.1 ug/mL 농도에서 DLA1CO 처리군은 매우 우수하였으나, 다른 처리군은 NO 생성이 미미하였다.

[0077] <3-3> Cytokine(사이토킨) 생성능 측정

[0078] 상기 실시예 <3-2>에서 두 번째로 실험한 실험군 중에서 텍스트란 처리군을 제외한 나머지 실험군의 사이토킨 생성능을 측정하였다.

[0079] 면역 증강효과를 측정하는 지표로 Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Interlukin 계열의 cytokine인 IL-6와 IL-1 β 를 측정하였다. TNF- α , IL-6와 IL-1 β 의 mRNA level 발현 측정을 위해 reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 방법을 이용하였다.

[0080] Raw 264.7 세포를 12 well plate에 4.5×10^5 cell/mL로 각각 2 mL씩 분주하여, 시료를 처리하기 전 FBS가 들어가지 않은 배지로 6시간 starvation 시킨 후, 시료를 단백질량 기준 0.1 ug/mL로 처리하였다. 24시간 동안 처리한 후, 배양된 세포의 배지를 제거하여 PBS로 2번 washing 한 후 TRIzol reagent (invitrogen, cat# : 15596018)를 처리하여 액체를 모아 -70℃에 보관하였다. cDNA 합성을 위해 RNA 양은 각각 3.5 μg 으로 맞춰졌으며 사용된 primer의 sequence는 아래 [표 2]와 같다.

표 2

[0081] 프라이머 서열

프라이머 이름	서열	크기	Annealing 온도
TNF- α	Forward : 5' '-CCTGTAGCCACGTCGTAGC-3' Reverse : 5' -AGCAATGACTCCAAAGTAGACC-3'	431 bp	60℃
IL-6	Forward : 5' -GATGCTACCAAACTGGATATAATC-3' Reverse : 5' -GGTCCTTAGCCACTCCTTCTGTG-3'	269 bp	63℃
IL-1 β	Forward : 5' -ATGGCAATGTTCCTGAACCTCAACT-3' Reverse : 5' -CAGGACAGGTATAGATTCTTTCCTTT-3'	539 bp	62.5℃
β -actin	Forward : 5' -TGTGATGGTGGGAATGGGTCAG-3' Reverse : 5' -TTTGATGTCACGCACGATTCC-3'	514 bp	60℃

[0082] PCR 조건은 TNF- α 와 β -actin의 경우 95℃에서 3분, 24 cycle로 10초간 95℃, 30초간 60℃, 20초간 72℃로 하였고, IL-6의 경우 95℃에서 3분, 10초간 95℃, 30초간 63℃, 20초간 72℃ 조건으로 했으며, IL-1 β 의 경우 95

℃에서 3분, 10초간 95℃, 30초간 62.5℃, 20초간 72℃로 하였다. 모든 cycle이 돌아가면 효소 불활성화를 위해 72℃에서 5분간 처리하였으며 발현량 확인을 위한 전기영동 agarose gel은 1.5%로 사용하였다.

[0083] 전기영동 결과는 [도 3]에 기재하였고, TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 mRNA 발현수준을 대조군을 1로 놓고 상대적인 정량 결과를 도 4 내지 도 6에 기재하였다. DLA1C0 처리군은 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 모두 발현량이 현저히 높았고, TNF- α , IL-1 β 는 양성대조군인 LPS와 비슷한 수준이고, IL-6는 DLA1C0 처리군에서만 발현되었다.

[0084] <실시예 4>

[0085] 세포 독성 측정

[0086] RAW 264.7 macrophage cell 및 HUVEC cell(혈관 내피 세포)을 이용하여 네오글라이코 단백질 고분자 물질의 세포 독성 실험을 실시하였다. 실험은 colorimetric MTT assay 법(Mosmann, T., JImmunolMethods; 65(1-2): 55-63, 1983)을 이용하였다. 4 well plate에 RAW 264.7을 4.5×10^5 cells / well 로 분주하였고, HUVEC cell은 1×10^5 cells / well의 농도로 분주하였다. 시료를 단백질 기준 0.1 ug/mL 농도로 정량하여 24시간동안 처리하였다. 24 시간 후에 배지를 제거한 후 DMEM 배지 200 uL를 각 well에 넣어준 후 PBS에 녹인 5 mg/mL MTT 용액 40 uL를 각 well에 넣어 주어 3시간 동안 incubation 하였다. MTT 용액을 제거 한 후 DMSO를 이용하여 formazan crystals를 녹인 후 540 nm 흡광도를 찍어 측하였고, 셀 생존률은 아무것도 처리되지 않은 대조군을 100% 로 하여 상대적인 % 값으로 나타냈고, RAW 264.7 결과는 도 7의 A, HUVEC cell 결과는 도 7의 B에 표시하였다.

[0087] 상기 도면에서, 본 발명의 당단백질은 독성이 없음을 확인할 수 있다.

[0088] <실시예 5>

[0089] 당단백질의 항종양 활성(in vivo)

[0090] 측정 결과의 통계 방법은 one-way ANOVA(p<0.05)이다.

[0091] <5-1> 실험준비

[0092] 8주령의 수컷 BALB/c 마우스 25 마리(샘타코(주)에서 구입)를 표준 사료로 자유 식이를 하였고, 12/12시간 낮/밤 주기를 적용하여 1주일간 순응하였다. 사육실 환경 및 동물 사육은 고려대학교 동물실험윤리위원회의 지침에 기준하여 이루어 졌다.

[0093] Sarcoma 180 암 세포주를 한국세포주은행으로부터 구입하여, 5×10^6 cells / mL Sarcoma 180 세포 0.4 mL를 BALB/c 마우스의 왼쪽 사타구니에 피하주사하여 암을 유발하였다. 암이 유발 된 쥐는 5마리씩 5그룹 (대조군(정상군), 음성 대조군(암 유발 군), DLA1C0 고농도 처리군, DLA1C0 저농도 처리군, DLA 처리군)으로 나뉘어 암 유발 24시간 후부터 시료를 처리하였다. 시료 농도는 대조군 및 음성대조군은 PBS 90 uL씩, 고농도 처리군은 DLA1C0 3 mg/kg체중, 저농도 처리군은 DLA1C0 0.3 mg/kg체중, DLA 군은 DLA0 샘플 3mg/kg체중으로 하였고, 시료를 매일 7일간 꼬리 정맥을 통해 주입한 후 8일째 되는 날 희생하였다. 해부 시, 전혈을 채취하였고, 유발된 종양과 주요 장기(비장, 갑상선, 심장, 허파, 정소)는 무게 측정 후 액체 질소로 얼린 후 -80℃에서 보관하였다.

[0094] <5-2> 장기 및 종양 무게 측정

[0095] 마우스의 체중에 대한 장기들의 무게에 대한 비율을 도 8에 표시하였다. 대부분의 장기에서 대조군과 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나, 면역 기능을 담당하는 비장은 DLA1C0 처리군이 다른 실험군들에 비해 월등하게 높았다. 따라서 DLA1C0의 면역 증강 활성이 높음을 알 수 있다.

[0096] 또한 종양을 적출하여 무게를 측정한 결과, DLA1C0 고농도 처리군 및 DLA 처리군이 음성 대조군(암 유발군)보다

훨씬 적게 나왔다. 따라서 본 발명의 당단백질은 항종양 활성을 갖고 있다는 것을 알 수 있다.

[0097] <5-3> 혈액 검사

[0098] CBC(Complete blood count) 테스트로 백혈구(WBC), 호중구(Neutrophil), 림프구(Lymphocyte), 단핵구(Monocyte), 호염구(Basophil), 호산구(Eosinophil) 및 적혈구(RBC)의 수를 측정하였고, 그 결과는 [도 10]에 기재하였다.

[0099] 도 10의 A에서 백혈구, 호중구, 단핵구 수는 DLA1C0 처리군이 다른 군들보다 훨씬 많은 것을 알 수 있고, 도 10의 B에서 호염구 역시 유의적으로 그 수가 많은 것을 확인할 수 있다.

[0100] <5-4> 비장세포의 사이토킨 분비 측정

[0101] 동물 실험으로부터 절제한 비장을 1x PBS로 씻은 후 액체 질소에 바로 얼려서 보관하였다. 이 얼린 비장을 막자사발에 부신 후 Trizol reagent(Invitrogen, Carlsbad, USA)를 이용하여 total RNA를 추출 하였다.

[0102] 사이토킨 발현 측정은 상기 실시예 <3-3>과 동일하게 하였고, 전기영동 결과는 도 11에, 발현 수준을 나타내는 그래프는 도 12에 기재하였다.

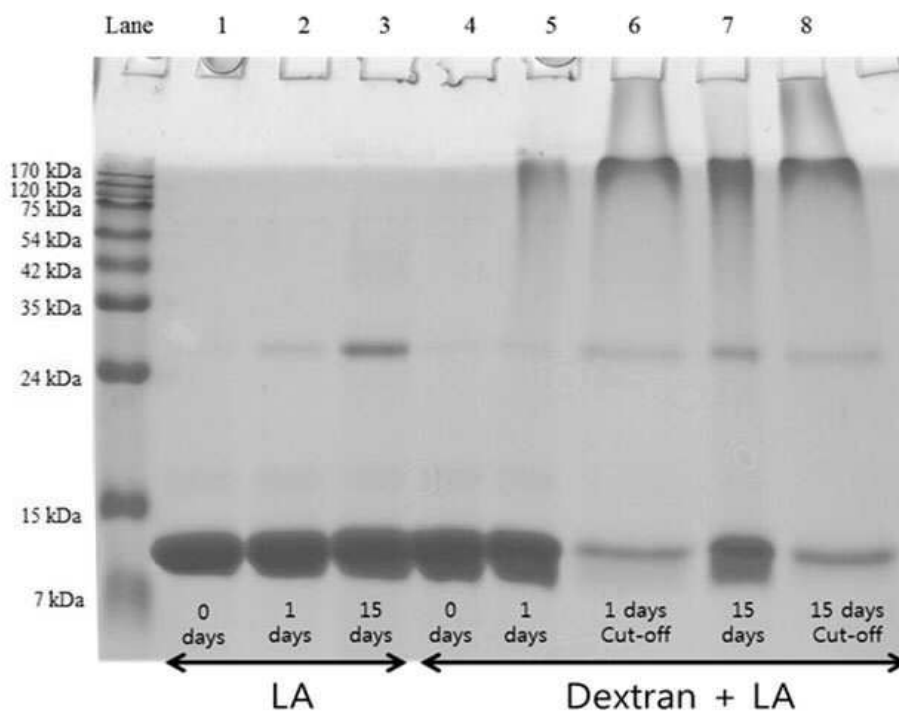
[0103] 도 11 및 도 12에서 DLA1C0 처리군이 음성대조군 및 DLA 처리군보다 사이토킨 분비능이 높다는 것을 알 수 있고, 특히 IL-6의 경우, DLA1C0가 월등히 높은 것을 확인할 수 있다.

산업상 이용가능성

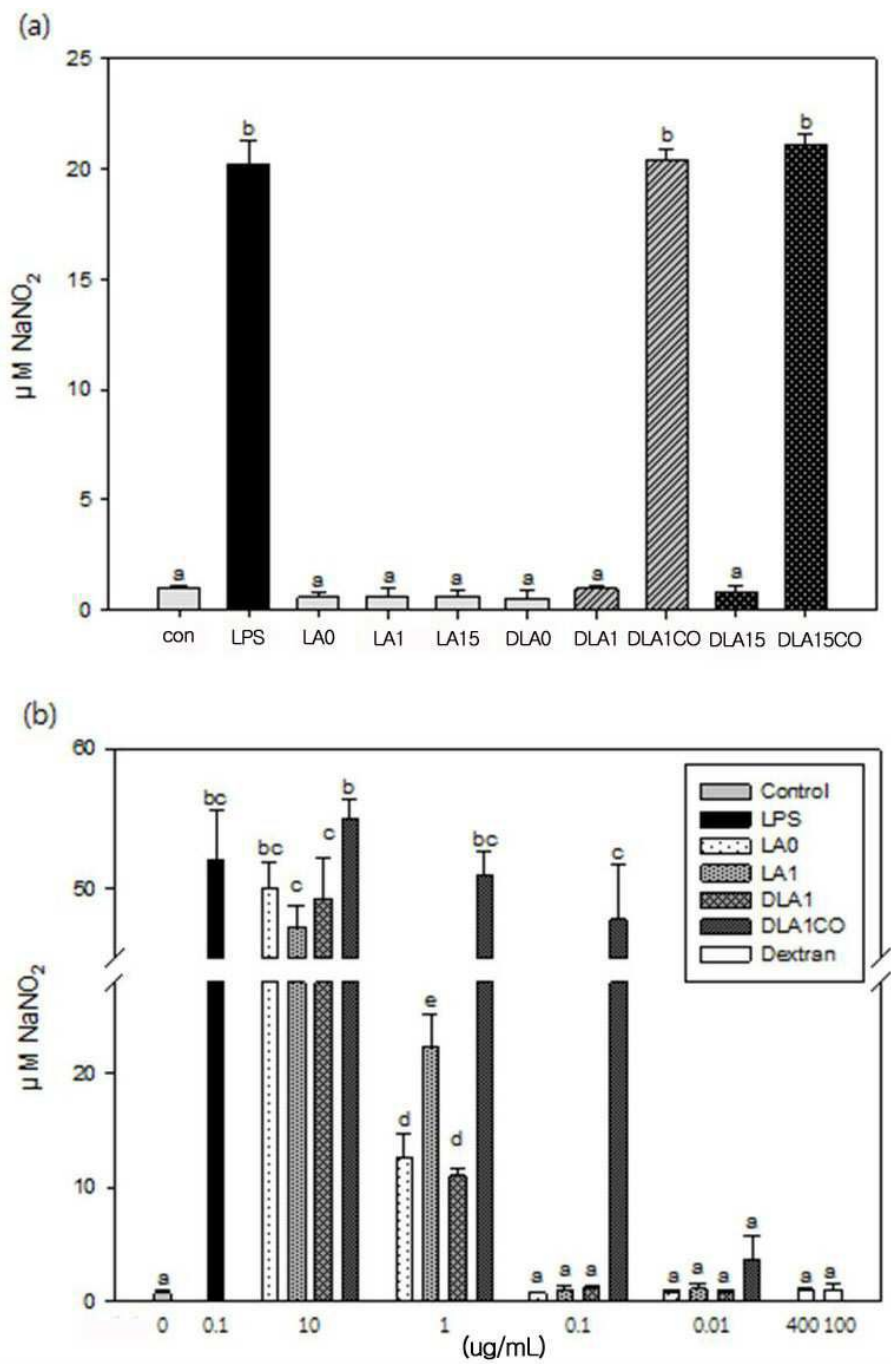
[0104] 본 발명의 당단백질은 면역 증진에 필요한 사이토킨 및 백혈구의 수를 늘려주고, 종양을 억제하는 효능이 있어, 면역 증진용 조성물 및 암 치료용 조성물의 제조에 이용할 수 있어, 산업상 이용가능성이 높다.

도면

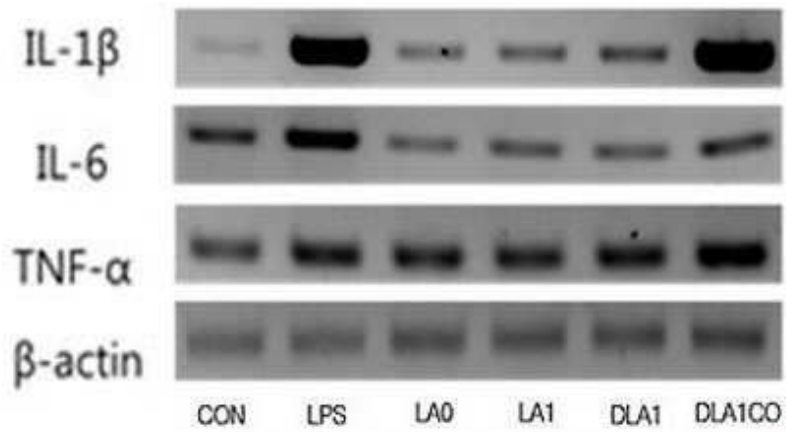
도면1



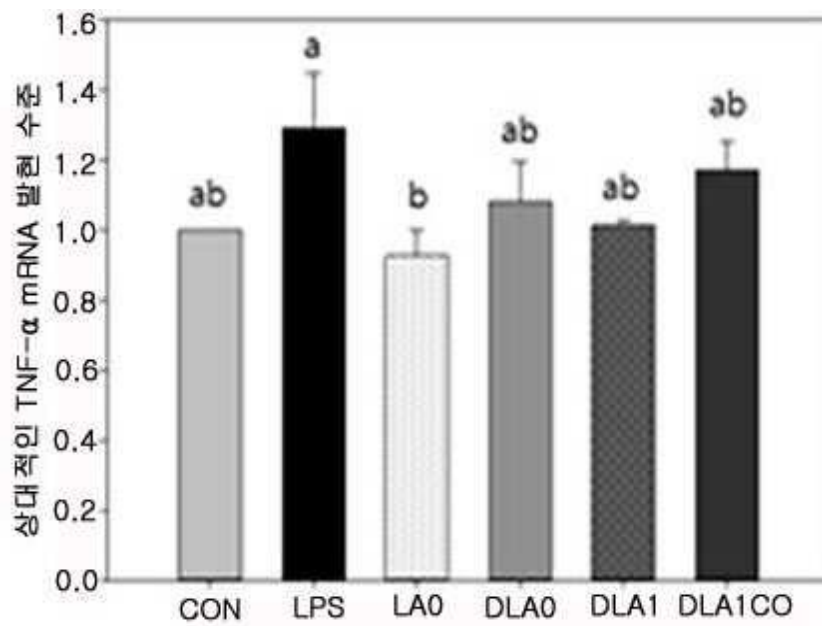
도면2



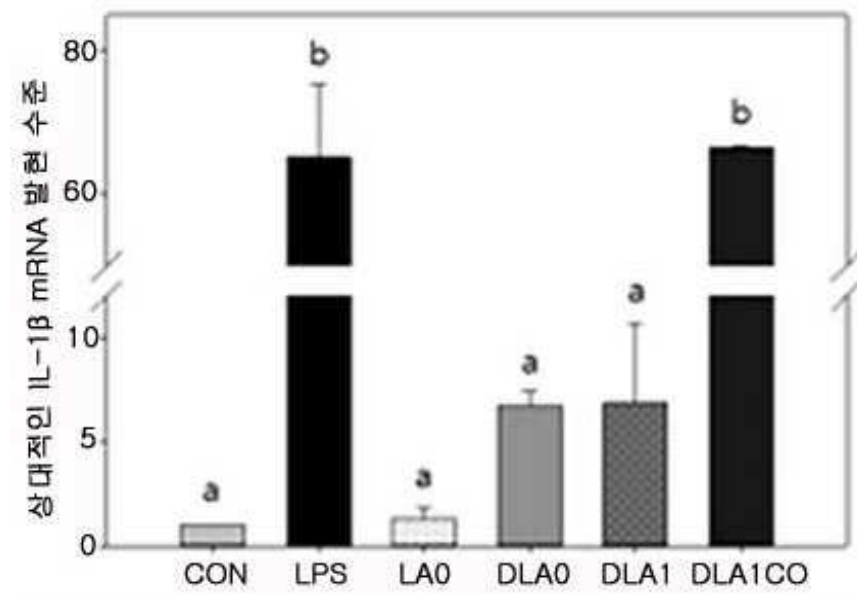
도면3



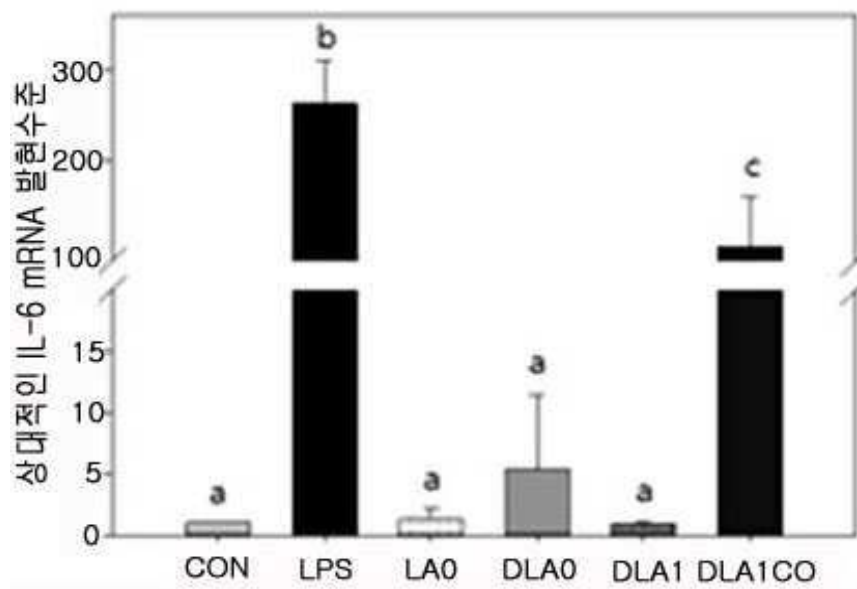
도면4



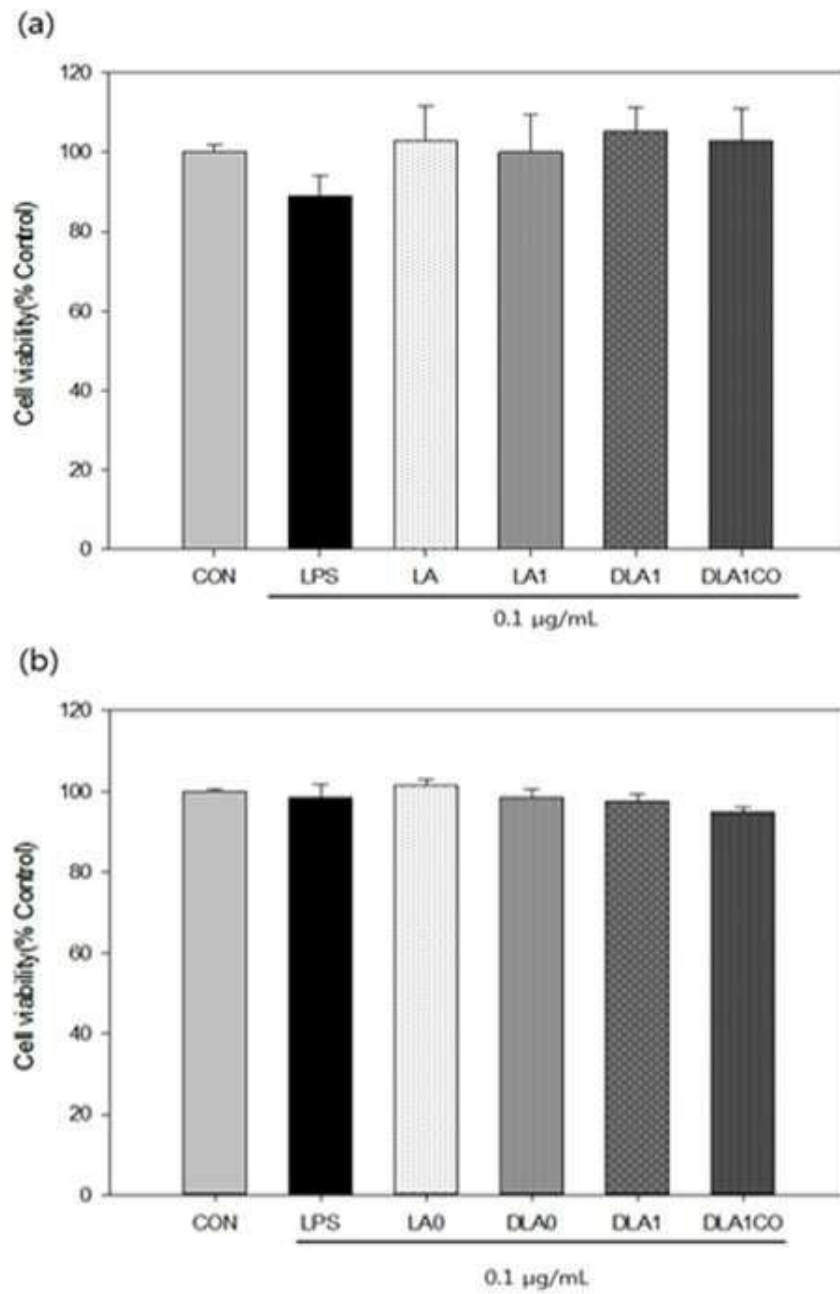
도면5



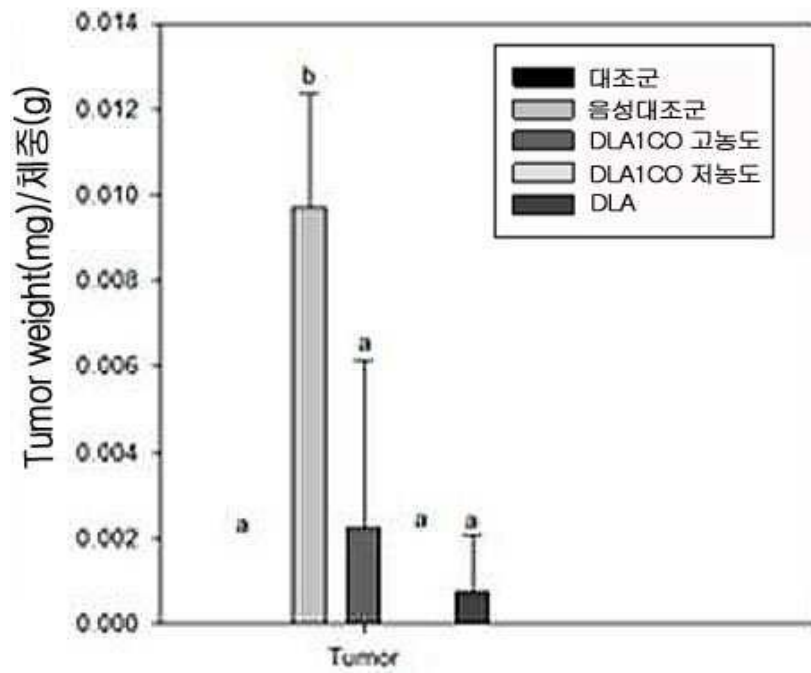
도면6



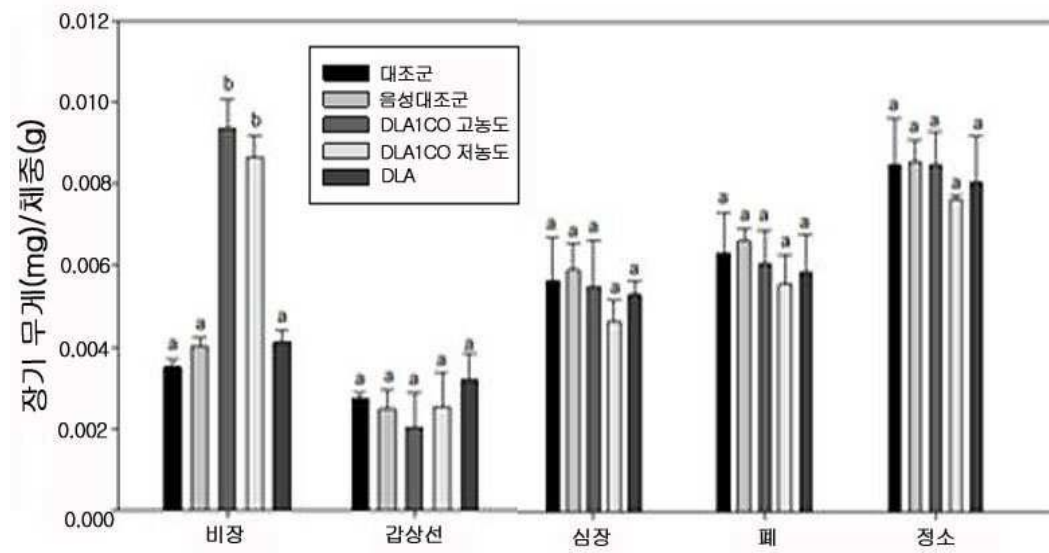
도면7



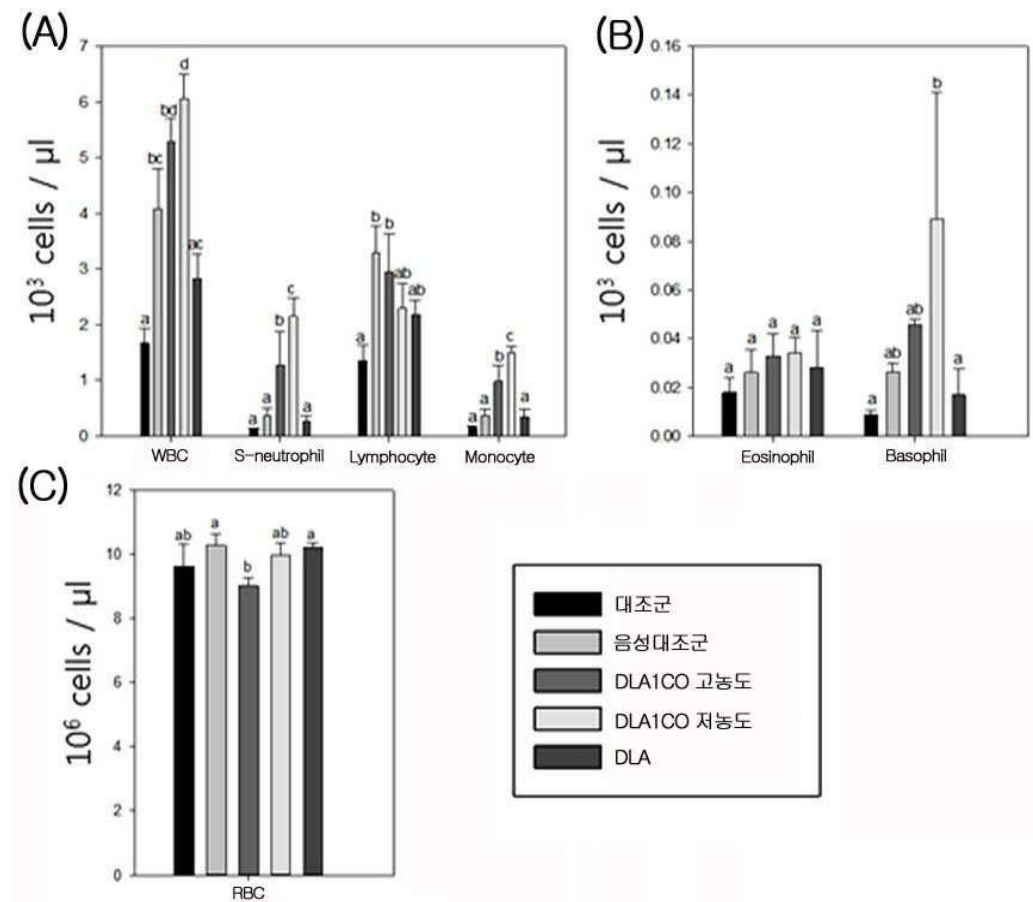
도면8



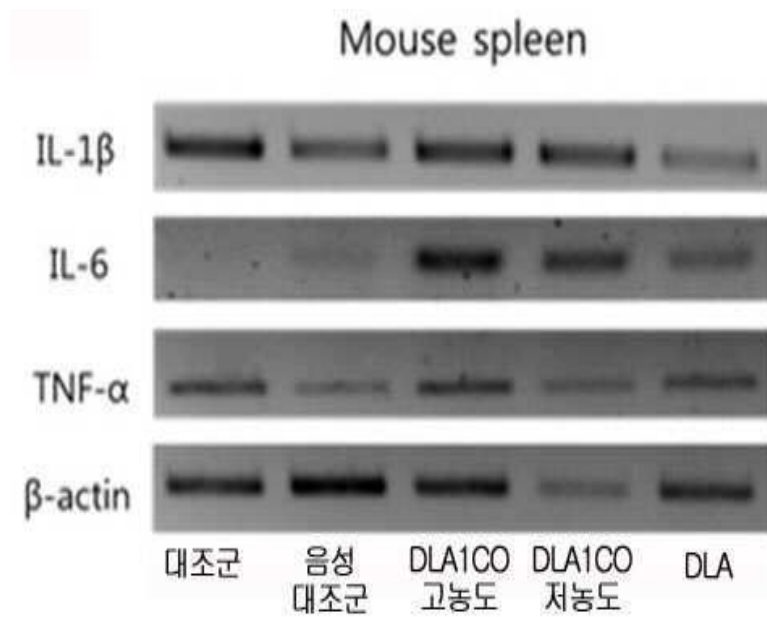
도면9



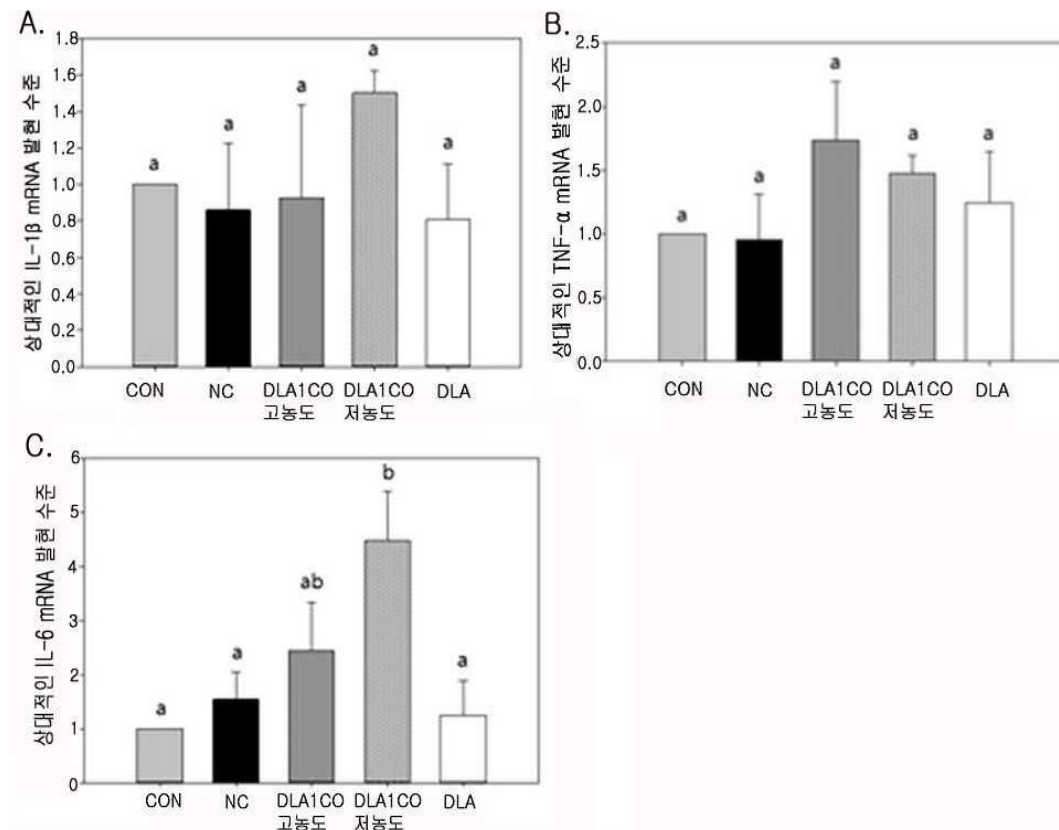
도면10



도면11



도면12



서열 목록

- <110> KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE
Korea University Research and Business Foundation
- <120> Composition for immunological enhancement comprising glycoprotein
produced by Maillard reaction between alpha-lactalbumin and
dextran
- <130> NP12-0102
- <160> 8
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Forward Primer for TNF-alpha
- <400> 1
cctgtagccc acgtcgtagc

20

<210> 2

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Reverse Primer for TNF-alpha
 <400> 2
 agcaatgact ccaaagtaga cc 22
 <210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Forward Primer for IL-6
 <400> 3
 gatgctacca aactggatat aatc 24
 <210> 4
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Reverse Primer for IL-6
 <400> 4
 ggtccttagc cactccttct gtg 23
 <210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Forward Primer for IL-1-beta
 <400> 5
 atggcaatgt tcctgaactc aact 24
 <210> 6
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Reverse Primer for IL-1-beta
 <400> 6
 caggacaggt atagattctt tccttt 26

<

210> 7

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for beta-actin

<400> 7

tgtgatggtg ggaatgggtc ag 22

<210> 8

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for beta-actin

<400> 8

tttgatgtca cgcacgatTT cc 22