

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 2월 27일 (27.02.2020)



(10) 국제공개번호
WO 2020/040407 A1

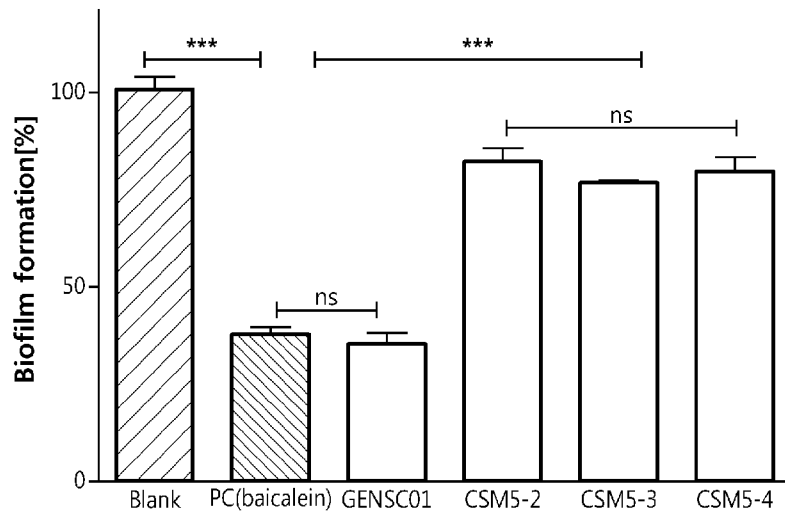
- (51) 국제특허분류:

<i>C12N 1/20</i> (2006.01) <i>A01N 63/02</i> (2006.01) <i>A61K 8/37</i> (2006.01) <i>A61K 8/99</i> (2006.01) <i>A61K 31/216</i> (2006.01)	<i>A61K 35/74</i> (2006.01) <i>A61P 17/00</i> (2006.01) <i>A61P 17/10</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01) <i>C12R 1/01</i> (2006.01)
---	--
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/006239
- (22) 국제출원일: 2019년 5월 24일 (24.05.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2018-0098879 2018년 8월 23일 (23.08.2018) KR
- (71) 출원인: 주식회사 지놈앤컴퍼니 (GENOME AND COMPANY) [KR/KR]; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, A동 801호, 806호, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 박한수 (PARK, Han-Soo); 06356 서울시 강남구 일원로 120, 101동 1302호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 필앤온지 (PHIL & ONZI INT'L PATENT & LAW FIRM); 06643 서울시 서초구 서초중앙로 36, 3층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

(54) Title: NOVEL CUTIBACTERIUM AVIDUM STRAIN, AND COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING ATOPIC DERMATITIS, COMPRISING STRAIN OR CULTURED PRODUCT THEREOF

(54) 발명의 명칭: 신규의 큐티박테리움 아비덤 균주, 및 이러한 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료용 조성물

[도3]



(57) Abstract: The present invention relates to a *Cutibacterium avidum* GENSC01 strain (KCTC 13596BP). The present invention also relates to a composition comprising the strain or a cultured product thereof, and a use thereof. The present invention is effective in alleviating, preventing or treating skin inflammation caused by atopic dermatitis, acne or fine dust.

(57) 요약서: 본 발명은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주(KCTC 13596BP)에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 아토피 피부염, 여드름 또는 미세먼지에 의한 피부 염증의 개선, 예방 또는 치료에 효과적이다.

WO 2020/040407 A1

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서와 별도로 규칙 13의2에 의하여 제출한 기탁된
생물학적 물질에 관한 표시와 함께 (규칙 13의2.4(d)(i)
및 48.2(a)(viii))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 신규의 큐티박테리움 아비덤 균주, 및 이러한 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 출원은 2018년 8월 23일에 출원된 한국출원 제10-2018-0098879호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다. 본 발명은 새롭게 분리, 동정 및 그 효능이 평가된 새로운 균주 및 이의 배양물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 신규 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 더욱 구체적으로 본 발명은 신규 균주 또는 이의 배양물을 포함하는, 피부 개선 효능 등 다양한 효능을 갖는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 피부에서의 염증반응(inflammatory response)은 물리적 자극이나 화학물질, 세균 등에 의해 피부손상이 유발될 때 이를 방어하기 위한 작용으로서 시작되며 다양한 면역세포와 염증 유도 사이토카인이 관여한다. IL-6(interleukin-6), IL-8(interleukin-8), IL-1 β (interleukin- β) 등이 대표적인 염증 유도 사이토카인이다.
- [3] 예를 들어, 염증성 사이토카인에 의한 자극에 반응한 말초혈 단구, 조직 매크로파지, NK 세포, 섬유아세포, 혈관 내피 세포 등 여러 가지 세포에서 IL-8 발현이 유도된다. 상승된(예를 들어 과잉인) IL-8 레벨에 관련된 염증성 질환으로서는, 염증성 각화증(예를 들어 마른 버짐), 아토피성 피부염, 접촉성 피부염 등의 염증성 피부 질환 등이 포함된다.
- [4] 아토피 피부염(AD, Atopic Dermatitis)은 가려움을 동반하는 염증성 피부질환으로, 만성적이며 보통은 유아기에 시작된다. AD는 끊임없는 가려움증을 주 증상으로 하며, 특정한 이유 없이 회복과 악화를 반복하는 특징을 가지고 있다. AD에 대한 최근 많은 연구에도 불구하고 아직까지도 AD의 원인에 대해서는 확실하게 알려져 있지 않다.
- [5] 아토피피부염에서 *S. aureus*의 증식이 처음 기술된 것은 1970년대 연구에서이다. 다수의 연구에서 30%에서 100%의 아토피피부염 환자 병변부에서 *S. aureus*의 증식이 발견되었다고 보고하고 있다.
- [6] *S. aureus*는 표피세포에 작용하여 피부장벽기능을 파괴하거나 T세포에 superantigen으로 작용하여 염증반응을 유도하는 것으로 알려져 있다.
- [7] 상기 *S. aureus*의 집락과 감염은 대표적으로 아토피 피부염의 악화 및 습진성 피부염을 유발하며 장기간 만성 염증으로 진행된다면 천식 및 식품 알러지를 초래한다는 연구가 보고된다 있다. 뿐만 아니라, 모낭염 (Folliculitis), 종기 (Furunculosis), 농가진 (Impetigo), 손발톱 주위염 (Paronychia),

- 심상성농창(ecthyma) 등의 피부질환을 앓고 있는 환자들을 대상으로 한 미생물 배양에 있어 *S. aureus*가 다량 검출되었다는 보고가 된바 있다. 아토피 질환 이외에도, 다양한 감염성 피부질환에 있어 *S. aureus*가 임상적으로 관련성이 있음이 알려져 있다 (1. Atopic dermatitis and the atopic march. J. Allergy Clin. Immunol.2003, 2. Antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus strains responsible for community-acquired skin infections. Ann Dermatol Venereol. 2008)
- [8] 따라서 아토피피부염 환자에서 *S. aureus*의 증식을 사전에 억제하는 것이 질환의 악화를 막거나 중증도를 낮추는 등 긍정적인 도움을 줄 것으로 예상된다.
- [9] 필라그린(filaggrin)의 결핍 및 필라그린 유전자의 변형은 아토피 피부염의 발병 및 진행과 밀접한 관련이 있는 것으로 업계에서 잘 알려져 있다. 필라그린(filaggrin)은 피부장벽을 이루는 각질세포에 포함된 보습성분으로, 케라틴, 인볼루크린(involucrin), 로시크린(locicrin) 등의 단백질과 함께 각질층(stratum corneum)의 형성에 중요한 역할을 하는 단백질이다. 필라그린의 발현 양의 감소는 피부장벽의 기능과 보습에 변화를 가져오게 되고 여러 가지 병변으로 이어지게 된다. 특히 정상적인 피부장벽의 형성은 외부의 자극에 대한 방어에 있어서 중요한 역할을 하게 되고, 이 기능이 상실되었을 경우 아토피의 진행에 핵심적인 역할을 하게 된다. 피부를 통한 항원의 흡수가 아토피성 피부염의 증가에 중요한 원인이 된다는 점에서 필라그린은 효과적인 아토피성 피부염 개선의 타겟이 된다.
- [10] 또한 최근 연구에서 아토피피부염 환자의 필라그린 단백질에 의한 영향뿐만 아니라 클라우딘 1 유전자(claudin 1, *CDN1*)의 발현 이상이 아토피 피부염과 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다. 상기 필라그린 및 클라우딘 1 유전자의 발현 정상으로 피부장벽 기능을 강화시키고, 피부의 수분 보유력과 피부 보습 효과를 향상시킬 수 있다.
- [11] 한편, 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*)은 피부 상재 유래균의 하나로 알려져 있으며, 지금까지는 수많은 감염 유발의 원인균(병원균)인 것으로 알려져 왔다.

[12]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [13] 이에 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해, 종래 병원균으로만 알려져 있었던 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주를 제공하고자 한다.
- [14] 본 발명은 종래 병원균으로만 알려져 있었던 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주 또는 이의 배양물을 이용한 피부 증상 개선용 조성물을 제공하고자 한다.
- [15] 본 발명은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물, 이를 포함하는 조성물을 제공하고자 하며, 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물의 신규 용도를 제공하고자 한다.

- [16] 본 발명은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물의 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화 용도를 제공하고자 한다. 본 발명은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공하고자 한다. 구체적으로, 미세먼지에 의한 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공하고자 한다.
- [17] 본 발명은 또한 로즈마린산과 함께 사용하여 상기 균주의 특유취를 제거하여 화장품 조성물로 이용하고자 한다.
- [18] 본 발명은 로즈마린산과 함께 사용하여 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 더 향상된 항균 활성을 제공하고자 하며, 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 의해 생성된 바이오필름의 제거 활성을 제공하고자 한다.
- [19] 본 발명은 로즈마린산과 함께 사용할 때 세포 생존력이 우수한 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주를 제공하고자 한다.
- [20] 본 발명은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 피부 보습용 화장품 조성물을 제공하고자 한다.

[21]

과제 해결 수단

- [22] 본 발명의 일 태양은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (기탁번호 KCTC 13596BP)를 제공한다.
- [23] 본 발명의 일 태양은 상기 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (기탁번호 KCTC 13596BP)의 배양물을 제공한다.
- [24] 지금까지 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*)은 감염증을 일으키는 병원체(pathogen)로 알려져 있었다. 그러나 특이하게도 본 발명의 GENSC01 균주 또는 이의 배양물은 피부상태 개선 효과를 가진다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.
- [25] 상기 균주는 미생물에 의해 생성되는 바이오필름의 제거 또는 생성 억제 효과를 가질 수 있고, 항균활성을 가질 수 있다.
- [26] 상기 균주는 피부의 수분 보유력 향상에 도움을 줄 수 있고, 피부 보습력 향상에 도움을 줄 수 있다.
- [27] 본 발명의 일 태양에 따르면 본 발명의 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주는 피부에 상재하는 미생물로서 16S rDNA 서열분석 및 API 테스트를 거쳐 큐티박테리움 아비덤에 속하는 신규한 균주임을 확인하게 되었다. 상기 균주는 2018년 7월 24일자로 한국생명공학원 미생물자원센터(KCTC)에 기탁하여 수탁번호 KCTC 13596BP를 부여받았다.
- [28] 일 태양에 따르면 본 발명의 일 태양의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주

또는 이의 배양물은 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 나타낼 수 있다. 또 다른 태양에서 상기 *S. aureus*가 생산하는 바이오필름의 제거 또는 형성 억제 활성을 가질 수 있다.

- [29] 상기 *S. aureus*의 집락과 감염은 아토피 피부염, 농가진, 아토피피부염 악화, 습진의 2차 감염, 다양한 피부 염증을 유발할 수 있다. 상기 *S. aureus*의 집락과 감염이 아토피 피부염, 모낭염, 농가진, 봉와직염, 탈모성 모포염, 심상성농창, 유선염 등을 유발시키거나 악화시킬 수 있는데, 본 발명의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물은 상기 *S. aureus*의 성장을 억제하고, *S. aureus*가 생산한 바이오필름의 형성을 억제할 수 있다.
- [30] 일 태양에서 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물은 미생물의 성장 억제 효과뿐만 아니라 미생물에 의해 생성된 바이오필름의 제거 또는 형성 억제 효과를 나타낼 수 있다.
- [31] 일 태양에서 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물은 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환 억제, 개선 또는 치료 활성을 가질 수 있다. 구체적으로, 미세먼지에 의한 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공하고자 한다.
- [32] 일 태양에서, 본 발명은 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [33] 일 태양에서, 본 발명은 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환 치료, 예방, 또는 개선용 조성물을 제공한다. 구체적으로, 미세먼지에 의한 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공하고자 한다.
- [34] 본 발명의 용어 "배양물"은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주가 성장 및 생존할 수 있도록 영양분을 공급할 수 있는 배지에 상기 균주를 일정기간 배양하여 얻는 상기 균주, 균추출물, 이의 대사물, 여분의 영양분 등을 포함하는 전체 배지를 의미하나, 균주 배양 후 균주를 제거한 배양액도 포함한다.
- [35] 상기 배양액은 일정시간 가만히 두어 하층에 가라앉은 부분을 제외한 상층의 액체만을 취하거나, 여과를 통해 균체를 제거하거나, 배양액을 원심분리하여 하부의 침전을 제거하고 상부의 액체만을 의미할 수도 있다.
- [36] 상기 배양액은 통상의 방법으로 농축하여 농축액으로 이용할 수도 있다.
- [37] 상기 배양액 또는 배양액의 농축물은 통상의 방법으로 건조하여 건조물로 제공될 수 있다.
- [38] 본 명세서에서 언급하는 "배양물"은 특별한 언급이 없는 한, 균체의 배양액, 배양액의 농축물, 상기 배양액 또는 농축물의 건조물을 포함할 수 있다. 상기 배양물에는 경우에 따라 균체가 포함될 수도 있고, 포함되지 않을 수도 있으며, 특별히 균체의 포함여부는 문제되지 않는다.
- [39] 상기 "균체"는 본 발명의 균주 자체를 의미하는 것으로 분리하여 선별한 균주

자체 또는 상기 균주를 배양하여 배양액으로부터 분리한 균주를 포함한다. 상기 균체는 배양액을 원심 분리하여 하층에 가라앉은 부분을 취하여 획득할 수 있고, 또는 중력에 의해 배양액의 하층으로 가라앉으므로 일정 시간 동안 가만히 두었다가 상부의 액체를 제거함으로써 획득할 수 있다.

- [40] 일 태양에 따르면 본 발명의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 배양물은 미생물 배양에 사용되는 배지 중에서 통상의 기술자가 목적에 따라 용이하게 선택한 배지를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 큐티박테리움 배양에 사용되는 배지, 보다 바람직하게는 RCM(Reinforced Clostridium Medium) 배지, TSB (Tryptic soy broth) 또는 BHI (Brain Heart Infusion) 배지를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [41] 본 발명의 일 구체예에 따르면 본 발명의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 배양물은 상기 미생물 배양 배지에 본 발명의 균주를 접종하고, 당업계에 공지된 미생물 배양 방법(예를 들어, 정치배양 등)에 따라 제조할 수 있다.
- [42] 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 배양물은 배양액 또는 배양액의 농축물이나, 이들의 건조물을 포함할 수 있으며, 상기 농축물 또는 건조물은 당업계에 공지된 미생물 또는 배양액의 농축 또는 건조 방법에 따라 용이하게 제조될 수 있다.
- [43] 본 발명의 일 태양에서 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주, 또는 이의 배양물을 포함하는 조성물, 바람직하게 화장료 조성물, 식품 조성물 또는 약학 조성물을 제공한다.
- [44] 상기 화장료 조성물 또는 약학 조성물은 피부 외용제로 사용될 수 있으며, 질환이 있는 부위에 직접 도포될 수 있다. 예를 들어, 연고, 크림, 에멀전 등 다양한 제형으로 제조될 수 있다.
- [45] 다른 태양에서 상기 약학 조성물은 경구 또는 비경구 투여되어 체내로 흡수될 수 있으며, 예를 들어 산제, 과립제, 캡슐제, 주사제 등의 비제한적인 형태로 투여될 수 있다.
- [46] 상기 화장료 조성물 또는 약학 조성물의 형태는 특별히 제한되지 않는다.
- [47] 상기 화장료 조성물은 아토피 피부염, 또는 염증성 피부 질환을 억제하거나, 개선할 수 있다.
- [48] 상기 화장료 조성물은 아토피 피부염, 또는 염증성 피부 질환을 억제하거나, 개선할 수 있다. 상기 염증성 피부 질환의 예로는 염증성 각화증(예를 들어 마른 버짐), 포도구균성 열상 피부증후군, 접촉성 피부염, 세균성 피부염, 농가진, 아토피 피부염 악화, 습진의 2차감염, 탈모성 모포염, 심상성농창(ecthyma), 유선염, 모낭염 등을 들 수 있다.
- [49] 상기 화장료 조성물은 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 갖거나, 상기 스타필로코커스 아우레우스 또는 큐티박테리움 아크네가 생산하는 바이오필름의 제거 또는 형성 억제 활성을 가질 수 있다.

- [50] 본 발명의 일 태양은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP) 또는 이의 배양물을 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [51] 상기 항균용 조성물은 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 가질 수 있다.
- [52] 본 발명의 일 태양은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP) 또는 이의 배양물을 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과 함께 사용할 수 있다.
- [53] 본 발명의 일 태양은 로즈마린산을 함께 사용하여 GENSC01 균주 또는 이의 배양물이 갖는 특유의 취를 감소시킬 수 있다.
- [54] 본 발명의 일 태양은 로즈마린산을 함께 사용하여 *S. aureus*의 성장을 더욱 효과적으로 억제할 수 있다.
- [55] 놀랍게도 로즈마린산은 특히 본 발명의 GENSC01 균주와 함께 사용할 때 독성이 없었고, 항균활성이 탁월하였다.
- [56] 본 발명의 일 태양은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP) 또는 이의 배양물과 로즈마린산을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [57] 상기 조성물은 본 발명의 목적상 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주, 또는 이의 배양물과 로즈마린산을 1:0.000001 내지 1:0.01의 중량비로 포함할 수 있다.
- [58] 상기 화장료 조성물은 상기 균주가 갖는 특유의 취가 제거되어 다양한 화장품에 이용될 수 있다.
- [59] 본 발명의 일 태양은 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP) 또는 이의 배양물을 포함하는 피부 보습용 화장료 조성물을 제공한다. 상기 화장료 조성물은 로즈마린산을 더 포함할 수 있다.

[60]

발명의 효과

- [61] 본 발명은 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주 및 이의 배양물이 아토피 피부염 증상의 개선, 억제 또는 치료에 효과적임을 확인하였다. 아울러 상기 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주 및 이의 배양물이 여드름 개선에 효과적임을 확인하였다. 본 발명은 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주 및 이의 배양물을 포함하는 미세먼지에 의한 염증성 피부 질환 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공한다.
- [62] 본 발명은 큐티박테리움 아비덤의 신규 균주를 확인하고, 상기 균주 또는 이의 배양물을 이용한 피부 증상 개선 효과를 밝혔다. 이에 따라, 본 발명은 피부 개선 기능을 갖는, 큐티박테리움 아비덤 신규 균주를 제공할 수 있다. 또 본 발명은 큐티박테리움 아비덤 신규 균주 또는 이의 배양물을 포함하는 아토피 피부염 및 염증성 피부 질환의 개선, 치료 또는 완화용 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은

로즈마린산과 함께 사용하여 본 발명의 용도에 대해 시너지 효과를 기대할 수 있을 뿐만 아니라, 상기 균주가 갖는 특유의 취를 제거할 수 있다.

[63]

도면의 간단한 설명

[64]

도 1은 본 발명의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주(기탁번호: KCTC 13596BP)의 16s rRNA 염기서열을 나타낸다.

[65]

도 2는 본 발명의 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주를 혈액한천배지(sheep blood agar)에 도말하여 배양한 결과를 보여준다. 균체 주위에 투명한이 발견되지 않았으며, 이를 통해 용혈성이 없어 인체에 무해하다는 것을 알 수 있다.

[66]

도 3은 큐티박테리움 아비덤의 서로 다른 균주(strain)들간 바이오필름 형성 억제 효과를 비교한 결과이다.

[67]

도 4는 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주에 의한 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621에 대한 생장억제 결과를 보여준다.

[68]

도 5는 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주에 의한 *Cutibacterium acnes* ATCC 6919에 대한 생장억제 결과를 보여준다.

[69]

도 6은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물의 세포독성테스트 결과를 보여준다.

[70]

도 7은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물의 필라그린 발현 촉진 효능을 보여준다.

[71]

도 8은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물의 클라우딘 1발현 촉진 효능을 보여준다.

[72]

도 9는 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물에 의한 TSLP 발현 감소를 보여주는 결과이다.

[73]

도 10은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물과 로즈마린산을 함께 처리하였을 때, 각각을 단독 처리하는 경우보다 바이오필름 형성 억제 효과가 탁월하였음을 보여주는 결과이다.

[74]

도 11은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물과 로즈마린산을 각각 또는 함께 처리하였을 때 IL-8 발현을 확인결과이다.

[75]

도 12는 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물과 로즈마린산을 각각 또는 함께 처리하였을 때 IL-6 발현을 확인결과이다.

[76]

도 13은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주의 발효 여과물이 미세먼지에 의한 염증 감소에 효과적임을 확인한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[77]

이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 하기 실시예 등을 들어 설명한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 본 발명의 구체적 이해를 돕기

위해 예시적으로 제공되는 것이다.

[78]

[79] [실시예 1] *Cutibacteria avidum* GENSC01의 분리 및 동정

[80] 1-1. 균주의 분리

[81] 아토피, 건선, 여드름 등의 피부질환을 앓은 적이 없거나 최근 6개월 이내에 이와 관련된 치료를 받은 이력이 없는 성인을 대상으로 하여 피부유래 균 분리를 실시하였다. 피부샘플을 채취하기 위하여 멸균생리수를 적신 멸균된 면봉으로 세안을 하지 않은 양볼과 콧망울을 힘을 가하여 문질렀다. 면봉을 즉시 Reinforced Clostridial Medium (RCM)이 들어 있는 시험관속에 넣어 밀봉하였고, 시험관은 질소로 충전하여 37°C에서 48~72시간 배양하였다. 배양된 면봉이 들어가 있는 시험관의 배지를 백금으로 따서 RCM agar plate에 획선 도말하였고, 이 작업을 3~4회 반복하여 순수한 콜로니를 분리하였다.

[82]

[83] 1-2. 균주의 동정

[84] 1) API 키트를 이용한 생화학적 동정

[85] 분리된 균주를 동정하는 생화학적으로 동정하는 방법으로 혐기성균 API 20A kit (biomerieux Co., France)를 이용하였다. 10ml의 RCM 액체배지에 37°C에서 24시간 배양한 후, 원심분리한 후 배지를 제거하였다. PBS로 2~3번 세척한 후, 제조사에서 제공한 프로토콜에 따라 kit에 들은 배지로 OD₆₀₀=3 재현탁한 후 API 20A kit의 각 웰에 적정량 분주하고, 37°C에서 24시간 혐기적으로 배양한 후 판독하였다.

[86] 최종 결과는 동정용 프로그램인 API web에서 동정하였고 그 결과를 하기의 표 1에 나타내었다. API 20A의 동정결과 *Propionibacterium* (=Cutibacterium) *propionicum/avidum*으로 동정되었고, API ID32의 결과 *Propionibacterium avidum* 과 동일한 생화학적 특징을 보였다.

[87]

[표1]
API 20A 판독 결과

No	Carbohydrates	Utilized
0	L-tryptophane	-
1	urea	-
2	D-glucose	+
3	D-mannitol	-
4	D-lactose (bovine origin)	-
5	D-saccharose (sucrose)	+
6	D-maltose	+
7	salicin	-
8	D-xylose	-
9	L-arabinose	-
10	gelatin (bovine origin)	+
11	esculin ferric citrate	-
12	glycerol	+
13	D-cellobiose	-
14	D-mannose	+
15	D-melezitose	+
16	D-raffinose	-
17	D-sorbitol	-
18	L-rhamnose	-
19	D-trehalose	+

[88] 2) 16s rRNA 유전자 염기서열을 통한 동정분리된 균주의 순수 배양액 1ml를 채취하여 마크로젠에 의뢰하여 16s rRNA 유전자 염기서열을 결정하였다. PCR를 위한 primer는 16s rRNA gene의 universal primer인 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')과 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')를 사용하였으며, sequencing에는 785F (5'-GGATTAGATACCCTGGTA-3')과 907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')을 이용하였다. 분리된 균주의 16s rRNA 염기서열은 도 1 및 서열번호 1에 나타내었고, 이 균주는 큐티박테리움 아비덤과 99% 상동성을 보였다. 이상의 결과를 토대로 상기 균주를 "큐티박테리움 아비덤 GENSC01 (*Cutibacterium*

avidum GENSC01) 균주로 명명하고, 2018년 7월 24일자로 대한민국 특허균주 기탁기관인 한국생명공학원 미생물자원센터 (KCTC)에 기탁하여 수탁번호 KCTC 13596BP를 부여받았다.

[89]

[90] **[실시예 2] *Cutibacteria avidum* GENSC01의 용혈성 테스트**

[91] 상당 수의 *Cutibacterium avidum* 균주는 용혈성 독성을 보유하고 균주에 따라 인체에 유해하다. *Cutibacterium avidum* GENSC01의 안전성을 확인 하기 위해 용혈 독성의 유무를 확인하였다. 액체배지에서 순수배양된 *Cutibacterium avidum* GENSC01을 백금이로 채취하여 혈액한천배지(sheep blood agar)에 획선 도말하고 37°C에서 48시간 동안 혐기적으로 배양하였다. 균체 주위에 투명 환의 생성여부로 용혈성을 판단하였고, *Cutibacterium avidum* GENSC01의 경우 도 2에서 확인되는 바와 같이 양 혈액에 대해 용혈성이 없어 인체에 무해한 것으로 판단되었다.

[92]

[93] **[실시예 3] 본 발명의 균주의 발효 여과물제조**

[94] *Cutibacterium avidum* GENSC01 균주를 RCM agar plate에서 72시간 37°C에서 혐기적으로 배양하였다. 고체 배지에 나타난 단일 콜로니는 10 ml의 RCM 액체 배지에 계대 배양하여 같은 조건에서 배양하였다. 72시간 후, 같은 액체 배지에 0.1% 접종하여 72시간 같은 조건에서 배양하였고, 상청액을 원심분리하여 0.22µm 포어 사이즈 필터로 여과하였다.

[95]

[96] **[실시예 4] 바이오필름 형성 억제 효과 측정(유익균의 선별)**

[97] 스테필로코쿠스 아우레우스 균주 (*Staphylococcus aureus* KCTC 1621)를 적정배지(TSB + 0.2% glucose)에서 16내지 24시간 액체 배양하였다. 6- well plate (polystyrene)에 0.2% Glucose가 함유된 TSB를 넣은 후, 각 웰에 약 5~10% volume으로 시험균을 넣었다. 그 후 상기 배양균액을 각 웰에 접종하여 최종 균주농도가 2×10^6 CFU/well이 되도록 하였다. 이 후, 37 °C 인큐베이터에서 24시간동안 정지배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 각 well을 1~ 2 ml의 멸균 PBS를 이용하여 2회 세척을 진행하였다. 세척 후 2 ml의 PBS를 첨가하여 scraper로 바이오필름을 긁어낸 후 잘 현탁한 뒤 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정은 BioPhotometer D30를 이용하여 수행하였다. 처리하지 않은 웰을 음성대조군으로, 바이칼레인(25 µm/ml)이 접종된 웰을 양성대조군으로 하여 바이오필름 형성 억제능을 계산하였다.

[98]

도 3은 strain간 바이오필름 형성 억제 효과 결과를 비교하여 나타내었다. 상기도 3에서 확인할 수 있듯이, GENSC01 균주는 다른 균주들에 비해서 뛰어난 바이오필름 형성 억제 능력을 가진다는 것을 알 수 있다.

[99]

즉, 동종의 미생물과 비교했을 때, 본 발명의 GENSC01는 다른 균주들보다 바이오필름 형성 억제 효과가 탁월하였다. 따라서, 본 발명의 균주 또는 이의

배양물은 다른 균주를 이용하였을 때보다 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환들의 치료, 개선, 또는 예방에 탁월한 효과를 나타낼 수 있다.

[100]

[101] [실시예 5] *Staphylococcus aureus* KCTC 1621 및 *Cutibacterium acnes* ATCC 6919에 대한 생장억제 (Overlay clear zone test)

[102]

S. aureus 와 *C. acnes*의 생장억제에 대한 효과는 clear zone의 형성을 관찰함으로써 확인하였다. Agar 배지에 이들 균을 접종하면, 담색으로 균이 자라게 되어 배지의 색이 뿌옇게 되고, 자라지 못하면 투명하게 보인다. *Cutibacterium avidum* GENSC01이 이들 균의 성장을 억제하는 효과를 가진다면, *Cutibacterium avidum* GENSC01 주변의 *S. aureus* 및 *C. acnes*가 자라지 못해 투명하게 될 것으로 예상하여 실험을 진행하였다. 얇게 만들어진 RCM agar plate에 *Cutibacterium avidum* GENSC01 배양액을 백금으로 채취하여 2.5 cm정도가 되게 선을 그려 37°C에서 72시간 혐기적으로 배양하였다. *Cutibacterium avidum* GENSC01가 충분히 자란 것을 확인한 뒤, 10⁴ cfu/ml로 조정된 *S. aureus* 및 *C. acnes* 균주를 45°C 정도의 아직 굳지 않은 10 ml의 RCM agar에 접종하여, 배지가 굳기 전에 잘 현탁하여 *Cutibacterium avidum* GENSC01가 자라있는 agar plate위에 평평하게 부어 굳혔다. 굳은 agar plate는 37°C에서 혐기적으로 *S. aureus*는 40시간 정도, *C. acnes*는 72시간 정도 더 배양하여 *Cutibacterium avidum* GENSC01가 자란 주변에 생기는 clear zone의 크기를 관찰하였다. 음성대조군으로는 인산완충식염수 (Phosphate-buffered saline; PBS)를 사용하였고, 양성대조군으로는 트라이클로산 (Triclosan) 을 사용하였고, *S. aureus*는 10mg/ml, *C. acnes*는 200mg/ml를 각각 처리하였다. 그 결과, 도 4와 같이 *Cutibacterium avidum* GENSC01이 자란 주변으로 투명하게 보이는 영역이 관찰되었고, *Cutibacterium avidum* GENSC01과 멀어지면서 투명도가 저하되어, *Cutibacterium avidum* GENSC01는 *S. aureus* 성장을 억제하는 능력이 있는 것으로 확인하였다. 음성대조군인 PBS를 처리하였을 때는 clear zone이 관찰되지 않았고, 양성대조군으로 살균제인 트라이클로산을 처리하였을 때는 clear zone이 관찰되기는 하였지만 GENSC01 처리에 비해 훨씬 더 적은 면적인 것을 알 수 있다. 결과는 도 4에 나타냈다.

[103]

또한, 도 5에서 보여지는 것과 같이 *C. acnes*를 접종한 결과에서도 *Cutibacterium avidum* GENSC01이 자란 주변으로 투명하게 보이는 영역이 관찰되었고, *Cutibacterium avidum* GENSC01과 멀어지면서 투명도가 저하되어, *Cutibacterium avidum* GENSC01는 *C. acnes* 성장을 억제하는 능력이 있는 것으로 확인하였다. 이 또한 음성대조군인 PBS를 처리하였을 때는 clear zone이 관찰되지 않았고, 양성대조군으로 살균제인 트라이클로산을 처리하였을 때는 clear zone이 관찰되기는 하였지만 GENSC01 처리에 비해 훨씬 더 적은 면적인 것을 알 수 있다.

[104]

이러한 결과를 통해 본 발명의 *Cutibacterium avidum* GENSC01는 여드름

유발균인 *C. acnes* 를 억제하여 여드름 개선, 예방 또는 치료 효과를 제공할 수 있음을 확인하였다.

[105]

[106] **[실시예 6] 세포독성 확인**

[107] 상기 실시예 3에서 제조한 발효 여과물의 세포 독성을 평가하기 위하여, 하기의 실험을 진행하였다. 96-웰 세포 배양 플레이트에 HaCaT 세포를 각각 5×10^3 cells/well으로 24시간 동안 부착한 다음, 시험군 시료를 농도 별로 첨가하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 48시간 배양하였다. 48시간 후에 배양된 세포배지를 제거하고 0.5 mg/ml 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) formazan용액을 세포에 처리하여 4시간 동안 반응시켰으며, 시간이 경과된 후에 세포 배지를 모두 제거하고 formazan 용액을 DMSO로 녹인 후 SpectraMax M2로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 이후, $O.D_{sample} / O.D_{control} \times 100$ 의 공식으로 환산하여 HaCaT 세포주의 survival rate를 계산하였다.

[108] 도 6에서 확인할 수 있듯이 GENSC01 처리시에도 HaCaT 세포주의 생존율에 유의미하게 영향을 끼치지 않았다. 따라서, GENSC01 는 세포독성이 없다는 것을 확인할 수 있었다.

[109] 한편, 로즈마린산을 추가한 시험군의 경우, 특이하게도 세포 생존율을 증가시킬 수 있음을 확인하였다. 즉, 로즈마린산의 첨가는 세포독성 감소 효과까지 기대할 수 있음을 확인하였다.

[110]

[111] **[실시예 7] 피부 장벽기능 강화 효능 확인**

[112] *S. aureus*의 바이오필름을 억제하는 효능 이외에도, GENSC01 발효 여과물에 의해 HaCaT세포주에 대한 피부장벽 강화에도 기능을 가지는 지 알아보고자 HaCaT 세포주에 GENSC01의 발효 여과물을 세포배양액에 대한 % 별로 처리한 다음 24시간동안 반응시켜 피부장벽 기능의 마커인 필라그린 (Filaggrin)과 클라우딘 (Claudin-1)의 발현을 RNA 상에서 확인하였다.

[113]

[114] **7-1. 필라그린(Filaggrin)의 발현 촉진 효능 확인**

[115] 도 7에 나타낸 바와 같이 양성대조군인 레티노산(RA', 1 μM)과 대비하여 발효 여과물의 필라그린 발현정도가 증가함을 확인하였다. 도 7은 발효 여과물의 필라그린 발현 촉진 효능을 보여준다. 각각 GENSC01 0.01%, 0.1%, 1%으로 처리하였다.

[116] 도 7에서 확인할 수 있듯이, GENSC01는 필라그린 발현 효과가 우수한 것으로 알려진 레티노산(양성 대조군)에 비해 필라그린 발현 효과가 우수하다는 것을 알 수 있다. 이를 통해 GENSC01는 필라그린 발현을 증가시켜 아토피 피부염 개선 효과, 여드름 개선 효과, 피부 장벽 강화 효과, 및 피부 수분 함량 유지 또는 증가 효과를 제공할 수 있다.

[117]

[118] 7-2. 클라우딘 (Claudin-1)의 발현 촉진 효능 확인

[119] 도 8에 나타낸 바와 같이 양성대조군인 레티노산(RA', 1 μM)과 대비하여 발효 여과물의 클라우딘 발현정도가 농도 비례하게 증가함을 확인하였다. 도 8은 발효 여과물의 클라우딘 발현 촉진 효능을 보여준다.

[120] 도 8에서 확인할 수 있듯이, GENSC01는 클라우딘 발현 효과가 우수한 것으로 알려진 레티노산(양성 대조군)에 비해 클라우딘 발현 효과가 우수하다는 것을 알 수 있다. 이를 통해 GENSC01는 클라우딘 발현을 증가시켜 아토피 피부염 개선 효과, 여드름 개선 효과, 피부 장벽 강화 효과, 및 피부 수분 함량 유지 또는 증가 효과를 제공할 수 있다.

[121]

[122] [실시예 8] 가려움증 완화 효능 확인

[123] HaCaT 세포주에 GENSC01의 발효 여과물을 세포배양액에 대한 % 별로 처리한 다음 4시간동안 반응시켜 아토피 피부염의 원인 중 하나로 작용하는 싸이토카인인 TSLP의 발현을 RNA 상에서 확인하였다. 도 9에 나타낸 바와 같이 발효 여과물의 TSLP 발현정도가 감소함을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 GENSC01 배양물은 TSLP 발현을 억제하고, 피부 가려움을 해소하여 아토피 피부염 개선에 효과가 있음을 확인하였다.

[124]

[125] [실시예 9] 로즈마린산의 소취 효과

[126] 9-1. 제제의 제조

[127] 먼저, 상기 발효 여과물과 로즈마린산을 사용하여 표 2에 나타내는 제제(비교 1, 샘플 1~3)를 제조하고, 소취기능을 조사하였다. 관능시험은 패널 57인이 실시하며, 시험결과는 발효 여과물(5%)을 기준으로 실시한 뒤 평균치로 나타내었다.

[128] [표2]

	비교 1	샘플 1	샘플 2	샘플 3
GENS01 발효 여과물	5 중량부			
로즈마린산(Sigma-aldrich, 미국)	0	0.0001 중량부	0.001 중량부	0.01 중량부
물	to 100 중량부			

[129] 9-2.평가 결과

[130] [평가기준]

[131] 1: 냄새가 없어짐.

[132] 2: 냄새가 조금 남아있음.

[133] 3: 냄새가 남아있음.

[134] 4: 냄새가 대부분 남아있음

[135] 5: 변화가 없음.

[136] [표3]

	관능시험결과
비교 1	5
샘플 1	3.1
샘플 2	2.8
샘플 3	2.8

[137] 상기 표 3에 나타낸 바와 같이, GENS01 발효 여과물 단독 처리에 비해, 로즈마린산을 함께 처리한 경우 불쾌취 제거에 효과적이었다.

[138] [실시예 10] 바이오필름 형성 억제 효과 측정 (로즈마린산 함유)

[139] 실험의 방법은 실시예 4의 방법과 동일하나, 로즈마린산의 바이오필름 형성 억제능과 상기 발효 여과물의 바이오필름 형성 억제 기능의 positive combination effect를 측정하고자 하였다.

[140]

[141] 로즈마린산 수용액과 발효 여과물을 각각 처리하였을 때 아무것도 처리하지 않는 군에 대비하여 약 35%의 스타필로코쿠스 아우레우스 균주의 바이오필름 형성을 저해하는 효과를 보였다. Positive control로 설정한 Baicalein 처리군이 약 30%의 저해능을 보여, 로즈마린산 수용액 및 발효 여과물 의 효과는 비슷하거나 positive control보다 저해능이 좋다는 결과를 나타냈다. 또한, Blank 군 대비 발효 여과물과 로즈마린산 수용액을 혼합한 실험군(A= 0.01,B= 0.1,C= 0.5mg/ml의 로즈마린산 함유)에서는 각각 50%, 57%, 62%의 바이오필름 형성 억제 효과를 보였다.

[142] 도 10에 나타낸 바와 같이 로즈마린산 수용액과 발효 여과물을 각각 단독으로 처리했을 때 보다 훨씬 효과적으로 스타필로코쿠스 아우레우스 균주의 바이오필름 형성능력을 저해함을 확인하였다.

[143]

[144] [실시예 11] 항염증 효능 평가

[145] 먼저, 각각 6-웰 플레이트에 2×10^5 개의 HaCaT 인간 각질세포주를 37 °C, 5% CO₂ 배양기에 24시간 배양하여 부착시킨 세포에 GENSC01 발효 여과물을 1시간 선 처리하였다. 이후 열처리된 *C. acnes* 를 100MOI 처리하여 4시간동안 반응시켰다. 이후 각 샘플들에 대하여 RNA를 추출한 후, 염증반응 사이토카인 인자인 IL-6, IL-8에 대하여 RNA 발현을 real-time PCR로 확인하였다.

[146]

[147] **1. IL-8 발현을 확인**

[148] 그 결과, 도 11에 나타낸 바와 같이 *C. acnes*에 induction된 대조군에 비해 상기 배양 여과물 및 로즈마린산 수용액을 단독으로 처리한 군에서 염증반응이

감소가 되었음을 증명하였다. 또한, 상기 배양 여과물과 로즈마린산 수용액의 혼합 조성물에서는 단독으로 처리시보다 더 염증반응이 일어나지 않았음을 보여줬다.

[149]

[150] **2. IL-6 발현을 확인**

[151] 그 결과를 도 12에 나타냈다. IL-6의 발현은 GENSC01 배양 여과물, 로즈마린산 수용액 그리고 상기 배양 여과물과 로즈마린산 수용액의 혼합 조성물이 유사한 수준으로 발현이 감소함을 확인하였다.

[152]

[153] **[실시예 12] 미세먼지에 대한 항염증 효능 평가**

[154] 먼저, 각각 6-웰 플레이트에 6.5×10^5 개의 HaCaT 인간 각질세포주를 37 °C, 5% CO₂ 배양기에 24시간 배양하여 부착시킨 세포에 fine dust(Aldrich) 50 ug/ml를 2시간 처리하여 염증을 유도시킨 후 3회 wash out하였다. 이후 GENSC01 발효 여과물을 1시간 및 2시간 처리한 뒤 각 샘플들에 대해서 RNA를 추출한 후, 염증반응 사이토카인 인자인 IL-6에 대하여 RNA 발현을 real-time PCR로 확인하였다. 그 결과를 도 13에 나타냈다. IL-6의 발현은 GENSC01 배양 여과물에 의해서 유의적으로 감소하며 2시간으로 처리할 경우 더 감소함을 확인하였다.

[155]

산업상 이용가능성

[156] 본 발명은 화장료 조성물로 이용될 수 있는 새로운 큐티박테리움 아비덤 균주 또는 이의 배양물을 제공한다.

[157] 본 발명의 균주 또는 배양물은 화장료 조성물로 이용될 수 있다.

[158]

[159] [수탁번호]

[160] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[161] 수탁번호 : KCTC13596BP

[162] 수탁일자 : 20180724

[163]

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF THE DEPOSIT
OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSE OF PATENT PROCEDURE


INTERNATIONAL FORM

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

issued pursuant to Rule 7.1

TO: **Genome and Company Inc.**

Genome and Company Inc.
253, Pangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 13486
Republic of Korea

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: <i>Cutibacterium avidum</i> GENSC01	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: KCTC 13596BP
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by: <input type="checkbox"/> a scientific description <input type="checkbox"/> a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable)	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on July 24, 2018 .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: Korean Collection for Type Cultures Address: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) 181, Ipsin-gil, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212 Republic of Korea	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s):  KIM, Cha Young, Director Date: July 24, 2018

청구범위

- [청구항 1] 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP).
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 또는 이의 배양물은 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 갖거나, 스타필로코커스 아우레우스 또는 큐티박테리움 아크네가 생산하는 바이오필름의 제거 또는 형성 억제 활성을 갖는 균주.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주는 아토피 피부염, 또는 염증성 피부 질환 억제, 개선 또는 치료 활성을 갖는 균주.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 염증성 피부 질환은 미세먼지에 의한 피부 염증을 포함하는 균주.
- [청구항 5] 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 (KCTC 13596BP), 또는 이의 배양물을 포함하는 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환의 억제, 또는 개선용 화장품 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 염증성 피부 질환은 미세먼지에 의한 피부 염증을 포함하는 화장품 조성물.
- [청구항 7] 제5항에 있어서, 조성물은 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 갖거나, 스타필로코커스 아우레우스 또는 큐티박테리움 아크네가 생산하는 바이오필름의 제거 또는 형성 억제 활성을 갖는, 화장품 조성물.
- [청구항 8] 제5항에 있어서, 상기 조성물은 로즈마린산을 더 포함하는 화장품 조성물.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 조성물은 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주, 또는 이의 배양물과 로즈마린산을 1 : 0000001 내지 1 : 001의 중량비로 포함하는, 화장품 조성물.
- [청구항 10] 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP), 또는 이의 배양물을 포함하는, 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 또는 큐티박테리움 아크네(*Cutibacterium acnes*)에 대하여 항균 활성을 갖는 항균용 조성물.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 항균용 조성물은 로즈마린산을 더 포함하는, 조성물.
- [청구항 12] 큐티박테리움 아비덤(*Cutibacterium avidum*) GENSC01 균주 (KCTC 13596BP), 또는 이의 배양물을 포함하는 피부 보습용 화장품 조성물.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 피부 보습용 화장품 조성물은 로즈마린산을 더 포함하는, 조성물.
- [청구항 14] 큐티박테리움 아비덤 GENSC01 균주 (KCTC 13596BP), 또는 이의

배양물을 포함하는 아토피 피부염, 여드름, 또는 염증성 피부 질환의 억제, 개선, 또는 치료용 약학 조성물.

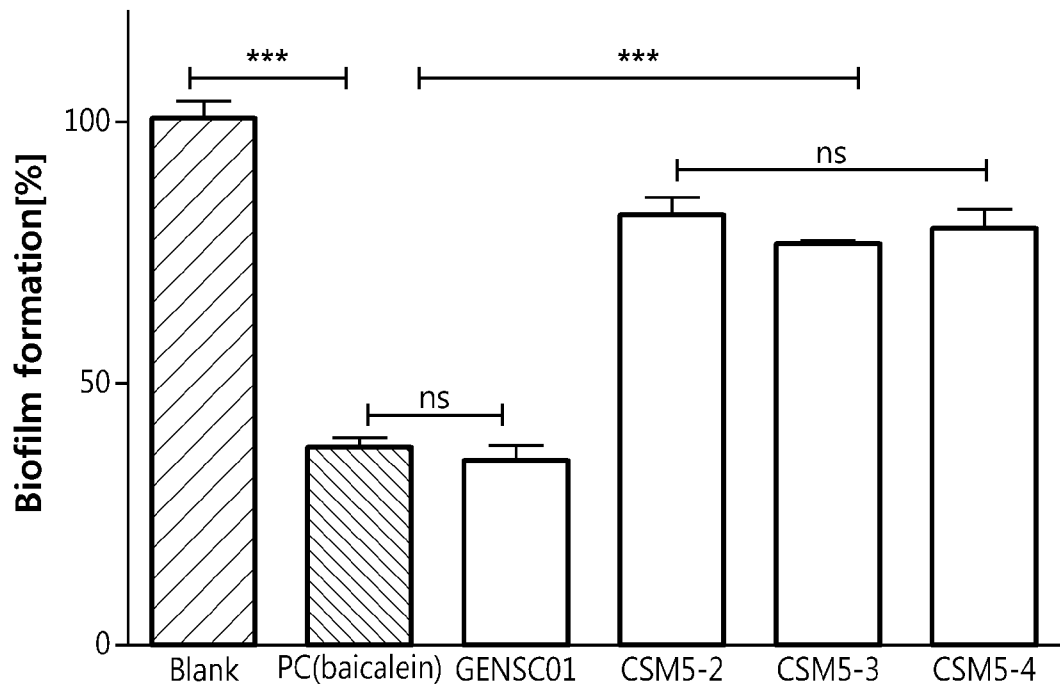
[도 1]

gacgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac ggaaaggccc ctttgggggt	60
actcgagtgg cgaacgggtg agtaacacgt gagtaacctg cccttgactt cgggataact	120
tcaggaaact ggggctaata cgggatagga atccttgctg catggtgggg gttggaaagc	180
ttcggcggtt ttggatggac tcgcggctta tcagcttgtt ggtggggtag tggcttacca	240
aggcittgac gggtagccgg cctgagaggg cgaccggcca cattgggact gagatacggc	300
ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattgcaca atgggcggaa gcctgatgca	360
gcaacgccgc gtgcgggatg acggccttcg ggttgtaaac cgcttcagc aggggcgaag	420
ctttgtgac ggtacctgca gaagaagcac cggctaacta cgtgccagca gccgcggtga	480
tacgtagggt gcgagcgttg tccggattta ttgggcgtaa agagctcgta ggtggttgat	540
tcgctcggaa gtgaaaactt ggggcctaac cctgagcgtg ctttcgatac gggttgactt	600
gaggaaggta ggggagaatg gaattcctgg tggagcgtg gaatgcgag atatcaggag	660
gaacaccagt ggcgaaggcg gttctctgga cctttctga cgctgaggag cgaaagcgtg	720
gggagcgaac aggcttagat accctggtag tccacgctgt aaacggtggg tactagggtg	780
ggggccatt ccacggaltc cgtgccgtag claacgcall aaglaccctg cctggggagt	840
acggccgcaa ggctaaaact caaaggaatt gacggggccc cgcacaagcg gcggagcatg	900
cggattaatt cgatgcaacg cgaagaacct tacctgggtt tgacatggac tgggagtgt	960
cagagatggg tacgcctcct tgtggggctg gttcacaggt ggtgcatggc tgtcgtcagc	1020
tcgtgtcgtg agatgttggg ttaagtcccg caacgagcgc aacctcgtt cactgttgcc	1080
agcacgttat ggtggggact cagtggagac cgccggggtc aactcggagg aaggtaggga	1140
tgacgtcaag tcatcatgcc ccttatgtcc agggcttcac gcatgtaca atggccggtg	1200
caaagagttg cgagcctgtg agggtagcgc aatctcggaa agccggtctc agttcggatt	1260
gggtctgca actcgacctt atgaagtcgg agtcgctagt aatcgcagat cagcaacgct	1320
gcggtgaata cgttcccggg gcttgtagac accgcccgtc aagtcatgaa agtcggtaac	1380
acccgaagcc ggtggcctaa cctgtgtggg ggagccgtcg aaggtagggac tggtaatag	1440
gactaagtc	1449

[도2]

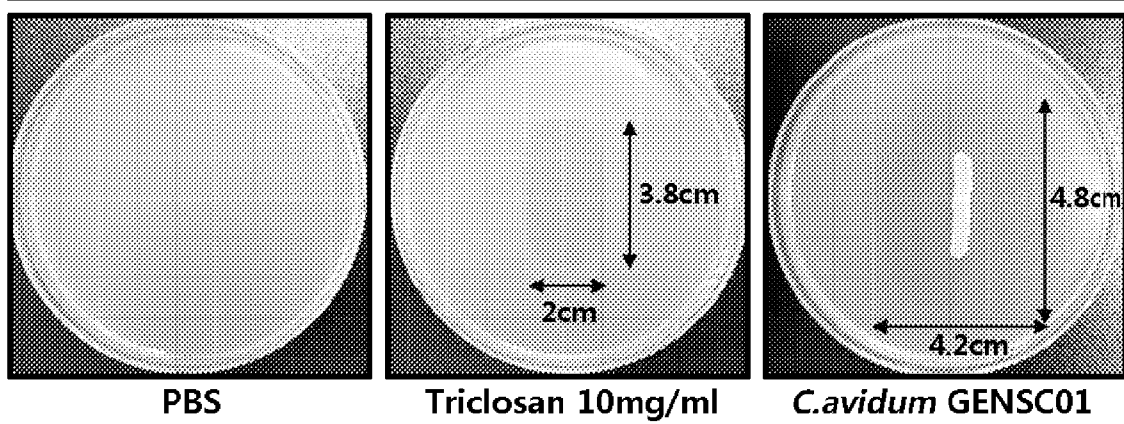


[도3]



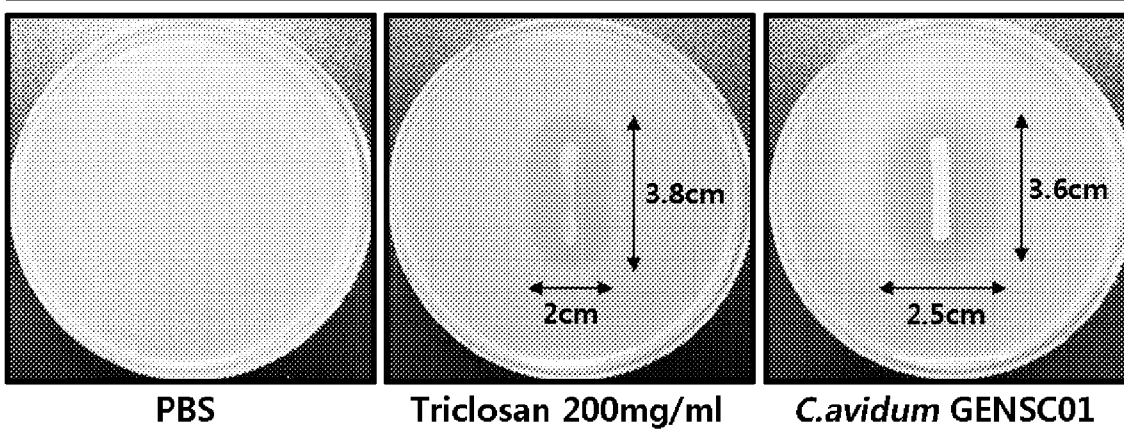
[도4]

Overlay assay

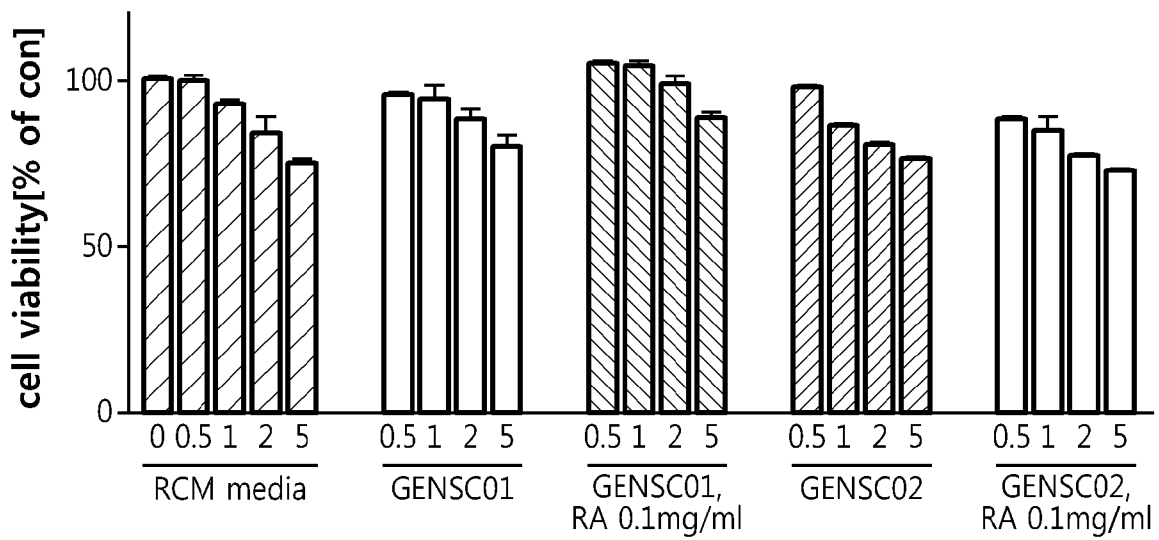


[도5]

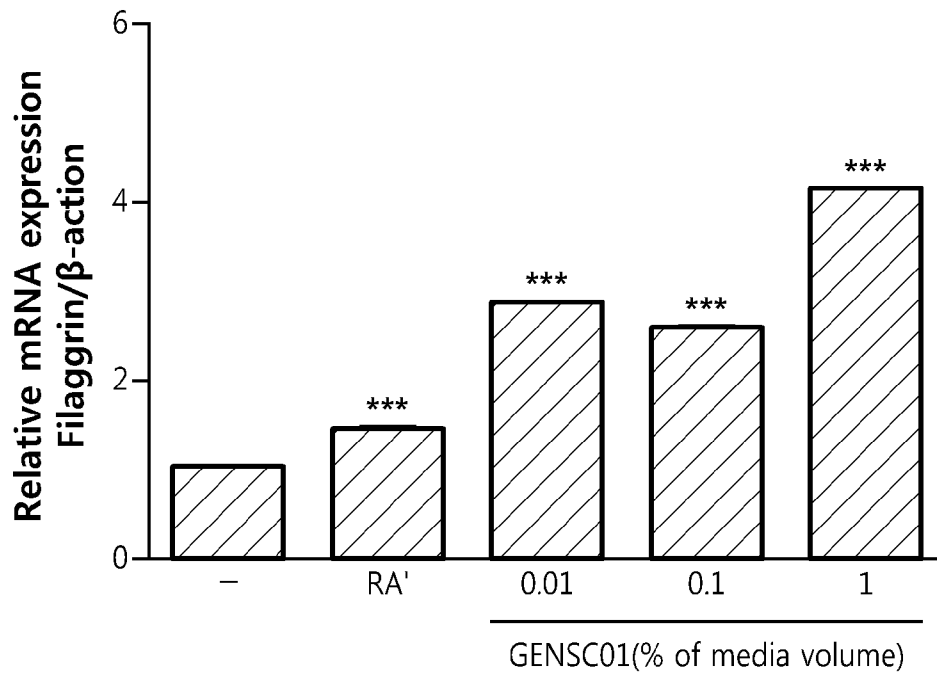
Overlay assay



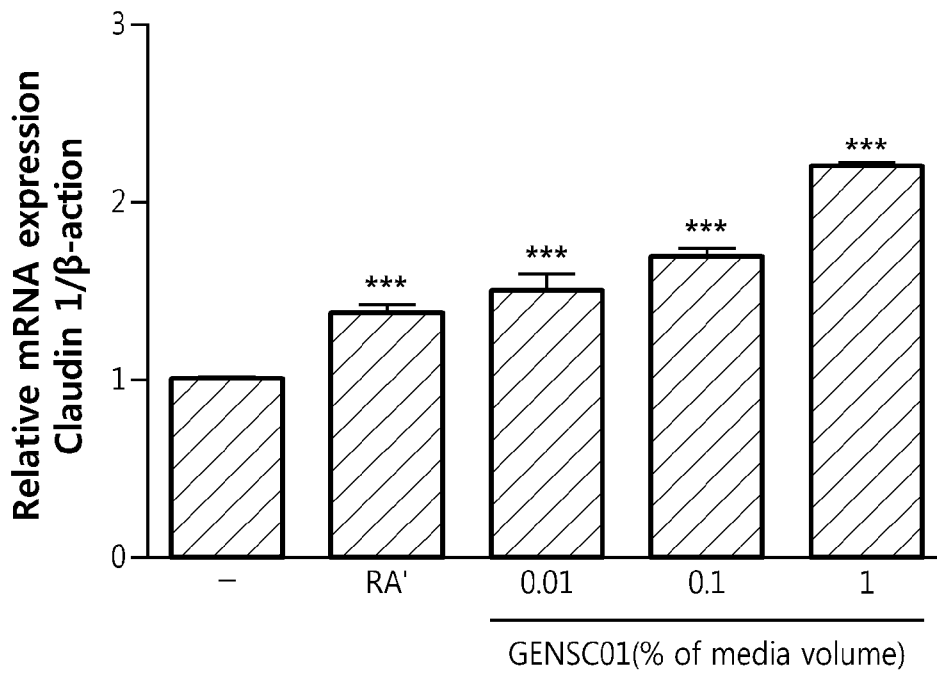
[도6]



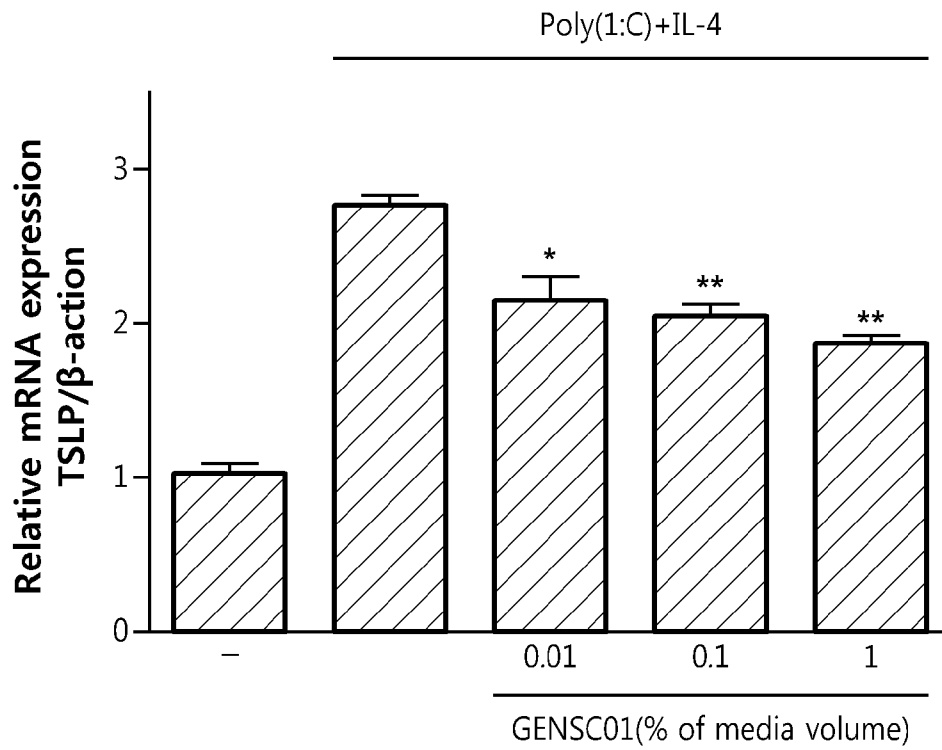
[도7]



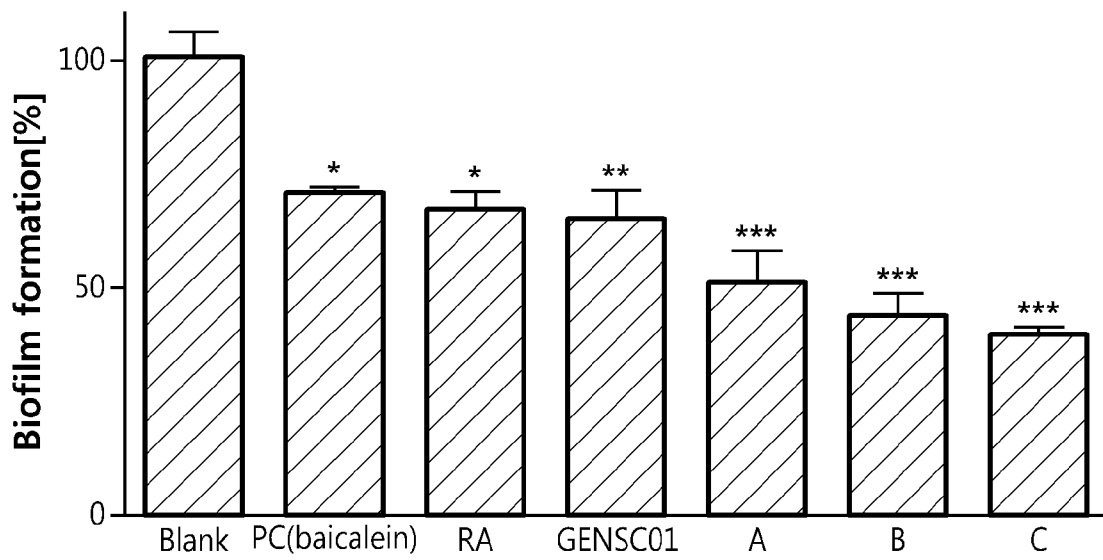
[도8]



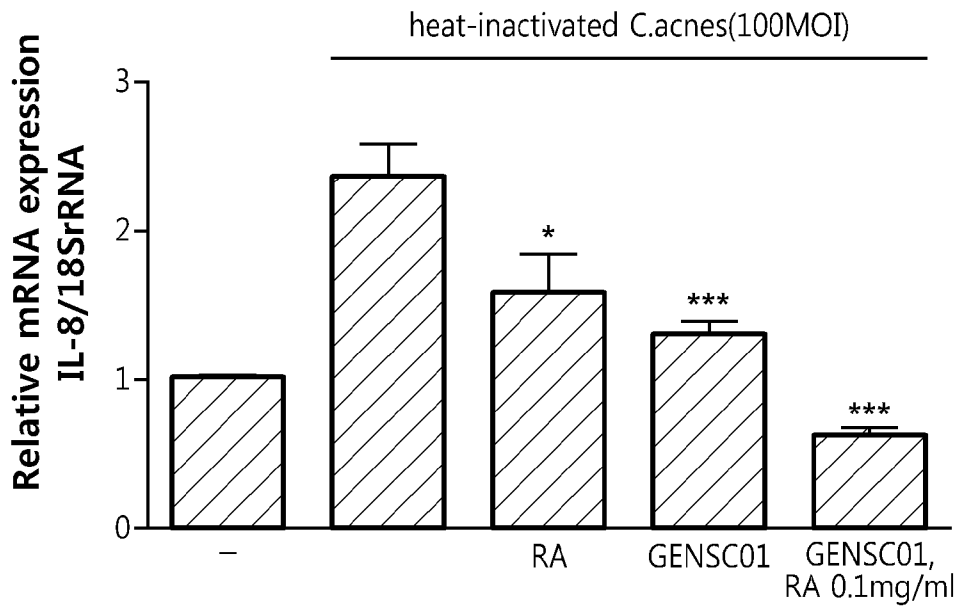
[도9]



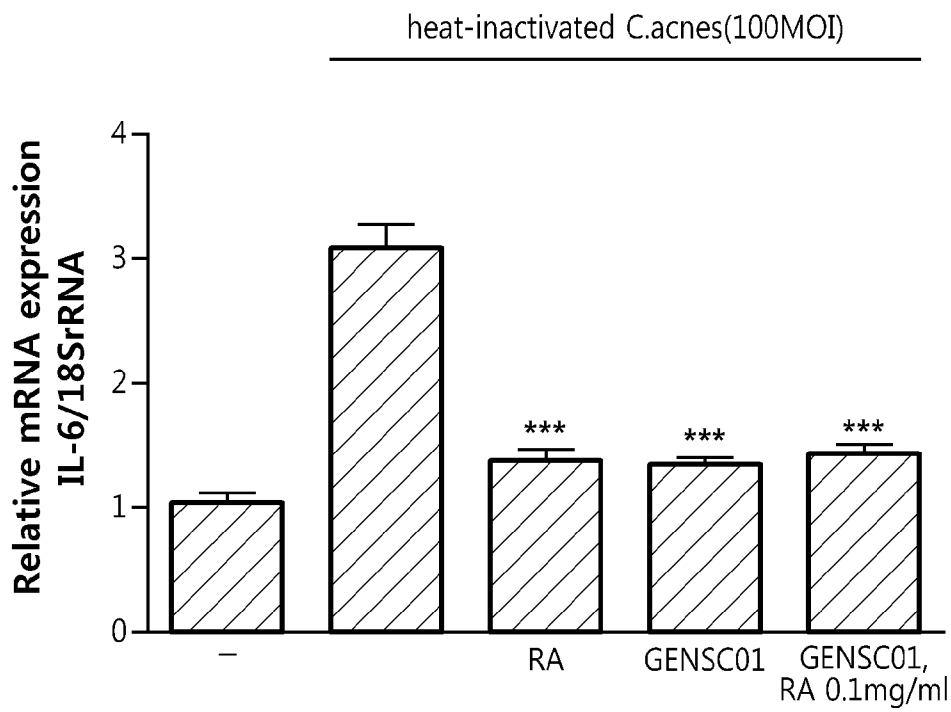
[도10]



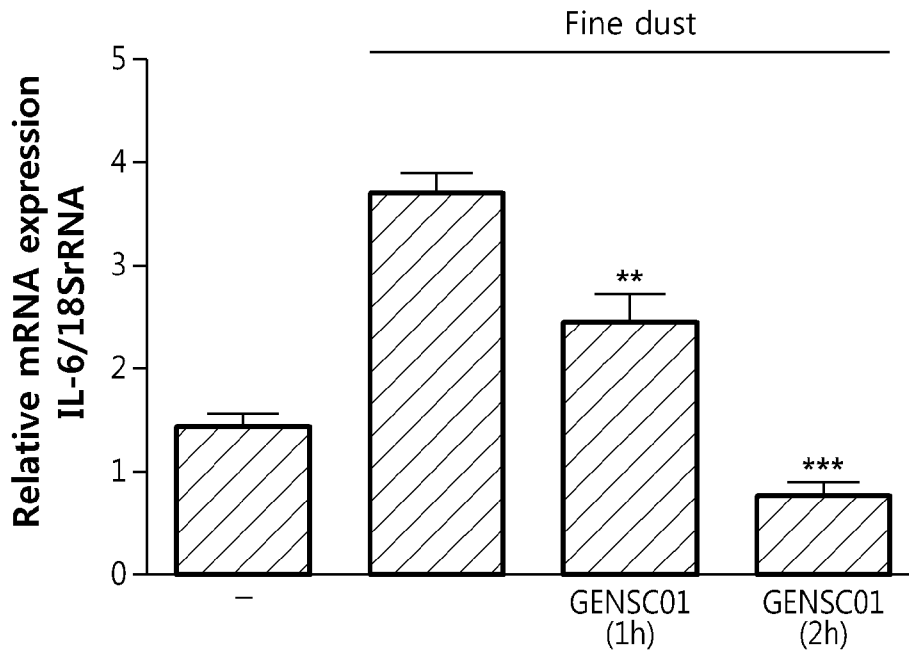
[Figure 11]



[Figure 12]




[도13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/006239

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C12N 1/20(2006.01)i, A01N 63/02(2006.01)i, A61K 8/37(2006.01)i, A61K 8/99(2006.01)i, A61K 31/216(2006.01)i, A61K 35/74(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A61P 17/10(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i, C12R 1/01(2006.01)n</i> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N 1/20; A01N 63/02; A61K 31/19; A61K 31/22; A61K 39/07; A61K 8/99; A61P 29/00; A61P 31/04; A61K 8/37; A61K 31/216; A61K 35/74; A61P 17/00; A61P 17/10; A61Q 19/00; C12R 1/01 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: Cutibacterium avidum, KCTC 13596BP, skin inflammation, anti-microbial activity		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CORVEC, Stephane. Clinical and biological features of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) avidum, an underrecognized microorganism. Clinical Microbiology Reviews. 30 May 2018, vol. 31, no. 3, Article No. e00064-17 See the entire document.	1-14
A	US 2016-0338979 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 24 November 2016 See the entire document.	1-14
A	JP 2018-522919 A (PROBIOTICAL S.P.A.) 16 August 2018 See the entire document.	1-14
A	US 2003-0175305 A1 (GARNER, Bryan E. et al.) 18 September 2003 See the entire document.	1-14
PX	KR 10-1925135 B1 (GENOME AND COMPANY) 04 December 2018 See claims 1-8, 10-13.	1-14
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 AUGUST 2019 (28.08.2019)		28 AUGUST 2019 (28.08.2019)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/006239

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date		
US 2016-0338979 A1	24/11/2016	CA 2935785 A1	16/07/2015		
		EP 3092008 A1	16/11/2016		
		WO 2015-106175 A1	16/07/2015		
JP 2018-522919 A	16/08/2018	BR 112018001811 A2	18/09/2018		
		CA 2993506 A1	16/02/2017		
		CN 105932352 A	07/09/2016		
		CN 106438046 A	22/02/2017		
		CN 106438150 A	22/02/2017		
		CN 106438150 B	18/09/2018		
		CN 108697743 A	23/10/2018		
		EP 3215164 A1	13/09/2017		
		EP 3334411 A1	20/06/2018		
		EP 3334444 A2	20/06/2018		
		IT UB20153106 A1	13/02/2017		
		KR 10-2018-0044313 A	02/05/2018		
		US 10135103 B2	20/11/2018		
		US 2016-0254577 A1	01/09/2016		
		US 2017-0045006 A1	16/02/2017		
		US 2019-0015463 A1	17/01/2019		
		US 2019-0030071 A1	31/01/2019		
		US 9945304 B2	17/04/2018		
		WO 2016-071343 A1	12/05/2016		
		WO 2016-135678 A1	01/09/2016		
		WO 2017-025903 A1	16/02/2017		
		WO 2017-025936 A2	16/02/2017		
		WO 2017-025936 A3	23/03/2017		
		US 2003-0175305 A1	18/09/2003	AU 2003-275312 A1	23/04/2004
				AU 2003-300208 A1	10/08/2004
				AU 2010-203120 A1	12/08/2010
				AU 2010-203120 B2	18/10/2012
CA 2501291 A1	15/04/2004				
CN 1703146 A	30/11/2005				
CN 1703146 B	09/07/2014				
EP 1545216 A2	29/06/2005				
EP 1545216 B1	17/07/2013				
ES 2426162 T3	21/10/2013				
HK 1079658 A1	21/03/2014				
JP 2006-501311 A	12/01/2006				
MX PA05003560 A	19/10/2007				
US 2003-0175306 A1	18/09/2003				
US 2003-0175307 A1	18/09/2003				
US 2004-0028665 A1	12/02/2004				
US 2004-0131603 A1	08/07/2004				
US 2005-0238630 A1	27/10/2005				
US 2005-0244390 A1	03/11/2005				
US 2005-0244391 A1	03/11/2005				
US 2006-0110367 A1	25/05/2006				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/006239

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		US 2008-0026098 A1	31/01/2008
		US 2008-0057045 A1	06/03/2008
		US 2011-0195152 A1	11/08/2011
		US 2012-0107288 A1	03/05/2012
		US 2013-0316048 A1	28/11/2013
		US 2014-0255350 A1	11/09/2014
		US 2014-0286919 A1	25/09/2014
		US 2017-0020935 A1	26/01/2017
		US 7063836 B2	20/06/2006
		US 7291326 B2	06/11/2007
		US 7291327 B2	06/11/2007
		US 7291328 B2	06/11/2007
		US 8071088 B2	06/12/2011
		US 8496925 B2	30/07/2013
		US 8697053 B2	15/04/2014
		US 8734785 B2	27/05/2014
		US 8980611 B2	17/03/2015
		WO 2004-030624 A2	15/04/2004
		WO 2004-030624 A3	02/09/2004
		WO 2004-062388 A1	29/07/2004
		ZA 200502598 B	29/08/2007
KR 10-1925135 B1	04/12/2018	None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12N 1/20(2006.01)i, A01N 63/02(2006.01)i, A61K 8/37(2006.01)i, A61K 8/99(2006.01)i, A61K 31/216(2006.01)i, A61K 35/74(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A61P 17/10(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i, C12R 1/01(2006.01)n		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12N 1/20; A01N 63/02; A61K 31/19; A61K 31/22; A61K 39/07; A61K 8/99; A61P 29/00; A61P 31/04; A61K 8/37; A61K 31/216; A61K 35/74; A61P 17/00; A61P 17/10; A61Q 19/00; C12R 1/01 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC		
국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 큐티박테리움 아비둠(Cutibacterium avidum), KCTC 13596BP, 피부 염증(sk in inflammation), 항균활성(anti-microbial activity)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	CORVEC, STEPHANE, 'Clinical and biological features of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) avidum, an underrecognized microorganism', Clinical Microbiology Reviews, 2018.05.30, 31권, 3호, Article No. e00064-17 전체 문헌 참조.	1-14
A	US 2016-0338979 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2016.11.24 전체 문헌 참조.	1-14
A	JP 2018-522919 A (PROBIOTICAL S.P.A.) 2018.08.16 전체 문헌 참조.	1-14
A	US 2003-0175305 A1 (GARNER, BRYAN E. 등) 2003.09.18 전체 문헌 참조.	1-14
PX	KR 10-1925135 B1 (주식회사 지놈앤컴퍼니) 2018.12.04 청구항 1-8, 10-13 참조.	1-14
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2019년 08월 28일 (28.08.2019)	국제조사보고서 발송일 2019년 08월 28일 (28.08.2019)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-8150	

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2016-0338979 A1	2016/11/24	CA 2935785 A1 EP 3092008 A1 WO 2015-106175 A1	2015/07/16 2016/11/16 2015/07/16
JP 2018-522919 A	2018/08/16	BR 112018001811 A2 CA 2993506 A1 CN 105932352 A CN 106438046 A CN 106438150 A CN 106438150 B CN 108697743 A EP 3215164 A1 EP 3334411 A1 EP 3334444 A2 IT UB20153106 A1 KR 10-2018-0044313 A US 10135103 B2 US 2016-0254577 A1 US 2017-0045006 A1 US 2019-0015463 A1 US 2019-0030071 A1 US 9945304 B2 WO 2016-071343 A1 WO 2016-135678 A1 WO 2017-025903 A1 WO 2017-025936 A2 WO 2017-025936 A3	2018/09/18 2017/02/16 2016/09/07 2017/02/22 2017/02/22 2018/09/18 2018/10/23 2017/09/13 2018/06/20 2018/06/20 2017/02/13 2018/05/02 2018/11/20 2016/09/01 2017/02/16 2019/01/17 2019/01/31 2018/04/17 2016/05/12 2016/09/01 2017/02/16 2017/02/16 2017/03/23
US 2003-0175305 A1	2003/09/18	AU 2003-275312 A1 AU 2003-300208 A1 AU 2010-203120 A1 AU 2010-203120 B2 CA 2501291 A1 CN 1703146 A CN 1703146 B EP 1545216 A2 EP 1545216 B1 ES 2426162 T3 HK 1079658 A1 JP 2006-501311 A MX PA05003560 A US 2003-0175306 A1 US 2003-0175307 A1 US 2004-0028665 A1 US 2004-0131603 A1 US 2005-0238630 A1 US 2005-0244390 A1 US 2005-0244391 A1 US 2006-0110367 A1	2004/04/23 2004/08/10 2010/08/12 2012/10/18 2004/04/15 2005/11/30 2014/07/09 2005/06/29 2013/07/17 2013/10/21 2014/03/21 2006/01/12 2007/10/19 2003/09/18 2003/09/18 2004/02/12 2004/07/08 2005/10/27 2005/11/03 2005/11/03 2006/05/25

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2008-0026098 A1	2008/01/31
		US 2008-0057045 A1	2008/03/06
		US 2011-0195152 A1	2011/08/11
		US 2012-0107288 A1	2012/05/03
		US 2013-0316048 A1	2013/11/28
		US 2014-0255350 A1	2014/09/11
		US 2014-0286919 A1	2014/09/25
		US 2017-0020935 A1	2017/01/26
		US 7063836 B2	2006/06/20
		US 7291326 B2	2007/11/06
		US 7291327 B2	2007/11/06
		US 7291328 B2	2007/11/06
		US 8071088 B2	2011/12/06
		US 8496925 B2	2013/07/30
		US 8697053 B2	2014/04/15
		US 8734785 B2	2014/05/27
		US 8980611 B2	2015/03/17
		WO 2004-030624 A2	2004/04/15
		WO 2004-030624 A3	2004/09/02
		WO 2004-062388 A1	2004/07/29
		ZA 200502598 B	2007/08/29
KR 10-1925135 B1	2018/12/04	없음	