



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년09월17일
(11) 등록번호 10-2021883
(24) 등록일자 2019년09월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) A23L 33/135 (2016.01)
A61K 35/747 (2014.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01) C12R 1/225 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2013.01)
A23L 33/135 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0107176
(22) 출원일자 2018년09월07일
심사청구일자 2018년09월07일
(56) 선행기술조사문헌
http://www.sourcingmylab.com/LACTOBACILLUS-FERMENTUM-POWDER.html*
KR101862051 B1*
KR100794702 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
최철웅
광주광역시 서구 풍암순환로 14, 105동 203호(풍암동, 호반·중흥아파트)
배동혁
전라남도 화순군 화순읍 칠층로 61-28, 104동 401호(대성베르힐)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인엠에이피에스

전체 청구항 수 : 총 6 항

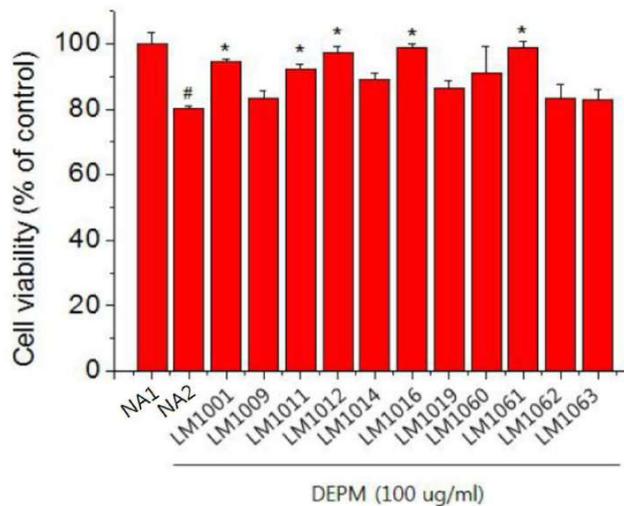
심사관 : 김지연

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주 및 이를 포함하는 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P, 및 이를 포함하는 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 인간 간세포주 (HepG2 cell)에서 미세먼지에 의한 세포손상과 성장 저해를 완화시킬 뿐 아니라 세포주 내의 활성산소종(ROS)을 감소시킨다. 또한, SOD(과산화물 제거 효소)의 수준을 정상으로 복구시키고 HO-1(Heme 분해 효소)의 활성을 증가시켜 스트레스 감소를 돕는다. 더군다나, 마우스 모델에 미세먼지 표준 물질인 DEPM(diesel exhaust particulate matter)를 주입한 경우 혈중에서 증가된 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-6, IL-1 β 의 생성을 감소시킨다. 또한, 미세먼지에 의해 증가한 혈중 간 효소 AST와 ALT의 수준을 감소시키며, 이에 따라 미세먼지로 인한 간세포 손상 또는 염증을 예방 및 치료하는 효과를 가진다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 35/747 (2013.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A61P 3/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23Y 2220/35 (2013.01)
C12R 1/225 (2013.01)

(72) 발명자

김재용

전라남도 순천시 왕궁길 60, 304동 207호(조례동, 중흥3차아파트)

이규욱

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136, 101동 404호(성은연립)

박성윤

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 215, 606동 705호(화순 부영아파트)

정명아

전라남도 화순군 화순읍 대리길 41, 101동 1805호(화순광신프로그레스)

강후원

광주광역시 남구 독립로 70-1, 107동 402호(백운동, 백운 우방아이유셀)

윤효정

광주광역시 남구 제중로 11, 110동 701호(양림동, 양림1단지휴먼시아)

임소정

광주광역시 서구 화개1로78번길 8, 505동 303호(금호동, 금호5차 호반리젠시빌)

오둘리

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 202, 503동 203호(화순 부영아파트)

신자원

대전광역시 유성구 상대남로 26, 903동 202호(상대동, 도안신도시9블록 트리폴시티아파트)

조아라

광주광역시 남구 백양로39번길 7-2, 301호(백운동)

이경은

전라남도 순천시 중앙초등길 132, 3동 101호(풍덕동, 한신아파트)

김영옥

전라남도 장흥군 장흥읍 중앙로 81

김유진

전라남도 장흥군 장흥읍 동교1길 16

이슬기

전라남도 순천시 이수로 224-29, 102동 811호(덕암동, 현대아파트)

김진영

광주광역시 동구 밤실로 100, 103동 702호(산수동)

성락선

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호(수창아트빌아파트)

황용필

경상남도 진주시 내동면 순환로 425-61, 109동 203호(남강휴먼빌아파트)

정일선

경상남도 진주시 공단로 30, 101동 1202호(상평동, 상평동 동일스위트아파트)

윤종빈

경상남도 진주시 에나로 146, 1605호(충무공동)

전민규

경상남도 진주시 진양호로51번길 6-7, 103동 1403호(관문동, 현대아파트)

홍경은

경상남도 진주시 호탄길21번길 14-2, 202호(호탄동, 대흥빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R0003950
부처명	산업통상자원부
연구관리전문기관	한국산업기술진흥원(KIAT)
연구사업명	창의산업거점기관지원사업
연구과제명	바이오상용기술고도화 플랫폼 구축사업
기여율	1/1
주관기관	(재)전남생물산업진흥원 천연자원연구센터
연구기간	2017.04.01 ~ 2018.01.31

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주(KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 유효성분으로 포함하는,

염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물로서,

상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주(KFCC11756P)는 미세먼지로 인한 세포 독성 또는 장기조직의 독성을 감소시키는 것이며,

상기 염증 질환은 장염, 위염, 간염, 기관지염, 흉막염, 관절염, 비염, 각막염, 신장염, 복막염, 척추염, 췌장염, 염증성 통증, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염, 퇴행성 신경염, 염증 통증, 및 이들의 조합들로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상이고,

상기 대사 질환은 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 천식, 결핵, 고혈압, 비만, 관상동맥경화증, 동맥경화증, 및 이들의 조합들로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상인,

염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 염증 질환 또는 대사 질환은 미세먼지로 인한 세포 독성에 의해 발생하는 것인, 염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주(KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 유효성분으로 포함하는,

염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물로서,

상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주(KFCC11756P)는 미세먼지로 인한 세포 독성 또는 장기조직의 독성을 감소

시키는 것인,
 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

제 8 항에 있어서,
 상기 염증 질환 또는 대사 질환은 미세먼지로 인한 세포 독성에 의해 발생하는 것인, 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물.

청구항 11

제 10 항에 있어서,
 상기 염증 질환은 장염, 위염, 간염, 기관지염, 흉막염, 관절염, 비염, 각막염, 신장염, 복막염, 척추염, 궤장염, 염증성 통증, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염, 퇴행성 신경염, 염증 통증, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인,
 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물.

청구항 12

제 10 항에 있어서,
 상기 대사 질환은 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 천식, 결핵, 고혈압, 비만, 관상동맥경화증, 동맥경화증, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인,
 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P), 및 이를 포함하는 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근, 동남아 국가의 급격한 산업화에 따라 발생하고 있는 대기오염 물질로서, 디젤연소입자(diesel exhaust particulate matters, DEPM) 또는 미세입자 구조의 대기 오염물질들에 의한 세포 손상, 특히, 염증성 간 손상 등의 보고가 증가되고 있다. 이러한 염증성 간 손상은 비-알코올성 지방간(non-alcoholic fat liver disease, NAFLD), 간 섬유증(liver fibrosis), 간암 또는 제 2 형 당뇨병(Type-II diabetes) 등으로 진전되는 등, 심각한 문제로 최근 뉴스 미디어 또는 여러 보고서를 통해서 보고되고 있다.

[0003] 공기 중의 PM(particulate matters)은, 호흡기를 통해서 폐 조직(alveolar epithelium)을 통과하면서 폐 조직에 1차적인 손상을 주고, 폐 조직을 통과한 PM들은 2차적으로 인체를 통하여 전달되어 장내균총(intestinal microbiome) 변화 또는 간세포, 신장(kidney)등에 영향을 주는 것으로 보고되어 있다. 그 중에서, 디젤연소입자들은 입자의 크기와 수용성 또는 비수용성에 따라 미치는 효과가 다른 것으로 보고 되었다. 수용성 PM들은 폐 점막층을 통과하여 간, 신장 그리고 심장 등에도 축적됨이 관측되었으며, 비수용성 PM들은 혈액 또는 혈관 내벽

에 축적 될 수 있음이 관측되었다. 뿐만 아니라, 디젤연소 중에 발생된 PM이나 나노크기의 CB(carbon black)들은 간 염증이나 전사적인 염증 발생에 중요한 유도물질로 작용하여, 결과적으로 비-알코올성 간 경화증(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)까지 진행 할 수 있는 심각한 염증상태의 유발물질로 작용 할 수 있음이 입증되었다.

[0004] Tomaru, M 등은, 비만성 당뇨병 마우스 모델에서 간 손상의 중요 지표물질인 혈중 ALT(alanine aminotransferase) 또는 AST(aspartate aminotransferase) 농도가 DEPM 노출에 의해서 크게 증가함을 관측하였다.

[0005] 폐 또는 장 점막 조직의 DEPM에 대한 노출은 미생물 유래의 LPS(lipo-poly-saccharides) 또는 LTA(lipo-teichoic acids)의 혈중 농도 증가를 유도하고(Endotoxemia), 이들은 TLR-II, TLR-IV등에 인식되어 염증성 사이토카인의 증가를 유도하며, 관련 여러 조직에서 다발성염증 증가를 유도한다. 이러한 폐 조직에 존재하는 마크로파지의 표면 TLR-II 또는 TLR-IV의 DEPM에 대한 반응은 염증성 사이토카인의 증가를 유도하면서, 연관적으로 천식(asthma) 발생과도 깊은 관계를 가지고 있음이 밝혀지고 있다.

[0006] 이에, 본 발명은 미세먼지에 의해 발생된 간 손상을 예방 하거나 완화시킬 수 있는 프로바이오틱스를 개발하는 것을 목적으로 하고 있다.

[0007] Li Xue 등은, 장에서 발생된 LPS의 혈중 농도 증가로 발생된 내독소혈증(Endotoxemia)과 TLR-IV 활성화로 인해 유도된 비-알코올성 지방간(NAFLD)을 완화시키고 혈중 내독소혈증의 농도를 줄이는데 프로바이오틱스를 이용한 장내 마이크로바이옴(microbiome) 조절이 중요한 역할을 한다는 것을 밝혔다.

[0008] 또한, Jun Li 등은 마우스 모델에서 프로바이오틱스를 사용하여 장의 마이크로바이옴을 조절하고 결과적으로 장 외 조직인 간에서 암 세포의 성장을 줄일 수 있었음 입증하였다. 간세포의 성장은 프로바이오틱스를 먹이지 않은 대조군에 비하여 프로바이오틱스를 먹인 비교군에서 40%까지 감소 되었으며, 또한 장과 조직 말단에서 IL-17의 농도 감소와 IL-17을 생산하는 Th-17 세포주의 감소를 유도하였다.

[0009] [선행기술문헌]

[0010] [1] Kim J.W., S. Park, C. W. Lim, K.H. Lee and B.S. Kim, 2014. Toxicol. Res., 30(2); 65-70.

[0011] [2] Fonceca A.M., G. R. Zosky, E.M. BozanichE.M. Sutanto, A. Kicic, P.S. McNamara, D.A. Knight, P.D. Sly, D.J. Turner and S.M. Stick, 2018, Respiratory Res. 19;15-25.

[0012] [3] Tomaru M., H. Takano, K. Inoue, R. Yanagisawa, N. Osakabe, A. Yasuda, A. Shimada, Y. Kato and H. Uematsu, 2007, Int. J. Mol. Med., 19;17-22.

[0013] [4] Susanne B., M.J. Fenton and J.M. Soukup, 2002, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 27;611-618.

[0014] [5] Li Xue, J. He, N. Gao, X. Lu, M. Li, X. Wu, Z. Liu, Y. Jun, J. Liu, J. Xu and Y. Geng, 2017, Scientific Report, 7;45176 / DOI:10.1038/sr45176 / www.nature.com/sciencereports.

[0015] [6] Jun Li, C.Y.J. Sung, N. Lee, Y Ni, J. Pihlajamaki, G. Panagiotou, 2016, PNAS, E1306-E1315/www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1518189113.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본원은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P), 및 이를 포함하는 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

[0017] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 본원의 제 1 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P)를 제공한다.

[0019] 본원의 제 2 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016(KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는

혼합물을 유효성분으로 포함하는, 염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0020] 본원의 제 3 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016(KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 유효성분으로 포함하는, 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0021] 본원의 구현예들에 따르면, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 세포 독성 또는 장기조직의 독성을 감소시켜, 미세먼지로 인해 발생하는 염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료 효과를 나타낸다.

[0022] 본원의 구현예들에 따르면, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 인간 간세포주(HepG2 cell)에서 미세먼지에 의한 세포손상과 생장 저해를 완화시킬 뿐 아니라 세포주 내의 활성산소종(ROS)을 감소시킬 수 있다. 또한, 산화 스트레스 제거 효소인 SOD(Superoxide dismutase, 과산화물 제거 효소)의 수준과 HO-1(heme oxygenase-1, Heme 분해 효소)의 활성을 증가시키며, 마우스 모델에 미세먼지 표준 물질인 DEPM(diesel exhaust particulate matter)를 주입한 경우 혈중에서 증가된 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-6, IL-1 β 의 생성을 감소시킬 수 있다. 또한, 미세먼지에 의해 증가한 혈중 간 효소 AST와 ALT의 수준을 감소시킬 수 있다. 이에 따라, 결과적으로 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인한 간세포 손상 또는 염증에 대하여 완화, 예방 또는 치료 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주(HepG2 cells)에 각각 락토바실러스 플란타럼 LM1001 (Lactobacillus plantarum LM1001, 기탁번호: KCCM42959), 락토코커스 락티스 LM1009 (Lactococcus lactis subsp. lactis LM1009), 락토바실러스 람노서스 LM1011 (Lactobacillus rhamnosus LM1011), 스트렙토코커스 써모필러스 LM1012 (Streptococcus thermophilus LM1012, 기탁번호 KFCC11771P) 락토바실러스 파라카제이 LM1014 (Lactobacillus paracasei LM1014), 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (Lactobacillus fermentum LM1016, 기탁번호 KFCC11756P), 락토바실러스 람노서스 LM1019 (Lactobacillus rhamnosus LM1019), 락토바실러스 아시도필러스 LM1060 (Lactobacillus acidophilus LM1060), 비피도박테리움 브레베 LM1061 (Bifidobacterium breve LM1061), 비피도박테리움 롱검 LM1062 (Bifidobacterium longum LM1062), 락토바실러스 루테리 LM1063 (Lactobacillus ruteri LM1063)를 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 24 시간 동안 처리하였을 때의 인간 간세포주의 생존율을 MTT 실험법으로 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주에 각각의 유산균을 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 24 시간 동안 처리하였을 때, 처리한 유산균에 의한 세포 독성 완화 효과를 LDH(lactate dehydrogenase) 측정법으로 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주에 각각의 유산균을 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 처리하여 24 시간 동안 배양한 뒤 세포 내 활성산소종(ROS) 농도를 측정한 그래프이다.

도 4는, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주에 각각의 유산균을 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 24 시간 동안 처리하였을 때의 세포 내 과산화물 제거 효소(Superoxide dismutase, SOD)의 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 5는, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주에 각각의 유산균을 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 24 시간 동안 처리한 후, Kutty 및 Maines 방법으로 산화 스트레스 제거 효소인 HO-1(heme oxygenase-1)의 활성을 측정한 그래프이다.

도 6의 (a) 내지 (c) 는, 본원의 일 실시예에 있어서, 인간 간세포주에 각각의 유산균을 전처리하고 미세먼지(100 μ g/mL)를 처리한 후, 배지에 분비된 염증성 사이토카인, TNF- α , IL-6, 및 IL-1 β 의 농도를 ELISA방법으로 측정한 그래프이다.

도 7의 (a) 및 (b)는, 본원의 일 실시예에 있어서, 100 mg/kg의 미세먼지(DEPM), 또는 100 mg/kg의 미세먼지(DEPM) 및 유산균(1.0E+09cfu/kg)을 14 일 동안 마우스에 경구 투여한 후, 간 손상의 혈중 지표인 (a) AST(Aspartate Aminotransferase) 및 (b) ALT(Alanine Transferase)의 농도를 측정한 그래프이다.

도 8은, 본원의 일 실시예에 있어서, 100 mg/kg의 미세먼지, 또는 100 mg/kg의 미세먼지 및 유산균을 14 일 동

안 마우스에 경구 투여한 후, 간 손상의 혈중 지표인 LDH(Lactate Dehydrogenase)를 측정된 그래프이다.

도 9는, 본원의 일 실시예에 있어서, 100 mg/kg의 미세먼지, 또는 100 mg/kg의 미세먼지 및 유산균을 14 일 동안 마우스에 경구 투여한 후, 신장 손상의 혈중 지표인 BUN(Blood Urea Nitrogen)의 변화를 측정된 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 아래에서는 첨부된 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.
- [0025] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 “연결” 되어 있다고 할 때, 이는 “직접적으로 연결” 되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 “전기적으로 연결” 되어 있는 경우도 포함한다.
- [0026] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 “상에” 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.
- [0027] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~(하는) 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.
- [0028] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합(들)”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0029] 본원 명세서 전체에서, “A 및/또는 B”의 기재는 “A 또는 B, 또는 A 및 B”를 의미한다.
- [0031] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나, 본원이 이러한 구현예 및 실시예와 도면에 제한되지 않을 수 있다.
- [0033] 본원의 제 1 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P)를 제공한다.
- [0034] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 서열 1의 16S-rRNA 염기서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [0035] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 미세먼지에 의하여 세포의 활성이 감소하거나 세포의 독성이 증가할 수 있으며, 이에 따라, 장기에 손상 또는 염증이 발생할 수 있다.
- [0036] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인한 세포 독성 또는 장기조직의 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0037] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 감소된 세포의 활성을 증가시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0038] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인하여 증가한 세포의 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0039] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 변화한 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 조절할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 산화 스트레스 제거 효소는 SOD(Superoxide Dismutase, 과산화물 제거 효소) 및/또는 HO-1(Heme Oxygenase-1, Heme 분해 효소)를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0040] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 감소한 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에

따라 산화 스트레스 제거 효소의 생성량이 감소한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 다시 회복 및/또는 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

- [0041] 상기 산화 스트레스 제거 효소 중, HO-1(Heme Oxygenase-1)은 Heme 분해 효소로서 세포 내에 산화적인 스트레스가 증가했을 때 이의 억제를 위해서 동시적으로 증가하는 경향이 있다.
- [0042] 본원의 일 구현에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 증가된 HO-1(Heme 분해 효소)의 생성량을 더욱 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에 따라 HO-1의 생성량이 증가한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 HO-1의 생성량을 더욱 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0043] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 증가한 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에 따라 염증성 사이토카인의 생성량이 증가한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0044] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6, IL-1 β , 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0045] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 발생하는 세포 독성을 완화시키는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 세포의 활성을 증가시키거나, 세포의 독성을 감소시키거나, 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 증가시키거나, 또는 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킴으로써, 미세먼지로 인해 발생하는 세포 독성을 완화시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0046] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 발생하는 장기조직의 손상을 완화시키는 것일 수 있다.
- [0047] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 혈중 간 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 간 독성은 간 독성 지표인 ALT(Alanine aminotransferase), AST(Aspartate aminotransferase), 또는 LDH(lactate dehydrogenase)를 통해 확인할 수 있으며, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 처리함에 따라 미세먼지에 의해 상승한 상기 간 독성을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0048] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 혈중 신장 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 신장 독성은 신장 독성 지표인 BUN(Blood Urea Nitrogen)를 통해 확인할 수 있으며, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 처리함에 따라 미세먼지에 의해 상승한 상기 신장 독성을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0050] 본원의 제 2 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 유효성분으로 포함하는, 염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0051] 본원의 제 2 측면에 따른 염증 질환 또는 대사 질환의 완화, 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대하여, 본원의 제 1 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 그 설명이 생략되었다더라도 본원의 제 1 측면에 기재된 내용은 본원의 제 2 측면에 동일하게 적용될 수 있다.
- [0052] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물은 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 포함하는 것이라면 그 함량을 특별히 제한하지 않으며, 예를 들어, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^6 ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^4 ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^6 ea/ml, 약 10^6 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^6 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 또는 약 10^8 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml의 농도로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0053] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 미세먼지에 의하여 세포의 활성이 감소하거나 세포의 독성이 증가할 수 있으며, 이에 따라, 장기에 손상 또는 염증이 발생할 수 있다.

- [0054] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인한 세포 독성 또는 장기조직의 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0055] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 감소된 세포의 활성을 증가시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0056] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인하여 증가한 세포의 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0057] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 변화한 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 조절할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 산화 스트레스 제거 효소는 SOD(Superoxide Dismutase, 과산화물 제거 효소) 및/또는 HO-1(Heme Oxygenase-1, Heme 분해 효소)를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0058] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 감소한 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에 따라 산화 스트레스 제거 효소의 생성량이 감소한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 다시 회복 및/또는 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0059] 상기 산화 스트레스 제거 효소 중, HO-1(Heme Oxygenase-1)은 Heme 분해 효소로서 세포 내에 산화적인 스트레스가 증가했을 때 이의 억제를 위해서 동시에 증가하는 경향이 있다.
- [0060] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 증가된 HO-1(Heme 분해 효소)의 생성량을 더욱 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에 따라 HO-1의 생성량이 증가한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 HO-1의 생성량을 더욱 증가시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0061] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 증가한 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세먼지에 노출에 따라 염증성 사이토카인의 생성량이 증가한 경우, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주에 의하여 상기 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0062] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6, IL-1 β , 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0063] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 발생하는 세포 독성을 완화시키는 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 세포의 활성을 증가시키거나, 세포의 독성을 감소시키거나, 산화 스트레스 제거 효소의 생성량을 더욱 증가시키거나, 또는 염증성 사이토카인의 생성량을 감소시킴으로써, 미세먼지로 인해 발생하는 세포 독성을 완화시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0064] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 미세먼지로 인해 발생하는 장기조직의 손상을 완화시키는 것일 수 있다.
- [0065] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 혈중 간 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 간 독성은 간 독성 지표인 ALT(Alanine aminotransferase), AST(Aspartate aminotransferase), 또는 LDH(lactate dehydrogenase)를 통해 확인할 수 있으며, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 처리함에 따라 미세먼지에 의해 상승한 상기 간 독성을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0066] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주는 혈중 신장 독성을 감소시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 신장 독성은 신장 독성 지표인 BUN(Blood Urea Nitrogen)를 통해 확인할 수 있으며, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 처리함에 따라 미세먼지에 의해 상승한 상기 신장 독성을 감소시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0067] 본원의 일 구현예에 있어서, 나아가, 상기 약학 조성물은 미세먼지로 인한 세포 독성에 의한 질병에 사용되는 것이라면 특별히 제한하지 않으나, 바람직하게는 염증질환 또는 대사질환일 수 있다.
- [0068] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 염증 질환은 장염, 위염, 간염, 기관지염, 흉막염, 관절염, 비염, 각막염, 신

장염, 복막염, 척추염, 궤장염, 염증성 통증, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 치주염, 치은염, 퇴행성 신경염, 염증 통증, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

- [0069] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 염증 질환은 더욱 바람직하게는 간염, 예를 들어, 미세먼지로 인한 간 염증성 손상일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0070] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 대사 질환은 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 천식, 결핵, 고혈압, 비만, 관상동맥경화증, 동맥경화증, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0071] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 포함하는 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0072] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학 조성물을 제제화할 경우, 일반적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 또는 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0073] 본원의 일 구현예에 있어서, 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 또는 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 글루코스(Glucose), 말토덱스트린(Malto-dextrin), 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 예를 들어, 단순한 부형제 이외에도 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0074] 본원의 일 구현예에 있어서, 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0075] 본원의 일 구현예에 있어서, 비경구 투여를 위한 제제로는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 비수성용제 또는 현탁제로는, 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 좌제로는, 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0077] 본원의 제 3 측면은, 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016) 균주 (KFCC11756P)의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 유효성분으로 포함하는, 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물을 제공한다.
- [0078] 본원의 제 3 측면에 따른 염증 질환 또는 대사 질환의 예방 또는 완화용 식품 조성물에 대하여, 본원의 제 1 측면 또는 제 2 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 그 설명이 생략되었더라도 본원의 제 1 측면 또는 제 2 측면에 기재된 내용은 본원의 제 3 측면에 동일하게 적용될 수 있다.
- [0079] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물은 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 포함하는 것이라면 그 함량을 특별히 제한하지 않으며, 예를 들어, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^6 ea/ml, 약 10^2 ea/ml 내지 약 10^4 ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 약 10^4 ea/ml 내지 약 10^6 ea/ml, 약 10^6 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml, 약 10^6 ea/ml 내지 약 10^8 ea/ml, 또는 약 10^8 ea/ml 내지 약 10^{11} ea/ml의 농도로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0080] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물은 건강기능식품, 유제품, 발효제품, 식품 첨가물, 또는 사료 첨가물에 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0081] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주를 포함할 수 있는 식품 조성물은, 예를 들어, 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류,

피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 또는 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0082] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물은 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0083] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 식품 조성물 중, 음료 조성물은, 상기 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 균주의 생균, 사균체, 배양물, 파쇄물, 추출물, 또는 혼합물을 함유하는 것 외에는 액체 성분에는 특별한 제한은 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0084] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 건강기능식품은, 향미제로서 천연 향미제, 예를 들어, 타우마틴, 스테비아 추출(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등), 또는 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0085] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 건강기능식품은, 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0086] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 건강기능식품은, 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

[0087] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 사료첨가제를 사료에 첨가하는 대상 동물은 포유동물일 수 있으며, 예를 들어, 쥐, 소, 개, 말, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 동물을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0089] 이하, 본원의 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 하나, 하기의 실시예는 본원의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것 일뿐, 본원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0091] **[실시예]**

[0092] **시료의 준비**

[0093] 본 실시예에서 사용된 유산균 균주는 다음과 같다: 락토바실러스 플란타럼 LM1001 (*Lactobacillus plantarum* LM1001, 기탁번호: KCCM42959), 락토코커스 락티스 LM1009 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LM1009), 락토바실러스 람노서스 LM1011 (*Lactobacillus rhamnosus* LM1011), 스트렙토코커스 써모필러스 LM1012 (*Streptococcus thermophilus* LM1012, 기탁번호 KFCC11771P) 락토바실러스 파라카제이 LM1014 (*Lactobacillus paracasei* LM1014), 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016, 기탁번호 KFCC11756P), 락토바실러스 람노서스 LM1019 (*Lactobacillus rhamnosus* LM1019), 락토바실러스 아시도필러스 LM1060 (*Lactobacillus acidophilus* LM1060), 비피도박테리움 브레베 LM1061 (*Bifidobacterium breve* LM1061), 비피도박테리움 롱검 LM1062 (*Bifidobacterium longum* LM1062), 락토바실러스 루테리 LM1063 (*Lactobacillus ruteri* LM1063).

[0094] 상기 11 종의 유산균 균주는 (주) 락토메이슨에서 각각의 종균 준비, 배양, 균체 회수, 동결보호제 혼합, 동결건조 등의 방법을 통하여 건조된 원말로 준비되었다. 건조되어 준비된 각 균주의 원말들은 3차 증류수에 시료를 적절한 농도로 희석한 후 멸균 처리(121°C, 30 분)하여 시료를 확보 하였다. *in vivo* 시료는 희석한 사균을 일정 농도로 구강 투여 하였다.

[0096] **실험동물의 처리**

[0097] 6 주령 웅성 ICR 마우스를 (주)샘타코코리아(한국)에서 분양 받아 사용하였다. 사육환경은 온도 22±2°C, 습도 50±20%, 12 시간 조명 하에 사육하였으며, 사료는 마우스용 고형사료를, 음수는 상수도 수를 제한 없이 섭취 시켰다. 동물은 1주일 동안 실험 동물실에서 적응시킨 후 실험을 수행하였다. 준비된 유산균 균주 11종을 각각 10 mg/kg과 미세먼지(diesel exhaust particulate matter, DEPM)를 100 mg/kg의 농도로 2 주 동안 매일 1 회 구강 투여를 수행하였다. 마지막 구강 투여를 한 수 24 시간 후에 실험동물로부터 혈액시료를 확보한 후 -80°C 에 보관 후 실험에 사용하였다.

- [0099] **세포 배양**
- [0100] A549 세포 또는 HepG2 세포 배양은 10% FBS(fetal bovine serum), 2 mM L-글루타민, 100 units/ml 페니실린, 그리고 100 μ g/ml 스트렙토마이신이 함유된 RPMI1640 배지를 이용하여 배양기(37 $^{\circ}$ C humidified 5% CO₂ incubator)에서 배양하였다.
- [0102] **비장세포 분리 및 배양**
- [0103] 랫(rats)으로부터 비장을 무균적으로 적출하여, RPMI 1640 용액으로 세척한 다음 분쇄하여 세포를 유리하였다. 분리된 세포 현탁액을 200 메쉬의 스테인리스 스틸 체(sieve)에 통과시킨 후 4 $^{\circ}$ C, 1,200 rpm에서 3 분간 원심분리하여 수득된 세포 펠렛을 ACK 버퍼에 5 분간 현탁 시켜 적혈구를 제거하였다. 수득된 비장세포는 10% FBS 및 1% 페니실린-스트렙토마이신을 함유하고 있는 RPMI 1640에 세포의 농도가 1 \times 10⁶ cell/ml이 되도록 현탁하여 48 웰 플레이트에 각각 500 μ l을 분주하였으며, 유산균을 농도 별로 처리하였다. LPS(lipopolysaccharide)를 양성 대조군으로 시료를 구분하여 세포에 처리하였다. 상기와 같이 처리된 세포군들은 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 3 내지 48 시간 배양하였고, 배양액의 상층액은 -20 $^{\circ}$ C에 보관하여 사이토카인 생성량 및 세포 독성 측정을 위해 사용하였다.
- [0105] **세포 독성 측정(MTT Assay)**
- [0106] 간세포주를 96-웰 미량정량판(microtiter plate)에 세포 농도 5 \times 10⁶ cells/ml로 조절하여 100 μ l씩 웰에 넣고 간 독성 물질을 농도 별로 처리 한 다음, 1 시간 동안 배양하였다. 배양액을 교환한 후, MTT 라벨링 시약에 전자 커플링 시약(electron coupling reagent)을 첨가하여 준비한 MTT 라벨링 혼합물을 각 웰 당 10 μ l씩(최종 농도 0.5mg/ml) 4 시간 처리하였다. 처리 후, 흡광도(550 nm)를 이용하여 준비된 프로바이오틱스 사균 자체의 세포 독성을 측정하였다.
- [0108] **배양액 내 LDH(Lactate Dehydrogenase) 측정**
- [0109] LDH 활성은 기질 피루베이트(pyruvate)가 락테이트(lactate)로 감소되는 정도를 조사하여 측정하였다. 이 감소는 reduced NADH가 산화되고, 340 nm에서 최대 흡광도를 나타낸다. 0.1 M 포타슘 포스페이트 버퍼(potassium phosphate buffer, pH 7.5) 2.7 ml을 큐벳에 넣고 0.1 ml 배양 배지를 첨가하고, 0.02 M 소듐 피루베이트 0.1 ml을 넣은 후, NADH(0.2 mg) 0.1 ml을 첨가하여 잘 섞어준 다음, 2 분 동안 흡광도(340 nm)를 측정하였다.
- [0111] **간세포 내 ROS(Reactive Oxygen Species) 측정**
- [0112] 간세포 내 ROS의 양은 형광 프로브인 DCF-DA를 사용하여 측정하였다. 배양액에 DCF-DA(2',7'-Dichlorofluorescein diacetate)를 웰 당 25 μ M로 처리하여 15분간 배양한 후, 유산균과 미세먼지를 처리하였다. 반응 후 형성된 세포 내 과산화물은 여기 파장(485 nm)과 방출 파장(530 nm)에서 형광을 측정하였다.
- [0114] **사이토카인 측정: TNF-alpha, IL-6, IL-1beta**
- [0115] 비장세포를 분리하여 배양액에 축적된 사이토카인 농도를 효소결합면역흡착검사(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)법을 이용하여 측정하였다(ELISA kit, R&D system, USA). 사이토카인에 대한 항체가 코팅 되어 있는 웰 플레이트에 상층액 시료 100 μ l을 넣어 상온에서 2 시간 반응시킨 후, 상층용액을 제거하고 PBS와 트윈 20(Sigma)을 섞어 만든 세척 버퍼로 5 회 이상 세척하였다. 검출 안티바디(detection antibody) 용액을 넣어 항체와 반응시킨 후, 아비딘(Avidin)과 결합된 HRP(Horseradish Peroxidase) 효소를 넣어 상온에서 15 분 동안 반응시켰다. 이후, HRP 효소에 대한 기질로 TMB 용액을 넣어 반응시켜 색상의 변화를 확인하였다. 시료에 사이토카인이 존재하면 색상의 변화가 나타나므로, 이 변화를 통해 사이토카인의 생성 유무를 알 수 있다. 스타프 용액(H₂SO₄)을 넣어 HRP 효소와 TMB 기질의 반응을 종결 시킨 후, 마이크로플레이트 리더(microplate reader, Thermo)를 이용하여 흡광도(450 nm)를 측정하였다.
- [0117] **산화 스트레스 제거 효소 활성 측정: SOD, HO-1**
- [0118] 산화 스트레스 제거 효소 중 HO-1(Heme Oxygenase) 및 SOD(Super-oxide Dismutase)의 활성을 측정하기 위하여, 간세포에 시료를 처리하고 난 후 PBS 용액을 넣고 세포를 파쇄한 다음, 원심분리를 3000 \times g에서 15 분 동안 수행하였다. 간세포에서의 SOD 활성은 evaluated with SOD 키트(AAT Bioquest)를 이용하여 흡광도를(560 nm) 측정하였다. HO-1의 활성도는 Kuttly 및 Maines 방법에 준하여 측정하였다.

[0120] **간 독성 및 신장 독성 지표 평가**

[0121] In vivo 실험동물의 혈청으로 유리되어 나오는 ALT 및 AST의 양을 측정함으로써, 간세포 손상 여부를 확인하였다. ALT 및 AST의 양은 라이트만-프란켈(Reitman-Frankel) 방법에 준하여 측정하였다. 혈청 내의 LDH(lactate dehydrogenase)활성은 LDH 키트(Roche Diagnostics LDH kit)를 이용하여 측정하였다. 신장의 손상을 측정하는 혈중 지표인 BUN(Blood urea nitrogen)은 일반 상용 분석키트를 이용하였다(아산제약).

[0123] **통계 처리**

[0124] 상기 실시예들에서 수득된 결과는 Statistical Package for Social Sciences(SPSS, 21, IBM, Armonk, NY, US A)를 이용하여 일원배치 분산 분석(one way ANOVA test)으로 분석하였으며, 시료 간의 유의성은 양측검정(Student's two tailed t-test)으로 P<0.05 수준에서 비교하였다.

[0126] **1. 미세먼지로 인한 세포 독성 완화 효능 평가(In vitro)**

[0127] **1-1. 균주의 16S-rRNA 결과**

[0128] 락토바실러스 퍼멘텀 LM1016 (*Lactobacillus fermentum* LM1016, 기탁번호 KFCC11756P)의 16s rRNA 염기서열 분석 결과는 서열번호 1로 표시되어 있다.

[0130] **1-2. 세포 독성 측정(MTT assay, LDH 활성도 측정)**

[0131] 인간 간세포인 HepG2 세포에서 유산균의 세포 처리 농도를 설정하기 위하여 유산균 시료들을 48 시간 까지 처리한 후 세포 독성을 실험한 결과, 10 µg/ml의 농도 이하에서는 세포 독성이 나타나지 않았다(표 1). 따라서, 세포 독성이 나타나지 않는 농도(1 내지 10 µg/ml 이하)에서 유산균 시료의 미세먼지로 인한 세포 독성 완화 효능을 측정하였다. 세포 독성은 유리된 LDH의 활성도로 측정하였다(표 1).

[0132] HepG2 세포들은 무-세럼(Serum-free) 배지에서 밤새 배양된 후, 0.1 내지 10 ug/ml의 농도의 유산균으로 48 시간 동안 처리되었다. 세포활성은 MTT assay를 통해서 분석되었으며, 세포 독성은 LDH(Lactate Dehydrogenase assay)를 통해서 분석되었다. 모든 데이터는 3 번 실험 후, 표준편차 값을 계산하여 표기되었다.

표 1

[0133]

Group	Cell viability (% of control)			LHD leakage assay (fold of control)	
		48 hr			
Normal		100.0±	4.2	1.00±	0.01
LM1001	1ug/ml	101.9±	2.8	1.01±	0.01
	5 ug/ml	101.2±	1.4	1.07±	0.04
	10ug/ml	98.7±	3.3	1.16±	0.02
LM1009	1ug/ml	100.1±	5.4	1.03±	0.02
	5 ug/ml	101.2±	2.1	1.04±	0.01
	10ug/ml	100.0±	3.0	1.10±	0.04
LM1011	1ug/ml	101.4±	2.0	1.02±	0.01
	5 ug/ml	101.0±	3.2	0.99±	0.02
	10ug/ml	99.5±	4.2	1.07±	0.03
LM1012	1ug/ml	101.3±	8.7	1.05±	0.04
	5 ug/ml	100.7±	5.1	1.06±	0.02
	10ug/ml	100.6±	8.0	1.07±	0.02
LM1014	1ug/ml	102.2±	5.3	1.01±	0.03
	5 ug/ml	102.0±	3.3	1.03±	0.02
	10ug/ml	101.9±	2.7	1.07±	0.01
LM1016	1ug/ml	101.0±	4.6	1.03±	0.02
	5 ug/ml	100.6±	8.4	1.03±	0.01
	10ug/ml	98.1±	5.6	1.10±	0.03
LM1019	1ug/ml	101.5±	10.4	1.04±	0.01
	5 ug/ml	103.6±	10.2	1.04±	0.01
	10ug/ml	98.0±	4.8	1.13±	0.02

LM1060	1ug/ml	100.9±	1.8	1.01±	0.02
	5 ug/ml	99.1±	4.5	1.04±	0.02
	10ug/ml	98.4±	3.9	1.11±	0.02
LM1061	1ug/ml	99.2±	2.5	1.02±	0.02
	5 ug/ml	98.8±	7.6	1.05±	0.02
	10ug/ml	98.8±	5.6	1.13±	0.02
LM1062	1ug/ml	100.8±	4.9	0.99±	0.02
	5 ug/ml	100.7±	2.9	1.06±	0.01
	10ug/ml	98.6±	3.7	1.12±	0.03
LM1063	1ug/ml	101.6±	6.7	1.02±	0.02
	5 ug/ml	100.0±	4.1	1.09±	0.02
	10ug/ml	99.1±	4.5	1.15±	0.01

[0135] 유산균의 미세먼지로 인한 세포 독성 완화 효능 연구를 위해, HepG2 세포주에서 유산균(LM1001, LM1009, LM1011, LM1012, LM1016, LM1019, LM1060, LM1061, LM1062, 및 LM1063)은 1 시간 전처리 후 미세먼지(diesel exhaust particulate matter, DEPM)를 24 시간 처리하였다(100 ug, DEPM/ml). 처리한 후, MTT 실험법으로 인간 간세포주(HepG2 cells)의 생존율을 측정하여 그래프로 나타내었다. 유산균 균주와 미세먼지를 처리하지 않은 정상 대조군(control)은 NA1로 나타냈으며, 미세먼지만 처리한 스트레스 대조군은 NA2로 함께 나타내었다.

[0136] 도 1의 정상 대조군(NA1)과 스트레스 대조군(NA2)의 비교에서, 미세먼지(DEPM)에 의해 세포 활성이 감소하여 인간 간세포주(HepG2 cell)의 생존율은 20%가 감소하였다. 미세먼지를 처리한 스트레스 대조군과 비교하여, LM1001, LM1011, LM1012, LM1016, LM1061을 전처리한 인간 간세포주는 미세먼지를 처리한 후에도 91% 이상의 생존율을 유지함을 확인하였다.

[0137] 또한, 세포 독성을 측정한 결과, 인간 간세포주에 미세먼지를 처리하였을 때 세포 손상에 의해 유리된 LDH양(NA2)은 정상 대조군(NA1)에 비해 1.4 배 증가하였다. LM1001, LM1011, LM1012, LM1016, LM1060, LM1061 유산균을 전처리한 인간 간세포주 HepG2로부터 유리된 LDH의 양은 정상 대조군의 수준과 같았으며, 이를 통해 세포 독성이 유의성 있게 감소함을 확인하였다.

[0139] **1-3. 미세먼지로 인한 산화적 스트레스 감소 효능 평가**

[0140] 미세먼지로 인한 산화적 스트레스 감소 효능 평가는 세포 내 ROS(Reactive Oxygen Species) 생성에 대한 효능 평가와 SOD(Superoxide Dismutase) 또는 HO-1(Heme Oxygenase-1) 활성 평가를 통해 HepG2 세포주를 이용하면서 실시 되었다.

[0141] 본원 발명의 유산균 균주를 포함한 11 종의 유산균을 인간 간세포주에 1 시간 동안 처리한 후 미세먼지를 처리하여 24 시간 동안 배양한 뒤, 생성된 ROS의 농도 의존적으로 발생하는 형광 정도(DCF-DA)를 통해 세포 내 활성 산소종(ROS) 농도를 측정하였다.

[0142] 실험 결과, 인간 간세포주 내의 활성산소종이 미세먼지에 의해 약 2.2배 가량 증가하였고, LM1001, LM1011, LM1012, LM1016, LM1060, 또는 LM1061 유산균에 의해 인간 간세포주 내의 활성산소종이 감소함을 확인하였다(도 3).

[0143] SOD와 HO-1의 평가를 위해 HepG2 cell에 미세먼지를 처리하고 난 후 24 시간 후에 세포를 수거하여 세포 내의 SOD의 활성도(도 4) 및 HO-1의 활성도(도 5)를 측정하였다. 실험 결과, 미세먼지 처리는 HO-1 효소의 활성을 증가시켰으며, 유산균인 LM1001, LM1012, 및 LM1016 처리에 의해서 더욱더 증가함을 확인하였다(도 5). HO-1효소는 HepG2 cell에 가해지는 스트레스가 증가할수록 스트레스를 줄이기 위한 반응으로써 더욱 증가한다. 또한, 반대로 미세먼지를 처리하지 않은 정상 대조군(NA1)의 경우에 비하여 미세먼지 처리와 함께 SOD 효소의 활성은 상대적으로 감소하였으며, 유산균인 LM1001, LM1012, 및 LM1016 처리에 의해서 SOD활성이 유의성 있게 정상 상태로 복구, 증가함을 확인하였다(도 4).

[0145] **1-4. 미세먼지로 인한 염증성 사이토카인에 대한 영향 평가**

[0146] 미세먼지로 인한 염증성 사이토 카인(TNF-α, IL-6, IL-1β 등)에 대한 영향 평가를 위해 Rat 비장세포에서 유산균은 1시간 전처리 후 미세먼지(diesel exhaust particulate matter, DEPM)를 3 내지 24 시간 처리하였다.

[0147] 미세먼지를 처리하고 난 후 3 내지 24 시간 후에 배양 배지로 유리된 사이토카인 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 양을 ELISA assay를 활용하여 측정하였다. 실험 결과, 미세먼지 처리에 의하여 인간 간세포주의 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 생성이 증가하였으며, LM1001, LM1012, 및 LM1016의 군주에 의해서 TNF- α 의 생성량은 감소하였고(도 6a), IL-6의 생성량은 LM1001, LM1011, LM1012, LM1014, LM1016, 및 LM1060(도 6b)의 군주에 의해서 감소하였다. 또한, IL-1 β 생성량은 LM1001, LM1012, 및 LM1016의 군주에 의해서 감소하였다(도 6c).

[0149] **2. 유산균의 미세먼지로 인한 장기조직 독성 완화 효능 평가(in vivo)**

[0150] **2-1. 몸무게, 간, 비장 및 신장의 무게 측정**

[0151] 본원에서, 유산균의 미세먼지로 인한 장기조직 독성 완화 효능 연구(in vivo)를 위하여 미세먼지(diesel exhaust particulate matter: 100 mg/kg)와 유산균(10 mg/kg)을 매일 14 일 동안 구강 투여하였다. 치료 투여 후 몸무게, 간, 비장 및 신장의 무게 측정하였다. 실험 결과, 미세먼지를 투여한 그룹과 유산균과 미세먼지를 동시에 투여한 그룹 간의 장기들의 변화는 관찰되지 않았다.

[0152] 마우스는 매일 100 mg, DEPM/kg, 몸 무게와 유산균 10 mg/kg, 몸무게의 농도로 14 일 동안 섭취되었다. 14 일 후, 마우스는 조직 이상변이와 무게변화 측정을 위해 마우스는 해부 되었으며, 따르는 데이터(n=6)는 표준편차를 계산하여 표시되었다.

[0153] 또한, 각 조직의 무게 측정 시, 유산균을 먹이지 않고 DEPM만을 처리한 표준군에 비하여 각 유산균을 처리한 대조군에서 몸무게 및 각 조직에서의 유의성이 있는 무게 변화는 관찰되지 않았다(표 2). 실험 동물의 급격한 체중 변화는 건강 이상을 나타내는 지표 중의 하나이다. 본 실험 결과에서, 체중의 급격한 변화가 없다는 것은, 실험 동안 어떠한 질병이 발병하여 실험에 영향을 미치지 않음을 보여주는 지표이다.

표 2

[0154]

Group	Body weight (g)		Liver weight (g)		Spleen weight (mg)			Kidney weight (mg)	
Normal	23.0±	0.9	1.22±	0.05	72.5 5±	0.80	276. 6±	5.29	
DEP (100 mg/kg)	23.1±	1.04	1.21±	0.05	70.7 3±	1.00	275. 9±	5.14	
DEP+LM1001(10 mg/kg)	24.3±	0.94	1.28±	0.18	71.9 3±	1.06	278. 4±	3.36	
DEP+LM1009(10 mg/kg)	24.9±	1.06	1.28±	0.20	71.6 2±	1.99	276. 3±	4.98	
DEP+LM1011(10 mg/kg)	22.7±	0.74	1.27±	0.17	69.9 0±	1.70	281. 4±	9.02	
DEP+LM1012(10 mg/kg)	23.3±	0.92	1.32±	0.17	71.9 8±	1.23	275. 4±	5.16	
DEP+LM1014(10 mg/kg)	23.1±	0.86	1.28±	0.16	71.3 7±	1.02	278. 4±	4.64	
DEP+LM1016(10 mg/kg)	23.4±	1.61	1.19±	0.07	71.6 3±	1.48	274. 1±	4.19	
DEP+LM1019(10 mg/kg)	23.6±	0.89	1.30±	0.16	71.2 3±	2.01	274. 5±	3.44	
DEP+LM1060(10 mg/kg)	22.6±	0.64	1.07±	0.31	72.5 8±	0.71	276. 5±	4.31	
DEP+LM1061(10 mg/kg)	23.1±	1.08	1.25±	0.20	71.2 2±	0.79	277. 7±	5.30	
DEP+LM1062(10 mg/kg)	22.5±	1.04	1.33±	0.17	71.7 0±	0.83	277. 6±	7.00	
DEP+LM1063(10 mg/kg)	23.3±	0.79	1.25±	0.07	70.5 7±	2.23	280. 2±	3.74	

[0156] **2-2. 간장 독성 지표 및 신장 독성 지표 평가**

[0157] 본원에서, 간장 독성 지표 및 신장 독성 지표 평가 ALT, AST, LDH, BUN 측정을 위해 미세먼지(DEPM, 100 mg/kg)와 유산균(10 mg/kg)을 매일 14일 동안 구강 투여하였다.

- [0158] 시료 투여 후 간장 독성 지표 및 신장 독성 지표(ALT, AST, LDH, BUN 측정)를 측정하였다. 실험 결과에서 미세 먼지를 투여한 그룹에서 ALT, AST 및 LDH의 증가하였으며, 유산균인 LM1001, LM1012 및 LM1016을 투여한 그룹에서 혈중 ALT, AST 값이 유의적으로 감소하였으며(도 7), LDH의 값은 LA1001, LM1012, LM1016, LM1062를 처리한 그룹에서 유의적으로 감소됨을 확인하였다(도 8).
- [0159] 신장 독성의 유무를 판단하는 BUN(Blood Urea Nitrogen) 값은 미세먼지를 처리하지 않은 정상 대조군(NA1)과 미세먼지만을 처리한 스트레스 대조군(NA2)에서 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나, 미세먼지와 유산균을 모두 처리한 비교군 중에 LM1001, LM1012, LM1014 및 LM1016은 정상 대조군과 스트레스 대조군의 범위 내에서 유의성을 보이면서 혈중 BUN 생성량의 감소를 보였다. 이는, 미세먼지에 의해 손상된 신장기능에 의해 혈중 증가된 BUN의 농도가 유산균에 의해서 신장 손상의 완화와 함께 혈중 BUN의 농도가 정상 대조군과 스트레스 대조군 사이의 농도 범위 내에서 감소되는 것으로 고려된다.
- [0161] 전문한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0162] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

수탁번호

[0163]

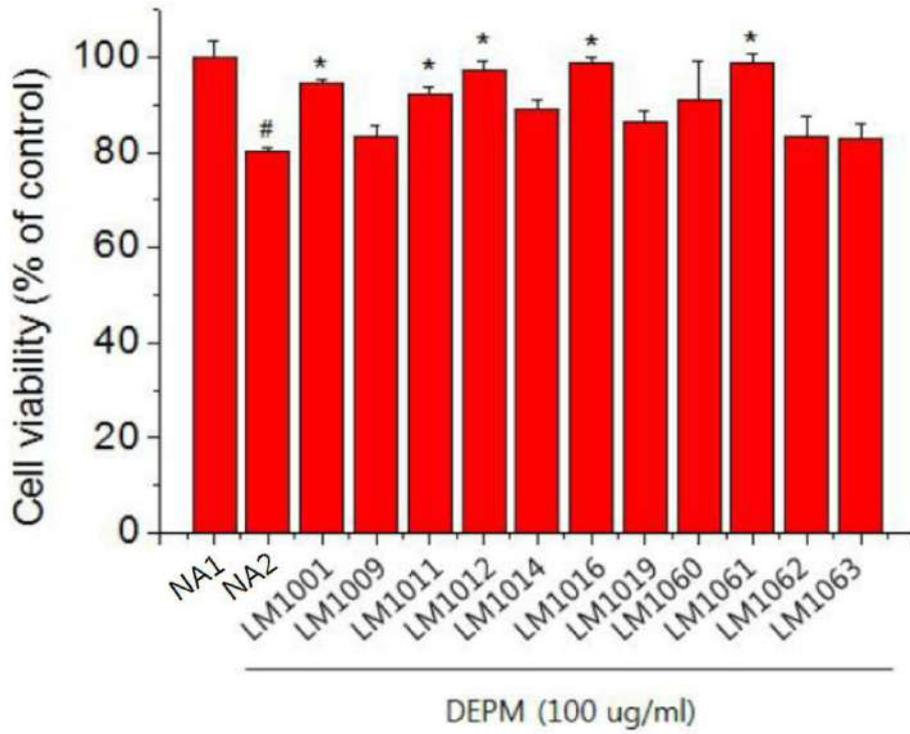
기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국내)

수탁번호 : KFCC11756P

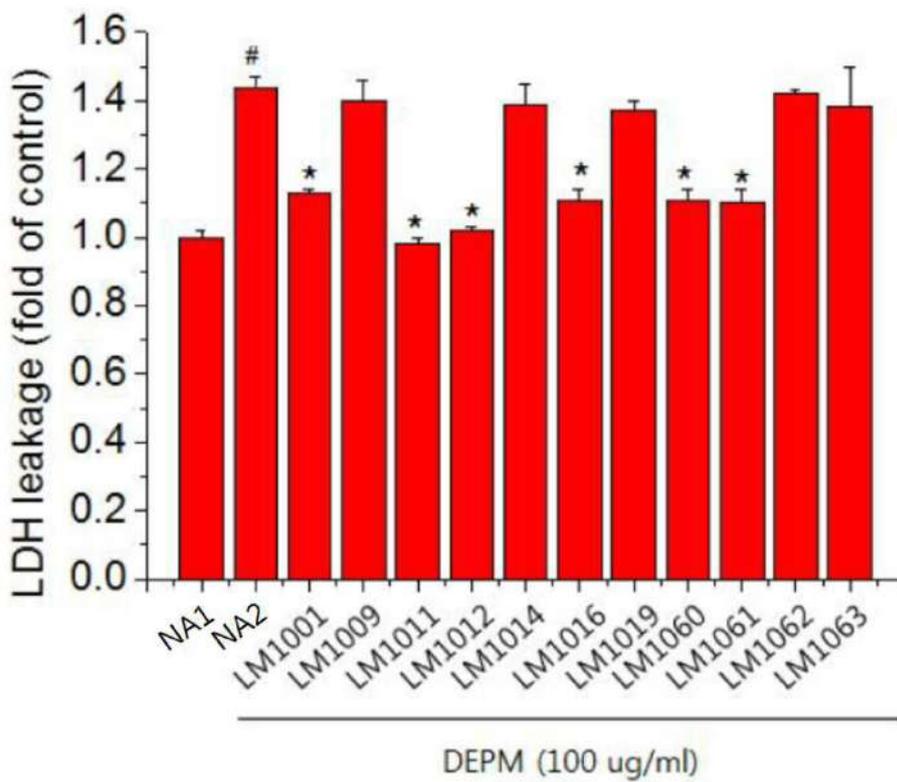
수탁일자 : 20171213

도면

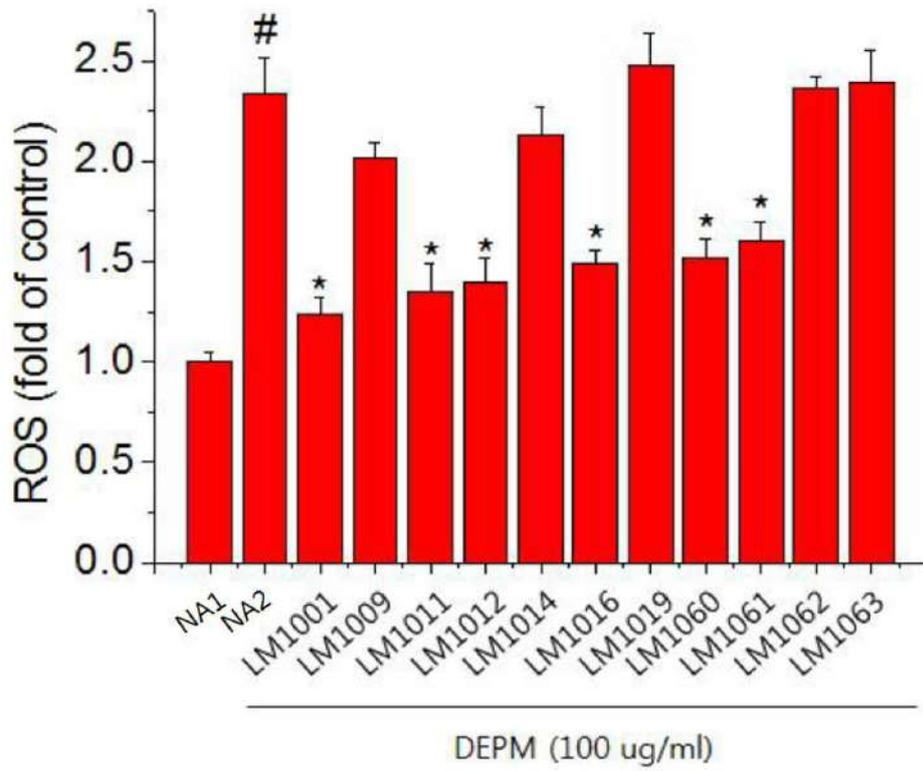
도면1



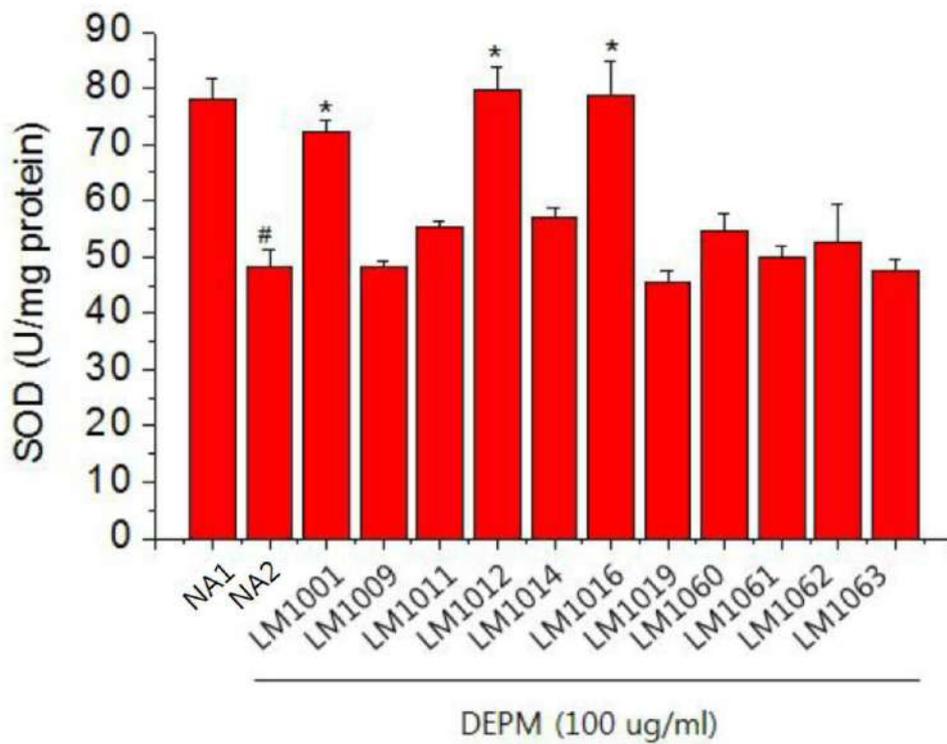
도면2



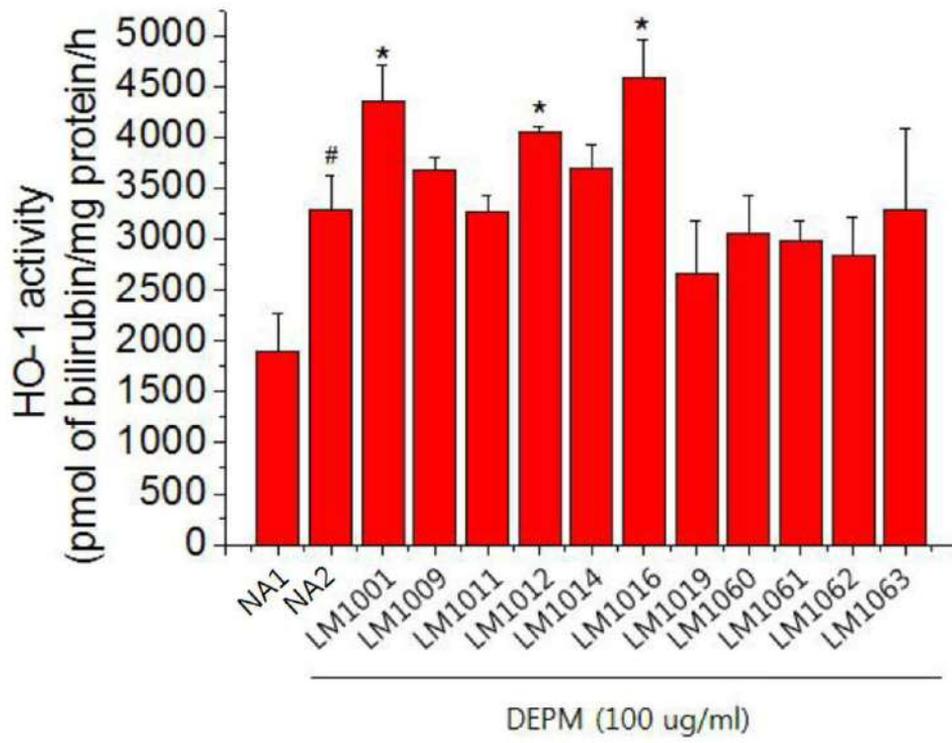
도면3



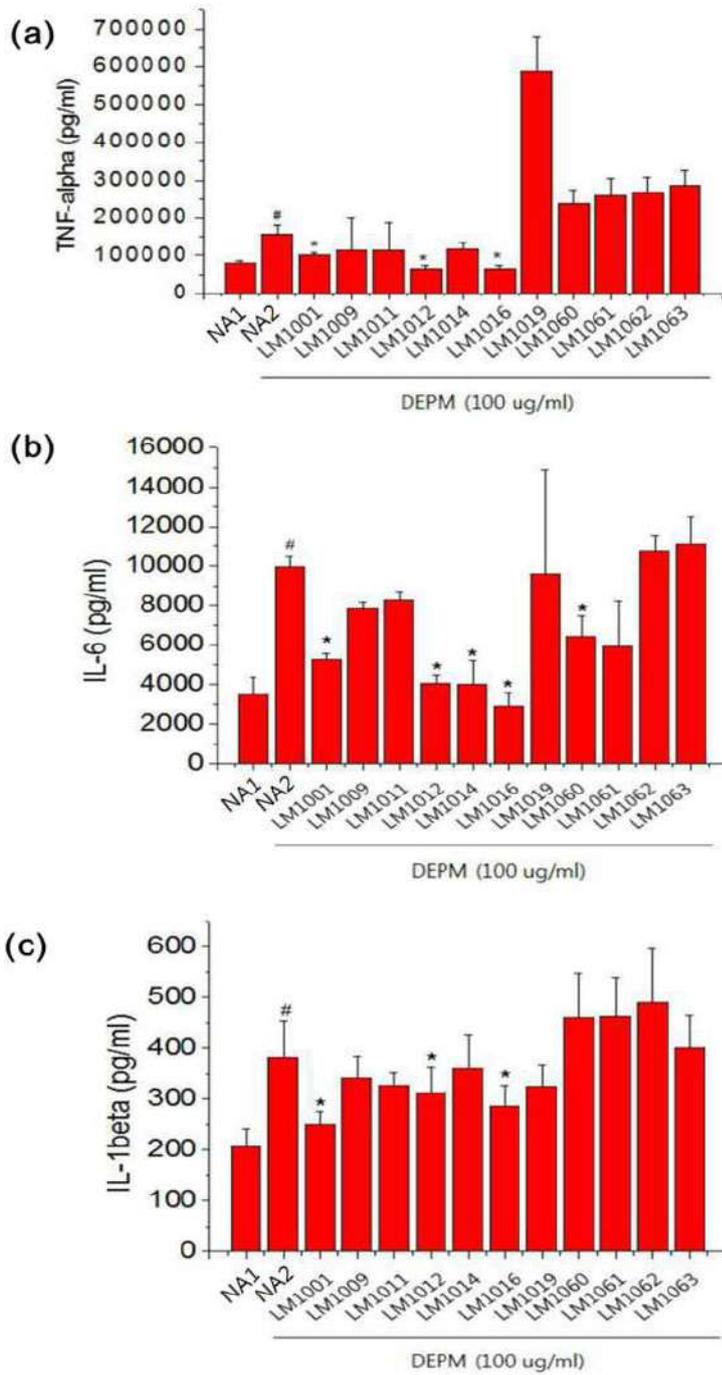
도면4



도면5

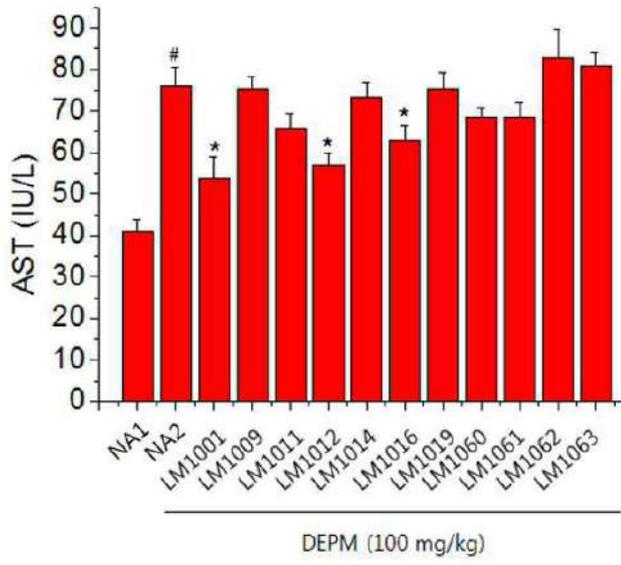


도면6

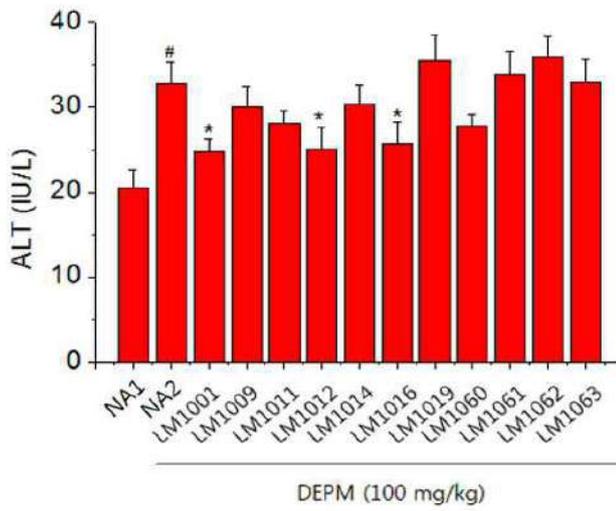


도면7

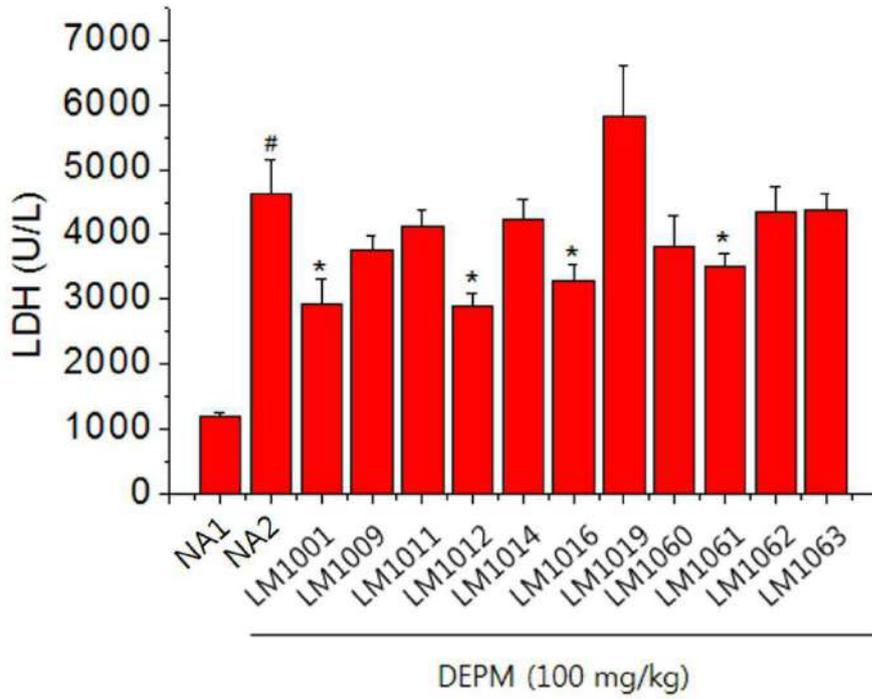
(a)



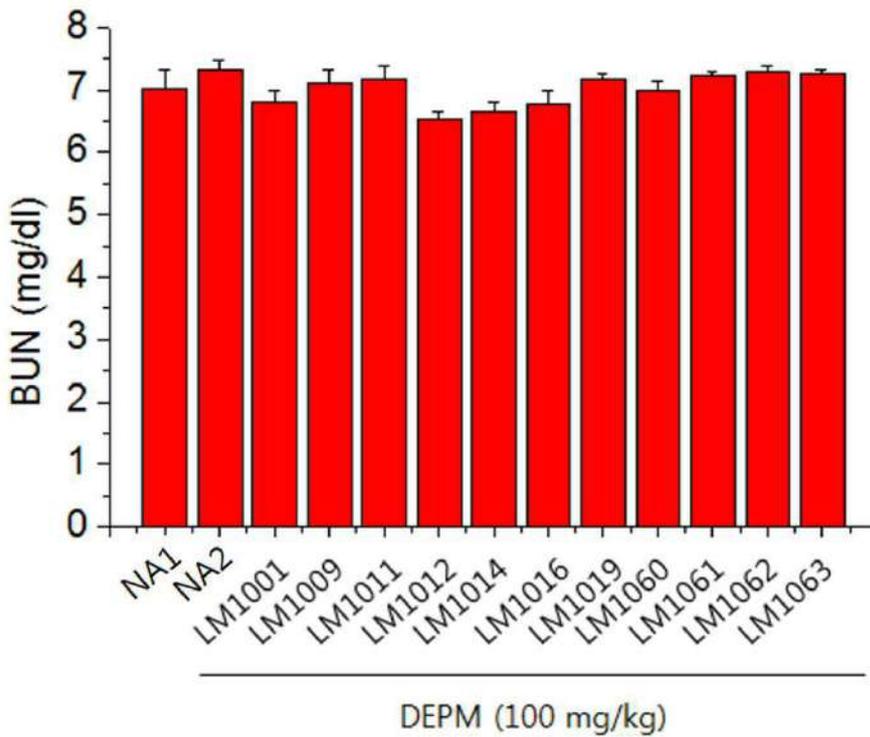
(b)



도면8



도면9



서열목록

<110> JEONNAM BIOINDUSTRY FOUNDATION

<120> LACTOBACILLUS FERMENTUM LM1016 AND COMPOSITION FOR PREVENTING OR

TREATING OF INFLAMMATORY DISEASES AND METABOLIC DISEASES
 COMPRISING THE SAME

<130> DP20180495KR

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 1483

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lactobacillus fermentum LM1016 16S-rRNA sequence

<400> 1

```

ctcaggatga acgccggcgg tgtgcctaata acatgcaagt cgaacgcggt ggcccaattg      60
attgatgggt ctigcacctg attgattttg gtcgccaacg agtggcggac gggtagtaa      120

cacgtaggta acctgcccag aagcggggga caacatttgg aaacagatgc taataccgca      180
taacaacggt gttcgcatga acaacgctta aaagatggct tctcgctatc acttctggat      240
ggacctgcgg tgcattagct tgttgggtggg gtaacggcct accaaggcga tgatgcatag      300
ccgagttgag agactgatcg gccacaatgg gactgagaca cggcccatac tctacggga      360
ggcagcagta gggaatcttc cacaatgggc gcaagcctga tggagcaaca ccgcgtgagt      420
gaagaagggt ttcggctcgt aaagctctgt tgttaaagaa gaacacgtat gagagtaact      480
gttcatacgt tgacggtatt taaccagaaa gtcacggcta actacgtgcc agcagccgcg      540

gtaatacgtg ggtggcaagc gttatccgga tttattgggc gtaaagagag tgcagcgggt      600
tttctaagtc tgatgtgaaa gccttcggct taaccggaga agtgcacatcg aaactggata      660
acttgagtgc agaagagggt agtgaactc catgtgtagc ggtggaatgc gtagatata      720
ggaagaacac cagtggcgaa ggccgctacc tggctctgca ctgacgctga gactcgaag      780
catgggtagc gaacaggatt agataccctg gtagtccatg ccgtaaacga tgagtctag      840
gtgttgagg gtttccgcc ttcagtgcc gagctaacgc attaagcact ccgcctgggg      900
agtacaccg caaggttgaa actcaaagga attgacgggg gcccgcaaa gcggtggagc      960

atgtggttta attcgaagct acgcaagaa ccttaccagg tcttgacatc ttgcgcaac      1020
cctagagata gggcggttcc ttcgggaacg caatgacagg tggatcatgg tcgtcgtcag      1080
ctcgtgtcgt gagatgttgg gttaagtecc gcaacgagcg caacccttgt tactagtgc      1140
cagcattaag ttgggcactc tagtgagact gccggtgaca aaccggagga aggtggggac      1200
gagctcatg catcatgccc cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa tggacggtac      1260
    
```

aacgagtcgc gaactcgcga gggcaagcaa atctcttaaa accgttctca gttcggactg	1320
caggctgcaa ctgcctgca cgaagtcgga atcgctagta atcgcgatc agcatgccgc	1380
ggtggaatac gttcccgagg ccttgtaac accgccccgt cacacatga gagtttgtaa	1440
cacccaaagt cggtagggta accttttagg agccagccgc cta	1483