



(19) 대한민국 지식재산청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2026년01월27일  
(11) 등록번호 10-2918661  
(24) 등록일자 2026년01월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 33/135 (2016.01) A23L 7/152 (2016.01)  
C12N 1/20 (2026.01) C12R 1/225 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A23L 33/135 (2016.08)  
A23L 7/152 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2024-0076510
- (22) 출원일자 2024년06월12일  
심사청구일자 2024년06월12일
- (65) 공개번호 10-2025-0176413
- (43) 공개일자 2025년12월19일
- (56) 선행기술조사문헌  
KR1020230014932 A  
Antioxidants 2024, 13, 544.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050544>,  
2024.04.29.  
KR1020200140606 A  
KR1020220024383 A
- (73) 특허권자  
주식회사 에치와이  
서울특별시 서초구 강남대로 577 (잠원동)
- (72) 발명자  
전수민  
경기도 부천시 원미구 신흥로96번길 19  
홍동기  
경기도 용인시 기흥구 금화로82번길 17  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
박혁

전체 청구항 수 : 총 6 항

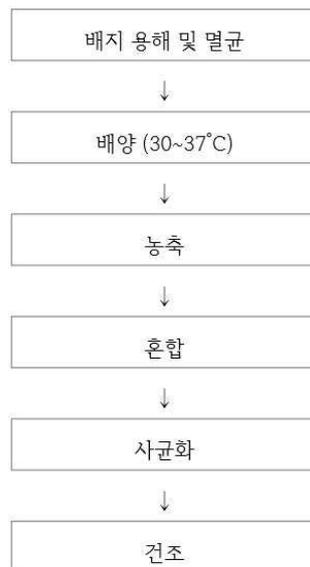
심사관 : 하혜경

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 파라카제이(Lacticaseibacillus paracasei) HY7017를 포함하는 사균체 조성물

(57) 요약

본 발명은 락토바실러스 파라카제이(Lacticaseibacillus paracasei) HY7017를 포함하는 사균체 조성물에 관한 것으로, 발아귀리 추출물에서 배양된 락토바실러스 파라카제이(Lacticaseibacillus paracasei) HY7017 균주의 사균체를 포함하여 장 건강을 개선에 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**C12N 1/20** (2021.05)  
*A23V 2002/00* (2023.08)  
*A23V 2200/32* (2013.01)  
*A23V 2400/165* (2023.08)  
*C12R 2001/225* (2021.05)

(72) 발명자

**김지현**

경기도 화성시 동탄대로 557-9, 우성르보아시티 오  
 피스텔 1404호

**김동건**

경기도 수원시 영통구 동탄원천로1109번길 42, 성  
 일아파트 101동 905호

**박수동**

경기도 용인시 기흥구 사은로 126번길 31, 신창미선  
 힐 205-1903

**김용태**

경기도 화성시 병점1로 65 병점역센트럴허브시티  
 103동 606호

**심재중**

경기도 용인시 수지구 신봉2로 26, 신봉자이 1차  
 114동 1002호

**이재환**

경기도 수원시 영통구 태장로 45, 망포마을 현대2  
 차 아이파크 201동 101호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2540000303
과제번호	00401707
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	농생명마이크로바이옴혁신 기술기반구축사업
연구과제명	글로벌 시장 진출을 위한 프로바이오틱스 대량생산 및 파라-프로바이오틱스(사균체)
소재화 기술 개발	
과제수행기관명	고려대학교 세종산학협력단
연구기간	2024.04.01 ~ 2028.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

발아귀리 추출물을 포함한 배양액에서 배양된 락토바실러스 파라카제이(*Lactocaseibacillus paracasei*) HY7017 균주의 사균체를 포함하는 장 건강 개선용 식품 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 발아귀리 추출물은 배양액 전체 중량 대비 0.5 내지 2% 포함되는 것인 식품 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 배양액에서 배양된 HY7017 균주의 사균화는 120 내지 125℃에서 10 내지 20분간 이루어지는 것인 식품 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 사균체는 아베난쓰라마이드를 지표물질로 포함하는 것인,

식품 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 식품 조성물은 ZO-1 의 발현량을 증가시키는 것인 식품 조성물.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

상기 장 건강 개선은 장 세포 사이의 간격을 좁혀 밀착연접을 강화하는 것인, 식품 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 파라카제이(*Lactocaseibacillus paracasei*) HY7017를 포함하는 사균체 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 여러 가지 유익한 작용을 하는 미생물을 프로바이오틱스(probiotics)라고 하는데, 프로바이오틱스의 정의는 점차 확대되어 1989년 Fuller는 프로바이오틱스를 "장내 균총을 개선시켜 줌으로써 숙주에게 유익한 영향을 주는 생균체"라고 정의하였고 살아있는 미생물로서의 정립이 이루어졌지만 1999년 Salminen 등은 "숙주에 유익한 작용을 갖는 미생물 또는 미생물의 성분"으로 정의함으로써 프로바이오틱스의 범위를 사균(死菌) 및 그 균체 성분으로까지 확대시켰다. 최근 들어서는 사균 및 그 균체 성분으로까지 확대되어 정의되던 프로바이오틱스 개념에서 새로운 포스트바이오틱스(postbiotics)라는 새로운 개념이 나타났다. 포스트바이오틱스는 생균과 대사(발효)산물들을 열처리 등에 의해 균의 성장이 일어나지 못하도록한 형태로 균체성분과 대사(발효)산물은 직접 또는 간접적으로 장내 면역을 조절한다고 알려져 있다(Aguilar-Toal JE et al., Trends Food Sci Technol, 2018). 균체성분으로 세포질(cytoplasm), 세포벽(cell wall), 리포테이코산(lipoteichoic acid), 테이코산(eichoic acid), 펩티도글리칸(peptidoglycan), DNA 등이 있으며, 대사(발효)산물은 유기산(organic acid), 단쇄지방산(short chain fatty acid), 다당류(polysaccharides) 등을 포함하고 있다. 대표적인 부산물인 유기산은 면역세포가 집결되어 있는 파이엘판을 자극하여 면역물질이 나오게 하며 주변의 유해물질을 억제하는 작용을 한다. 포스트바이오틱스는 여러 가지 사균화 방법이 보고되고 있는데 물리적 방법으로는 기계적 파괴(mechanical disruption), 열처리(heat treatment), 감마 또는 UV 조사(gamma- or UV irradiation), 고수압(High hydrostatic pressure), 동결건조(Freeze-drying), 음파처리(Sonication)가 있으며, 화학적 방법으로는 산성 탈수활성(Acid deactivation), 효소처리(enzymatic treatment), 용매추출(solvent extract)법이 있다. 포스트바이오틱스는 heat-treated probiotics, ghost probiotics, inactivated probiotics, paraprobiotics, 유산균 사균체(乳酸菌 死菌體), 열처리 유산균(熱處理 乳酸菌), 유산균 추출물(乳酸菌 抽出物) 등 다양한 용어로 불리고 있다.

[0004] 포스트바이오틱스(사균)는 프로바이오틱스(생균) 보다 다양한 장점을 가지고 있어 이미 일본, 미국 및 유럽에서는 다양한 형태로 상용화되고 있다. 프로바이오틱스는 위장관 내 물리, 화학적(위산, 담즙, 소화효소) 소화과정에 의해 대부분 사멸하여 외부환경에 의한 안정성이 떨어지고 열에 불안정하여 유통과정의 저온보관이 필요하고 이로 인한 저온보관 및 저온배송이 필요함에 따라 생산비용이 증가하게 된다. 또한 열에 불안정하여 살균처리 공정이 포함된 제품 등의 적용이 불가능하다는 단점이 발생한다. 포스트바이오틱스의 경우, 이미 균의 성장이 일어나지 못하도록한 형태로 위장관 내 물리, 화학적 소화과정에 영향을 받지 않으며, 열에 안정하여 보관기간 별 일정한 기능성을 나타내고, 저온보관 및 저온배송이 불필요함에 따라 생산비용을 절감할 수 있다. 또한 열 안정성이 있어 살균처리 공정이 포함된 제품에 적용이 가능하여 적용 제품의 다양성을 가진다. 이러한 특징으로 포스트바이오틱스는 프로바이오틱스 보다 소재 안정성이 있어 산업적 적용의 범위가 넓고, 유통과정에서 다루기가 쉽고, 일반식품에도 첨가되어 식품의 기능성을 강화하면서 면역조절 기능에서 프로바이오틱스와 동일한 효과로 건강기능식품, 식품첨가제, 의약품, 동물사료 등과 같은 기존의 유산균이 적용되어 온 분야 외에도 화장품 원료로도 적용되어 그 시장이 확대되고 있다. 또한 항생제 사용에 대한 규제가 강화되고 있기 때문에 대체제로서 활용성과 아직 사균체 제품 생산에 본격적으로 뛰어들지 못한 업체가 손에 꼽을 정도이기 때문에 시장성과 성장 가능성은 크다고 할 수 있다. 특히 일본에서는 이미 사균체 제품이 많이 출시되어 꽃가루 알러지 등 면역 관련 효능을 기반으로 홍보하고 있다. 하지만 국내는 아직 개별인정소재로 인정받은 소재가 없을 뿐 아니라 관련 제품 또한 수입에 의존하고 있다.

[0005] 이에 본 발명자들은 장 건강개선에 도움이 될 수 있는 다양한 소재를 연구하던 중 발아귀리 추출물을 포함한 배양액에서 배양된 락토바실러스 파라카제이(*Lactocaseibacillus paracasei*) HY7017 균주의 사균체가 간 건강 개선에 도움이 될 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제 10-2023-0127504 호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0008] 본 발명의 일 양상은 발아귀리 추출물을 포함한 배양액에서 배양된 락토바실러스 파라카제이

(*Lacticaseibacillus paracasei*) HY7017 균주의 사균체를 포함하는 장 건강 개선용 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0010] 본 발명의 일 양상은 발아귀리 추출물을 포함한 배양액에서 배양된 락토바실러스 파라카제이 (*Lacticaseibacillus paracasei*) HY7017 균주의 사균체를 포함하는 장 건강 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0011] 상기 발아귀리 추출물은 귀리 종자를 발아시킨 후, 용매 추출하여 수득한 것으로, 아베난쓰라마이드를 포함하고 있다. 상기 아베난쓰라마이드는 아베난쓰라마이드 A, 아베난쓰라마이드 B, 아베난쓰라마이드 C 중 하나 이상을 포함한 것일 수 있다. 상기 아베난쓰라마이드는 폴리페놀로 알려진 페놀 화합물 부류로, 보통 귀리, 특히 곡물의 겨와 껍질 부분에서 발견되나 균주의 사균체에서 발견된 바는 없었다. 이러한 발아귀리 추출물은 공지의 방법으로 발아된 귀리를 원료로 하여 제조된 것을 의미하며, 일 예시로, 귀리를 상온에서 3 내지 16시간, 바람직하게는 3 내지 8시간, 더욱 바람직하게는 3 내지 5시간, 더욱 바람직하게는 3.5 내지 4.5시간 동안 수침한 후 20 내지 30 °C 바람직하게는 22 내지 28 °C 더욱 바람직하게는 24 내지 26 °C에서 24 내지 72시간, 바람직하게는 36 내지 60시간, 더욱 바람직하게는 40 내지 56시간, 더욱 바람직하게는 46 내지 50시간 동안 발아시킨 것일 수 있다.
- [0012] 본 발명의 일 구체예로, 상기 발아귀리 추출물은 배양액 전체 중량 대비 0.5 내지 2%, 더욱 구체적으로는 1% 포함되는 것일 수 있다.
- [0013] 상기 배양액은 상기 발아귀리 추출물을 제외하고는 공지의 조성으로 이루어질 수 있고 제한되지 않으며, 상기 균주에 최적인 공지의 배지를 사용할 수 있다. 구체적으로 MRS 배지, TGY 배지, BHI 배지, M17 배지 등이 있다. 또한 배지의 pH 는 상기 균주가 배양될 수 있는 범위라면 크게 제한되지 않으며, 일 예로 약 4.5~7.0이다. 상기 균주들을 배양하기 위한 배양 온도 또한 크게 제한되지 않으며, 일 예로 약 25~45°C이다.
- [0014] 상기 락토바실러스 파라카제이(*Lacticaseibacillus paracasei*) HY7017 균주는 2021년 6월 16일 한국생명공학연구원 생물자원센터(KRIBB)에 기탁하였다. 수탁번호는 KCTC14616BP이다.
- [0015] 상기 사균체는 생균의 반대되는 개념으로서 발효를 통해 얻어진 생균과 대사산물들을 열처리 등의 공정을 통해 성장을 억제한 형태를 의미하고, 상기 사균체는 세포질, 세포벽, 박테리옌 등의 항균활성 물질, 다당류, 유기산 등을 포함할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일 구체예로 상기 배양액에서 배양된 HY7017 균주의 사균화는 120 내지 125°C에서 10 내지 20분간, 일 예시로 121 °C에서 15분간 이루어진 것일 수 있다.
- [0017] 상기 사균체는 일예시로 유산균 배양 배지에 1%의 발아귀리 추출물을 첨가, 멸균한 뒤, 멸균한 배지에 락토바실러스 파라카제이 HY7017을 접종하여 30°C 내지 37°C에서 24시간동안 배양하고, 이를 원심분리 및 균체를 회수하고, 이를 멸균된 PBS와 혼합하여 희석한 뒤 121°C에서 15분간 열처리하여 사균화하는 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0018] 그리고, 상기 식품 조성물에 포함되는 사균체는 통상적인 의미와 같이 배양 및 열처리로 사균화된 것을 의미할 수 있으나, 상기 균주가 배양된 배양액도 포함될 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 구체예로, 상기 사균체는 아베난쓰라마이드를 지표물질로 포함하는 것일 수 있고, 일 예시로 아베난쓰라마이드가 0.28% 내지 0.42% 일 수 있다. 본 발명의 사균체는 아베난쓰라마이드의 함량이 귀리 혹은 발아귀리의 아베난쓰라마이드 함량 보다도 높은 것이다 (도 3 참조).
- [0020] 구체적으로, 도 3에서는 발아귀리를 함께 넣어 배양한 typestrain 사균에서는 아베난쓰라마이드가 검출되지 않았고, HY7017의 사균체에서 측정된 아베난쓰라마이드 A, B, C의 함량이 다른 균주와 다르다는 특징을 확인할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 구체예로, 상기 사균체는 아베난쓰라마이드를 지표물질로 포함하는 것일 수 있고, 일 예시로 아베난쓰라마이드가 0.28% 내지 0.42% 일 수 있다. 본 발명의 사균체는 아베난쓰라마이드의 함량이 귀리 혹은 발아귀리의 아베난쓰라마이드 함량 보다도 높은 것이다 (도 3 참조).
- [0022] 구체적으로, 도 3에서는 발아귀리를 함께 넣어 배양한 typestrain 사균에서는 아베난쓰라마이드가 검출되지 않았고, HY7017의 사균체에서 측정된 아베난쓰라마이드 A, B, C의 함량이 다른 균주와 다르다는 특징을 확인할 수

있다.

- [0023] 상기 개선은 상기 조성물을 개체에 투여하여 장 기능을 강화하거나, 장 기능 약화 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0024] 상기 식품 조성물은 장 건강 개선에 효과가 있는 식품, 예컨대, 식품의 주원료, 부원료, 식품 첨가제, 건강기능 식품 또는 기능성 음료로 용이하게 활용될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0025] 상기 식품이란, 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강기능식품 및 기능성 음료를 모두 포함하는 것을 말한다.
- [0026] 본 발명에 따른 상기 식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 상기 식품으로는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 빵류, 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 캔디류, 초코렛류, 껌류, 아이스크림류, 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일 음료, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0027] 상기 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 상기 기능성 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며, 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 장 질환 증상의 개선 또는 예방용 조성물을 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0029] 나아가 상기 기술한 것 이외에 본 발명의 식품 조성물을 함유하는 식품은 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, pH조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있으며, 상기 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 식품 조성물에 있어서, 사균체의 양은 전체 식품 조성물 중량의 0.001중량% 내지 100중량%로 포함할 수 있으며, 바람직하게는 1중량% 내지 99중량%로 포함할 수 있고, 음료의 경우, 100ml를 기준으로 0.001g 내지 10g, 바람직하게는 0.01g 내지 1g의 비율로 포함할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효 성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있으므로 상기 범위에 한정되는 것은 아니다.

**발명의 효과**

- [0032] 본 발명의 식품 조성물은 발아귀리 추출물을 포함한 배양액에서 배양된 락토바실러스 파라카제이 (*Lacticaseibacillus paracasei*) HY7017 균주의 사균체를 포함하여 장 건강을 개선에 효과가 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0034] 도 1은 본 발명 사균체의 제조 공정을 나타낸 흐름도이다.
- 도 2는 본 발명 사균체 제조 공정 중 및 제조된 사균체 내 균수를 확인한 결과이다.
- 도 3은 본 발명 사균체 (HY7017), 귀리추출물 (OAT) 및 대조군 사균체 (*L. paracasei* Typestrain)의 아베난쓰라마이드 함량을 분석한 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 본 발명 사균체의 독성을 세포 생존률로 확인한 결과이다.
- 도 5는 본 발명 사균체의 장벽 마커 개선능을 확인한 결과이다.

도 6는 본 발명 사균체의 장벽 투과성을 확인한 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0035] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0037] **실시예 1: 본 발명의 사균체 제조**

[0038] 본 발명의 사균체를 도 1과 같은 단계로 제조하였다.

[0039] 구체적으로, 유산균 배양 배지에 1%의 발아귀리 추출물을 첨가한 후, 멸균하여 준비하였다. 멸균한 배지에 락토바실러스 파라카제이를 접종하여 30℃ 내지 37℃에서 24시간동안 배양하였다. 배양된 균주는 원심분리하였고, 회수된 균체는 멸균된 PBS와 혼합하여 희석되었다. 혼합한 균주를 121℃에서 15분간 열처리하여 락토바실러스 파라카제이를 사균화하고, 건조하였다.

[0040] 락토바실러스 파라카제이 균주는 락토바실러스 파라카제이 HY7017 균주와 표준균주인 락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302을 사용하였다.

[0042] **실시예 2: 생균수 측정**

[0043] 상기 실시예 1의 제조공정에서 균주가 배양된 배양액, 농축액 및 제조된 사균체의 생균수를 측정하였다.

[0044] 구체적으로, 각 공정 단계에 따른 생균수 변화를 도 2와 같이 확인하였다. 이는 균주의 사균화 과정이 잘 진행되었는지 확인하기 위한 것으로, 생균수 측정은 각 단계의 배양액 또는 농축액을 1/10씩 희석하여 10<sup>-7</sup> 내지 10<sup>-9</sup>에서 MRS 고체 배지를 이용하여 균수를 측정하였다.

[0045] 그 결과, 도 2에서 보이는 바와 같이 배양액과 농축액에서는 균수가 확인되었으나, 사균체에서는 생균이 확인되지 않아, 완전 사균이 이루어진 것을 알 수 있다.

[0047] **실시예 3: 아베난쓰라마이드 함량 분석**

[0048] 본 발명의 사균체의 아베난쓰라마이드 함량을 분석하였다.

[0049] 구체적으로, 상기 실시예 1에서 제조된 락토바실러스 파라카제이 사균체를 HPLC를 이용하여 아베난쓰라마이드(avenanthramide)를 수치로 정량하였다.

[0050] 그 결과, 도 3에서 확인되는 바와 같이 본 발명 사균체는 아베난쓰라마이드를 포함하고, 아베난쓰라마이드 A, B, C의 함량이 각기 다른 것을 확인하였다. 락토바실러스 파라카제이 표준균주의 사균체에서는 아베난쓰라마이드가 검출되지 않는 것을 확인하였고, 배지에 포함된 발아귀리 추출물(OAT)에 비해서도 아베난쓰라마이드 A, B, C 및 이들의 총합량이 높은 것을 확인하였다.

[0052] **실시예 4: 본 발명 사균체의 장건강 개선능 확인**

[0053] **4-1. 세포 생존률 확인**

[0054] 본 발명 사균체의 독성을 세포 생존률로 확인하였다.

[0055] 구체적으로, Caco-2 세포를 6 well plate에 10<sup>6</sup> 세포수가 되도록 분주하여 약 14일 배양하여 분화를 유도하였다. Normal 균을 제외한 그룹에 10 μg/ml의 LPS를 처리하여 24시간 배양하였다. 각 시료를 10<sup>6</sup> CFU/ml 농도로 처리하고 24시간 배양하였다. 균주 처리로 인한 세포 독성 및 LPS 개선 효과를 확인하기 위해 CCK-8을 이용하여 세포 생존률을 평가하였다.

[0056] 그 결과 도 4에서 확인되는 바와 같이 LPS만 처리한 Control군은 아무것도 처리하지 않은 Normal군 대비 세포 생존율이 약 20% 감소하는 것을 확인하였다. 반면, LPS를 처리하고 락토바실러스 파라카제이 HY7017 사균체 또는 락토바실러스 파라카제이 표준균주의 사균체를 처리한 군에서는 LPS만 처리한 Control군 대비 세포 생존율이 증가하는 것을 확인하였다.

[0058] **4-2. 장벽 마커 개선능 확인**

[0059] 본 발명 사균체의 장벽 마커(ZO-1) 개선능을 확인하였다.

[0060] 구체적으로, Caco-2 세포를 6 well plate에  $10^6$  세포수가 되도록 분주하여 약 14일 배양하여 분화를 유도하였다. Normal 군을 제외한 그룹에  $10 \mu\text{g/ml}$ 의 LPS를 처리하여 24시간 배양하였다. 각 시료를  $10^6$  CFU/ml 농도로 처리하고 24시간 배양하였다. 각 웰에서 배양된 세포들을 rt-PCR 방법으로 밀착연접유전자(ZO-1) 발현량을 측정하였다.

[0061] 그 결과 도 5에서 확인되는 바와 같이 장벽 마커인 ZO-1의 발현량이 HY7017 사균체를 처리한 군에서 유의적으로 증가하여 장벽을 강화시킬 수 있음을 확인하였다.

[0063] **4-3. 장벽 투과성 확인**

[0064] 본 발명 사균체의 장벽 투과성을 확인하였다.

[0065] 구체적으로, Caco-2 세포를  $10^6$  cells/ml의 배양된 Caco-2 세포를 되도록 장 칩에 올려 약 5일간 배양하여 분화시켰다. Normal 군을 제외한 나머지 웰에 LPS를  $10 \mu\text{g/ml}$ 를 24시간동안 처리하여 염증을 유발하여 장벽 누수를 유도하였다. 각 웰에 HY7017 사균체 및 *L. paracasei* typestrain 사균체  $10\mu\text{g/ml}$  씩 처리하고 24시간 배양하였다. 정단 및 기저 구획으로부터 상청액을 제거하고 4 kDa FITC-텍스트란을 신선한 세포 배양 배지에 희석하고 정단 구획에 적용하였고, 기저 구획에 페놀 레드가 포함되지 않은 신선한 배지를 보충하였다. 30분마다 정단 및 기저 구획의 배지를  $100 \mu\text{l}$ 씩 수거하고 수거한 만큼 신선한 배지를 보충하였다. 수거한 배지를 마이크로플레이트 리더기를 사용하여 여기 파장  $485 \text{ nm}$  및 방출 파장  $525 \text{ nm}$ 에서 형광강도를 측정하였다.

**수학식 1**

[0066] 
$$P_{app} = \frac{dQ}{dt} \times \frac{1}{A \times C_0}$$

[0067] 상단에 표기된 투과성 계산식에 대입하여  $P_{app}$  (cm/s) 값을 구하여 투과성을 확인하였다. 그 결과 도 6에서 확인되는 바와 같이 HY7017 사균체를 처리한 군에서 Normal 군과 유사하게 겉보기 장 투과성이 낮아져 장벽이 강화됨을 확인하였다.

[0069] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

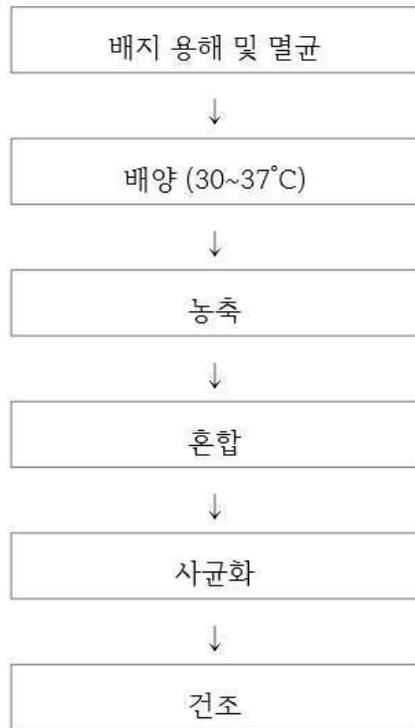
[0071] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)

[0072] 수탁번호 : KCTC14616BP

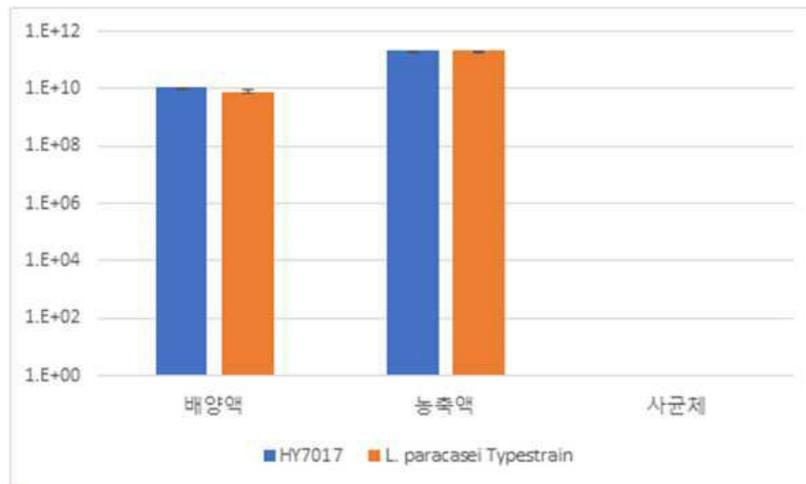
[0073] 수탁일자 : 20210616

도면

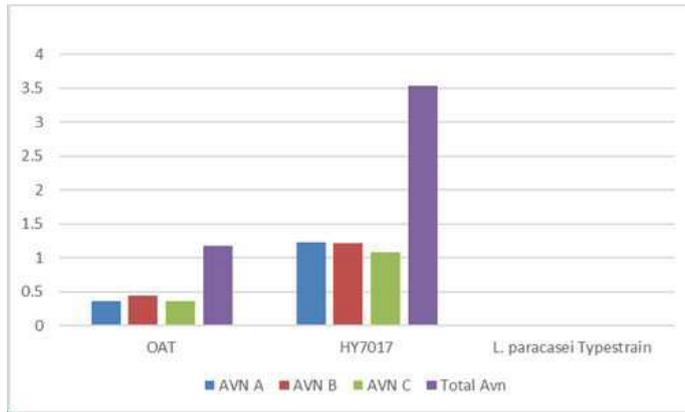
도면1



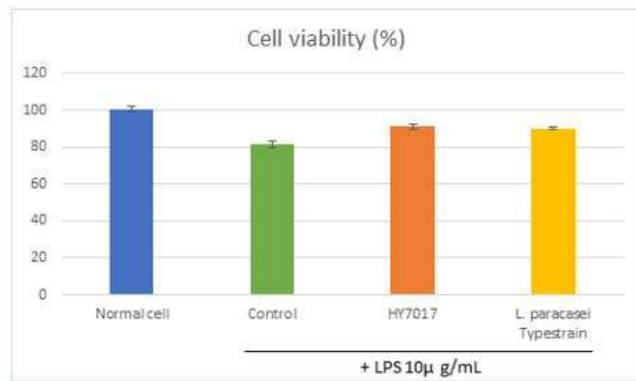
도면2



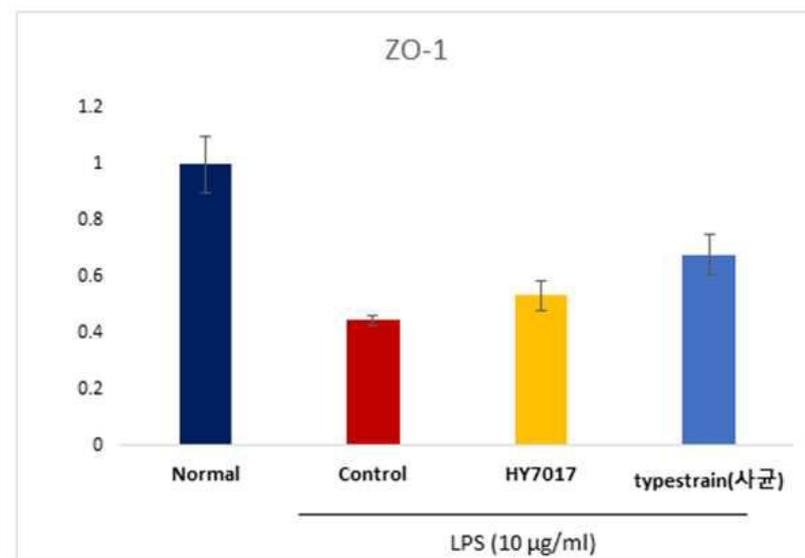
도면3



도면4



도면5



도면6

