



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년03월27일  
(11) 등록번호 10-2651910  
(24) 등록일자 2024년03월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 33/135 (2016.01) A23C 9/123 (2017.01)  
A23L 2/38 (2021.01) C12R 1/25 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A23L 33/135 (2016.08)  
A23C 9/1234 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2021-0029942  
(22) 출원일자 2021년03월08일  
심사청구일자 2021년03월08일  
(65) 공개번호 10-2022-0125966  
(43) 공개일자 2022년09월15일  
(56) 선행기술조사문헌  
WO2020260958 A1\*  
학위논문(서은솔, 'ALPHA-HYDROXYISOCAPROIC  
ACID (HICA) 생성 및 프로바이오틱스 특성을 가진  
LACTOBACILLUS PLANTARUM 균주의 분리와 평가',  
서울대학교, 2020년 02월)  
NUTRIENTS 제8권 제4호, 205, 1\_15쪽, 2016년 04  
월 01일.  
KR101979761 B1  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
주식회사 에치와이  
서울특별시 서초구 강남대로 577 (잠원동)  
(72) 발명자  
이기쁨  
경기도 용인시 기흥구 민속촌로11번길 23-1  
김지수  
서울특별시 강남구 압구정로 151, 124동 904호  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
박혁

전체 청구항 수 : 총 5 항

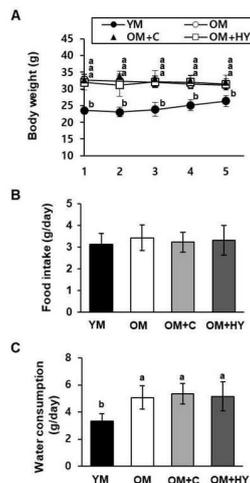
심사관 : 하혜경

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 상기 락토바실러스 플란타럼 HY7715을 포함하는 조성물은 근기능을 강화하는 효과가 있어 근육질환 예방 또는 개선용 조성물 또는 근기능 강화용 조성물로 활용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A23L 2/38** (2023.05)  
A23V 2002/00 (2023.08)  
A23V 2200/316 (2013.01)  
A23V 2400/169 (2023.08)  
C12R 2001/25 (2021.05)

(72) 발명자

**배주현**

서울특별시 종로구 낙산길 198, 창신쌍용 2단지  
207동 1508호

**박수동**

경기도 용인시 기흥구 사은로126번길 33, 신창이션  
힐 205-1903

**심재중**

경기도 용인시 수지구 신봉2로 26, 신봉자이1차  
114동 1002호

**이정열**

경기도 양평군 서종면 통점길 63

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715(수탁번호 KCTC13101BP)를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물로,

상기 근육질환 예방 및 개선은 근피로도 감소, 근감소증 유발 전사인자 및 근육분화 전사인자 증가, 또는 근섬유가 증가되는 것인,

근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

**청구항 2**

제 1항에 있어서, 상기 근육질환은 노화로 인한 근기능 저하, 근육 소모, 근육 퇴화인 식품 조성물.

**청구항 3**

제 1항에 있어서, 상기 식품 조성물은 발효유, 기능성음료, 건강기능식품 중에서 어느 하나인 식품 조성물.

**청구항 4**

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715(수탁번호 KCTC13101BP)를 포함하는 근기능 강화용 식품 조성물로,

상기 근기능 강화는 근섬유 합성, 근육 분화, 근육 피로도 감소, 근육량 증가를 나타내는 것일 수 있고, 근육량의 증가로 인해 운동 능력을 증가시키는 것인,

근기능 강화용 식품 조성물.

**청구항 5**

제 4항에 있어서, 상기 식품 조성물은 발효유, 기능성음료, 건강기능식품 중에서 어느 하나인 식품 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 한국인의 기대수명은 경제 성장과 함께 다른 나라 대비 빠르게 증가하였다. 1960년 52.4세에 불과했던 기대수명이 1990년에는 71.4세, 2016년에는 82.4세로 증가하였다. 하지만 건강수명은 2016년 평균 64.9세로, 생애 마지막 17.5년은 건강 문제로 활동에 제약을 받으며 산다.

[0003] 기대수명 대비 건강수명이 낮은 이유 중 한가지는 근육이다. 한국인은 시대 발전에 따라 기대 수명이 연장되었으나, 운동량이 적고, 노화로 인해 노년기에 접어들수록 급격히 근육의 양이 감소한다. 일반적으로 50세 이후 근육은 매년 1~2% 감소하고, 10년이면 평균 4kg 정도 감소하는 것으로 알려져 있다. 또한, 65세엔 중년 때 근육의 평균 약 25~35% 정도가 감소하고, 80세엔 40%이상 감소하면서 기력이 떨어진다. 나이가 들면서 겪게 되는 근

감소증은 단순히 근력이 감소하는 것을 넘어 면역력을 저하시키며, 고지혈증, 당뇨, 관절질환 등 각종 질환 발병률을 높인다.

[0004] 따라서 앞으로 더 심해질 고령화 시대에 노화로 인해 줄어드는 근육이 감소하는 것을 억제해주거나, 개선할 수 있는 프로바이오틱스, 음료, 건강식품과 같은 제품 개발이 필요하다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록공보 제10-2066388호(2020.01.15)

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0006] 일 양상은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 다른 양상은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 근기능 강화용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

#### 과제의 해결 수단

[0008] 일 양상은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 상기 락토바실러스 플란타럼 HY7715는 한국 생명공학 연구원에 2016년 9월 8일자로 수탁하여, 수탁번호 KCTC13101BP를 부여 받은 것이다.

[0010] 상기 락토바실러스 플란타럼 HY7715는 생균체일 수 있고, 상기 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 배양한 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 농축액을 동결건조한 동결건조분말 일 수 있다.

[0011] 일 구체예에 따르면, 상기 근육질환은 노화로 인한 근기능 저하, 근육 소모, 근육 퇴화일 수 있다. 상기 노화로 인한 근기능 저하는 근감소증을 의미하는 사르페니아(Sarcopenia)를 포함할 수 있다.

[0012] 일 실시예에 따르면, 어린 마우스 대비 노령의 마우스에서 차이를 보였던 근피로도 증가, 근감소증 유발 전사인자 감소, 근섬유 감소, 근육분화 전사인자 감소, 및 미토콘드리아 활성이 감소되었다. 반면, 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 섭취한 노령의 마우스는 근피로도가 감소되었으며, 근감소증 유발 전사인자 및 근육분화 전사인자가 증가되었으며, 근섬유 및 미토콘드리아 활성이 증가되는 것을 확인하였다.

[0013] 일 구체예에 따르면, 상기 근육질환은 가자미근과 비복근에 해당하는 근육에서 나타나는 것일 수 있다.

[0014] 본 명세서의 용어 '예방'은 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 포함하는 조성물을 이용하여 근육질환의 진행을 지연시키거나, 발병을 억제하는 모든 행위를 의미한다.

[0015] 본 명세서의 용어 '개선'은 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 포함하는 조성물을 이용하여 근육질환의 증상을 호전시키는 모든 행위를 의미한다.

[0016] 상기 식품 조성물은 식품을 섭취하는 개체의 무게(kg) 당 락토바실러스 플란타럼 HY7715를  $1 \times 10^9$  CFU를 섭취하도록 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0017] 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 락토바실러스 플란타럼 HY7715 외에, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어, 말토오스, 수크로오스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어, 텍스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 향미제로서 천연 향미제[타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수

있다.

- [0018] 예를 들어, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 녹용 추출물의 유산균 발효물 외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두층 추출액, 대추 추출액 및/또는 감초 추출액 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0020] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0021] 일 구체예에 따르면, 상기 식품 조성물은 발효유, 기능성음료, 건강기능식품 중에서 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 다른 양상은 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 포함하는 근기능 강화용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0023] 상기 '락토바실러스 플란타럼 HY7715' 및 '식품 조성물'에 관한 내용은 상기에 기재한 내용과 동일하다.
- [0024] 일 구체예에 따르면, 상기 근기능 강화는 근섬유 합성, 근육 분화, 근육 피로도 감소, 근육량 증가를 나타내는 것일 수 있고, 근육량의 증가로 인해 운동 능력을 증가시키는 것일 수 있다.
- [0025] 일 실시예에 따르면, 노화로 감소된 악력 및 트레이드밀 운동량이 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 섭취하였을 때 유지 또는 증가되는 것을 확인하였으며, 근육의 피로도를 감소시키는 것을 확인하였다. 또한, 근섬유가 합성되는 것을 확인하였으며, 근육 분화 전사인자의 발현 증가 및 근감소증 원인인자의 발현 감소를 확인하였다.
- [0026] 본 명세서에서 용어 '강화'는 힘을 더 강하고 튼튼하게 하는 것을 일컫는 것으로, 상기 근기능 강화는 근육의 합성을 증가시키거나, 근육의 감소를 억제하는 것을 의미하는 것일 수 있다.
- [0027] 일 구체예에 따르면, 상기 식품 조성물은 발효유, 기능성음료, 건강기능식품 중에서 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

**발명의 효과**

- [0028] 본 발명에 따른 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715을 포함하는 조성물은 근기능을 강화하는 효과가 있어 근육질환 예방 또는 개선용 조성물 또는 근기능 강화용 조성물로 활용할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0029] 도 1은 각 그룹의 평균값으로 A 평균 몸무게 변화를, B는 평균 식이섭취량을, C는 평균 음수섭취량을 측정한 데이터이다.
- 도 2는 각 그룹의 조직 무게를 측정한 데이터로, A는 가자미근의 무게를, B는 비복근의 무게를 측정하여 비교한 데이터이다.
- 도 3은 1, 3, 5 주차에 각 그룹의 악력 및 근력을 테스트한 데이터로, A는 악력을 측정한 데이터이고, B는 트레이드밀 테스트로 근력을 측정한 데이터이다.
- 도 4는 근피로도를 측정한 데이터로, A는 1,3,5 주차의 혈중 젖산염 농도를 측정하여 변화를 본 데이터이고, B는 5주뒤 혈장 내 젖산염 농도를, C는 5주뒤 혈장 내 BUN 농도를, D는 5주뒤 혈장 내 크레아틴의 농도를 측정하여 비교한 데이터이다.
- 도 5는 근감소증 유발 전사인자를 측정한 데이터로, A는 가자미근에서 Atrogin-1, B는 가자미근에서 MuRF1, C는 비복근에서 Atrogin-1, D는 비복근에서 MuRF1 발현 수치를 측정한 데이터이다.
- 도 6은 각 그룹의 근섬유 합성 및 재생 효과를 현미경으로 확인한 것을 나타내는 데이터이다.
- 도 7은 각 그룹의 근육분화 전사인자를 측정한 것으로, A는 가자미근에서, B는 비복근에서 MyoD 발현 수치를 측정한 데이터이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0030] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] **실시예 1. 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715 동결건조분말 제조**
- [0033] 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 식용 배지에서 배양하여 얻은 배양액을 8,000rpm에서 15분동안 원심분리하여 프로바이오틱스 농축액을 얻었다. 프로바이오틱스 농축액과 코팅제 및 동결보호제로써 가압 살균된 10 중량%의 탈지분유가 함유된 수용액을 1:1의 중량비율로 혼합한 다음, 영하 70℃에서 6시간동안 동결하여 동결 건조분말을 제조하였다.
- [0035] **실시예 2. 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 발효유 제조**
- [0036] 유산균 배양액은 원유 95.36중량%와 탈지분유 4.6중량%를 교반하여 15℃에서 비중은 1.0473~1.0475, 적정산도는 0.200~0.220%, pH는 6.55~6.70, 20℃에서의 브릭스(Brix0)는 16.3~16.5% 정도가 되도록 혼합하였다. 혼합 후에 이를 UHT 열처리(135℃에서 2초간 살균)하고 적정온도로 냉각한 뒤, 스트렙토코커스 써모필러스균과 유당분해효소(Valley laboratory, USA)를 각기 0.02 중량%씩 첨가하고 6시간 동안 배양하여 BCP 배지에서의 총 유산균 수가  $1.0 \times 10^9$  cfu/ml 이상, 적정산도가 0.89~0.91%, pH는 4.55~4.65가 되도록 하여 제조하였다.
- [0037] 혼합과즙시럽은 액상과당 13중량%, 백설탕 5중량%, 혼합과즙농축액 56Brix0 10.9중량%, 펙틴 1.0 중량%, 후레쉬 후르츠 믹스 에센스 0.1 중량% 및 정제수 70 중량%를 35℃에서 교반하여 혼합한 후 UHT 열처리(135℃에서 2초간 살균)한 후 냉각하여 제조하였다.
- [0038] 상기 유산균 배양액 69.5 중량%와 상기 실시예 1의 락토바실러스 플란타룸 HY7715 동결건조분말 0.1 중량% 및 상기 혼합과즙시럽 30.4 중량%를 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃ 이하로 냉각하여 본 발명의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 유효성분으로 함유하는 발효유를 제조하였다.
- [0040] **실시예 3. 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 유효성분으로 함유하는 기능성 음료의 제조**
- [0041] 혼합과즙시럽은 액상과당 13중량%, 백설탕 2.5중량%, 갈색설탕 2.5중량%, 혼합과즙농축액 56Brix0 10.9중량%, 펙틴 1.0중량%, 후레쉬후르츠 믹스 에센스 0.1중량% 및 정제수 70중량%를 35℃에서 교반하여 혼합한 후 UHT열처리(135℃에서 2초간 살균)한 후 냉각하여 제조하였다. 그리고, 상기의 방법으로 제조된 혼합과즙시럽 30.4중량%와 상기 실시예 1의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715 동결건조분말 0.1중량% 및 나머지 정제수 69.5중량% 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃이하로 냉각한 후 이를 유리병, 페트병 등 소포장 용기에 포장하여 본 발명의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 유효성분으로 함유하는 기능성 음료를 제조하였다.
- [0043] **실시예 4. 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 유효성분으로 함유하는 건강기능식품의 제조**
- [0044] 상기 실시예 1의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715 동결건조분말 0.1중량%에 영양보조성분(비타민 B1, B2, B5, B6, E 및 초산에스테르, 니코틴산 아미드) 및 올리고당을 상기의 실시예 1의 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) HY7715 동결건조분말 100중량부에 대하여 10중량부가 되도록 첨가하여 고속회전 혼합기에서 혼합하였다. 상기 혼합물에 평균 정제수 10중량부를 첨가, 혼합하고 직경 1~2mm의 과립상으로 성형하였다. 상기 성형된 과립은 50℃의 진공건조기에서 건조시킨 후 12~14메쉬(mesh)를 통과시켜 균일하게 과립을 제조하였다. 상기와 같이 제조된 과립은 적당량씩 압출 성형되어 정제 또는 분말로 되거나 경질캡슐에 충전되어 경질캡슐제품으로 제조하였다.
- [0045] **실험예 1. 실험 마우스 준비**
- [0046] 동물실험윤리위원회(IACUC) 승인(승인번호: AEC-2019-00012-Y)을 받아 Balb/c 수컷 마우스 6주령 8마리와 80주령 24마리를 가지고 실험하였다. 마우스는 일주일간 21~25℃, 습도 30~50%의 조건에서 순화시켰다. 그 후, 마우스는 8마리씩 하기 표 1과 같이 그룹으로 나누어 총 5주 동안 같은 양의 시료를 경구투여 하였다. 모든 그룹은 일반식을 하였다.

표 1

[0047]	그룹 명칭	마우스 및 투여 시료
	YM	6주령 어린 마우스, 시료 투여하지 않음
	OM	80주령 노령 마우스, 시료 투여하지 않음
	OM+C	80주령 노령 마우스, 크레아틴 경구투여
	OM+HY	80주령 노령 마우스, <i>Lactobacillus plantarum</i> HY7715 경구투여

[0048] 노화에 따른 변화를 확인하기 위하여, YM 그룹 및 OM 그룹은 일반식이 외에 따로 시료를 투여하지 않았다. 양성 대조군인 OM+C 그룹은 크레아틴을 75mg/kg/day를 기준으로, OM+HY 그룹은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를  $1 \times 10^9$  CFU/kg/day를 기준으로 정수에 녹여 24시간 간격으로 경구투여하였다.

[0049]

[0050] **실험예 2. 체중 및 근육량 변화**

[0051] 시료 투여에 따라 몸무게 및 근육량의 변화가 있는지 확인하기 위하여, 식이섭취량, 음수섭취량, 체중 및 근육량을 확인하였다. 식이섭취량 및 음수섭취량은 각 그룹별로 측정하여 평균값을 나타내었다. 체중은 1주일 간격으로 동일한 시간에 측정하였다. 근육량은 5주간의 시료 투여를 마치고 근력 및 운동 능력 테스트를 마친 뒤, 각 그룹 마우스의 가자미근(soleus)과 비복근(gastrocnemius)을 적출하여 무게를 측정하였다.

[0052] 그 결과, 도 1A에서 보이는 바와 같이, YM 그룹은 23.54g으로 시작하여 5주차에 26.34g으로 측정되어 성장하면서 무게가 증가한 것을 확인하였다. OM 그룹, OM+C 그룹 및 OM+HY 그룹은 1주차부터 5주차까지 무게가 유의한 차이 없이 유지되는 것을 확인하였다.

[0053] 도 1B 및 도 1C에서 보이는 바와 같이, 모든 그룹이 식이섭취량은 차이가 없었으며, 노령인 OM, OM+C 및 OM+HY 그룹에서 어린 YM 그룹보다 음수섭취량은 높았으나, 노령의 마우스들이 속한 그룹끼리는 유의한 차이가 없었다.

[0054] 도 2A에서 보이는 바와 같이, OM 그룹의 마우스는 노화에 의하여 가자미근의 근육량이 YM 그룹 대비 현저히 감소한 것을 확인하였다. 반면, 크레아틴을 섭취한 OM+C 그룹과 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 섭취한 OM+HY 그룹의 가자미근은 OM 그룹 대비 현저히 증가된 상태였으며, OM+HY 그룹의 가자미근의 무게는 YM 그룹의 가자미근 무게와 유사하였다.

[0055] 또한 도 2B에서 보이는 바와 같이, 마우스의 비복근 조직의 무게의 경우, OM 그룹에서만 근육량이 감소되었고, OM+C 그룹 및 OM+HY 그룹은 YM 그룹과 유사할 정도로 비복근 조직량이 유지되는 것을 확인하였다.

[0057] **실험예 3. 근력 및 운동 능력 테스트**

[0058] 근력을 측정하기 위하여, 시료 투여기간 동안 1, 3, 5주차 마지막 날에 마우스 앞발과 뒷발 모두를 이용하여 all limb grip strength test를 측정하였다. 마우스가 악력 시험 장치를 잡게 한 후 마우스의 꼬리를 잡고 뒤로 잡아당길 때 나타나는 앞발과 뒷발의 최대 악력을 측정하였다. 악력은 마우스 당 3회 반복 측정 후 최대값의 평균값을 사용하였고, 측정 힘의 단위는 kgf이며, 체중 대비 악력(kgf/kg)으로 계산하여 표기하였다.

[0059] 그 결과 도 3A에서 보이는 바와 같이, 1주차에서는 OM 그룹과 OM+HY 그룹이 큰 차이가 나지 않았으나, 5주차에는 OM 그룹은 5.27kgf/kg인 반면, OM+C 그룹은 5.97kgf/kg, OM+HY 그룹은 6.42kgf/kg으로 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0060] 근력 강화로 인한 운동 능력을 테스트하기 위하여, 식이 기간 동안 1, 3, 5주차 마지막 날에 마우스에서 탈진 트레이드밀 운동을 실시하였다. 트레이드밀(정도비엔피, JD-A-09)을 이용하여, 0°의 경사도에서 5m/min의 속도로 10분, 10m/min 속도로 10분, 15m/min 속도로 10분, 20m/min 속도로 10분, 25m/min 속도로 10분 운동을 시켰다.

[0061] 도 3B에서 보이는 바와 같이, YM 그룹의 경우, 모든 마우스가 50분의 운동을 종료하고 최대 운동거리인 750m를 기록하였다. 반면, OM 그룹은 YM 그룹 대비 현저히 감소한 거리를 기록한 것을 확인하였다. OM+HY 그룹은 시료 투여 후 3주차가 지나면서 OM 그룹 대비 현저히 증가된 거리를 기록하였으며, 5주차엔 OM 그룹 및 OM+C 그룹보다 현저히 증가된 거리를 기록하는 것을 확인하였다.

[0062] 따라서 악력 및 트레이드밀 테스트를 통해 락토바실러스 플란타럼 HY7715를 섭취한 마우스 그룹이 다른 노령 마

우스 그룹 대비 근력 및 운동능력이 향상됨을 확인하였다.

[0064]

**실험예 4. 근육 피로도 확인**

[0065]

**실험예 4-1. 혈중 젖산염(Lactate) 농도 측정**

[0066]

상기 실험예 3의 트레이드밀 운동 직후, 근육의 피로도를 확인하기 위하여 꼬리 정맥에서 혈액을 소량 채취하였다. 각 마우스의 혈액은 lactate meter(Lactate Pro 2, Cosmed)를 이용하여 혈중 젖산염(lactate) 농도를 측정하여 변화를 확인하였다.

[0067]

도 4A에서 보이는 바와 같이, YM 그룹은 노화 마우스를 사용한 다른 그룹에 비하여 운동 직후 젖산염의 농도가 낮았다. 반면, 노령의 마우스를 사용한 나머지 OM 그룹, OM+C 그룹, OM+HY 그룹은 1주차에는 비슷한 정도의 젖산염이 측정되었다. 그러나 OM 그룹은 5주차가 지났을 때 젖산염이 더 측정되었으나, OM+C 그룹 및 OM+HY 그룹은 3주차까지 증가하다가 다시 감소하여, OM 그룹 대비 젖산염 농도가 낮은 것을 확인하였다.

[0069]

**실험예 4-2. 혈장 내 젖산염, BUN(Blood urea nitrogen) 및 크레아틴을 측정**

[0070]

상기 실험예 3의 5주차 트레이드밀 운동 직후, 각 실험 그룹의 복대동맥에서 혈액을 채취하고, 혈액을 4℃, 4000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 혈액생화학분석기(7072, Hitachi, Japan)을 이용하여 젖산염, BUN(Blood urea nitrogen) 및 크레아틴을 측정하였다.

[0071]

도 4B에서 보이는 바와 같이, OM 그룹 대비 OM+C 및 OM+HY의 혈장 내 젖산염의 농도가 감소된 것을 확인하였다. 이를 통해 OM+C 그룹 및 OM+HY 그룹이 탈진의 정도가 일반 정수를 시료로 섭취한 OM 그룹보다 적다는 것을 확인하였다.

[0072]

BUN(Blood urea nitrogen)은 체내 단백질대사의 최종 생산물로, 단백질이나 아미노산 이화작용 및 피로가 유발되었음을 알려주는 지표이다. 도 4C에서 보이는 바와 같이, 혈장 내 BUN 농도는 OM 그룹을 제외하고는 모두 YM 그룹만큼 감소된 결과를 확인할 수 있었다.

[0073]

도 4D에서 보이는 바와 같이, 혈장 내 크레아틴은 노령의 마우스를 사용한 OM 그룹대비 어린 마우스를 사용한 YM 그룹이 낮은 것을 확인하였으며, OM+C 그룹 및 OM+HY 그룹 모두 OM 그룹 대비 혈장 내 크레아틴이 감소한 것을 확인하였다.

[0074]

이를 통해 락토바실러스 플란타럼 HY7715 섭취가 단백질 이화작용 억제하고, 운동 후 탈진의 정도를 감소시켜 근육 피로도를 감소시키는 것을 확인하였다.

[0076]

**실험예 5. 근감소증 유발 전사인자 유전자 수준 측정**

[0077]

5주간 투여 및 실험 후, 각 실험 그룹 마우스의 가자미근(soleus)과 비복근(gastrocnemius)의 근감소증 유발 전사인자 유전자 수준을 q-PCR을 통해 비교하였다. 근감소증 유발 전사인자로는 단백질 분해 인자인 muscle-specific F-box protein(Atrugin-1)과 muscle RING-finger protein-1(MuRF1)을 확인하였다.

[0078]

그 결과 도 5A 및 도 5B에서 보이는 바와 같이, 가자미근에서는 OM+HY 그룹이 YM 그룹과 유사할 정도로 Atrugin-1의 mRNA 발현 수준이 감소하였으며, MuRF1은 YM 그룹 및 OM+C 그룹보다 더 낮은 수준으로 발현된다는 것을 확인하였다.

[0079]

또한 도 5C 및 도 5D에서 보이는 바와 같이, 비복근에서는 OM+HY 그룹이 YM 그룹을 포함한 다른 그룹대비 Atrugin-1 및 MuRF1 발현이 현저히 감소하였다는 것을 확인하였다.

[0080]

이를 통해, 락토바실러스 플란타럼의 섭취가 근감소증 유발 인자의 유전자 발현을 감소 시키므로 근감소증을 억제한다는 것을 확인하였다.

[0082]

**실험예 6. 근섬유 합성 및 재생 효과 확인**

[0083]

5주간의 시료투여 및 실험 후, 비복근(Gastrocnemius)을 절취하고 헤마토실린과 이오신(Hematoxylin & Erosin)으로 염색하여 근육 내 근섬유 크기를 광학 현미경으로 관찰하였다.

[0084]

도 6에서 보이는 바와 같이, OM 그룹은 YM 그룹대비 노화가 진행되어 비복근의 근섬유 크기가 현저히 감소하였다. 반면, OM+HY 그룹 및 OM+C 그룹은 OM 그룹 대비 근섬유가 증가된 것을 확인하였다.

[0085]

따라서 락토바실러스 플란타럼 HY7715의 섭취가 근섬유를 합성하는 것을 확인하였다.

[0087] **실험예 7. 근육분화(myogenesis) 전사인자 유전자 수준 측정**

[0088] 5주간 투여 및 실험 후, 각 실험 그룹 마우스의 가자미근(soleus)과 비복근(gastrocnemius)의 근육분화 전사인자 유전자 수준을 q-PCR을 통해 비교하였다. 근육분화 전사인자로는 일차 근육 생성 전사 인자 중 하나인 Myogenic Differentiation 1(MyoD)를 측정하였다.

[0089] 도 7A 및 도 7B에서 보이는 바와 같이, 노화로 인해 가자미근과 비복근에서 YM 그룹 대비 OM 그룹의 MyoD 유전자 발현이 현저히 감소한 것을 확인하였다. 반면, OM+HY 그룹에서는 가자미근에서는 YM 그룹과 유사할 정도로 MyoD 발현이 증가하였으며, 비복근에서도 OM 그룹 및 OM+C 그룹 대비 유의하게 증가된 것을 확인하였다.

[0090] 따라서, 락토바실러스 플란타럼 HY7715의 섭취가 노화로 인한 근육 생성 전사 인자의 감소를 억제하여 근육 생성에 도움이 된다는 것을 확인하였다.

[0092] **실험예 8. 통계분석**

[0093] 모든 생화학적 데이터는 평균 ± 표준 편차로 나타내었다. 각 실험 군 간의 차이는 단일 요인 분석(ANOVA, single-factor analysis of variance)으로 분석하였다. 각 실험 군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Tukey의 다중 비교 검정(Tukey's multiple comparison tests)을 이용하여 p<0.05 수준에서 평가하였다. (a>b>c)

**수탁번호**

[0094]

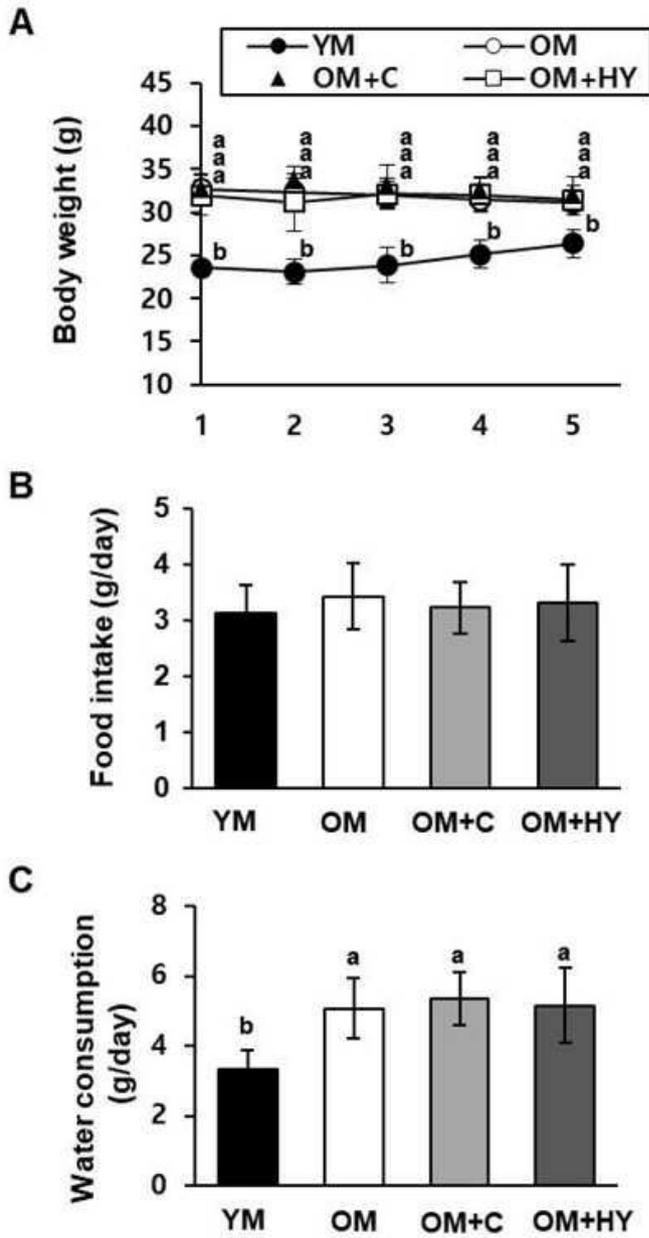
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC13101BP

수탁일자 : 20160908

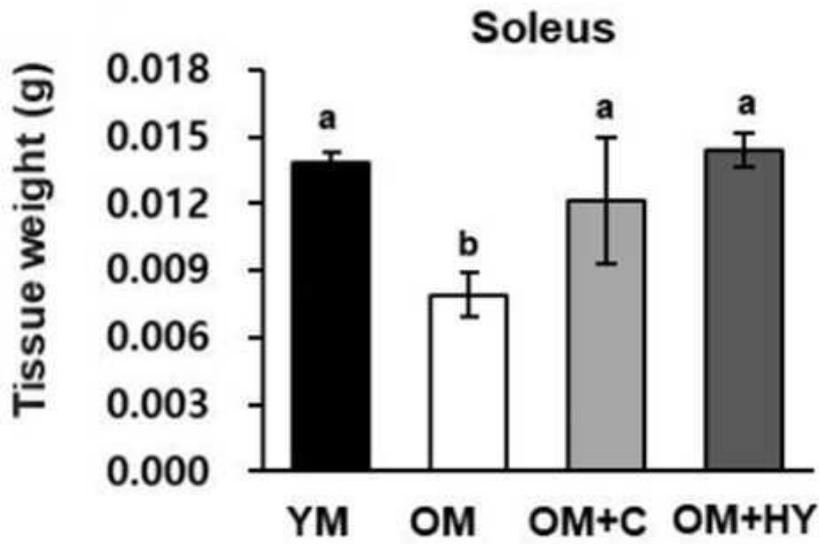
도면

도면1

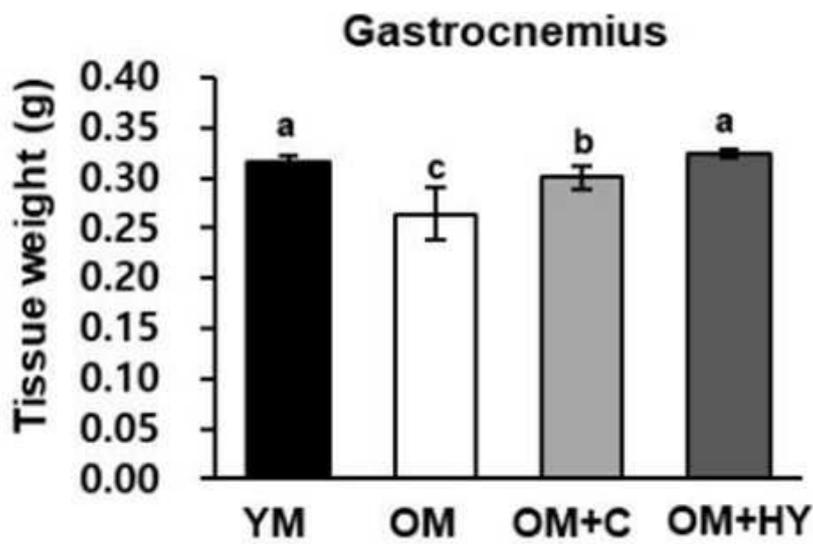


도면2

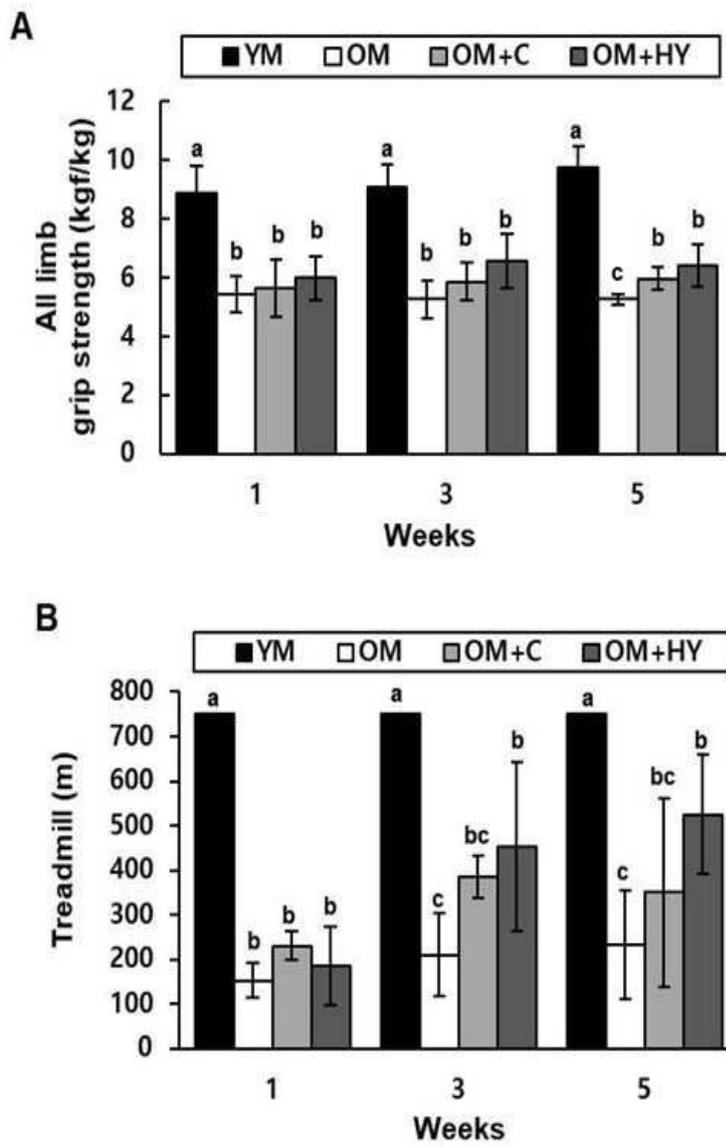
**A**



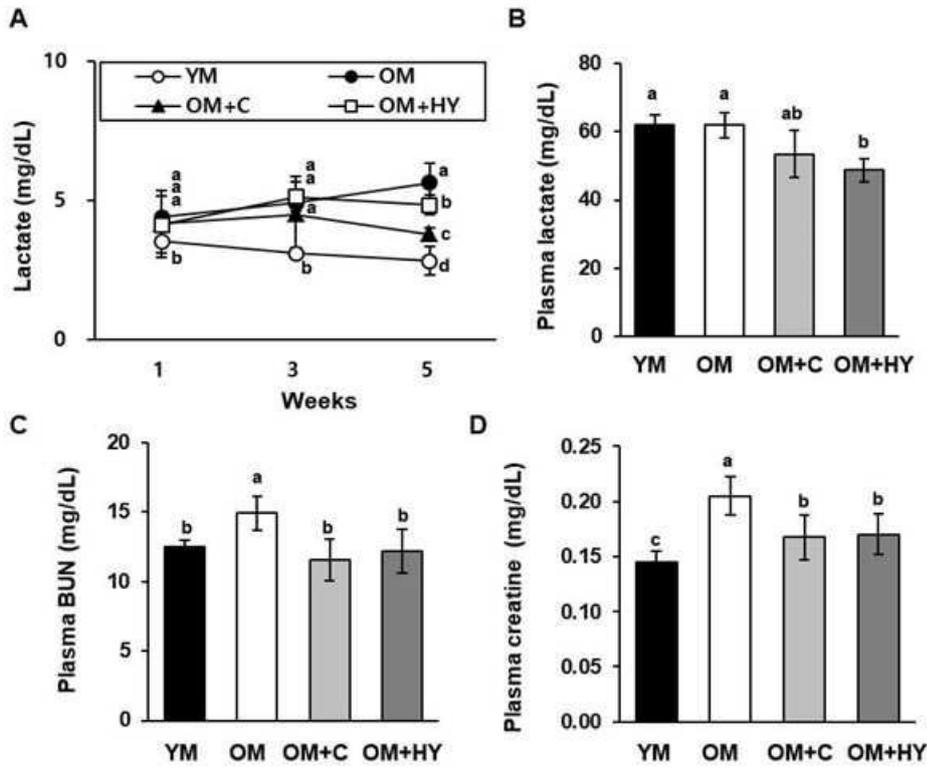
**B**



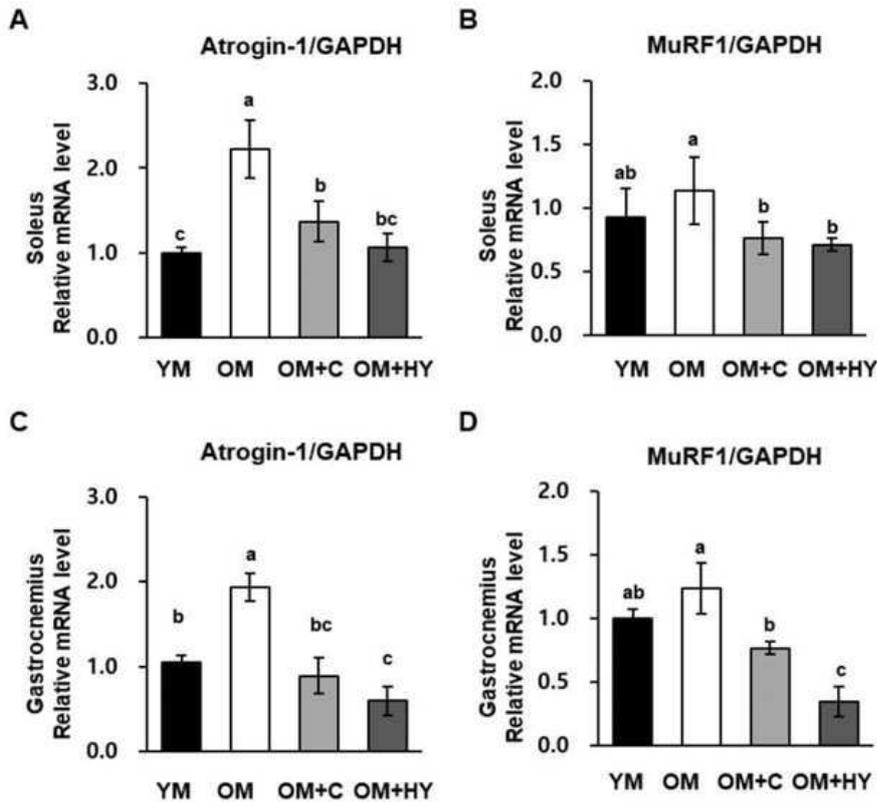
도면3



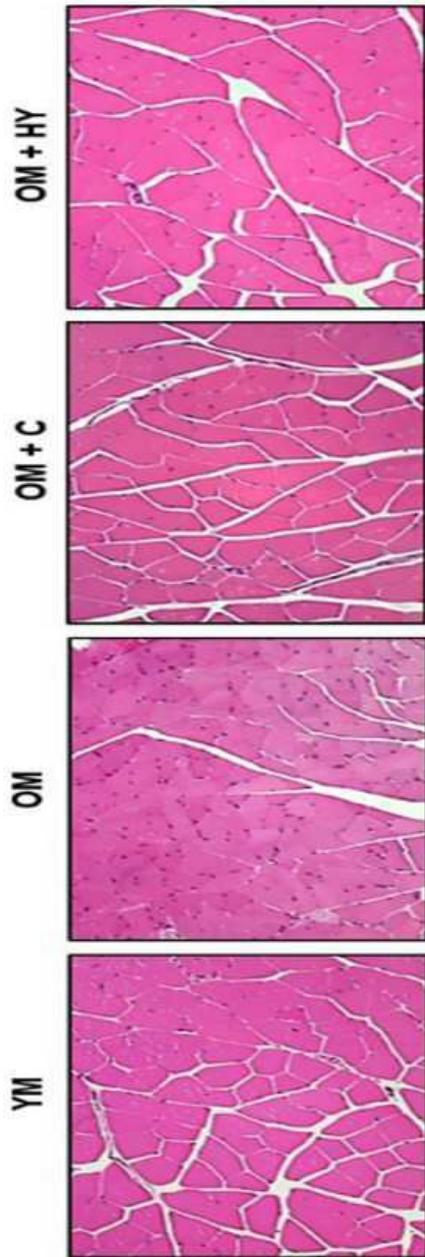
도면4



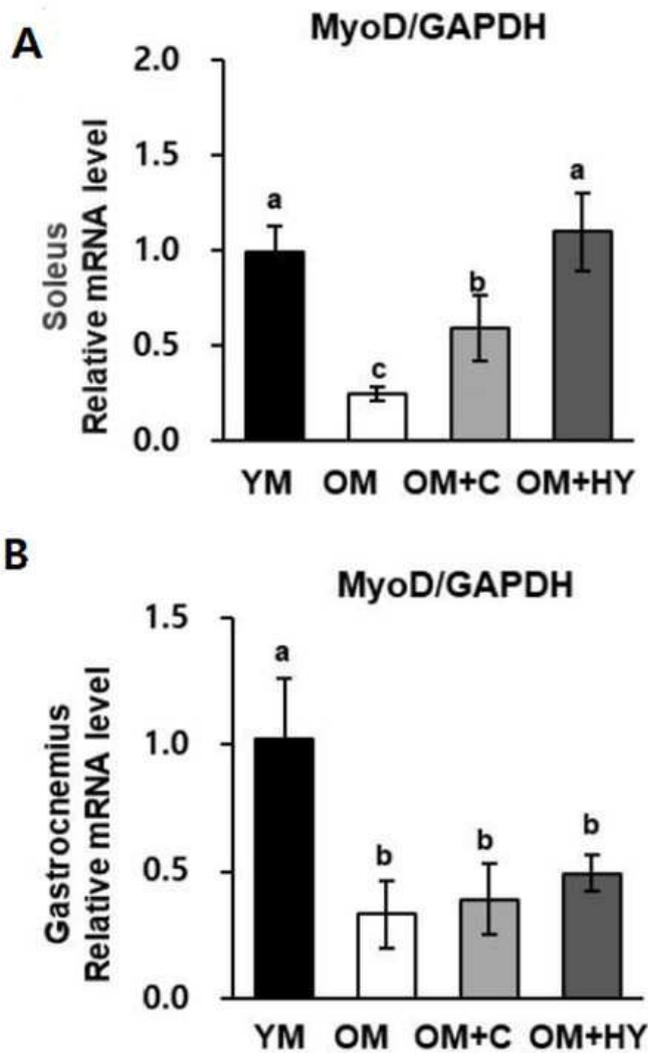
도면5



도면6



도면7



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 1

【변경전】

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물로,

상기 근육질환 예방 및 개선은 근피로도 감소, 근감소증 유발 전사인자 및 근육분화 전사인자 증가, 또는 근섬유가 증가되는 것인,

근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

【변경후】

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715(수탁번호 KCTC13101BP)를 포함하는 근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물로,

상기 근육질환 예방 및 개선은 근피로도 감소, 근감소증 유발 전사인자 및 근육분화 전사인자 증가, 또는 근섬유가 증가되는 것인,

근육질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

**【직권보정 2】**

**【보정항목】** 청구범위

**【보정세부항목】** 청구항 4

**【변경전】**

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715를 포함하는 근기능 강화용 식품 조성물로,

상기 근기능 강화는 근섬유 합성, 근육 분화, 근육 피로도 감소, 근육량 증가를 나타내는 것일 수 있고, 근육량의 증가로 인해 운동 능력을 증가시키는 것인,

근기능 강화용 식품 조성물.

**【변경후】**

락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) HY7715(수탁번호 KCTC13101BP)를 포함하는 근기능 강화용 식품 조성물로,

상기 근기능 강화는 근섬유 합성, 근육 분화, 근육 피로도 감소, 근육량 증가를 나타내는 것일 수 있고, 근육량의 증가로 인해 운동 능력을 증가시키는 것인,

근기능 강화용 식품 조성물.