



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년06월13일
(11) 등록번호 10-2408500
(24) 등록일자 2022년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2022.01) A23L 33/105 (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0031769
(22) 출원일자 2020년03월16일
심사청구일자 2020년03월16일
(65) 공개번호 10-2021-0115668
(43) 공개일자 2021년09월27일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020150075770 A

(73) 특허권자
주식회사 에치와이
서울특별시 서초구 강남대로 577 (잠원동)
(72) 발명자
정승희
인천광역시 연수구 송도국제대로 261
강희립
서울특별시 영등포구 도림로102길 3-6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
경일호

전체 청구항 수 : 총 6 항

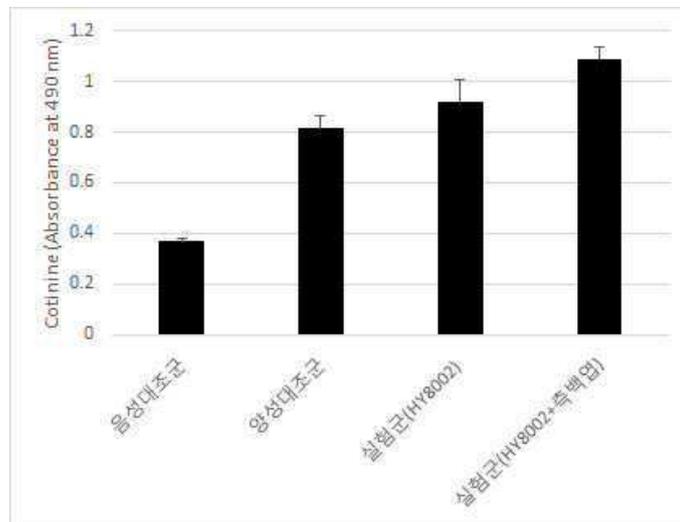
심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페이스 락티스 HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물

(57) 요약

본 발명은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페이스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물에 관한 것으로서, 니코틴을 코티닌으로 전환시키는데 관여하는 CYP2A6 유전자의 발현을 증가시키고, 세포사멸 관련 Caspase 3 유전자의 발현을 감소시킴으로써 니코틴 독성 완화 및 분해 촉진 효능을 갖는다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/135 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

(72) 발명자

라제현

경기도 수원시 영통구 덕영대로1555번길 20

정운희

경기도 용인시 기흥구 공세로 226

허건

경기도 수원시 영통구 센트럴타운로 85번길

이정열

경기도 양평군 서종면 통점길 63

심재현

경기도 용인시 기흥구 탑실로 152

명세서

청구범위

청구항 1

비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주(수탁번호: KCTC 13279BP)와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 복합물은 CYP2A6(Cytochrome P450 2A6) 유전자의 발현을 증가시킴으로써 니코틴의 분해를 촉진시키는 것을 특징으로 하는 식품조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 복합물은 Caspase 3(Cysteine-aspartic acid protease 3) 유전자의 발현을 감소시킴으로써 니코틴의 독성을 완화시키는 것을 특징으로 하는 식품조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 복합물은 니코틴의 직접 분해를 촉진시키는 것을 특징으로 하는 식품조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 복합물은 니코틴의 독성으로 인한 세포사멸 보호 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 식품조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항 또는 청구항 6에 있어서,

상기 식품조성물은 발효유, 건강기능식품, 기능성 음료 중에서 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 식품조성물.

발명의 설명

기술분야

본 발명은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균

주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 니코틴(Nicotine)을 코티닌(Cotinine)으로 전환시키는데 관여하는 CYP2A6(Cytochrome P450 2A6) 유전자의 발현을 증가시키고, 세포사멸에 관련된 Caspase 3(Cysteine-aspartic acid protease 3) 유전자의 발현을 감소시킴으로써 니코틴 독성 완화 및 분해 촉진 효능을 갖는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 현재 흡연은 전 세계 주요 사망원인 8개 중 6개의 질병 위험 요인으로 알려져 있으며, 2030년에는 흡연에 의한 전체 사망이 한해 당 8백만 명을 넘을 것으로 예측하고 있다(Mpower, 2008, WHO report on the global tobacco epidemic, WHO). 우리나라의 흡연율, 특히 성인 남성의 흡연율은 전 세계와 비교해도 높은 수준으로 2005년 한국의 성인 남성 중 현재 흡연자는 52.3%이다. 이는 WHO 회원국 중 자료가 있는 132개국 중 13위에 해당되는 수치이고(Mpower, 2008, WHO report on the global tobacco epidemic, WHO), 경제협력개발기구(OECD) 국가 중 최고 수준이다. 흡연이 일으키는 주요 질병으로서는 폐암, 만성폐쇄성폐질환(COPD), 관상동맥질환, 뇌졸중(뇌혈관 질환), 심장마비, 대동맥류, 순환계 질환(말초혈관질환 등), 인후암, 구강암 등을 들 수 있다. 담배 연기 속에는 인체에 유해한 발암물질 등 독성물질 4,000여 종이 포함되어 있고, 이 중 유해한 주요 성분은 여러 독성물질의 혼합물인 타르(Tar)와 니코틴(Nicotine)이라 할 수 있다. 니코틴(Nicotine)은 폐암 유발물질의 전구체로서, 니코틴 흡입은 급성적으로는 동공축소, 시야 혼탁, 구토, 호흡곤란, 타액과 호흡기관에서의 분비물 증가, 심장 박동수 감소 등 증상을 유발하며, 만성적으로는 동맥경화, 고혈압, 각종 순환계 질환을 유발한다.

[0005] 특히, 니코틴(Nicotine)은 가지과 식물에서 발견되는 알칼로이드(alkaloids) 물질로 흡연의 습관성을 만드는 주된 중독성 물질이며, 흡연에 대한 특이도가 높다. 혈중 니코틴 반감기는 대략 2~3시간으로, 체내에 들어가면 혈류에 의해 빠르게 퍼지고, 뇌혈관을 통과하게 된다. 니코틴은 약 80~90%가 체내에서 대사되는데 그 중 대부분이 코티닌(Cotinine)으로 변하게 된다. 니코틴에서 코티닌으로 대사되는 과정은 크게 2단계로 이루어지는데 첫 번째로 CYP2A6에 의해 nicotine- $\Delta 1'(5')$ iminium ion으로의 산화가 일어나고, 두 번째로 세포질 알데히드 산화효소(cytoplasmic aldehyde oxidase)에 의해 iminium ion이 코티닌(Cotinine)으로 변화된다.

[0007] 한편, 측백엽(*Thuja orientalis*)은 측백나무과(Cupressaceae)에 속하는 목본의 잎으로서 한국, 일본 및 중국 각지에 분포하며, 알려진 성분으로는 JUNIFERIC ACID(juniperic acid), 사비닌산(sabiniic acid), 택시폴린(taxifolin), 피넨(pinene), 튜존(thujone) 등의 성분이 알려져 있으며, 예로부터 수렴, 진통 및 지혈약으로 사용되어 왔다(박종희 저, 한약백과도감, 신일상사, pp828-829, 1992년). 특히, 대한민국 공개특허공보 제10-2016-0021038호(2016.02.24.)는 측백엽 추출물이 호흡기염증 질환에 대한 치료 효능이 있음이 개시되어 있을 뿐 니코틴 독성 완화 및 분해 촉진 효능을 갖는다는 것은 개시되어 있지 않다.

[0009] 또한, 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*)는 항염증, 항비만, 항균, 면역증강, 피부환경 개선 효과 등이 있음이 개시되어 있으나, 니코틴 독성 완화 및 분해 촉진 효능을 갖는다는 것은 개시되어 있지 않다.

[0011] 이에 본 발명자들은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽(*Thuja orientalis*) 열수추출물을 혼합한 복합물이 니코틴을 코티닌으로 전환시키는데 관여하는 CYP2A6 유전자의 발현을 증가시키고, 세포사멸에 관련된 Caspase 3 유전자의 발현을 감소시킴으로써 니코틴 독성 완화 및 분해촉진 효능을 가진다는 사실을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2016-0021038호(2016.02.24.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균

주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0016] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물을 제공하는 것을 특징으로 한다.
- [0018] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0020] 본 발명에 따른 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주를 분리하기 위해 건강한 사람의 분변을 취하여 이를 pH2.3의 완충용액을 이용하여 혐기적으로 희석하여 내산성이 높은 균주의 생존과 선발에 활용하였다. 이렇게 희석된 분변 용액을 비피도박테리움을 분리하는 배지인 BL 한천평판배지에 도말하고 37℃에서 2~3일간 혐기적으로 배양한 후 균주 집락을 분리하였다. 다시 BL 한천평판배지를 이용하여 단일 균주 집락을 분리하는 과정을 거친 후, 인체 내에서 생존하여 유의한 활성을 나타내기 위하여 필요한 내산성 및 내담즙성의 특징을 가진 비피도박테리움 균주를 선발하였다.
- [0022] 이하, 선발된 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주의 미생물학적 특성은 다음과 같다.
- [0024] (1)균의 형태 (BL 한천평판배지에서 37℃, 48시간 혐기 배양했을 때 균의 형태)
- [0025] 1)세포의 형상: 곤봉형, Y자형 등 다양
- [0026] 2)그람염색: 양성
- [0028] (2)집락의 형태 (BL 한천평판배지에서 37℃, 48시간 혐기 배양했을 때 집락의 형태)
- [0029] 1)형상: 원형
- [0030] 2)크기: 1~3mm
- [0031] 3)색조: 유백색
- [0033] (3)생리학적 성질
- [0034] 1)생육온도
- [0035] 생육범위: 25~45℃
- [0036] 최적온도: 37~41℃
- [0037] 2)생육 pH
- [0038] 생육범위: pH 2.0~8.0
- [0039] 최적 pH: pH 6.5~7.0
- [0040] 3)산소의 영향: 편성 혐기성
- [0041] 4)보게스-프로스카우어(Voges - Proskauer) 반응: -
- [0042] 5)카탈라아제: -
- [0043] 6)암모니아 생성: -
- [0044] 7)유응고성: -
- [0045] 8)리트머스 밀크 환원: -
- [0046] 9)우레아 분해효소: -
- [0047] 10)베타-갈락토오스 분해효소: +
- [0048] 11)알파-글루코오스 분해효소: +

[0050] (4)내산성

[0051] 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주를 10ml BL 액체배지에 접종하여 37℃에서 18시간 배양한 후, 이 배양액의 일정량을 다시 pH 2.3의 완충용액에 접종하여 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 상기 배양액의 일정량을 취하여 혐기성 완충용액에 일정비율로 희석하였다. BL 한천평판배지에 상기의 희석액을 일정량 접종한 후 37℃에서 48시간 동안 혐기 배양하여 나타나는 집락수를 계수하였다.

[0053] 그 결과, 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주는 10% 정도의 낮은 사멸율을 보여 산에 대한 강한 내성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

[0055] (5)내담즙산성

[0056] 담즙산이 첨가된 BL 한천평판배지에 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주를 백금으로 접종하여 37℃에서 48시간 혐기 배양하여 집락의 생육여부를 관찰하였다.

[0058] 그 결과, 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주는 0.15%(w/v)의 담즙산이 첨가된 배지에서도 생육하여 담즙산에 대한 내성도 지니고 있음을 알 수 있었다.

[0060] (6)분리 및 동정

[0061] 16S rDNA 분석을 통한 분자유전학적인 방법을 실시하여 본 발명의 균주를 동정하였다. 16S rDNA 염기 서열 분석 결과를 표 1에 나타내었다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

[0063] 하기의 표 1에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명의 균주의 16S rDNA 유전자는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*)의 16S rDNA 유전자와 99% 일치하는 것으로 확인되었다.

표 1

Description	Max score	Total score	Query cover	Max identity	Accession
Bifidobacterium animalis subsp lactis strain CECT 8145 16S ribosome RNA gene, partial seq	2732	2732	89%	99	KP202873.1
Bifidobacterium animalis subsp lactis strain BF052 complete genome	2732	10929	89%	99	CP009045.1

[0066] 이상의 16S rRNA 서열 및 균학적 특성에 의해 본 발명의 균주를 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002로 명명하고, 이를 2017년 5월 31일자로 한국생명공학연구원에 기탁하였다(수탁번호: KCTC 13279BP).

[0068] 본 발명에 따른 측백엽 열수추출물은 건조된 측백엽을 적당한 크기로 분쇄하고 추출용기에 넣은 후, 증류수를 추출 용기에 넣어 일반적인 열수추출방법으로 추출한다.

[0070] 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 식품조성물은 식품, 식품첨가제, 음료, 음료첨가제, 발효유, 건강기능식품 등으로 사용될 수 있다. 식품, 식품첨가제, 음료, 음료첨가제, 또는 건강기능식품으로 사용되는 경우, 각종 식품류, 발효유, 육류, 음료수, 초콜렛, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올 음료, 비타민 복합제, 주류 및 그 밖의 건강기능식품일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0072] 특히, 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 발효유는 유산균 배양액과 측백엽 열수추출물 및 혼합과즙시럽을 일정비율로 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃ 이하로 냉각한 후 용기에 포장하여 제조한다.

[0074] 또한, 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 기능성 음료는 혼합과즙시럽, 측백엽 열수추출물 및 물을 일정한 비율로 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃ 이하로 냉각한 후 유리병, 페트병 등 소포장 용기에 포장하여 기능성 음료를 제조한다.

[0076] 또한, 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 니코틴 독성 완화 및 분해촉진을 위한 건강기능식품은 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 포함하는 것 이외에 영양보조 성분으로 비타민 B₁, B₂, B₅, B₆, E 및 초산 에스테르, 니코틴산 아마이드, 올리고당 등이 첨가될 수 있으며 여타의 식품 첨가물이 첨가되어도 무방하다.

발명의 효과

[0078] 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽(*Thuja orientalis*) 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 식품조성물은 니코틴을 코티닌으로 전환시키는데 관여하는 CYP2A6 유전자의 발현을 증가시키고, 세포사멸에 관련된 Caspase 3 유전자의 발현을 감소시킴으로써 니코틴 독성 완화 및 분해 촉진 효능을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0080] 도 1은 니코틴 직접분해 효능을 확인하기 위하여 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 처리에 따른 코티닌 생성량을 나타낸 그래프이다.

도 2는 세포내 니코틴 분해효능을 확인하기 위하여 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 처리에 따른 코티닌 생성량을 나타낸 그래프이다.

도 3은 니코틴 처리시 나타나는 세포사멸 효과에 대해 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 처리에 따른 세포사멸 보호효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 처리에 따른 니코틴을 코티닌으로 전환하는데 관련된 효소 CYP2A6 유전자의 발현 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 5는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 처리에 따른 니코틴 처리 시 나타나는 세포사멸 관련 효소 Caspase 3 유전자의 발현 감소 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0081] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 다음의 실시예는 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니며, 본 발명의 기술적 사상의 범위 내에서 통상의 기술자에 의한 통상적인 변화가 가능하다.

[0083] <실시예 1>

[0084] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 동결건조분말 제조

[0085] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002를 BL broth 배지에서 배양한 후, 배양액을 8,000rpm에서 15분 동안 원심분리를 하여 얻은 프로바이오틱스 농축액에 대하여 코팅제 및 동결보호제로써 가압 살균된 10중량%의 탈지분유가 함유된 수용액을 1:1의 중량비율로 혼합한 다음, 영하 70℃에서 6시간 동안 동결 후 동결건조분말을 제조하였다.

[0087] <실시예 2>

[0088] 측백엽 열수추출물의 동결건조분말 제조

- [0089] 시판되는 국내산 건조 측백엽을 구입하여 시료로 사용하였다. 건조된 측백엽 100g을 적당한 크기로 분쇄하고 추출용기에 넣은 후, 상기 건조된 측백엽 100g에 대하여 10배에 해당하는 증류수 1,000mL를 추출 용기에 넣어 85℃에서 12 내지 18 시간 추출하였다. 상기 측백엽 열수추출물은 여과지를 이용하여 불용성 불순물을 제거하였다. 그런 다음, 상기 여과된 측백엽 열수추출물을 회전 진공 농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 60℃에서 감압농축하고, 상기 감압농축된 측백엽 열수추출물은 동결건조 후, 분쇄하여 분말화하였다.
- [0091] <실시에 3>
- [0092] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물 제조
- [0093] 상기 실시예 1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 동결건조분말과 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물의 동결건조분말을 1:1의 중량비율로 혼합하여 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 제조하였다.
- [0095] <실시에 4>
- [0096] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 발효유의 제조
- [0097] 먼저, 유산균 배양액은 원유 95.36중량%와 탈지분유(또는 혼합분유) 4.6중량%를 교반하여 15℃에서의 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 혼합한 후에 이를 UHT 열처리(135℃에서 2초간 살균)하고 적정온도로 냉각한 뒤, 스트렙토코커스 써모필러스균과 유당분해효소(Valley laboratory, USA)를 각각 0.02중량%씩 첨가하고, 6시간 동안 배양하여 BCP배지에서 총 유산균 수가 1.0X10⁹cfu/ml이상, 적정산도가 0.89~0.91%, pH는 4.55~4.65가 되도록 하여 제조하였다.
- [0099] 다음으로, 혼합과즙시럽은 액상과당 13중량%, 백설탕 5중량%, 혼합과즙농축액 56Brix⁰ 10.9중량%, 펙틴 1.0중량%, 후레쉬후르츠 믹스 에센스 0.1중량% 및 정제수 70중량%를 30~35℃에서 교반하여 혼합한 후 UHT 열처리(135℃에서 2초간 살균)한 후 냉각하여 제조하였다.
- [0101] 상기 유산균 배양액 69.5중량%, 상기 혼합과즙시럽 30.4중량% 및 상기 실시예 3의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물 0.1중량%를 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃ 이하로 냉각하여 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 발효유를 제조하였다.
- [0103] <실시에 5>
- [0104] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 기능성 음료의 제조
- [0105] 먼저, 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 30~35℃에서 교반하여 혼합한 후 UHT열처리(135℃에서 2초간 살균)한 후 냉각하여 제조하였다.
- [0107] 상기 혼합과즙시럽 30.4중량%, 상기 실시예 3의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물 0.1중량% 및 정제수 69.5중량%를 조합하여 150bar에서 균질한 후 10℃ 이하로 냉각한 후 이를 유리병, 페트병 등 소포장 용기에 포장하여 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 기능성 음료를 제조하였다.
- [0109] <실시에 6>
- [0110] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 건강기능식품의 제조
- [0111] 상기 실시예 3의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*)

HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물 0.1중량%에 영양보조성분(비타민 B₁, B₂, B₅, B₆, E 및 초산에스테르, 니코틴산 아미드) 및 올리고당을 상기 실시예 3의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물 100중량부에 대하여 10중량부가 되도록 첨가하여 고속회전 혼합기에서 혼합하였다. 상기 혼합물에 멸균 정제수 10중량부를 첨가, 혼합하고 직경 1~2mm의 과립상으로 성형하였다. 상기 성형된 과립은 40~50℃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 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물을 유효성분으로 함유하는 건강기능식품을 제조하였다.

- [0113] <시험예 1>
- [0114] 1-1. 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체의 제조
- [0115] 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002를 BL 액체배지에 접종하여 37℃에서 18~20시간 배양하였다. 정확한 생균수를 확인하기 위해 배양이 완료된 상기 유산균을 십진 희석하여 BL agar 배지를 이용하여 37℃에서 2~3일간 배양해 균수를 측정하였다.
- [0116] 세포 실험에 적용 시 앞서 구한 균수를 기준으로 하여 세포 배양에 사용한 배지를 넣고 희석해 생균체로 사용하였다.
- [0118] 1-2. 인간 간암세포주(HepG2)의 계대 배양
- [0119] 한국세포주은행(서울)으로부터 분양을 받은 인간 간암세포주인 HepG2 세포는 10% FBS(heat inactivated fetal bovine serum), 10U/mL 페니실린, 100μg/mL 스트렙토마이신이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 HepG2 세포 : DMEM 배지를 1:4의 중량비율로 2~3일에 한 번씩 5% 이산화탄소 및 37℃의 조건에서 계대배양하였다.
- [0121] 1-3. 직접 혼합에 의한 니코틴 분해능 측정
- [0122] 실험군(HY802+측백엽)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물의 니코틴 분해능을 측정하기 위하여 에펜도르프(Eppendorf) 튜브(1.5ml)에 10mM의 니코틴[nicotine(-), catalog number (N3876)] 200μl을 넣고, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체(1×10⁹CFU/mL) 100μl 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 25μg/ml 농도로 증류수에 희석하여 100μl를 잘 혼합하여 60분 경과 후 코티닌 정량법[Direct Barbituric Acid(DBA)]으로 측정하였다. 이 때 측정온도는 25℃이었다. 코티닌 정량은 바로우(Barlow) 등(Barlow, R. d., Stone, R. B., Wald, N. J., and Puhakainen, E. J. (1987) Clin. Chin. Acta., 165, 45-52)에 의해 1987년 개발된 방법을 변형하여 사용하였다.
- [0123] 즉, 1.5ml 폴리프로필렌(polypropylene) 튜브에 니코틴[nicotine(-), catalog number (N3876)] 10mM 니코틴 200μl 및 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체(1×10⁹CFU/mL) 100μl 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 25μg/ml 농도로 증류수에 희석하여 100μl를 잘 혼합하여 60분 경과 후 코티닌 정량법을 실시하였다. 이때 실험결과의 신뢰성을 기하기 위하여 한 샘플 당 3개의 튜브를 사용하였다. 60분 경과 후 측정대상 시료에 4M 염화아세테이트 완충액(pH 4.7) 100μl, 1.5M KCN 40μl, 0.4M 클로라민(chloramine)-T 40μl, 50% 아세토니트릴(acetonitrile) 수용액에 용해한 78mM 바르비투르산(barbituric acid) 200μl을 순서대로 넣고 10초 동안 잘 혼합하였고, 혼합물을 상온(25℃)에서 15분간 반응시킨 다음 1M 염화 메타바이설파이드(sodium metabisulphite) 40μl를 넣고 반응을 중지시켰다. 흡광도는 490nm에서 측정하여 OD값을 측정하였다.
- [0125] 또한, 실험군(HY8002)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주만의 니코틴 분해능을 측정하기 위하여 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 혼합하지 않고 1mM 니코틴 200μl, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체(1×10⁹CFU/mL) 100μl와 증류수 100μl만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.
- [0127] 또한, 양성대조군으로서 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium*

animalis ssp. lactis) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않고 1mM 니코틴 200 μ l 와 증류수 200 μ l만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.

[0129] 한편, 음성대조군으로서 니코틴, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 (*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않고 증류수 400 μ l만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.

[0131] 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0132] 도 1에서 확인할 수 있는 바와 같이, 니코틴만 첨가된 양성대조군의 코티닌 생성량이 약 0.8인데 반하여 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물 복합물을 적용한 실험군(HY8002+측백엽)에서는 코티닌 생성량이 약 1.1로서 양성대조군보다 코티닌 생성량이 많아 니코틴 분해효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

[0134] 또한, 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주만 적용한 실험군(HY8002)에서는 코티닌 생성량이 약 0.9로서 양성대조군의 코티닌 생성량 약 0.8 보다 코티닌 생성량이 많음을 확인 할 수 있었다.

[0136] <시험예 2>

[0137] 간세포에서 세포내 니코틴 분해능 측정

[0138] 실험군(HY8002+측백엽)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물 복합물의 세포내 니코틴 분해능을 측정하기 위하여 간암세포주인 HepG2세포를 1x10⁶ cells 농도로 100 ϕ 세포배양 접시에 시딩(seeding)하여 24~48시간 동안 배양한 후에 DMEM(serum free) 배지로 1회 워싱(washing)하고, DMEM(serum free) 배지에 니코틴 1mM 농도로 상기 세포에 처리하여 24시간 동안 배양한 다음, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 (*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 1x10⁶ CFU/100 ϕ dish 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물 25 μ g/ml 농도를 처리한 후 2시간 동안 배양하였다. 그런다음, 상기 세포를 수집하여 상등액을 제거한 후 4 $^{\circ}$ C PBS 100 μ l를 넣고 초음파 분쇄기로 단속적으로 30초간 파쇄한 후 DBA(Direct Barbituric Acid(DBA) 방법을 이용하여 490nm의 파장에서 코티닌 양을 측정하였다.

[0140] 또한, 실험군(HY8002)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주만의 니코틴 분해능을 측정하기 위하여 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 혼합하지 않고 1mM 니코틴, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 1x10⁶ CFU/100 ϕ dish 만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.

[0142] 한편, 음성대조군으로서 니코틴, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 (*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않은 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.

[0144] 또한, 양성대조군으로서 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않고 1mM 니코틴 만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.

[0146] 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0147] 도 2에서 확인할 수 있는 바와 같이, 니코틴만 첨가된 양성대조군의 코티닌 생성량이 약 0.40인데 반하여 본 발명의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물 복합물을 적용한 실험군(HY8002+측백엽)에서는 코티닌 생성량이 약 0.52로서 양성대조군보다 코티닌 생성량이 많아 니코틴 분해효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

[0149] 또한 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주만 적용한 실험군(HY8002)에서는 코티닌 생성량이 약 0.43으로서 양성대조군의 코티닌 생성량 약 0.40 보다 코티닌 생성량이 많음을 확인 할 수 있었다.

[0151] <시험예 3>

- [0152] 니코틴 세포독성 보호효과 측정
- [0153] 실험군(HY8002+측백엽)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물 복합물의 니코틴 세포독성의 보호효과를 측정하기 위하여 간암세포주인 HepG2세포를 96웰(well)에 웰(well)당 2×10^5 cells 접종한 후, 24시간 동안 배양한 후에 DMEM(serum free) 배지로 1회 워싱(washing)하고 니코틴 10mM를 상기 세포에 처리하였다. 상기 니코틴이 처리된 세포에 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 1×10^6 CFU/웰 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물 25 μ g/ml을 처리한 후 24시간 동안 배양한 후, Cell Counting Kit-8(CCK-8)로 세포생존율을 측정하였다.
- [0155] 또한, 실험군(HY8002)으로서 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주만의 니코틴 세포독성의 보호효과를 측정하기 위하여 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 혼합하지 않고, 1mM 니코틴과 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 1×10^6 CFU/웰 만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.
- [0157] 또한, 실험군(측백엽)으로서 측백엽 열수추출물만의 니코틴 세포독성의 보호효과를 측정하기 위하여 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체를 혼합하지 않고, 1mM 니코틴과 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물 25 μ g/ml 만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.
- [0159] 한편, 양성대조군으로서 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않고 1mM 니코틴 만을 첨가한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.
- [0161] 또한, 음성대조군으로서 니코틴, 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않은 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 시험하였다.
- [0163] 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0164] 도 3에서 확인할 수 있는 바와 같이, 음성대조군의 세포 생존율 100%를 기준으로 니코틴 만을 처리한 양성대조군에서는 세포 생존율이 44%로 감소하였으나, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002를 동시에 처리한 실험군(HY8002)에서는 세포 생존율이 53%까지 증가하였고, 니코틴과 측백엽 열수추출물을 동시에 처리한 실험군(측백엽)에서는 세포 생존율이 70.5%까지 증가하였으며, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002와 측백엽 열수추출물 복합물을 동시에 처리한 실험군(HY8002+측백엽)에서는 세포 생존율이 88.1%까지 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 사실을 통하여 본 발명의 니코틴 독성보호 효과를 나타내는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물 복합물은 니코틴 처리에 따른 세포 사멸을 억제하는 효과를 가진다는 것이 확인 되었다.
- [0166] <시험예 4>
- [0167] 4-1. 니코틴이 처리된 인간 간암세포인 HepG2 세포에서의 RNA추출
- [0168] 실험군(HY8002+측백엽)으로서 인간 간암세포주인 HepG2 세포를 6웰(well)에 웰(well)당 2×10^5 cells 접종한 후, 24시간 동안 배양한 후에 DMEM(serum free) 배지로 1회 워싱(washing)하고 니코틴 1mM를 상기 세포에 처리하였다. 상기 니코틴이 처리된 세포에 상기 시험예 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 1×10^6 CFU/웰 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물 25 μ g/ml을 처리한 후 24시간 동안 배양한 후 상등액을 제거하고, easy-spin™ lysis buffer(iNtRON, USA) 1ml를 넣고 상기 HepG2 세포를 용해한 다음, RNA를 추출하여 cDNA를 합성하였다. 구체적으로, 모든 RNA는 easy-spin™ total RNA Extraction kit(iNtRON, USA)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 분리되었다. RNA 순도와 분해 정도는 ND-1000 Spectrophotometer(NanoDrop, Wilmington, USA)와 Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies, Palo Alto, USA)로 확인되었다.

- [0170] 한편, 실험군(HY8002)으로서 유전자 발현 변화의 원인을 보다 명확히 하기 위하여 상기 실시예 2의 측백엽 열수 추출물을 첨가하지 않고 니코틴과 상기 시험에 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 (*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 만을 처리한 것을 제외하고 상기와 동일한 방법으로 RNA를 추출하였다.
- [0172] 또한, 양성대조군으로서 유전자 발현 변화의 원인을 보다 명확히 하기 위하여 상기 시험에 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 생균체 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않고 니코틴 만을 처리한 것을 제외하고 상기와 동일한 방법으로 RNA를 추출하였다.
- [0174] 또한, 음성대조군으로서 인간 간암세포주인 HepG2세포에 니코틴, 상기 시험에 1-1의 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주 및 상기 실시예 2의 측백엽 열수추출물을 첨가하지 않은 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 RNA를 추출하였다.
- [0176] 4-2. 실시간 중합효소 연쇄반응을 이용한 니코틴이 처리된 인간 간암세포인 HepG2 세포에서의 유전자 발현 분석
- [0177] 상기 시험에 4-1의 분리된 각각의 RNA는 Omniscript reverse transcription kit(Qiagen, Germany)를 사용하여 cDNA로 합성 되었다. RNA 발현을 평가하기 위하여, Taqman gene expression master mix(Taqman USA) 및 QuantStudio 6 Flex Real-Time PCR System(Applied biosystems, USA)을 사용하여 분석 및 정량하였다. RNA 발현의 평가에 사용한 프라이머(primer)는 GAPDH(Hs03929097_g1), CYP2A6(Hs00868409_s1), Caspase-3(Hs00234387_m1)로서, Taqman사를 통해 주문하여 사용하였다. 증폭된 DNA의 양을 Delta delta Ct method를 이용하여 정량하고, 각 시료에 대해 GAPDH의 발현량으로 보정하여 증폭된 DNA의 양을 정량적으로 비교하였다.
- [0179] 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.
- [0180] 도 4에서 확인할 수 있는 바와 같이, HepG2 세포에 아무것도 처리하지 않은 음성대조군의 유전자 발현 1을 기준으로, HepG2 세포에 니코틴 만을 처리한 양성대조군에서는 CYP2A6(Cytochrome P450 2A6) 유전자 발현이 1.36로 증가하였고, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002를 동시에 처리한 실험군(HY8002)의 경우에는 유전자 발현이 1.5까지 증가하였으며, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002과 측백엽 열수추출물 복합물을 동시에 처리한 실험군(HY8002+측백엽)의 경우에는 유전자 발현이 1.84까지 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 사실을 통하여 본 발명의 니코틴 분해 효과를 나타내는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물이 니코틴 대사와 관련된 CYP2A6 유전자의 발현을 증가시켜 니코틴 대사를 활성화 시킨다는 것이 확인 되었다.
- [0182] 도 5에서 확인할 수 있는 바와 같이, HepG2 세포에 아무것도 처리하지 않은 음성대조군의 유전자 발현 1을 기준으로, HepG2 세포에 니코틴 만을 처리한 양성대조군에서는 세포사멸 관련 유전자 caspase 3(cysteine-aspartic acid protease 3) 유전자 발현이 2.15로 증가하였고, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스 (*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002를 동시에 처리한 실험군(HY8002)의 경우에는 유전자 발현이 1.34까지 증가하였으며, 니코틴과 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002과 측백엽 열수추출물 복합물을 동시에 처리한 실험군(HY8002+측백엽)의 경우에는 유전자 발현이 1.22까지 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 사실을 통하여 본 발명의 니코틴 분해 효과를 나타내는 비피도박테리움 애니멀리스 서브스페시스 락티스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) HY8002 균주와 측백엽 열수추출물의 복합물이 세포사멸관련 유전자인 caspase-3 유전자의 발현을 억제시켜 니코틴으로 인한 세포 사멸 효과를 억제하는 것이 확인 되었다.

수탁번호

[0184]

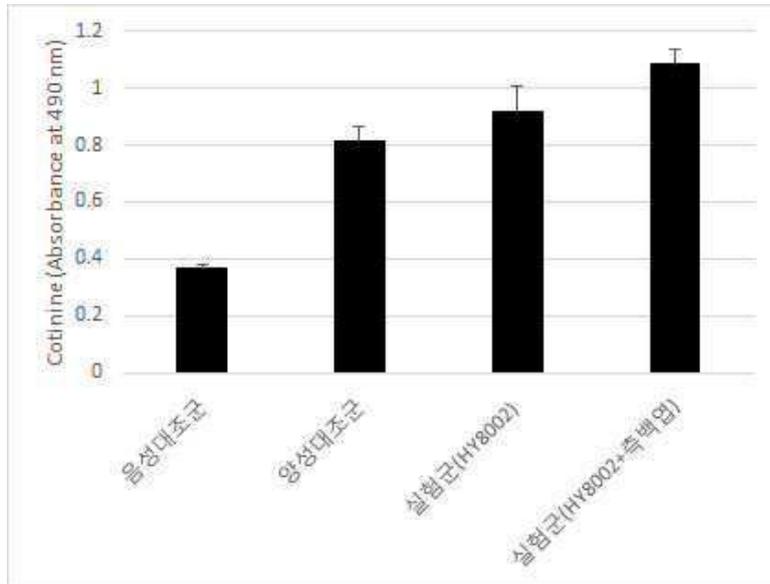
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC13279BP

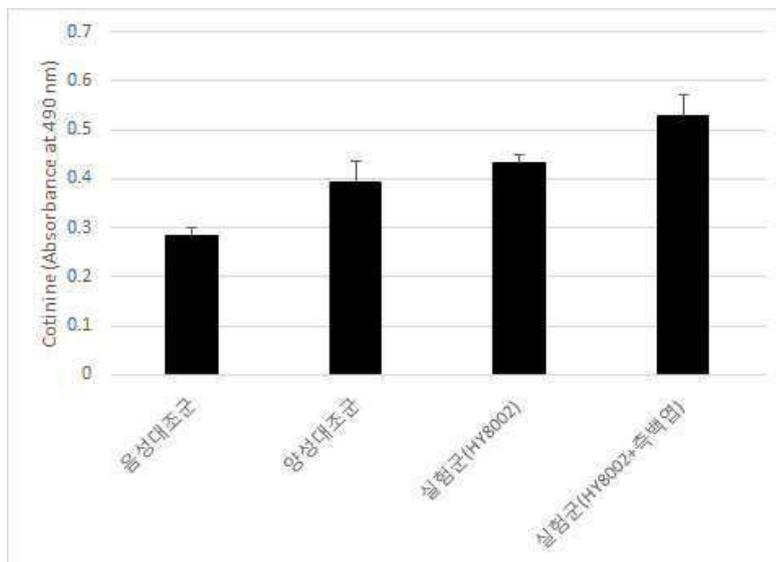
수탁일자 : 20170531

도면

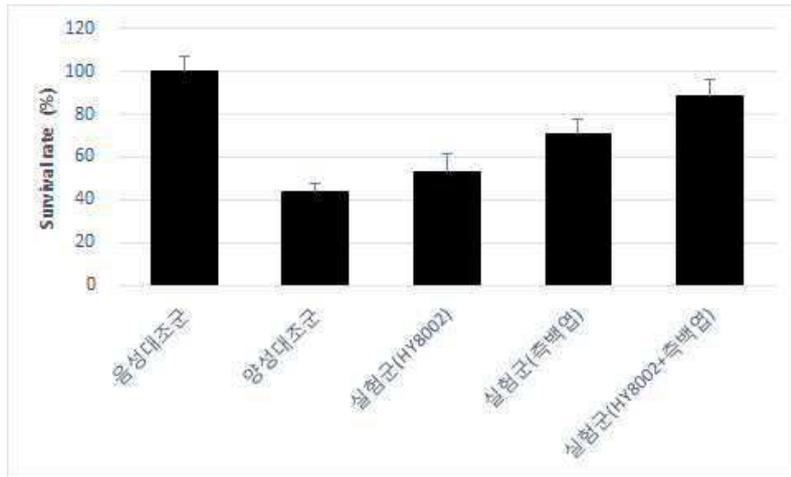
도면1



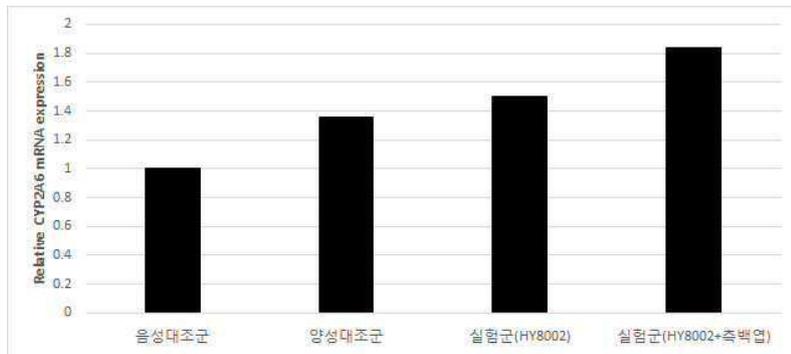
도면2



도면3



도면4



도면5

