(19) 대한민국 지식재산처(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2026-0062181
(43) 공개일자 2026년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2026.01) *A23L 33/135* (2016.01)
A61K 35/747 (2015.01) *A61K 8/99* (2017.01)
A61P 17/00 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
C12R 1/225 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/205 (2026.01)
A23L 33/135 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2024-0147747
(22) 출원일자 2024년10월25일
심사청구일자 2024년10월25일

(71) 출원인
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
김영훈
전북특별자치도 전주시 덕진구 틀못1길 15, 호반 5차 503동 503호
최혜진
전북특별자치도 전주시 완산구 서곡로 11, 102동 603호
(74) 대리인
특허법인더웨이브

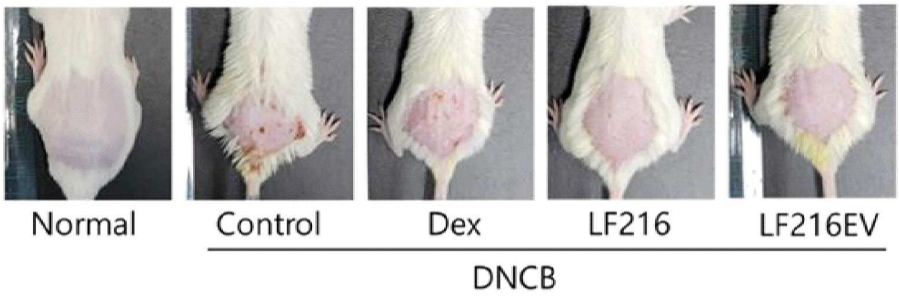
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **리모시락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 균주, 그의 세포외 소포 및 그의 항염증 용도**

(57) 요 약

본 발명은 리모시락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 균주, 그의 세포외 소포 및 그의 항염증 용도에 관한 것으로, 본 발명의 일 양상에 따른 리모시락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 균주 또는 상기 균주의 세포외 소포를 포함하는 조성물은 아토피성 피부염과 같은 피부 염증의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도20



(52) CPC특허분류
A61K 35/747 (2013.01)
A61K 8/99 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/318 (2013.01)
A23V 2200/3204 (2013.01)
C12R 2001/225 (2021.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2710015970
과제번호	2022M3A9I5018286
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발
연구과제명	장 면역 기반 기능성 피부건강 및 이너뷰티 바이오신소재 개발 및 기전 연구
과제수행기관명	서울대학교
연구기간	2024.01.01 ~ 2024.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

수탁번호 KACC 81307BP로 기탁된, 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1의 16S rRNA를 포함하는 것인 균주.

청구항 3

청구항 1의 균주 유래의 세포외 소포(Extracellular Vesicle).

청구항 4

청구항 1 또는 2의 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 항염증 조성물.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 조성물은

(i) 염증성 사이토카인의 생성을 억제시키거나,

(ii) 글리신, l-프롤린, 젖산, 알라닌, 푸마르산, 락툴로스, 맥아당, 소야사포게놀 B, 류신, 이소류신, 발린 또는 이노신으로 구성된 군에서 선택되는 1종 이상의 장내 대사체를 증가시키거나,

(iii) 세로토닌 분비량을 증가시키는 것인, 항염증 조성물.

청구항 6

청구항 1 또는 2의 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 피부 염증은 알레르기성 피부염, 자극성 피부염, 지루성 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 피부 노화, 소양증, 건성 습진, 홍반, 두드러기, 건선, 약발진 및 여드름으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 1 또는 2의 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 개선용 화

장료 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 피부 염증은 알레르기성 피부염, 자극성 피부염, 지루성 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 피부 노화, 소양증, 건성 습진, 홍반, 두드러기, 건선, 약발진 및 여드름으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 화장료 조성물.

청구항 10

청구항 1 또는 2의 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 11

청구항 1 또는 2의 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 장 건강 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 리모시락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 균주, 그의 세포외 소포 및 그의 항염증 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 아토피 피부염(Atopic Dermatitis; AD)은 만성적인 피부 염증 질환으로, 소아와 성인 모두에게 영향을 미칠 수 있다. AD의 발병 기전은 아직 명확히 규명되지 않았으나, 유전적 소인, 비정상적인 면역 반응, 환경적 요인, 그리고 손상된 표피 기능이 상호작용하여 발병에 기여할 가능성이 여러 연구에서 제기되었다. 특히 소아에서 AD가 발생할 경우 천식, 비염, 식품 알레르기 등의 알레르기 질환 발생 위험이 높아질 수 있다. 또한, AD로 인한 가려움으로 인해 피부를 긁게 되면 피부 장벽이 손상되고, 이는 수면 질을 저하시켜 성장 발달에 악영향을 미칠 수 있다. 현재 AD 치료에는 주로 국소 스테로이드제와 전신 면역억제제가 사용되지만, 소아에서의 장기적인 안전성 데이터가 부족하고, 전신 약물 사용 시 부작용 및 치료 중단 후 재발 위험이 있다. 따라서 부작용이 적은 새로운 치료법 개발이 필요한 상황이다(비특허문헌 0001).

[0003] 최근 연구에 따르면 장내 미생물군과 AD 발병 사이의 연관성이 밝혀졌다. 장내 미생물군의 변화는 대사와 면역, 발달 등 다양한 생리적 과정에 영향을 미칠 수 있으며, 이를 기반으로 장내 미생물군을 조절하여 AD 증상을 완화하는 프로바이오틱스 및 대사체를 이용한 치료 전략들이 주목받고 있다. 이러한 맥락에서 장내 미생물군의 구성을 변화시키는 방법은 AD 치료에 있어 유망한 접근법으로 평가되고 있다(비특허문헌 0002).

[0004] 세포외 소포(Extracellular Vesicle; EV)는 단백질, 지질, 핵산 등의 생리활성 물질을 운반하는 나노 크기의 구조체로, 숙주 병리 생리학적 과정에 중요한 역할을 할 수 있다. 특히 EV는 지질 이중층으로 둘러싸여 있어 다양한 조직과 혈관, 점막층을 통과하며, 생리활성 물질을 효율적으로 전달하여 강력한 세포 반응을 유도할 수 있다. 최근에는 EV가 프로바이오틱스의 효과를 보다 안전하고 효율적으로 전달하는 수단으로 주목받고 있으며, 프로바이오틱스 사용이 금기일 수 있는 취약한 환자에서도 부작용을 최소화할 수 있는 방법으로 떠오르고 있다. 특히, 프로바이오틱스 유래 EV는 새로운 치료 물질로 주목받고 있으며, 일부 연구는 EV가 특정 경로를 조절해 위장 장애를 완화하거나 스트레스 유발 행동을 개선할 수 있음을 보여주었다. 이러한 연구들은 EV가 차세대 프로바이오틱스 대안으로서의 가능성을 제시한다(비특허문헌 0003).

[0005] 이에, 본 출원의 발명자들은 장내 유래 신규 미생물, 및 이의 유래의 세포외 소포를 이 용한 질병의 개선,

예방, 또는 치료를 위한 물질을 개발하여 제공하고자 한다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Climent E, Martinez-Blanch JF, Llobregat L, Ruzafa-Costas B, Carri ó

n-Guti é

rrez M Á

, Ram í

rez-Bosc á

A, et al. Changes in gut microbiota correlates with response to treatment with probiotics in patients with atopic dermatitis. a post hoc analysis of a clinical trial. Microorganisms 2021; 9:854.

(비특허문헌 0002) KLEWICKA E, CUKROWSKA B, LIBUdZISZ Z, Slizewska K, Motyl I. Changes in gut microbiota in children with atopic dermatitis administered the bacteria Lactobacillus casei DN-114001. Polish Journal of Microbiology 2011; 60:329.

(비특허문헌 0003) Molina-Tijeras JA, G á

lvez J, Rodr í

guez-Cabezas ME. The immunomodulatory properties of extracellular vesicles derived from probiotics: a novel approach for the management of gastrointestinal diseases. Nutrients 2019; 11:1038.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본원의 하나의 목적은 수탁번호 KACC 81307BP로 기탁된, 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주를 제공하는 것이다.

[0008] 본원의 다른 하나의 목적은 상기 균주 유래의 세포외 소포를 제공하는 것이다.

[0009] 본원의 또 다른 하나의 목적은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 항염증 조성물을 제공하는 것이다

[0010] 본원의 또 다른 하나의 목적은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본원의 또 다른 하나의 목적은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본원의 또 다른 하나의 목적은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0013] 본원의 또 다른 하나의 목적은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄

물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 장 건강 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다. 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 출원에 기재된 본 출원의 특정 양태에 대한 다 수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 출원에 포함되는 것으로 의도된다.

[0016] 본 발명의 일 양상은 수탁번호 KACC 81307BP로 기탁된 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주이다.

[0017] 일 구체예에 있어서, 상기 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) 균주는 서열번호 1의 16S rRNA를 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명에서 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주는 LF216 균주와 혼용되어 명명된다.

[0019] 상기 LF216 균주는 항염증 활성을 갖는 것일 수 있다.

[0020] 상기 균주는 염증성 사이토카인(TNF-α 및 IL-6 등)의 생성을 억제하거나, 장내 미생물군과 대사체 구성을 변화시켜 세로토닌 합성을 촉진함으로써 아토피성 피부염 증상을 완화시킬 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 양상은 상기 균주 유래의 세포외 소포(Extracellular Vesicle)이다.

[0022] 상기 용어 "세포외 소포(Extracellular Vesicle)"은 살아있는 세포에서 지질 이중막으로 포장되어 자연적으로 분비되는 입자를 의미하고, 엑소좀, 미세소포체, 다중소포체 또는 세포외 소포체-유사 소포체)를 모두 포함할 수 있다.

[0023] 본 발명에서 상기 세포외 소포는 LF216EV로 명명된다.

[0024] 일 구체예에 있어서, 상기 LF216EV의 직경은 10 nm 내지 400 nm일 수 있다. 예를 들어, 10 nm 내지 400 nm, 10 nm 내지 350 nm, 10 nm 내지 300 nm, 또는 10 nm 내지 250 nm 일 수 있다.

[0026] 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 항염증 조성물을 제공하는 것이다.

[0027] 상기 용어 "건조물"은 리모실락토바실러스 퍼멘텀(Limosilactobacillus fermentum) SLAM216 균주를 건조시키는 과정을 통해 얻어진 산물을 의미하며, 상기 건조물은 물질 내 수분을 제거하여 안정성과 저장성을 향상시킨 형태의 물질을 포함한다.

[0028] 상기 용어 "파쇄물"은 상기 균주 자체를 화학적 또는 물리적 힘에 의하여 균주의 세포벽을 파쇄하여 얻은 산물을 의미할 수 있다.

[0029] 상기 용어 "용해물"은 상기 균주를 물리적 또는 화학적 방법으로 용해하여 얻은 산물로, 용해 과정에서 물질의 세포벽이나 구성 성분이 분리되거나 변형되어 유효 성분이 추출된 형태를 포함할 수 있다.

[0030] 상기 용어 "배양액"은 "배양 상층액", "배양물 상등액", "조건 배양액" 또는 "조정 배지"와 호환적으로 사용될 수 있고, 상기 균주가 시험관 내에서 성장 및 생존할 수 있도록 영양분을 공급할 수 있는 배지에 상기 균주를 일정기간 배양하여 얻는 상기 균주, 이의 대사물, 여분의 영양분 등을 포함하는 전 체 배지를 의미할 수 있다.

[0031] 상기 배양액은 균주를 배양하여 수득된 배양액 자체, 그의 농축물, 또는 동결건조물 또는 배양액으로부터 균주를 제거하여 수득된 배양 상등액, 그의 농축물 또는 동결건조물을 포함할 수 있다.

[0032] 상기 용어 "추출물"은 상기 배양액 또는 그의 농축액로부터 추출한 것을 의미하며, 추출액, 추출액의 희석액 또

는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물, 이를 분획한 분획물을 포함할 수 있다.

[0033] 상기 용어 "분획물"은 여러 다양한 구성 성분들을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미한다.

[0034] 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수행될 수 있다.

[0035] 일 구체예에 있어서, 상기 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 추출물 또는 분획물은 상기 균주 및/또는 상기 균주 유래의 세포외 소포를 포함할 수 있다.

[0036] 상기 용어 "항염증"은 염증 반응을 억제하거나 완화하는 작용 또는 이를 돕는 약물이나 치료 방법을 의미한다.

[0037] 상기 염증은 신체의 면역 반응 중 하나로, 감염, 외상, 알레르기 등의 자극에 의해 발생할 수 있다. 항염증 작용은 이러한 염증 반응을 과도하게 진행되지 않도록 조절함으로써 조직 손상을 최소화하고, 치유 과정을 촉진하는 데 중요한 역할을 할 수 있다.

[0038] 일 구체예에 있어서, 상기 염증은 피부 염증일 수 있다.

[0039] 상기 피부 염증은 알레르기성 피부염, 자극성 피부염, 지루성 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 피부 노화, 소양증, 건성 습진, 홍반, 두드러기, 건선, 약발진 및 여드름으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0040] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 상기 아토피성 피부염(Atopic Dermatitis; AD)에 대한 예방 또는 치료 효과를 가질 수 있다.

[0041] 상기 용어 “아토피성 피부염(Atopic Dermatitis; AD)”은 만성 염증성 피부 질환을 의미하며, 주로 가려움증, 건조한 피부, 홍반, 습진성 병변 등을 특징으로 하며, 아토피성 피부염의 중증 정도에 비례하여 총 혈청 IgE 수치는 상승하는 특징을 가진다.

[0042] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 혈청 내 IgE 또는 히스타민 농도의 감소시키거나 표피 과증식 및 비만 세포 침윤을 감소시킴으로써 아토피성 피부염으로 인한 병변을 감소시킬 수 있다.

[0043] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 (i) 염증성 사이토카인의 생성을 억제시키거나, (ii) 글리신, l-프롤린, 젖산, 알라닌, 푸마르산, 락툴로스, 맥아당, 소야사포게놀 B, 류신, 이소류신, 발린 또는 이노신으로 구성된 군에서 선택되는 1종 이상의 장내 대사체를 증가시키거나, (iii) 세로토닌 분비량을 증가시킬 수 있다.

[0044] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 염증성 사이토카인의 생성을 억제하여 아토피성 피부염에 대한 예방 또는 치료 효과를 가질 수 있다.

[0045] 일 구체예에서, 상기 염증성 사이토카인은 Th1 및 Th2 세포에 의해 분비되는 것일 수 있다.

[0046] 상기 염증성 사이토카인은 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP), IFNɣ, IL-13, IL-4, IL-6, MDC (대식세포 유래 케모카인), IL-1β 또는 TNF-α 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0047] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 장내 대사체 구성을 변화시켜 면역반응을 조절함으로써 아토피성 피부염에 대한 예방 또는 치료 효과를 가질 수 있다.

[0048] 상기 용어 "장내 대사체(Gut Metabolome)"는 장내 미생물 군집과 숙주 세포에서 발생하는 대사 과정에서 생성되는 모든 작은 분자 물질들의 총합을 의미한다. 이러한 장내 대사체는 장내 미생물에 의해 직접 생성되거나, 숙주가 섭취한 영양소를 장내 미생물이 대사하여 생성된 물질을 포함한다.

[0049] 일 구체예에 있어서, 상기 장내 대사체는 글리신, l-프롤린, 젖산, 알라닌, 푸마르산, 락툴로스, 맥아당, 소야사포게놀 B, 류신, 이소류신, 발린 또는 이노신을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0050] 일 구체예에 있어서, 상기 소야사포게놀 B 및 이노신은 신경 전구체로 작용할 수 있으며, 상기 이노신은 상기 아토피성 피부염으로 인한 우울증에 대하여 항우울 효과를 가질 수 있다.

[0051] 일 구체예에 있어서, 상기 조성물은 아토피성 피부염에 의해 감소된 혈청 세로토닌 농도를 증가시킬 수 있다.

[0052] 상기 세로토닌 농도의 증가는 장내 세로토닌 유전자 sert 및 tph1 또는 htr2c의 농도를 증가시킴으로써, 장내

세로토닌 신호 전달 경로 활성화를 통해 유발되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0053] 상기 조성물 총 중량에 대해, 유효 성분인 리모실락토바실러스 퍼멘텀(Limosilactobacillus fermentum) SLAM216 균주 또는 서열번호 1의 16S rRNA를 포함하는 상기 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 또는 추출물의 분획물은 치료적 유효량으로 포함될 수 있다. 상기 유효 성분은 예를 들어, 10^4 내지 10^{16} CFU/g, 바람직하게는 10^6 내지 10^{14} CFU/g의 함량으로 포함하거나, 동등한 수의 생균을 가진 배양물을 포함한다. 일반적으로, 성인 환자의 경우, $1x10^6$ CFU/g 이상의 생균, 바람직하게는 $1x10^8$ 내지 $1x10^{11}$ CFU/g의 생균을 한 번 또는 여러 번에 걸쳐서 나누어 투여할 수 있다.

[0054] 상기 용어 "치료적 유효량"은 유리한 또는 요망되는 결과를 야기하기에 충분한 작용제의 양을 지칭한다. 치료적 유효한 양은 치료되는 대상체 및 병태, 대상체의 체중 및 연령, 병태의 중증도, 투여 방식 등 중 하나 이상에 따라 달라질 수 있으며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 또한, 상기 용어는 본원에 기술된 영상화 방법 중 임의의 것에 의한 검출을 위한 이미지를 제공할 용량에 적용된다. 특정 용량은 선택된 특정 작용제, 뒤따르는 투여 요법, 그것이 다른 화합물과 병용하여 투여되는지 여부, 투여 시기, 영상화되는 조직 및 그것을 운반하는 신체 전달 시스템 중 하나 이상에 따라 달라질 수 있다.

[0056] 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0057] 상기 용어 "치료(treat)"는 자연 치유에 비하여 단축된 시간에 염증 또는 박테리아 감염증 등이 치유되는 것을 의미할 수 있다. 상기 치료는 염증 또는 박테리아 감염증의 개선 및/또는 완화를 포함할 수 있다. 또한, 상기 치료는 염증 또는 박테리아 감염증으로부터 유발되는 증상의 치유 및/또는 회복을 의 미할 수 있다.

[0058] 상기 용어 "예방(prevention)"은 질환, 장애, 또는 그의 부수적 증상의 발병 또는 재발을 부분적으로 또는 완전히 지연시키거나 방지하거나, 질환 또는 장애의 획득 또는 재획득을 막거나, 질환 또는 장애의 획득의 위험을 감소시키는 방법을 말한다. 예를 들어, 상기 예방은 본 발명에 따른 조성물의 투여로 염증 또는 박테리아 감염증의 발생을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다.

[0059] 상기 용어 "피부 염증"은 피부가 손상이나 자극을 받았을 때 면역 반응으로 발생하는 생리적 현상을 의미하며, 상기 염증은 피부의 외부 자극(예: 감염, 알레르기, 화학물질, 외상 등)으로부터 신체를 보호하기 위한 방어 메커니즘으로, 붉어짐(홍반), 부기(부종), 열감, 통증, 기능 상실 등의 증상이 동반될 수 있다.

[0060] 일 구체예에 있어서, 상기 피부 염증은 알레르기성 피부염, 자극성 피부염, 지루성 피부염, 아토피성 피부염, 염증성 피부 노화, 소양증, 건성 습진, 홍반, 두드러기, 건선, 약발진 및 여드름으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 의미하는 것 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0061] 일 구체예에 따른 LF216EV는 상기 피부 염증, 예를 들면 아토피성 피부염의 예방 또는 치료 효과가 있을 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0062] 상기 용어 "약학적 조성물"은 대상체로의 투여 시에 몇몇 유리한 효과를 부여하는 분자 또는 화합물을 의미한다. 유리한 효과는 진단적 결정을 가능하게 하는 것; 질병, 증상, 장애 또는 병태의 개선; 질병, 증상, 장애 또는 질환의 발병의 감소 또는 예방; 및 일반적으로 질병, 증상, 장애 또는 병태의 대응을 포함한다.

[0063] 일 구체예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주 또는 서열번호 1의 16S rRNA를 포함하는 상기 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0064] 상기 약학적 조성물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 이를 유효성분으로 포함하는 어떠한 제형으로도 적용가능하며, 경구용 또는 비경구용 제형으로 제조할 수 있으며, 투여의 용이성과 투여량의 균일화를 위해 단위 투여 형태로 제형화 할 수 있다. 본 명세서의 약학적 제형은 구강(oral), 직장(rectal), 비강(nasal), 국소(topical; 볼 및 혀 밑을 포함), 피하, 질(vaginal) 또는 비경구(parenteral; 근육내, 피하 및 정맥 내를 포함) 투여에 적당한 형태 또는 흡입(inhalation) 또는 주입(insufflation)에 의한 투여에 적당한 형

태를 포함한다.

[0065] 상기 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"란 생물체를 자극하지 않고 투여 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 말한다. 액상 용액으로 제제화 되는 조성물에 있어서 허용되는 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0066] 본 발명의 조성물을 유효성분으로 포함하는 경구 투여용 제형으로는, 예를 들어 정제, 트로키제, 로렌지, 수용성 또는 유성 현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀젼, 하드 또는 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제로 제제화 할 수 있다.

[0067] 본 발명의 조성물을 유효성분으로 포함하는 비경구 투여용 제형으로는, 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사 등의 주사용 형태, 좌제 주입방식 또는 호흡기를 통하여 흡입이 가능하도록 하는 에어로졸제 등 스프레이용으로 제제화 할 수 있다. 주사용 제형으로 제제화 하기 위해서는 본 명세서의 조성물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여용으로 제제화 할 수 있다.

[0068] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 일일 투여량으로는, 비경구 투여 시 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 ㎍ 내지 1000 mg, 더 바람직하게는 1 ㎍ 내지 500 mg이다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0069] 일 구체예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 아토피성 피부염의 예방 또는 치료 효과를 가질 수 있다.

[0070] 일 구체예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 아토피성 피부염으로 인한 우울증 및 불안 행동을 감소시키는 것일 수 있다.

[0072] 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0073] 상기 용어 "건조물", "파쇄물", "용해물", "배양액", "추출물", "분획물", "피부 염증" 및 "예방"의 의미는 상술한 바와 같다.

[0074] 상기 용어 "개선"은 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 상기 피부 염증의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0075] 상기 화장료 조성물은 화장수(스킨로션), 스킨, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양 로션, 마사지크림, 영양 크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 손세정제, 파운데이션, 에센스, 영양 에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 현탁액, 겔, 분 말, 페이스트, 마스크팩, 및 시트를 포함하는 제형으로 제조될 수 있다. 이러한 조성물은 당해 분야에서 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 보습제 등의 추가 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하며, 그 배합량은 조성물 전체 중량을 기준으로 0.001 내지 5 중량%, 구체적으로 0.01 내지 3 중량%일 수 있다.

[0076] 상기 화장료 조성물에는 본 명세서에 개시된 유효성분 이외에 기능 성 첨가물 및 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있으며, 통상적으로 사용되는 정제수, 점증제, 방부제, 안정화제, 용해화제, 계면 활성제, 담제, 향료 또는 이들의 조합을 더 포함할 수 있다. 상기 화장료 조성물은 예컨대 정제수, 점증제, 방부제, 안정화제, 용해화제, 계면활성제, 담제, 향료 또는 이들의 조합을 더 포함할 수 있다. 또한 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타 민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스핑고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다. 이외에 포함되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식

물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.

[0077] 일 구체예에 있어서, 상기 화장료 조성물은 아토피성 피부염으로 유발된 피부 병변의 치료에 효과가 있을 수 있다.

[0079] 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 피부 염증 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0080] 상기 용어 "건조물", "파쇄물", "용해물", "배양액", "추출물", "분획물", "피부 염증" 및 "개선"의 의미는 상술한 바와 같다.

[0081] 상기 "건강기능식품(functional food)"이란 특정 보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료 효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.

[0082] 또한, 상기 "건강기능식품"은 건강기능식품, 건강식품 및 건강보조식품을 포함한다. "건강식품(health food)"이란 일반식품에 비해 적극적인 건강 유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, "건강보조식품(health supplement food)"이란 건강보조 목적의 식품을 의미한다.

[0083] 상기 건강기능식품은 담체, 희석제, 부형제 및 첨가제 중 하나 이상을 더 포함하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 분말제, 캡슐제 및 액제 제형으로 이루어진 군에서 선택된 하나로 제형될 수 있다. 일 양상에 따른 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽제, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 식품류 등이 있다.

[0084] 상기 담체, 부형제, 희석제 및 첨가제의 구체적인 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 슈크로즈, 솔비톨, 만니톨, 에리스리톨, 전분, 아카시아 고무, 인산칼슘, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 미세결정성 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로즈, 물, 설탕시럽, 메틸셀룰로즈, 메틸하이드록시 벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 활석, 스테아트산 마그네슘 및 미네랄 오일로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상 일 수 있다.

[0085] 상기 건강기능식품은 상기 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주 또는 서열번호 1의 16S rRNA를 포함하는 상기 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 것 외에 특별한 제한없이 다른 성분들을 필수 성분으로서 함유할 수 있다. 예를 들어, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올일 수 있다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[0087] 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명에 따른 균주, 상기 균주 유래의 세포외 소포, 상기 균주의 건조물, 파쇄물, 용해물, 배양액, 이들의 추출물 및 추출물의 분획물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 장 건강 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0088] 상기 용어 "건조물", "파쇄물", "용해물", "배양액", "추출물", "분획물" 및 "건강기능식품"의 의미는 상술한 바와 같다.

[0089] 상기 용어 "장 건강 개선"은 장내 유익균 증식 및 유해균 억제에 도움을 주거나, 면역 조절을 통해 장 건강을 촉진하며, 또는 배변 활동을 원활하게 하는 것을 의미할 수 있다.

[0090] 일 구체예에 있어서, 상기 장 건강 개선은 LF216 또는 LF216EV의 투여로 인해 장내 미생물 군집의 구성이 변화함으로써 이루어지는 것일 수 있다.

[0091] 상기 장내 미생물 군집의 구성의 변화는 문(Phylum) 수준에서 *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Deferribacterota*의 증가를, 속(Genus) 수준에서 *Limosilactobacillus*, *Lactococcus*의 증가를 의미할 수 있으나. 이에 제한되지 않는다.

[0092] 일 구체예에 있어서, 상기 장내 미생물 군집의 구성 변화는 장내 대사체 변화를 유도할 수 있다.

[0093] 일 구체예에 있어서, 상기 장내 대사체의 변화는 장내 페닐알라닌, 티로신, 트립토판 생합성을 증가시켜 세로토닌 합성을 유도할 수 있다.

[0094] 이 특허는 2024년도 정부(과기정통부)의 재원으로 한국연구재단 바이오·의료기술개발사업의 지원을 받아 수행된 연구이다(2022M3A9I5018286).

발명의 효과

[0095] 일 양상에 따른 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*) SLAM216 균주 또는 상기 균주 유래 세포외 소포를 포함하는 조성물은 염증성 사이토카인의 생성의 억제 또는 장내 미생물 군집의 조성 변화를 통한 세로토닌 분비량 증가를 유도하여 아토피성 피부염과 같은 피부 염증의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0096] 도 1은 LF216 및 LF216EV의 SEM 이미지이다.

도 2는 LF216에서 유래한 LF216EV 입자의 TEM 이미지이다.

도 3은 LF216EV의 입자 범위를 나타내는 NTA 분석 결과 그래프이다.

도 4는 LF216 및 LF216EV의 단백질체 프로파일링 분석 결과 벤 다이어그램이다.

도 5는 세포 구성 성분, 분자 기능, 생물학적 과정에 따라 확인된 LF216EV 단백질의 기능적 분류에 관한 그래프이다.

도 6은 LF216EV 단백질에 대한 유전자 온톨로지(GO) 분석 결과 그래프이다.

도 7은 LF216 및 LF216EV의 지질체 프로파일링 분석 결과 그래프이다.

도 8은 LF216과 LF216EV간의 지질 프로파일 비교 분석 결과 그래프이다.

도 9는 LF216과 LF216EV간의 지질 함량의 상대적 비교 결과 그래프이다.

도 10은 히트맵을 사용한 LF216 및 LF216EV의 대사체 프로파일링 개요이다.

도 11은 LF216과 LF216EV 간의 지방산 클래스 비교 결과 그래프이다.

도 12는 LF216EV에서 유의미하게 차이가 나는 대사체와 관련된 KEGG 대사 경로 분석 결과 그래프이다.

도 13은 LF216 및 LF216EV로 24시간 사전 컨디셔닝한 후 *C. elegans* CF512 fer-15(b26)II;fem-1(hc17) IV(fer-15;fem-1, *S. aureus* Newman 및 *E. coli* O157의 생존률에 대한 그래프이다.

도 14는 LF216EV가 *C. elegans*에서 pmk-1 유전자의 발현을 유도함을 나타내는 그래프이다.

도 15는 LF216 및 LF216EV 투여 후 *C. elegans*의 길이 및 넓이 변화에 대한 그래프이다.

도 16은 HaCaT 세포에서 LF216EV의 상처 치유 효과를 확인한 이미지이다.

도 17은 HaCaT 세포에서 LF216EV의 상처 치유 효과를 확인한 그래프이다.

도 18은 HaCaT 세포의 사이토카인 발현에 대한 LF216EV의 효과에 대한 그래프이다.

도 19는 DNCB 처리된 마우스에서 LF216EV가 AD 유사 염증을 완화함을 확인하기 위한 실험의 개략도이다.

도 20은 DNCB 처리된 마우스 피부 부위의 대표 이미지이다.

도 21은 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군 각각의 임상 점수 결과 그래프이다.

도 22는 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군 각각의 체중 변화를 나타내는 결과 그래

프이다.

도 23은 H&E 염색된 마우스 등 피부 병변과 표피 두께 측정 결과 이미지(왼쪽) 및 그래프(오른쪽)이다. 검은색 화살표는 표피 두께를 나타낸다.

도 24는 TB 염색과 마우스 등 피부 병변의 비만 세포 계수를 나타내는 이미지(왼쪽) 및 그래프(오른쪽)이다. 검은색 화살표는 피부에 침윤된 비만 세포를 나타낸다.

도 25는 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군의 비장 무게를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 26은 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군의 총 혈청 IgE 농도를 측정한 결과 그래프이다.

도 27은 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군의 총 혈청 히스타민 농도를 측정한 결과 그래프이다.

도 28는 qRT-PCR을 사용한 염증 관련 유전자(IFNγ, IL-13, IL-4, TNF-α)의 mRNA 발현 수준을 측정한 결과 그래프이다.

도 29는 DNCB 처리 후 마우스의 긁기 행동을 10분 동안 관찰한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 30은 DNCB 처리 후 마우스의 부동 시간을 측정한 결과 그래프이다.

도 31은 정상군, 대조군, DEX 처리군, LF216 처리군 및 LF216EV 처리군 각각의 오픈 필드 테스트에서 마우스의 활동을 관찰한 이미지이다.

도 32는 LF216EV가 오픈 필드 테스트에서 마우스의 활동성을 유도했음을 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 33은 각각의 실험군의 장내 미생물 군집의 알파 다양성(Shannon 지수 사용)에 대한 그래프이다.

도 34는 가중 UniFrac 거리를 사용하여 장내 미생물군의 세균 군집 구조 유사성을 측정한 결과 그래프이다.

도 35는 비가중 UniFrac 거리를 사용하여 장내 미생물군의 세균 군집 구조 유사성을 측정한 결과 그래프이다.

도 36은 각각의 실험군의 문(phylum) 수준 장내 미생물 군집의 구성을 나타낸 그래프이다.

도 37은 각각의 실험군의 속(genus) 수준 장내 미생물 군집의 구성을 나타낸 그래프이다.

도 38은 여덟 개의 대표적인 속(genus) 수준에서 각각의 실험군을 비교한 결과 그래프이다.

도 39는 각각의 실험군에서 장내 대사체의 수준을 보여주는 히트맵이다.

도 40은 AD 마우스에서 대사체의 주성분 분석(PCA)결과 그래프이다.

도 41은 PCA 로딩 플롯을 사용하여 각 실험군 간 대사체의 차이를 표현한 그래프이다.

도 42는 각 실험군 간 AD 마우스의 대사체에 대한 VIP 점수를 나타낸 그래프이다.

도 43은 LF216EV에서 증가한 대사체의 KEGG 경로를 분류한 그래프이다.

도 44는 각 실험군에서 총 혈청 세로토닌 농도 측정한 결과 그래프이다.

도 45는 qRT-PCR을 통해 마우스 피부에서 htr2b 및 htr2c 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 46은 qRT-PCR을 통해 마우스 피부에서 htr2b 및 htr2c 유전자의 mRNA 발현 수준을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 47은 장내 미생물 조절을 통해 세로토닌 대사를 조절하여 LF216EV가 아토피 피부염을 완화하는 결과를 가져오는 기전에 대한 개략도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0097] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0099] 박테리아 균주 및 배양 조건

[0100] 한국 영아의 대변에서 분리된 *L. fermentum* SLAM216을 37 ℃의 De Man, Rogosa, and Sharpe 배지(MRS; BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, USA)에서 24시간 동안 배양하였다. *C. elegans*의 표준 먹이인 *Escherichia coli* OP50은 Luria-Bertani 배지(LB; BD Biosciences, NJ, USA)에서 37 ℃에서 225 rpm으로 24시간 동안 진탕 배양되었다. 치사 실험을 위해 병원성 세균인 *Staphylococcus aureus Newman*과 *E. coli* O157은 Tryptic Soy broth 배지(TSB; BD Biosciences, Sparks, MD, USA)에서 37 ℃에서 24시간 동안 배양되었다. 또한 모든 세균 균주는 사용 전에 두 번 계대 배양되었다. 배양된 세균을 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 펠릿(pellet)을 수집한 후, 인산완충생리식염수(PBS)와 M9 버퍼로 두 번 세척하고, 상등액을 제거하기 위해 다시 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상기 과정으로 제조된 세균 현탁액은 사용 전에 PBS와 M9 버퍼에서 1.0 X 10^9 CFU/mL의 농도가 되도록 조절되었다.

[0102] 초흡수성 폴리머(SAP) 비드를 이용한 세포외 소포의 분리 및 농축

[0103] EV 분리는 최신 MISEV 2023 가이드라인에 따라 수행되었다. LF216EV는 기존에 보고된 프로토콜을 기반으로 SAP 비드 농도와 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 방법을 수정하여 분리되었다. MRS 배지에서 37 ℃에서 24시간 동안 배양된 LF216 배양액을 4 ℃에서 4,000 × g로 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 분리된 상등액은 Tippi, Korea(www.tpy21c.co.kr)에서 구입한 SAP 비드(CAS 9003-06-9; LG Chem, Korea)를 사용하여 농축되었다. 비드는 사용 전에 에탄올로 3회 연속 세척한 후 60 ℃ 건조기에서 건조하였다. 농도가 10%인 SAP 비드를 세균 상등액에 첨가한 후 4 ℃에서 1시간 동안 보관하였다. 농축된 배양액에서 SAP 비드를 분리한 후, 4° C에서 6,000 × g로 20분간 원심분리한 다음, 0.22 μm 필터로 여과하였다. 필터링된 배양액에 최종 부피의 15% 농도로 PEG-6000(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 첨가한 후 4 ℃에서 하룻밤 동안 배양하였다. 이후 4 ℃에서 8,000 × g로 30분간 원심분리하여 얻어진 펠릿을 PBS에 재현탁하고, 세척을 위해 4 ℃에서 150,000 × g로 60분간 초원심분리하였다. 최종 펠릿은 PBS에 현탁한 후, 0.22 μm 필터로 여과하고, NanoSight NS300(Malvern, UK)을 사용한 나노입자 추적 분석(NTA)으로 농도를 측정하였다. 분리된 EV는 -80 ℃에서 사용 전까지 보관되었다.

[0105] 주사 전자 현미경(SEM) 및 투과 전자 현미경(TEM) 분석

[0106] LF216EV의 시각적 분석을 위해 SEM과 TEM을 수행하였다. LF216EV를 세균 표면에서 스캔하기 위해, LF216를 카르노프스키(Karnovsk) 고정액을 사용하여 4 ℃에서 고정한 후, pH 7.2의 0.05 M 카코딜산 나트륨 완충액(Sodium Cacodylate Buffer)에서 1% 오스뮴 테트록사이드(Osmium Tetroxide)로 고정하였다. 이후, 증가하는 농도의 에탄올 용액(30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100% 세 번)을 사용하여 탈수 과정을 진행하였다.

[0107] 100%의 헥사메틸디실라잔(Hexamethyldisilazane)을 사용하여 15분씩 두 번의 초기 건조 과정을 수행하였으며, 이소아밀 아세테이트(Isoamyl Acetate)와 100%의 헥사메틸디실라잔을 사용하여 두 번째 건조 과정을 동일하게 각각 15분간 수행하였다. 준비된 샘플을 스터브(Stub)에 장착한 후 SEM으로 관찰하였다. TEM 분석을 위해 먼저 LF216EV 샘플 5 μL를 탄소로 코팅된 그리드에 놓고 60초 동안 방치하였다. 이후 상기 샘플을 2% 우라닐 아세테이트(Uranyl Acetate)로 음성 염색하여 TEM으로 관찰하였다.

[0109] 멀티오믹스 분석

[0110] 1) 프로테오믹스 분석

[0111] 정제된 LF216EV 펠릿과 LF216 전체 세포는 초음파 장치(KSS-N1800DT, KOREA PROCESS TECHNOLOGY, 서울, 한국)를 사용하여 15회 사이클의 초음파 처리되었으며, 상기 사이클은 30초간의 초음파 처리와 30초간의 초음파 처리 중지 상태로 구성된다. 용액 내 소화 전, 총 단백질 농도는 브래드포드 분석법(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하여 정량되었다. 이후 추출된 EV 단백질과 세균 샘플 각각 100 μg을 단백질체 분석에 사용하였다. 샘플은 트립신(Gibco, NY, USA)으로 37 ℃에서 밤새 추가 소화시켰으며, 생성된 펩타이드는 SepPak C18 카트리지(Waters Corporation, Milford, MA)를 사용하여 정제하였다. 단백질 프로파일링은 멀티 오믹스 고해상도 질량분

석기(Orbitrap Exploris 240, Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 수행하였다.

[0112] 2) 지질체 분석

[0113] EV와 세균으로부터 지질을 추출하기 위해 각 PBS 샘플 45 μL에 0.1% sodium dodecyl sulfate(SDS; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 5 μL를 첨가하여 최종 농도가 0.01% SDS 혼합물을 제조하였다. 상기 혼합물을 37 ℃에서 20분 동안 인큐베이션한 후, 5초간의 초음파 처리와 10초간의 초음파 처리 중지 상태로 구성된 사이클의 초음파 처리를 총 3분간 얼음 위에서 수행하였다. 그 후 샘플을 4 ℃에서 13,500 × g로 20분간 원심분리하였다. 샘플은 30초씩 3회 진탕한 후 실온에서 10분간 인큐베이션하였다. 이후 4 ℃에서 13,800 × g로 2분간 원심분리한 후 상등액을 새로운 튜브로 옮겼다. 남은 펠릿은 클로로포름/메탄올/37% 염산(40:80:1)에 용해시킨 후 실온에서 15분간 인큐베이션하고 30초씩 3회 진탕하였다. 이후 각각 250 μL의 클로로포름과 450 μL의 0.1 M 염산을 샘플에 첨가하였다. 샘플을 1분간 강하게 진탕하고 4 ℃에서 6,500 × g로 2분간 원심분리하였다. 그 후 유기층을 수집하고 풀링(Pooling)하였다. 지질 분석을 위해 샘플을 반으로 나누고 Speed Vac 농축기를 사용하여 건조시킨 후, 100 μL의 80% 메탄올에 용해하였다. 지질체 분석은 나노 고해상도 액체 크로마토그래피-탠덤 질량분석기(LC/MS/MS) 스펙트로미터(Q Exactive, Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 수행되었다.

[0114] 3) 대사체 분석

[0115] 세균, EV 및 마우스 맹장 샘플을 차가운 메탄올과 혼합하였다. 4 ℃에서 10,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후, 상등액을 0.2 μm 기공 크기의 폴리비닐리덴 플루오라이드 주사 필터(Whatman, Maidstone, England)를 통과시켰다. 여과된 상등액은 진공 농축기를 사용하여 완전히 건조되었다. 유도체화(Derivatization)를 위해 추출물을 30 μL의 메톡시아민 염산염(20 mg/mL, Sigma, St. Louis, MO, USA) 용액과 함께 30 ℃에서 90분 동안 인큐베이션한 후, N,O-비스(트리메틸실릴)트리플루오로아세트아미드(Sigma, St. Louis, MO, USA) 50 μL를 첨가하여 60 ℃에서 30분간 처리하였다. 가스 크로마토그래피-질량분석기(GC-MS) 분석은 Thermo Trace 1310 GC 시스템(Waltham, MA, USA)과 Thermo ISQ LT 단일 사중 질량분석기(Waltham, MA, USA)를 사용하여 수행되었다. 분석 후, 데이터는 Thermo Xcalibur 소프트웨어를 사용하여 자동 피크 검출로 처리되었으며, 대사체는 그들의 질량 스펙트럼을 보유지수와 일치시켜 National Institute of Standards and Technology (NIST) 질량 스펙트럼 검색 프로그램(버전 2.0, Gaithersburg, MD, USA)을 사용하여 식별되었다. 추가 분석은 Metaboanalyst 버전 5.0을 사용하여 수행되었다.

[0116] 4) 마이크로 RNA (miRNA) 분석을 위한 소형 RNA 시퀀싱(Small RNA-sequencing)

[0117] LF216EV의 miRNA 분석을 위해, miRNA는 제조업체의 프로토콜에 따라 miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 분리되었다. 분석 절차는 하기와 같다. 먼저 증폭된 라이브러리는 6% Novex Tris/borate/EDTA 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(TBE-PAGE) 겔 (Thermo Fisher, MA)에서 정제되었으며, 상기 정제 과정에서 cDNA와 어댑터 각각 18-100 bp 및 120 bp를 포함하는 138-220 bp 구간으로 분리되었다. 결과로 얻어진 cDNA 라이브러리는 Illumina 플로우 셀에서 클러스터링(Clustering)에 필요한 서열을 포함한다. 라이브러리 검증은 겔 정제, 크기, 순도, 농도를 평가하는 Agilent Bioanalyzer를 통해 수행하였다. 라이브러리는 Illumina 시퀀싱 플랫폼용 KAPA Library Quantification Kit의 qPCR Quantification Protocol Guide에 따라 정량적 실시간 중합효소 연쇄반응(qPCR)으로 정량화되었으며, TapeStation D1000 스크린 테이프(Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)를 사용하여 추가 검증되었다. 동등 몰 농도로 라이브러리를 풀링한 후, Illumina HiSeq 2500 시스템(Illumina, San Diego, CA, USA)에서 시퀀싱하여 염기 서열 데이터를 생성하였다. 이미지 분해 및 품질 값 계산은 Illumina 플랫폼 내 모듈을 통해 수행되었다.

[0119] *C. elegans*의 수명 및 사멸 분석

[0120] *C. elegans*는 표준 프로토콜에 따라 20 ℃의 *Escherichia coli* OP50 균주가 포함된 선충 배양 배지(NGM)에서 배양되었다. 수명 평가 실험 및 치사 실험에는 CF512 fer-15(b26) II; fem-1(hc17) IV (fer-15; fem-1) 계통이 사용되었다. 수명 평가 실험에서는 L4 단계의 어린 성체 웜들을 OP50을 포함한 농축된 LF216 및 EVs (1.0×10^{10} 입자)에 노출시키고, 매일 생존 및 사망한 웜의 수를 기록하였다. 치사 실험에서는 L4 단계의 어린 성체 웜들을 농축된 LF216, OP50, EVs (1.0×10^{10} 입자)에 24시간 동안 노출시킨 후, *E. coli* O157, H7 EDL933 및 *Staphylococcus aureus Newman*으로 옮겨 매일 생존한 웜의 수를 기록하였다.

[0121] *C. elegans*의 신체 길이와 폭은 야생형 계통을 사용하여 측정되었다. L4 단계의 웜들은 OP50을 포함한 농축된

LF216 및 EVs (1.0×10^{10} 입자)에 24시간 동안 노출되었으며, 웜의 성장은 WormLab 소프트웨어(MBF Bio-science, Williston, VT)를 사용하여 측정되었다.

[0123] HaCaT 세포 배양 및 상처 치유 분석

[0124] HaCaT 세포는 10% 태아 송아지 혈청(FBS; Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA)과 1% 페니실린-스트렙토마이신(PS; Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA)에서 배양되었다. 세포는 5% CO2가 포함된 가습된 환경에서 37 ℃의 CO_2 인큐베이터에서 배양되었다. 아토피 유사 염증을 유도하기 위해 HaCaT 세포는 10 ng/mL 농도의 TNF-α(Proteintech, Hubei, China)와 10 ng/mL IFN-γ(Proteintech, Hubei, China)로 24시간 처리되었다. 상처 회복 실험을 위해, 세포는 12-웰 세포 배양 플레이트에 접종되어 100% 밀도로 자랐다. 멸균된 200 μL 피펫 팁을 사용하여 세포 단층에 상처를 내고, 탈착된 세포를 제거하기 위해 Dulbecco's PBS (DPBS)로 상처난 세포를 세척하였다. 이후, DMEM 배지에 LF216 및 LF216EV를 각각의 웰에 첨가하였다. 상처의 봉합은 현미경을 사용하여 0, 3, 6, 12시간에 걸쳐 모니터링하고 촬영하였다. 세포 상처 봉합 면적은 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 정량화되었으며, 상처 봉합 비율은 원래 상처 면적에 대한 상처 면적의 비율로 계산되었다.

[0126] 동물 투여 및 DNCB 처리

[0127] 7주령 수컷 BALB/c 마우스는(18 내지 20 g)는 SamtaCo(오사카, 한국)에서 구입하였다. 모든 실험 동물은 12시간 명암 주기를 유지한 상태에서, 온도 22.5 ± 0.5 ℃, 습도 42.6 ± 1.7%로 설정된 특정 병원체 무균실(SPF)에서 사육되었으며, 사료와 물은 자유롭게 제공되었다. 모든 마우스는 실험 전 1주일간 적응 기간을 가졌다. AD 유도 동물 실험은 21일 동안 진행되었다. 마우스의 등 피부를 면도한 후 1일간 회복시켰으며, 이후 DNCB를 등 피부에 처리하고 실험 물질을 경구 투여하였다. BALB/c 생쥐는 무작위로 5개 그룹으로 나누었다:

[0128] 정상군(용매 처리), 대조군(DNCB 유도 및 용매 처리), 덱사메타손(Dexamethasone; Dex)군(DNCB + Dex; 1 mg/kg), LF216군(DNCB + 1.0×10^9 CFU/kg), LF216EV군(DNCB + 1.0×10^{10} particles/mL/kg).

[0129] 1주일간의 1차 감작 동안, 정상군에는 PBS를 등 피부에 도포하였고, AD 유도군에는 1% DNCB를 3일마다 등 피부에 도포하였다(아세톤:올리브유 = 3:1로 용해, Sigma, St. Louis, MO, USA). 2차 감작 기간 동안, 정상군은 경구로 PBS를 투여받았고, 대조군, LF216군, LF216EV군, Dex 처리군은 2일마다 0.5% DNCB로 감작된 후, 14일간 각각의 실험 물질을 경구 투여받았다. 마우스는 실험 19일차와 20일차에 행동 테스트를 받고, 21일차에 희생되었다. 마우스의 심장에서 혈액을 채취한 후 실온에서 1시간 동안 응고시킨 뒤, 4 ℃에서 2000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 유전자 및 조직학적 분석을 위해 등 피부 조직, 맹장 및 장 샘플을 수집하였다.

[0131] 피부염 중증도 평가

[0132] DNCB로 유도된 피부염의 중증도는 피부 병변에서 홍반/출혈, 부종, 찰과상/미란, 건조함의 존재를 기준으로 2일마다 평가되었으며, 하기와 같이 점수화 되었다.

[0133] 0점, 증상 없음; 1점, 경미한 증상; 2점, 중간 정도의 증상; 3점, 심한 증상.

[0135] 마우스 오픈 필드 실험

[0136] 오픈 필드 실험(Open Field Test,OFT)는 50 × 50 × 30 cm 크기의 상자에서 수행하였으며, 상자 상단에 카메라를 장착시켜 마우스의 활동을 기록하였다. 각 마우스는 실험 시작 전 실험실에 1시간 동안 적응하도록 하였다. 오픈 필드 실험은 마우스를 상자의 중앙 영역에 배치하고, 10분 동안 자유롭게 이동하도록 하여 시작되었다. 마우스의 행동은 비디오 카메라를 통해 지속적으로 기록되었다. 마우스의 행동은 EthoVision XT 소프트웨어(Noldus Information Technology)를 사용하여 분석되었다.

[0138] 마우스 꼬리 현수 실험

[0139] 마우스의 우울증 유사 행동을 식별하기 위해 꼬리 현수 실험(Tail-suspension Test, TST)을 수행하였다. 꼬리 현수 실험에서 각 마우스의 꼬리 끝에서 약 1cm 지점을 테이프로 고정한 후, 머리가 수평면에서 약 50cm 떨어진 위치에 오도록 하여 막대에 매달았다. 마우스의 행동은 비디오 카메라로 기록되었다. 실험의 총 시간은 6분이었으며, 그동안 누적된 부동 시간을 기록하였다. 부동 시간은 마우스의 모든 팔다리가 움직이지 않고 호흡만 하는 시간을 의미한다. 마우스의 움직임은 총 부동 시간을 결정하기 위해 초 단위로 측정되었다.

[0141] 마우스의 긁기 행동 측정

[0142] 마우스에서 AD 유사 긁기 행동을 조사하기 위해, 마우스가 코, 귀 및 등 피부를 뒷발로 문지르는 빈도를 정량화하고 기록하였다. 각 마우스는 관찰 케이지에 배치되었으며, 긁기 행동은 20일째 DNCB 감작 직후 10분 동안 기록되었다. 기록된 내용을 분석하여 긁기 횟수를 계산하였다.

[0144] 조직병리학적 분석

[0145] 마우스의 등 피부 조직 샘플을 10% 포르말린(Formalin)에 하루 동안 고정된 후 파라핀에 포매시켜 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록은 4 μm 두께로 절단되었고, 헤마톡실린 및 에오신(H&E) (Sigma, St. Louis, MO, USA)으로 염색되었다. 조직병리학적 특징은 광학 현미경을 사용하여 관찰되었다. 또한, 절편된 슬라이드는 톨루이딘 블루(TB; Sigma, St. Louis, MO, USA)로 염색하여 피부에 침윤된 비만 세포의 수를 계산하였다.

[0147] 총 혈청 면역 효소 결합 분석(ELISA)

[0148] 마우스의 총 혈청 면역글로불린 E(IgE; ab157718, Abcam, UK), 히스타민(ab213975, Abcam, UK), 및 세로토닌(ab133053, Abcam, UK) 수치는 ELISA 분석 키트를 사용하여 분석되었다. 혈청 희석 및 실험 절차는 제조업체의 프로토콜에 따라 수행하였다.

[0150] 정량적 실시간 중합효소 연쇄 반응(RT-qPCR) 분석

[0151] RT-qPCR 분석을 위해, 마우스의 등 피부 및 장 조직을 TRIZOL 시약(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 처리하였고, 미니 비드 비터(Mini Bead Beater, Biospec, Bartlesville, OK)를 사용하여 조직을 추가로 파쇄하였다. 파쇄된 조직은 RNeasy Mini Kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 RNA를 분리하는 데 사용되었다. 이후, 총 50 ng의 RNA를 iScript cDNA 합성 키트(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하여 cDNA로 역전사하였으며, 무핵산수(Nuclease-free Water, Gibco)를 사용하여 40 ng/μL의 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. RT-qPCR은 SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix(Bio-Rad Laboratories)와 목표 유전자에 대한 특정 프라이머를 사용하여 Bio-Rad CFX96 실시간 PCR 시스템(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)으로 수행하였다. 각 샘플의 유전자 발현은 글리세르알데하이드 3-인산 탈수소효소(GAPDH)를 사용하여 정규화되었다. 유전자 발현의 상대적인 접힘 변화(Fold Change)는 2(-ΔΔCT) 방법을 사용하여 계산되었다.

[0153] 맹장 미생물군에 대한 메타게놈(Metagenome) 분석

[0154] 마우스 장내 미생물군의 변화를 조사하기 위해 맹장 샘플을 사용하여 메타게놈 분석을 수행하였다. 분리된 대변 샘플로부터 DNA는 DNeasy PowerSoil 키트(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 추출되었다. DNA의 농도와 품질은 230, 260 및 280 nm에서 흡광도를 측정하여 스펙트로미터(SpectraMax ABS Plus, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 사용하여 평가되었다. 16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭하기 위해 사용된 프라이머 세트는 하기와 같다: 16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭하기 위해 사용된 프라이머 세트는 하기와 같다: 정방향 프라이머(서열번호 2): 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AGA CAG GTG CCA GCM GCC GCG GTA A-3'; 역방향 프라이머(서열번호 3): 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT-3'.

[0156] 메타유전체 시퀀싱을 위해 각 샘플 1 ng으로부터 Nextera Flex kit (Illumina, San Diego, CA, USA)를 사용하여 라이브러리를 준비하였다. 준비된 라이브러리들은 풀링(Pooling)되었다. 샘플은 효소적으로 절단되어 어댑터로 태깅(Tagging)되었으며, 바코드가 추가된 후 PCR 증폭이 이루어졌다. 이후 컬럼 또는 비드를 사용하여 정제되었으며, Illumina 비드를 이용하거나 수동으로 정규화되었다. 16S rRNA 유전자의 메타유전체 시퀀싱은 Illumina NextSeq 550 플랫폼을 사용하여 수행되었다. “.fastq” 형식의 원시 데이터는 디멀티플렉싱(demultiplexing)되었으며, 품질 점수가 30 미만인 샘플을 제거하는 품질 관리를 수행되었다. 디노이징(denoising)과정에서는 어댑터 절단, 품질 트리밍, 판독 오류 수정을 포함하여 키메라 서열을 제거하였다. 이후, 분류학적 분류를 수행하였으며, 미토콘드리아 및 엽록체 서열을 제거하였다. 마지막으로 서열 정렬을 수행하였고, 알파/베타 다양성을 분석하였다.

[0158] 통계 분석

[0159] 각 데이터 포인트는 3회 반복 실험을 기반으로 평균값 ± 표준 오차(SEM)로 표시되었다. 통계 분석은 GraphPad Prism 소프트웨어 10.0을 사용하여 일원 분산 분석(ANOVA) 후 Tukey의 사후 검정 (Tukey's post-test)를 수행하여 진행하였다. 또한, Student’s t-test도 적용되었다. 유의성 수준은 *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001로 표시되며, 이는 모든 반복 실험에서의 유의미한 차이를 나타낸다.

[0161] **실험예**

[0162] **실험예 1. 프로바이오틱스 박테리아 유래 세포 외 소포체의 분리 및 특성 분석**

[0163] 리모실락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 균주의 표면에서 세포외 소포의 분비는 SEM으로 관찰하였고, 분비된 세포외 소포인 LF216EV의 형태는 TEM으로 확인하였으며, 그 결과는 도 1 및 2에 나타난 바와 같다. 또한 NTA를 사용하여 LF216EV의 크기와 농도를 평가한 결과는 도 3에 나타내었다.

[0164] 도 3에 나타난 바와 같이 LF216EV의 평균 크기는 115.0nm임을 확인하였다.

[0166] **실험예 2. 락토바실러스 퍼멘텀 SLAM216 유래 세포 외 소포체에 대한 종합적인 멀티오믹스 분석**

[0167] LF216 및 LF216EV의 정확한 구성 요소는 전사체, 단백질체 및 지질체 분석을 포함한 멀티 오믹스 분석을 통해 확인하였고 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0168] 도 4에 나타난 바와 같이 단백질체 분석을 통해 LF216에서 3,392개, LF216EV에서 3,140개의 단백질을 확인하였으며, LF216과 LF216EV는 3,094개의 단백질 세트를 공유한다는 것을 확인하였다. 추가적으로, manM, yckJ, Ion, tnpA 및 yitT를 포함하여 46개의 단백질이 LF216EV에서만 독점적으로 존재한다는 것을 확인하였다. 유전자 온톨로지(GO) 및 경로 분석 결과, LF216EV의 단백질 단편들이 생물학적 과정, 분자 기능 및 세포 구성 요소와 유의미하게 관련이 있음을 확인하였다(도 5). 특히, LF216EV는 세포 구성 요소에서 원형질막과 번역 기구 영역, 생물학적 과정에서 대사 과정, 단백질 대사 및 수송 활동과 관련이 있음을 확인하였다. 또한, LF216EV는 분자 기능에서 핵산 결합 활성 및 운반체 활성과 유의미하게 연관되어 있음을 확인하였다(도 6).

[0169] 지질 분석을 통해 LF216에서는 27개, LF216EV에서는 32개의 지질이 확인되었으며, LF216 및 LF216EV의 정확한 지질 구성은 도 7에 나타난 바와 같다.

[0170] 도 7에 나타난 바와 같이 AcylGlcADG와 세라마이드는 LF216EV의 지질체에서 주요 구성 요소였으나, LF216에서는 그렇지 않았다(도 8). 또한, CE, OxPE, LNAPE 및 PE는 LF216에 비해 LF216EV에서 증가된 반면, DGDG, PI 및 MGDG는 LF216에 비해 LF216EV에서 낮은 수준을 보였다(도 9). 추가적으로, LF216EV는 LF216에 비해 지방산 계열 대사체가 유의미하게 증가한 반면, 단당류, TCA 회로 산, 아미노산 및 퓁타이드는 낮은 농도로 나타났다(도 10). 리놀레산, 올레산, 팔미트산, 세바신산 및 스테아르산은 LF216EV에서 유의미하게 증가했으며, 리놀레산과 스테아르산은 LF216EV에만 존재하였다(도 11). 대사체 농축 분석(Metabolite Enrichment Analysis)에서도 포화 지방산 및 불포화 지방산 생합성을 포함한 지방산 관련 대사 경로의 증가가 나타났다(도 12).

[0171] LF216EV의 miRNA 시퀀싱 분석을 통해 총 771개의 일치하는 miRNA를 확인하였다. 이 중 307개의 miRNA에 주석이

달렸으며, 상기 307개의 주석이 달린 miRNA에는 신경 및 줄기 세포와 관련된 bantam, 일주기 리듬과 관련된 mir-263a, 인간 뉴런, 기억 및 신경 생성과 관련된 mir-9-1,2,3이 포함된다.

[0173] **실험예 3. 시험관 내 *C. elegans* 모델을 사용한 LF216EV의 기능 평가**

[0174] LF216EV의 기능성을 조사하기 위해 *C. elegans*를 이용한 *in-vitro* 실험을 수행하였다. LF216 및 LF216EV는 *C. elegans*의 수명 연장에 있어서 LF216과 유사한 효과를 나타냈다(*E. coli* OP50를 섭취한 *C. elegans*와 비교, LF216: P=0.0078, LF216EV: P=0.0005). 이후 LF216EV가 숙주의 식품 매개 병원성 세균에 대한 저항성에 미치는 효과를 평가하였다. LF216EV에 24시간 노출된 병원체에 감염된 *C. elegans*는 대조군에 비해 생존율이 유의미하게 증가하였으며, LF216에서도 유사한 패턴이 관찰되었다(*E. coli* 0157 EDL 933: P=0.0001, *S. aureus* Newman: P=0.0000; 도 13). 또한, LF216EV는 *C. elegans*의 선천 면역 유전자 pmk-1의 발현을 현저하게 상향 조절하였다(*E. coli* OP50를 섭취한 *C. elegans*와 비교, LF216: P=0.0235, LF216EV: P=0.0000; 도 14). LF216EV는 대조군 및 LF216군에 비해 *C. elegans*의 길이와 폭을 유의미하게 증가시키는 생장 촉진 효과를 가짐을 확인하였다(길이: P=0.0002, 폭: P=0.0004, E. coli OP50를 섭취한 C. elegans와 비교; 도 15).

[0176] **실험예 4. 각질 세포에서 LF216EV의 아토피 피부염에 대한 예방 효과 평가**

[0177] LF216EV가 각질 세포 수복에 미치는 영향을 평가하기 위해 HaCaT 세포주를 사용한 상처 치유 실험을 수행하였다. LF216EV 10^9 입자 처리군은 스크래칭(Scratching) 후 3시간 만에 대조군에 비해 유의미하게 세포의 상처 부위가 봉합되었으며, 12시간 후에는 완전한 상처가 봉합되었음을 확인하였다(3, 6 및 12시간에 대해 각각 P = 0.0013, 0.30360, 0.0127, 대조군과 비교; 도 16 및 17).

[0178] 또한, TNFα/IFNγ에 의해 유도된 AD 유사 염증과 관련된 qRT-PCR 분석 결과, LF216EV가 면역 조절 사이토카인인 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP) (10^9에서 P=0.0004, 10^{10}에서 P=0.0001), TNF-α (10^9에서 P=0.0408, 10^{10}에서 P=0.0175), IL-6 (10^9에서 P=0.2996, 10^{10}에서 P=0.0003), IL-1β (10^9에서 P=0.0270, 10^{10}에서 P=0.0325) 및 대식세포 유래 케모카인(MDC) (10^9에서 P=0.0005, 10^{10}에서 P=0.0001) 유전자의 발현을 유의미하게 감소시킨다는 것을 확인하였다(도 18).

[0180] **실험예 5. LF216EV 가 BALB/c 마우스에서 DNCB 로 유발된 아토피 피부염의 피부 병변에 미치는 영향 평가**

[0181] LF216 및 LF216EV의 치료 효과를 평가하기 위해 DNCB로 유도된 AD 마우스 모델을 사용한 *in-vivo* 실험을 수행하였다. 실험 개요는 도 19에 나타냈었으며, DNCB로 처리된 마우스의 등 피부에 나타난 발적, 출혈, 긁힘, 염증 및 건조 등의 AD 유사 임상 증상의 대표 이미지는 도 20에 나타내었다. 이러한 AD 유사 증상은 Dex 및 대조군에 비해 LF216 및 LF216EV의 투여에 의해 유의미하게 감소하였다(LF216과 LF216EV 모두 대조군과 비교했을 때 P=0.0001, Dex 처리군과 비교했을 때 P=0.0001; 도 21).

[0182] 또한, LF216 및 LF216EV의 투여는 마우스에서 AD로 인해 유도된 체중 감소를 정상 그룹과 유사한 수준으로 회복시켰다(도 22).

[0183] LF216EV가 표피 과증식 및 비만 세포 침윤에 미치는 영향을 평가하기 위해 생쥐의 등 피부 조직을 H&E 및 톨루이딘 블루(TB) 염색을 통해 관찰하였다. H&E 염색의 대표 이미지는 도 23에 나타내었다.

[0184] 도 23에 나타난 바와 같이 표피 두께는 LF216 및 LF216EV 처리군에서 대조군에 비해 각각 2.05배, 3.18배 유의하게 감소하였다(LF216: P=0.0001, LF216EV: P=0.0001, 대조군과 비교).

[0185] 또한, TB로 염색된 대표적인 이미지는 도 24에 나타내었으며, DNCB 처리군은 정상군에 비해 침윤된 비만 세포 수가 7.06배 증가하였다. 반면, Dex 군은 대조군에 비해 비만 세포 수가 1.24배 감소하였으며, LF216 및 LF216EV 처리군은 각각 1.42배, 2.17배 감소하였다(LF216: P=0.0001, LF216EV: P=0.0001, 대조군과 비교).

[0186] 이후 LF216 및 LF216EV의 AD에 대한 항염증 기전을 밝히기 위해 피부 조직에서 qRT-PCR 분석을 수행하였다. DNCB로 유도된 AD 그룹에서 IL-13 (P=0.0001), IL-4 (P=0.7082), IFN-γ (P=0.0070), TNF-α (P=0.0087)의 발현이 정상군에 비해 유의미하게 증가하였으며, LF216EV의 투여에 의해 대조군에 비해 유의미하게 감소하였다

(IL-13에 대한 P=0.0024, IL-4에 대한 P=0.0275, IFN-γ에 대한 P=0.0368, TNF-α에 대한 P=0.0007). 또한, pro-filaggrin(FLG)의 발현은 정상군에 비해 유의미하게 감소하였으나(P=0.0136), LF216EV는 DNCB 처리로 감소한 pro-filaggrin 유전자의 발현을 정상군 수준으로 유의미하게 회복시켰다(P=0.0406, 대조군과 비교).

[0187] LF216 및 LF216EV 투여에 따른 전신 염증 완화를 효과를 평가하기 위해 비장 무게 및 혈청 내 염증 마커의 농도를 측정하였다(도 25 내지 28). qRT-PCR 분석 결과와 일치하게, LF216EV의 투여는 비장 무게를 유의하게 감소시켰으며(P=0.0001), IgE (P=0.0012) 및 히스타민(P=0.0026) 농도를 대조군에 비해 유의민하게 감소시켰다.

[0189] **실험예 6. LF216EV 투여로 AD 생쥐의 우울증 및 불안 유사 행동 감소 효과 확인**

[0190] LF216EV가 AD로 인한 이상 행동을 완화하는지 평가하기 위해 스크래칭(scratching), 오픈 필드 및 꼬리 현수 실험을 수행하였다. DNCB로 유도된 AD 마우스는 대조군에 비해 긁는 시간이 5.14배 증가하였으나, LF216 및 LF216EV 투여군에서는 각각 1.24배, 1.4배 감소하였다(도 29).

[0191] 또한, DNCB로 유도된 AD 마우스는 꼬리 현수 실험에서 부동 시간이 유의미하게 증가하였으며(P=0.0006, 정상군과 비교), LF216 및 LF216EV 투여군에서는 대조군에 비해 부동 시간이 유의미하게 감소하였다(LF216: P=0.0006, LF216EV: P=0.0003; 도 30). 오픈 필드 실험 결과에서도 유사한 패턴이 나타났으며, 대조군은 정상군에 비해 구석에서의 부동 시간이 더 길었다. 그러나 LF216 및 LF216EV 투여군은 대조군에 비해 중앙으로 이동하는 시간이 더 길었다(LF216: P=0.0137, LF216EV: P=0.0068;도 31 및 32).

[0193] **실험예 7. DNCB 로 유도된 AD 마우스에서 LF216EV의 장내 미생물 구성 변화 유도의 효과 확인**

[0194] 장내 미생물 군집과 AD의 생리적 및 정신적 증상 사이의 관계를 조사하기 위해 16S rRNA 메타게놈 분석을 사용하여 AD 유발 마우스의 마이크로바이옴 구성을 확인하였다.

[0195] Shannon 다양성 지수(Shannon's diversity index)는 실험군 간 차이가 없었으나(도 33), 가중 및 비가중 주성분 좌표 분석(PCoA)에서는 DNCB 처리군과 정상군, 그리고 Dex, LF216, LF216EV 처리군 간의 장내 미생물 군집의 분포가 뚜렷하게 구별됨을 확인하였다(도 34 및 35). 문(phylum) 및 속(genus) 수준에서의 장내 미생물 군집은 도 36 및 37에 나타내었다.

[0196] 문 수준에서, 상위 문은 정상 대조군과 DNCB 처리군(DNCB, Dex, LF216, LF216EV) 간에 차이가 있었으며, 정상군에서 상대적 풍부도 상위 3개의 문은 *Firmicutes*(50%), *Bacteroidota*(45%), *Desulfobacterota*(2%)였던 반면, DNCB 처리군에서는 *Firmicutes*(59%), *Bacteroidota*(34%), *Campilobacterota*(4%)였다. 그러나 LF216EV 처리군에서는 *Firmicutes*(56%), *Bacteroidetes*(36%), *Deferribacterota*(3%)의 비율이 다른 DNCB 처리군과 다르게 나타났다. 유사한 패턴은 속 수준에서도 관찰되었으며, DNCB 처리군은 정상 대조군에 비해 *Prevotella*와 *Lachnoclostridium*의 풍부도가 감소하고 *Helicobacter*의 풍부도가 증가하였다. DNCB 처리군 중 LF216EV 처리군은 *Lachnoclostridium, Roseburia, Helicobacter, Limosilactobacilli*의 패턴에서 차이를 보였다.

[0197] 속 수준에서의 비교 결과, *Desulfovibrio*(P=0.0091), *Butyricicoccus*(P=0.0090), *Streptococcus*(P=0.0183), *Dehalobacterium*(P=0.0055)이 LF216EV 처리군에서 DNCB 처리군과 유의하게 차이를 보였다(도 38). 또한, LF216EV는 DNCB 처리군에서 감소했던 *Limosilactobacillus*(0.71배 증가)와 *Lactococcus*(0.46배 증가)를 유의하게 증가시켰다. DNCB 처리군에서는 *Limosilactobacillus*와 *Lactococcus*가 각각 정상군에 비해 0.75배 및 0.42배 감소하였다.

[0199] **실험예 8. DNCB 로 유도된 AD 마우스에서 LF216EV로 조절된 대사체 연구**

[0200] 장내 미생물 군집에서 관찰된 변화와 동시에, DNCB의 처리군은 정상군에 비해 장내 환경의 대사체 프로파일에 변화를 유도하였다. 모든 실험 그룹의 대사체 프로파일에 대한 히트 맵은 도 39에 나타내었다. 실험 처리군 간의 대사체 프로파일에 대한 부분 최소 제곱 판별 분석(PLS-DA) 점수 및 로딩 플롯 분석은 도 40 및 41에 나타내었다. DNCB 처리군은 정상군과 명확한 군집 분리를 보였으나, Dex, LF216, LF216EV 처리군은 대조군과 차별적인 군집화을 보였다. PLS-DA 모델에서 그룹을 구분하기 위한 상위 16 개 대사체의 변수 중요도 투영 점수(VIP)는 도 42에 나타내었다.

[0201] L-람노스, 글리신, 팔미트산이 모든 실험군에서 가장 중요한 대사체임을 확인하였으며, LF216EV를 투여한 경우 다른 처리 그룹에 비해 글리신, l-프롤린, 젖산, 알라닌 등의 대사산물 수치가 눈에 띄게 상승한 것을 확인하였다. 또한 교토 유전자 및 게놈 백과사전(KEGG) 경로 분석을 수행하여 LF216EV 처리군에서 변화된 대사산물과 관련된 주요 대사 경로를 탐색하고 DNCB 대조군과 비교하였다. 그 결과 스테로이드 호르몬 생합성, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판 생합성, 글리신, 세린, 트레오닌 대사를 포함한 총 33 개의 경로를 확인하였다(도 43).

[0203] **실험예 9. LF216EV의 세로토닌 관련 유전자를 조절을 통한 AD 증상 완화 효과**

[0204] LF216EV 투여 그룹에서 장내 미생물군 및 장내 대사체 분석 결과, 스테로이드 호르몬 및 트립토판 대사와 관련된 세균 구성과 대사체 프로파일에서 유의미한 변화를 확인하였다. LF216EV 투여에 의해 매개된 신경전달물질 수준의 변화가 DNCB로 유도된 AD 유사 염증 및 비정상적인 행동의 개선을 가져온다는 가설을 검증하기 위하여, 마우스의 총 혈청에서 측정된 세로토닌 농도를 분석하였다(도 44).

[0205] 분석 결과, LF216EV 처리군은 DNCB 처리에 의해 감소된 혈청 세로토닌 농도를 유의미하게 증가시켰다(LF216EV와 대조군 비교에서 P=0.0005). 그러나 마우스 피부 조직 내 htr2b 발현은 모든 그룹 간에 유의미한 차이를 보이지 않는다는 것을 확인하였다. 반면, htr2c 발현은 LF216 및 LF216EV 처리군에서 피부 조직(P=0.0039 for LF216, P=0.0019 for LF216EV)과 장 조직(P=0.0387 for LF216EV)에서 유의미하게 증가한 것으로 확인되었다(도 45 및 46).

[0206] 또한, LF216EV 투여는 장내 세로토닌 유전자 sert 및 tph1의 유의미한 상향 조절을 유도하였다(sert에 대해 P=0.0141, tph-1에 대해 P=0.0204). 종합적으로, LF216EV의 투여는 AD 마우스의 장에서 세로토닌 관련 유전자를 조절하여 AD 증상 완화를 유도할 수 있음을 확인하였다.

수탁번호

[0207]

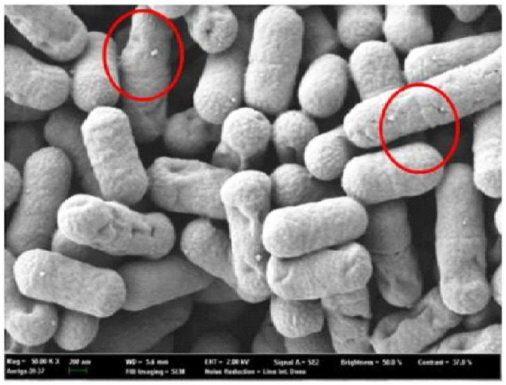
기탁기관명 : 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행(KACC)

수탁번호 : KACC81307BP

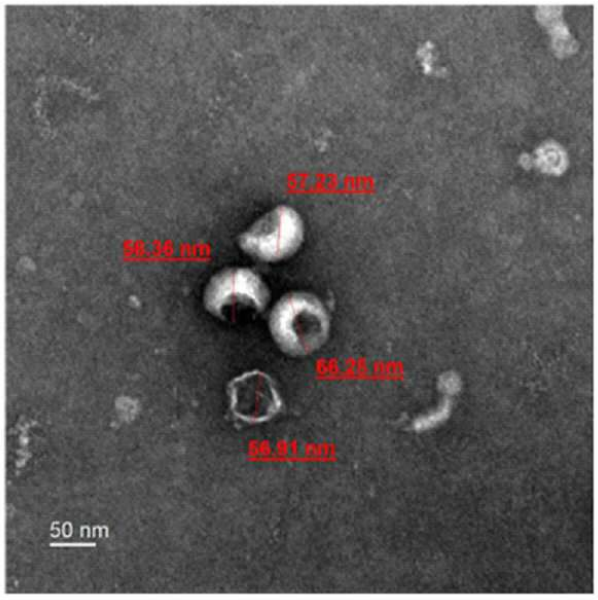
수탁일자 : 20241016

도면

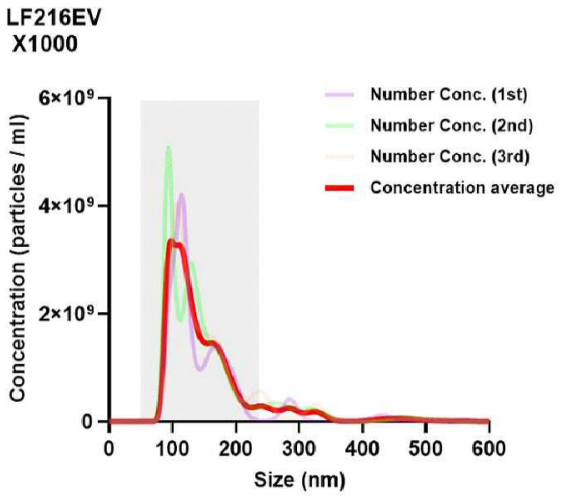
도면1



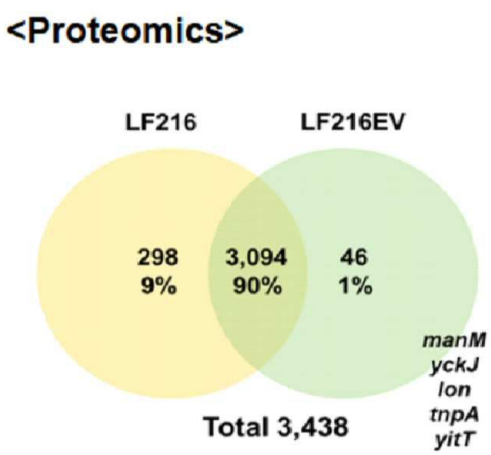
도면2


57.23 nm
56.36 nm
66.25 nm
56.81 nm
50 nm

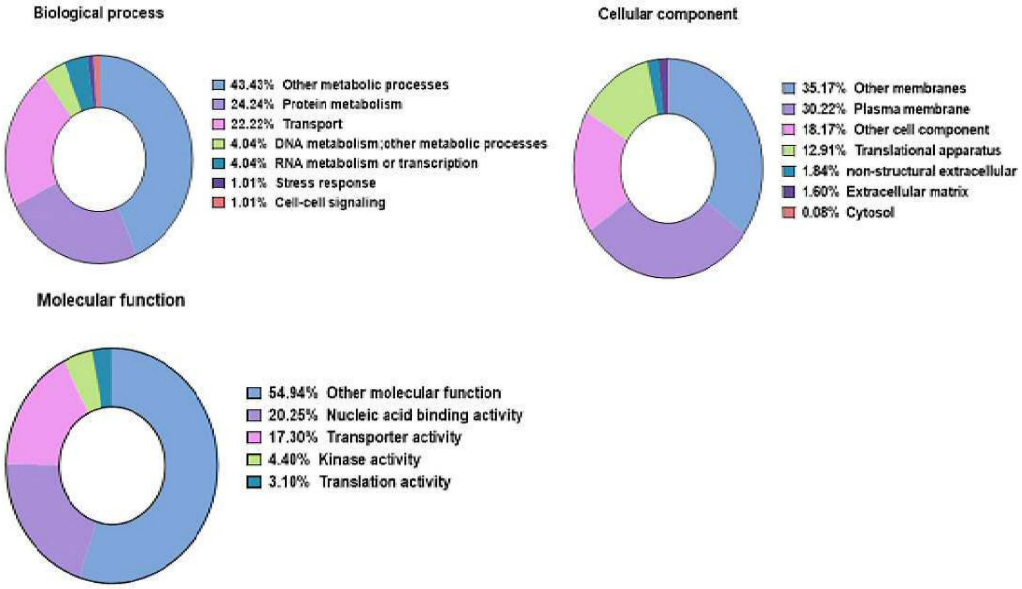
도면3


LF216EV
X1000
6×10⁹
4×10⁹
2×10⁹
0
Concentration (particles / ml)
Number Conc. (1st)
Number Conc. (2nd)
Number Conc. (3rd)
Concentration average
0
100
200
300
400
500
600
Size (nm)

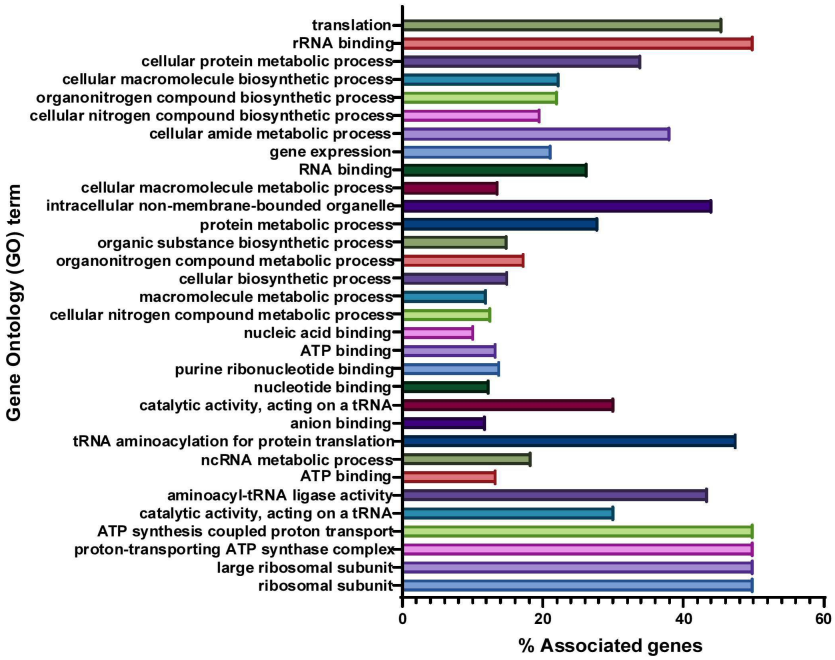
도면4


<Proteomics>
LF216
LF216EV
298
9%
3,094
90%
46
1%
manM
yckJ
lon
tnpA
yitT
Total 3,438

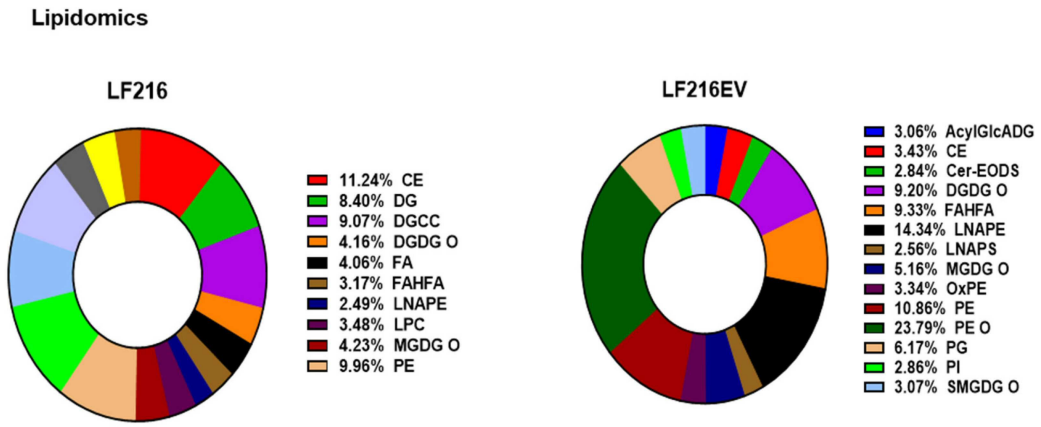
도면5


Biological process
43.43% Other metabolic processes
24.24% Protein metabolism
22.22% Transport
4.04% DNA metabolism;other metabolic processes
4.04% RNA metabolism or transcription
1.01% Stress response
1.01% Cell-cell signaling
Cellular component
35.17% Other membranes
30.22% Plasma membrane
18.17% Other cell component
12.91% Translational apparatus
1.84% non-structural extracellular
1.60% Extracellular matrix
0.08% Cytosol
Molecular function
54.94% Other molecular function
20.25% Nucleic acid binding activity
17.30% Transporter activity
4.40% Kinase activity
3.10% Translation activity

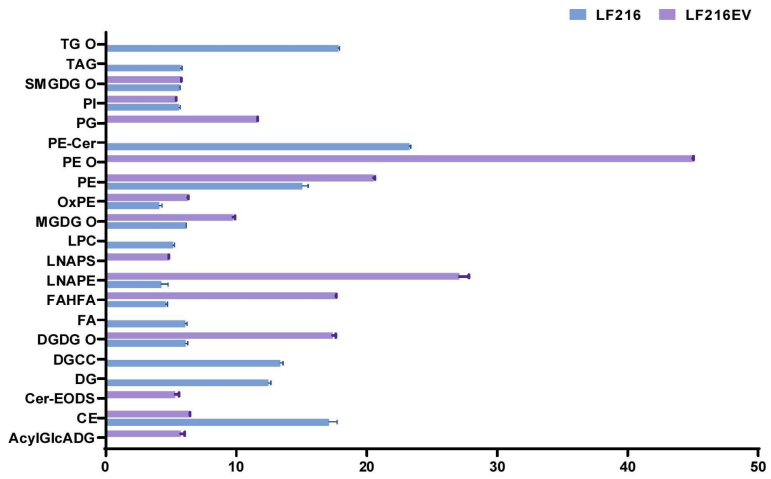
도면6


Gene Ontology (GO) term
translation
rRNA binding
cellular protein metabolic process
cellular macromolecule biosynthetic process
organonitrogen compound biosynthetic process
cellular nitrogen compound biosynthetic process
cellular amide metabolic process
gene expression
RNA binding
cellular macromolecule metabolic process
intracellular non-membrane-bounded organelle
protein metabolic process
organic substance biosynthetic process
organonitrogen compound metabolic process
cellular biosynthetic process
macromolecule metabolic process
cellular nitrogen compound metabolic process
nucleic acid binding
ATP binding
purine ribonucleotide binding
nucleotide binding
catalytic activity, acting on a tRNA
anion binding
tRNA aminoacylation for protein translation
ncRNA metabolic process
ATP binding
aminoacyl-tRNA ligase activity
catalytic activity, acting on a tRNA
ATP synthesis coupled proton transport
proton-transporting ATP synthase complex
large ribosomal subunit
ribosomal subunit
0
20
40
60
% Associated genes

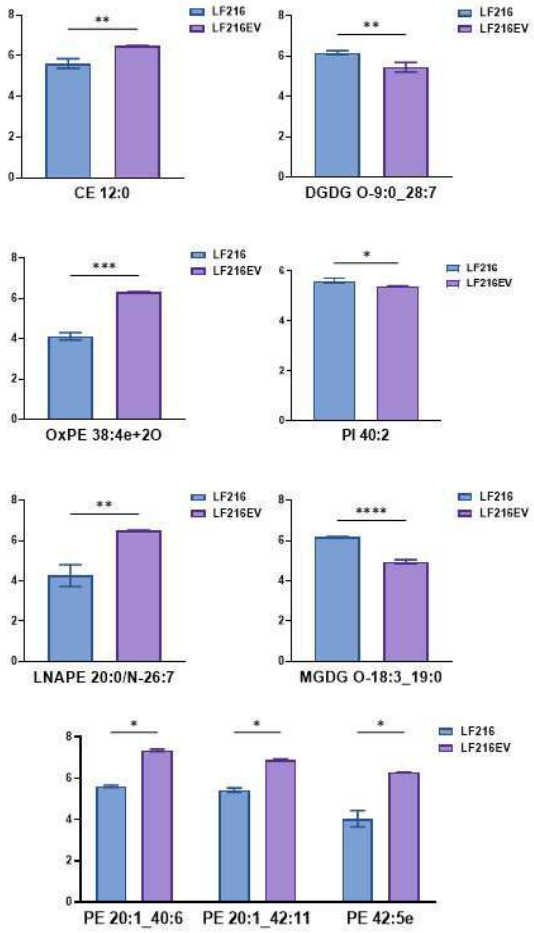
도면7


Lipidomics
LF216
11.24% CE
8.40% DG
9.07% DGCC
4.16% DGDG O
4.06% FA
3.17% FAHFA
2.49% LNAPE
3.48% LPC
4.23% MGDG O
9.96% PE
LF216EV
3.06% AcylGlcADG
3.43% CE
2.84% Cer-EODS
9.20% DGDG O
9.33% FAHFA
14.34% LNAPE
2.56% LNAPS
5.16% MGDG O
3.34% OxPE
10.86% PE
23.79% PE O
6.17% PG
2.86% PI
3.07% SMGDG O

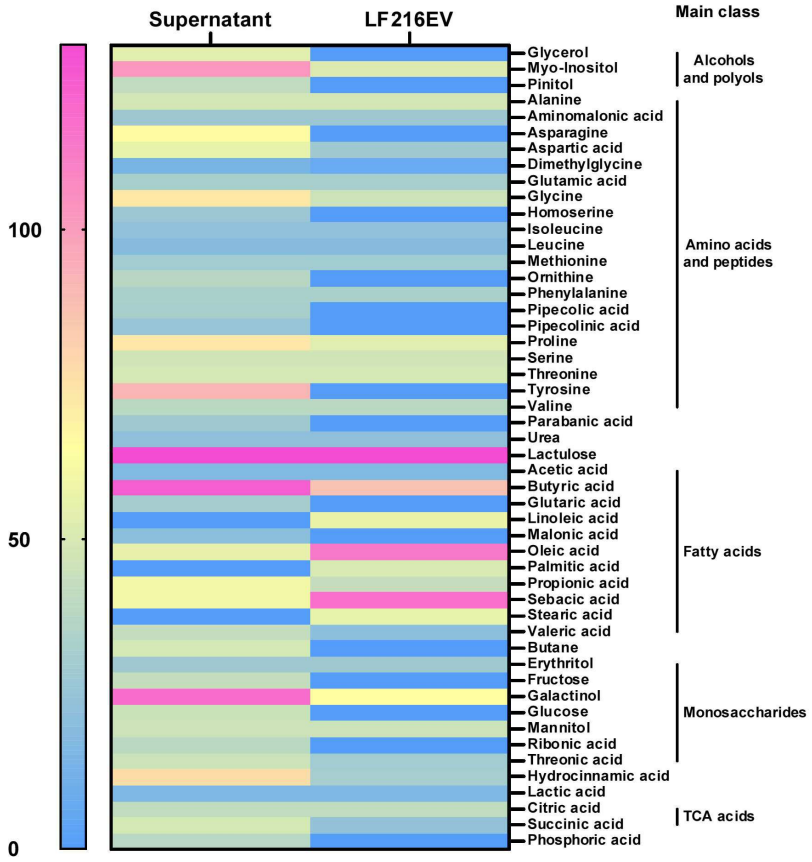
도면8


LF216
LF216EV
TG O
TAG
SMGDG O
PI
PG
PE-Cer
PE O
PE
OxPE
MGDG O
LPC
LNAPS
LNAPE
FAHFA
FA
DGDG O
DGCC
DG
Cer-EODS
CE
AcylGlcADG
0
10
20
30
40
50

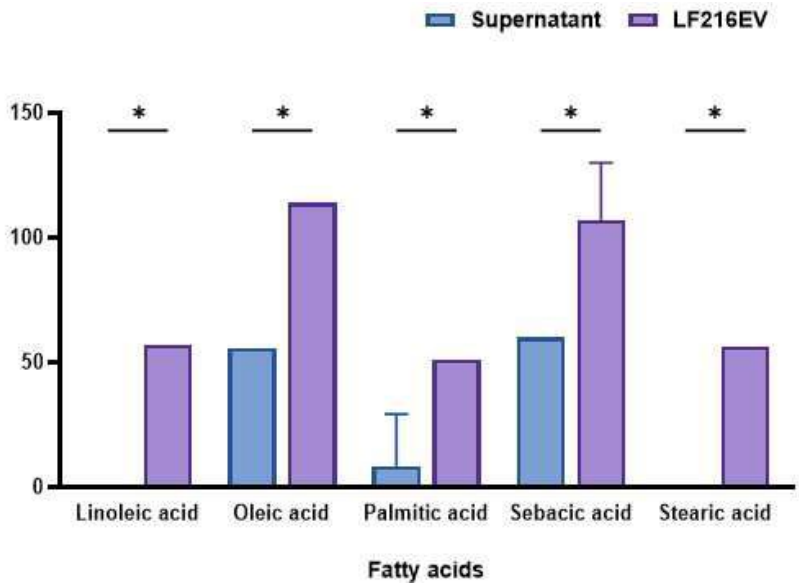
도면9


LF216
LF216EV
**
CE 12:0
**
DGDG O-9:0_28:7
***
OxPE 38:4e+2O
*
PI 40:2
**
LNAPE 20:0/N-26:7
****
MGDG O-18:3_19:0
*
*
*
PE 20:1_40:6
PE 20:1_42:11
PE 42:5e

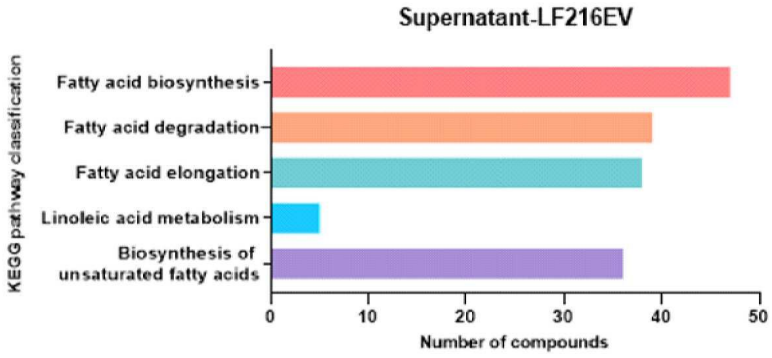
도면10


Supernatant
LF216EV
Main class
100
50
0
Glycerol
Myo-Inositol
Pinitol
Alanine
Aminomalonic acid
Asparagine
Aspartic acid
Dimethylglycine
Glutamic acid
Glycine
Homoserine
Isoleucine
Leucine
Methionine
Ornithine
Phenylalanine
Pipecolic acid
Pipecolinic acid
Proline
Serine
Threonine
Tyrosine
Valine
Parabanic acid
Urea
Lactulose
Acetic acid
Butyric acid
Glutaric acid
Linoleic acid
Malonic acid
Oleic acid
Palmitic acid
Propionic acid
Sebacic acid
Stearic acid
Valeric acid
Butane
Erythritol
Fructose
Galactinol
Glucose
Mannitol
Ribonic acid
Threonic acid
Hydrocinnamic acid
Lactic acid
Citric acid
Succinic acid
Phosphoric acid
Alcohols and polyols
Amino acids and peptides
Fatty acids
Monosaccharides
TCA acids

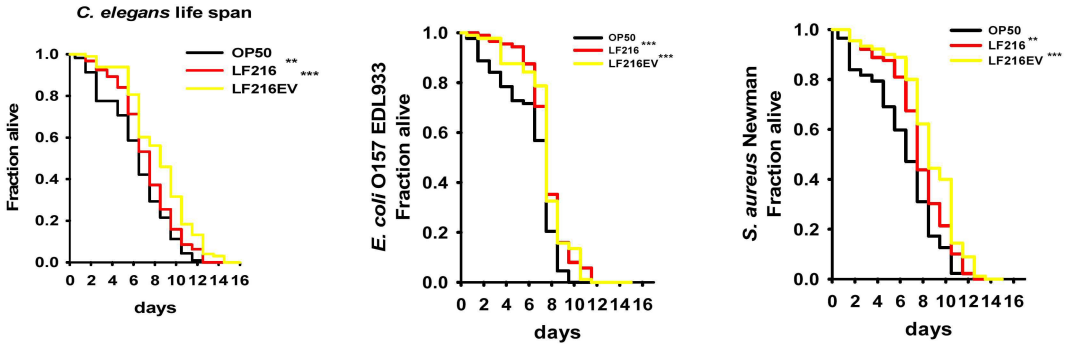
도면11


Supernatant
LF216EV
150
100
50
0
*
*
*
*
*
Linoleic acid
Oleic acid
Palmitic acid
Sebacic acid
Stearic acid
Fatty acids

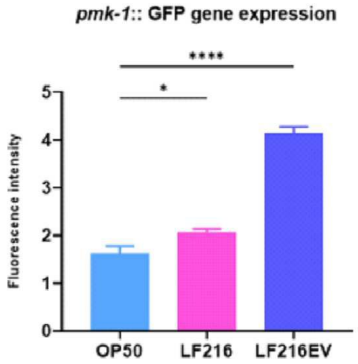
도면12



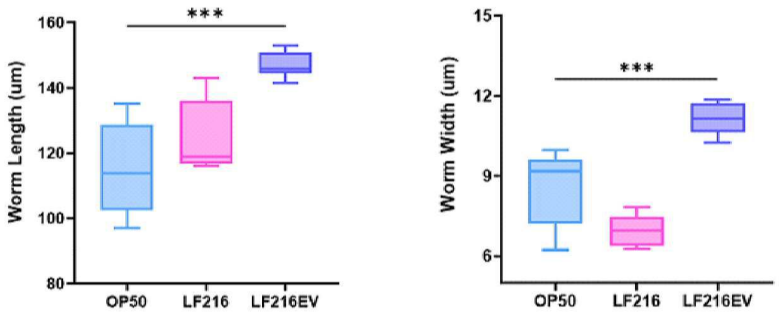
도면13



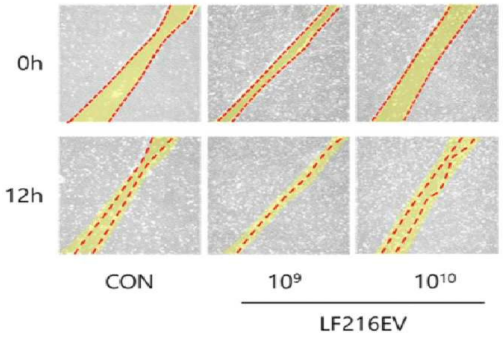
도면14



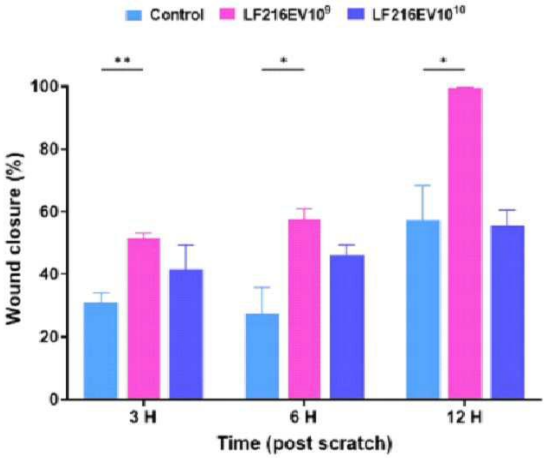
도면15



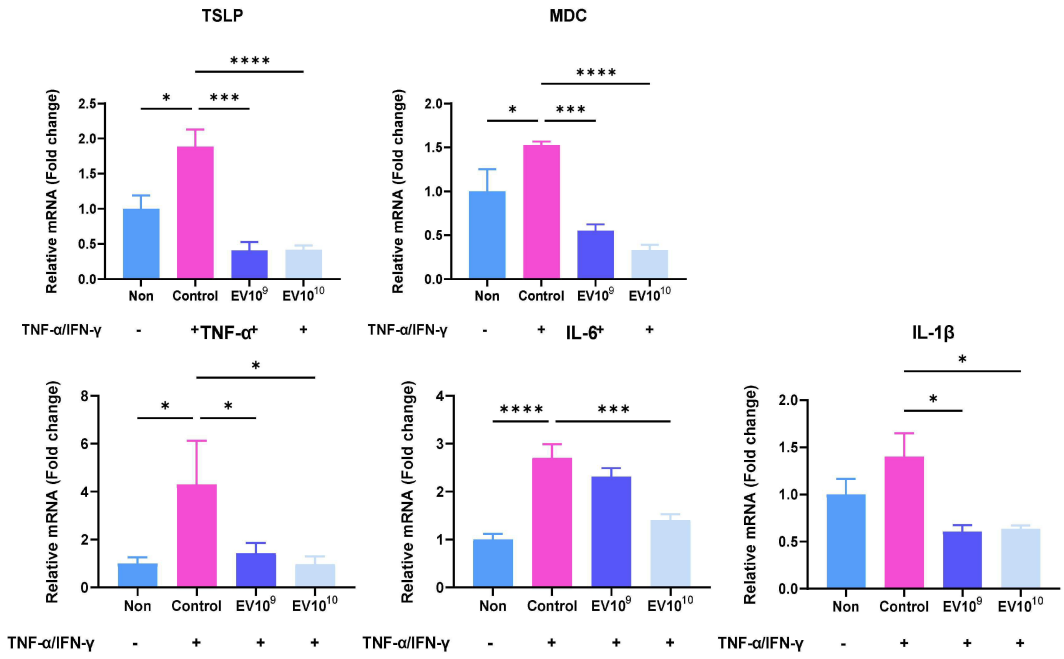
도면16



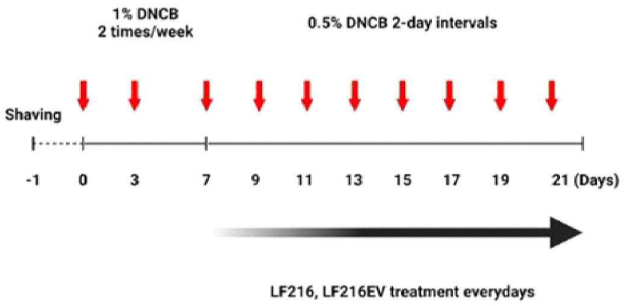
도면17



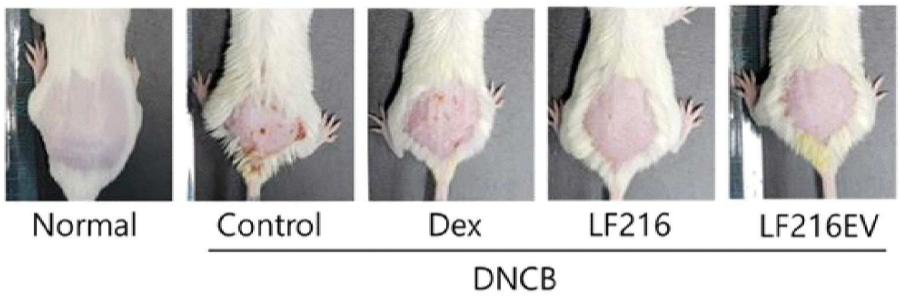
도면18



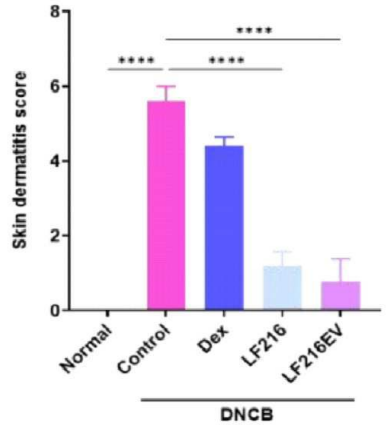
도면19



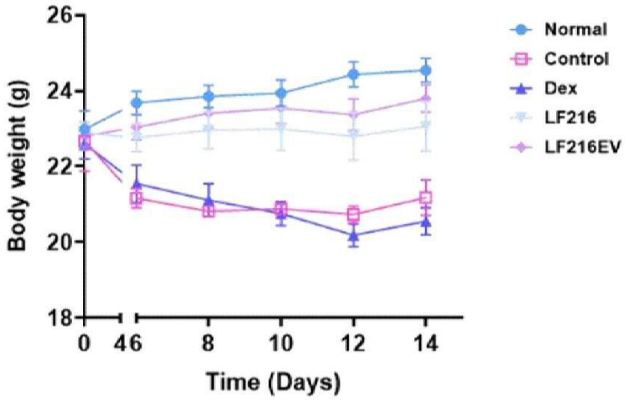
도면20



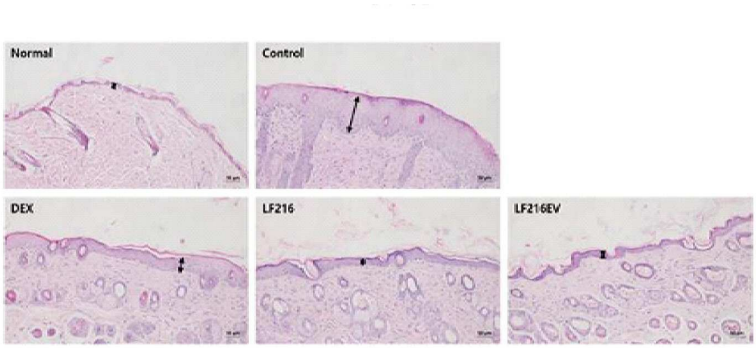
도면21

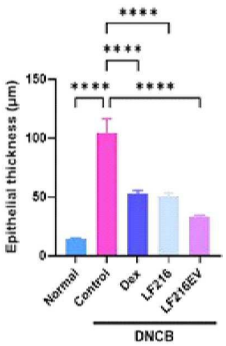


도면22

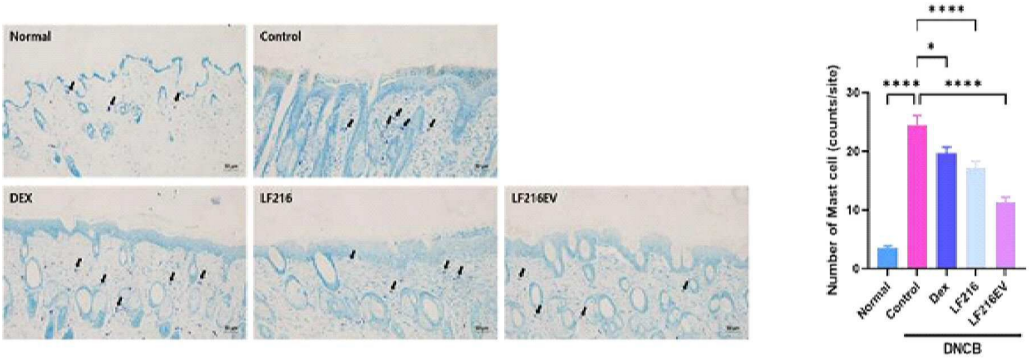


도면23

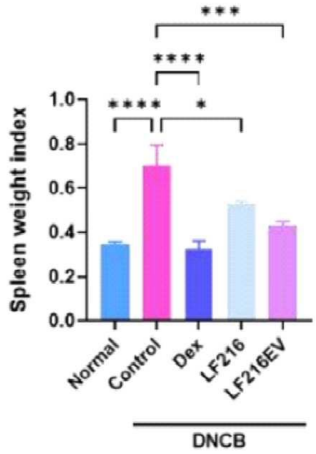




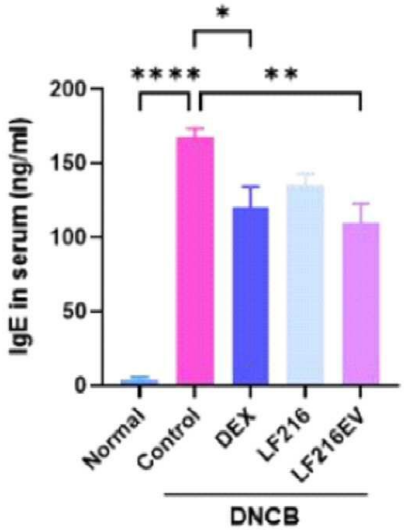
도면24



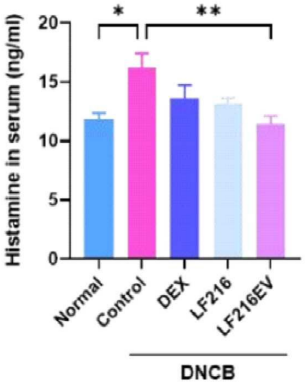
도면25



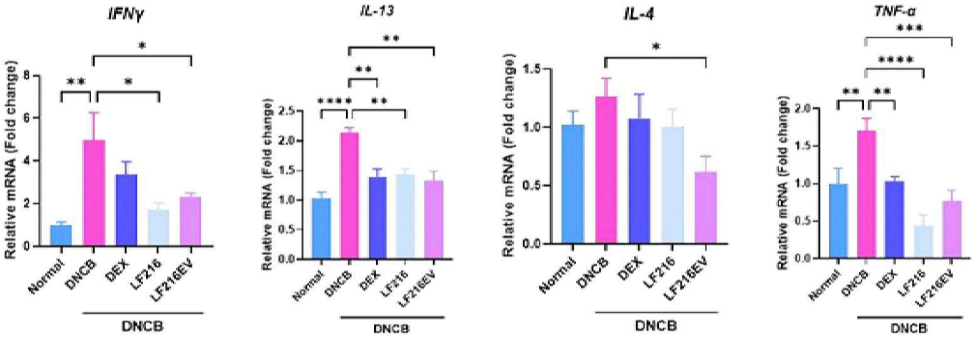
도면26



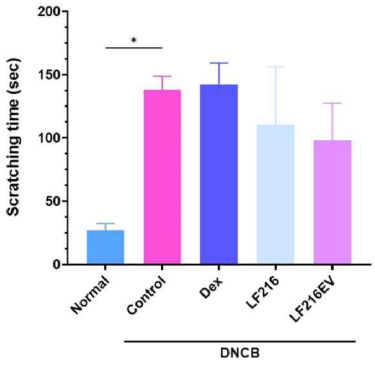
도면27



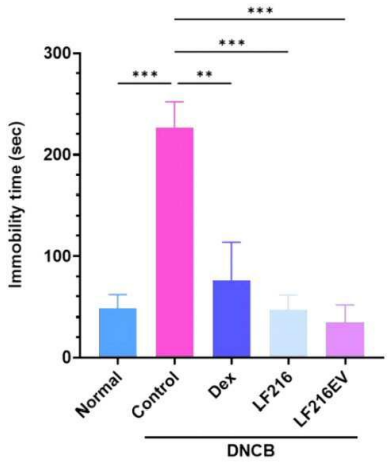
도면28



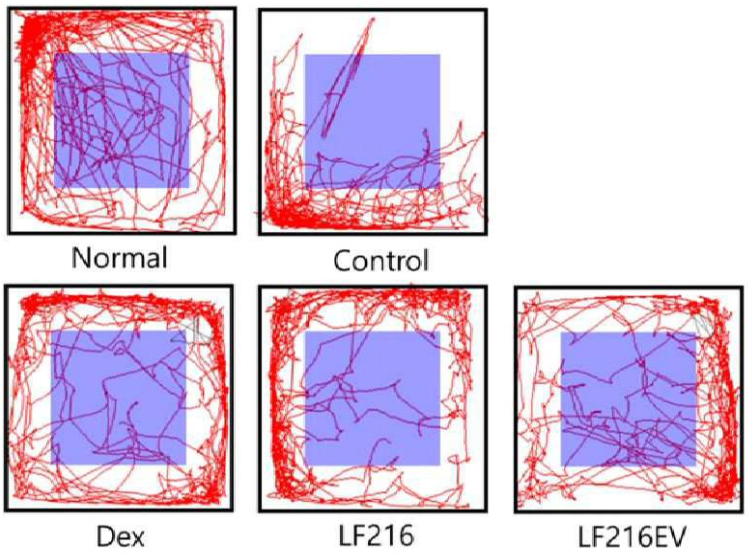
도면29



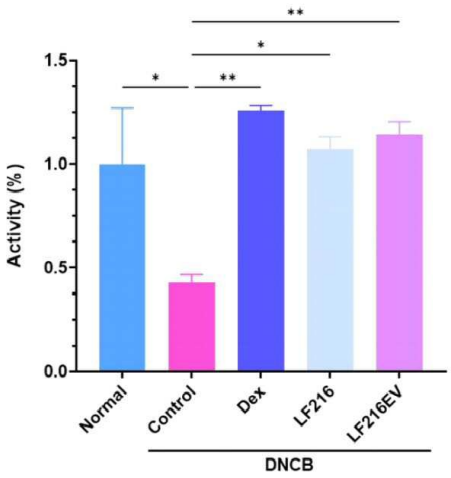
도면30



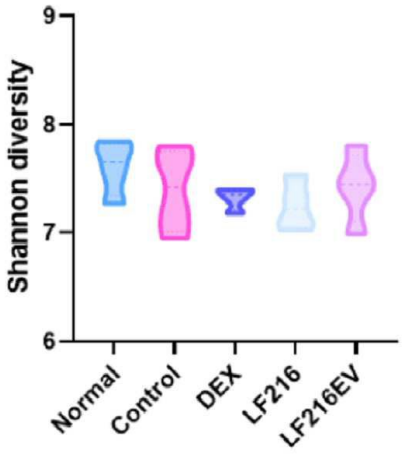
도면31



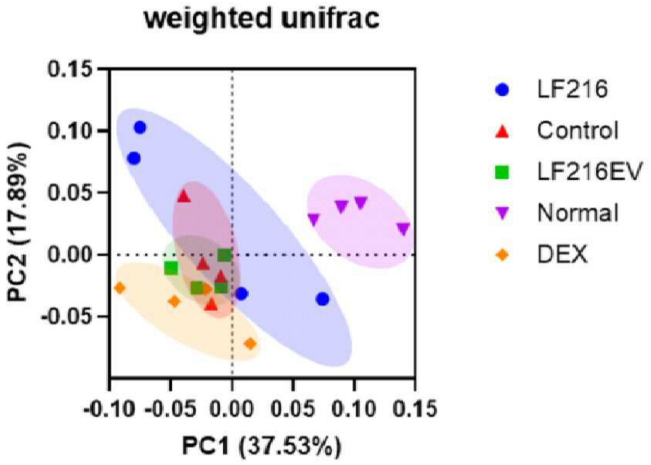
도면32



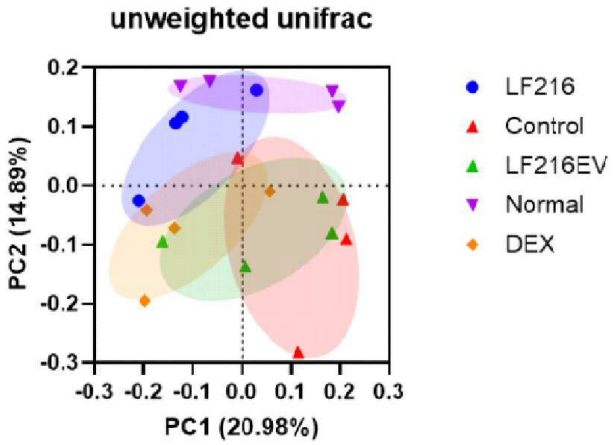
도면33



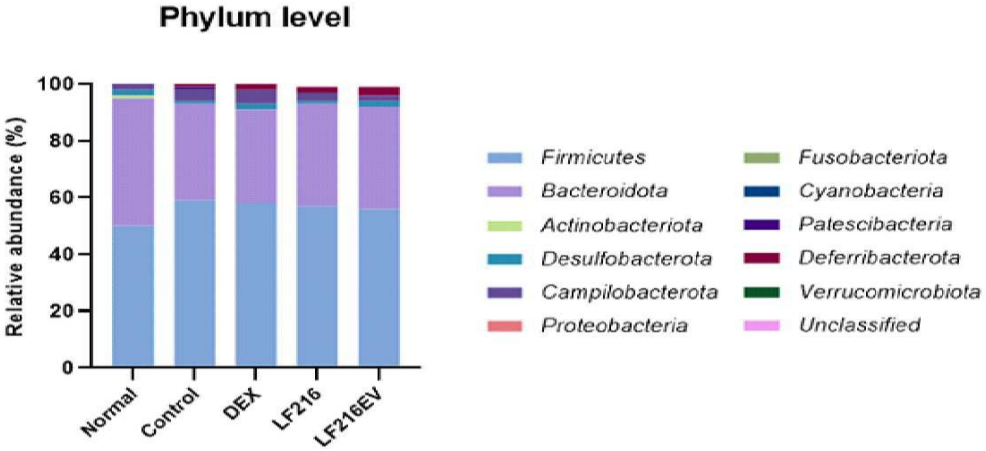
도면34



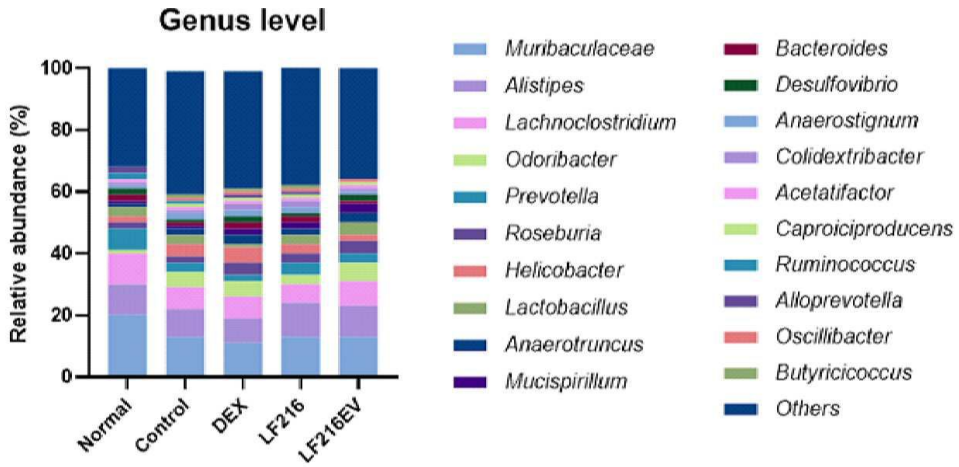
도면35



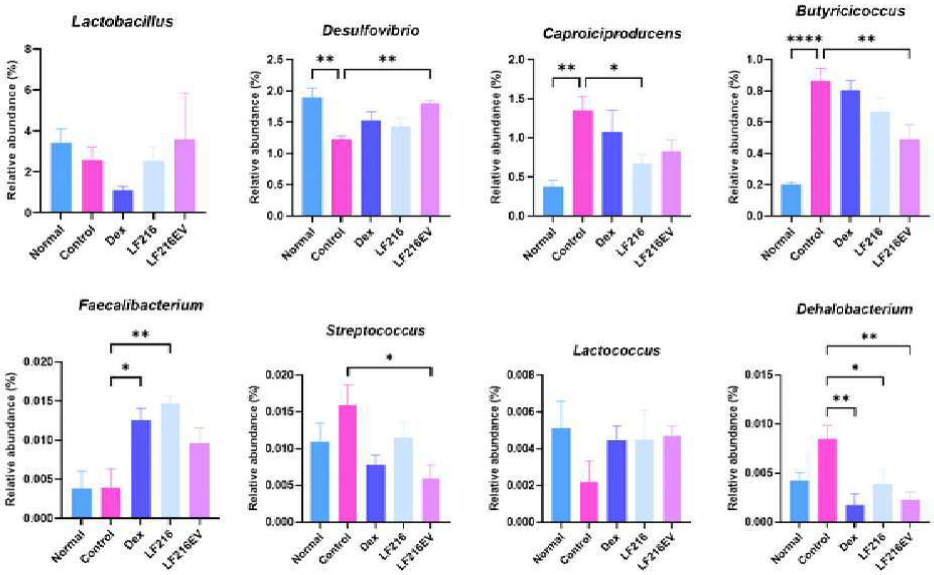
도면36



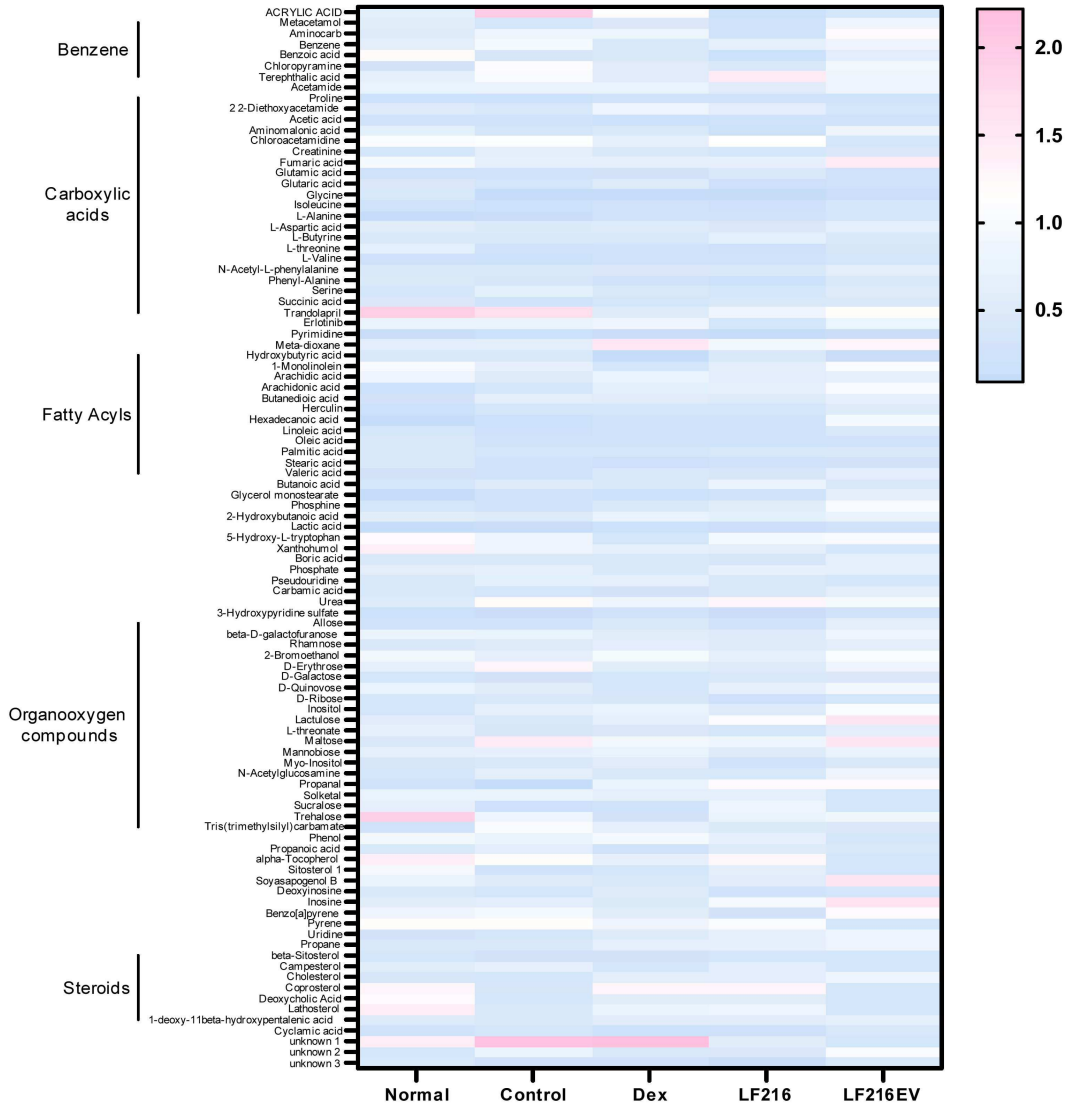
도면37



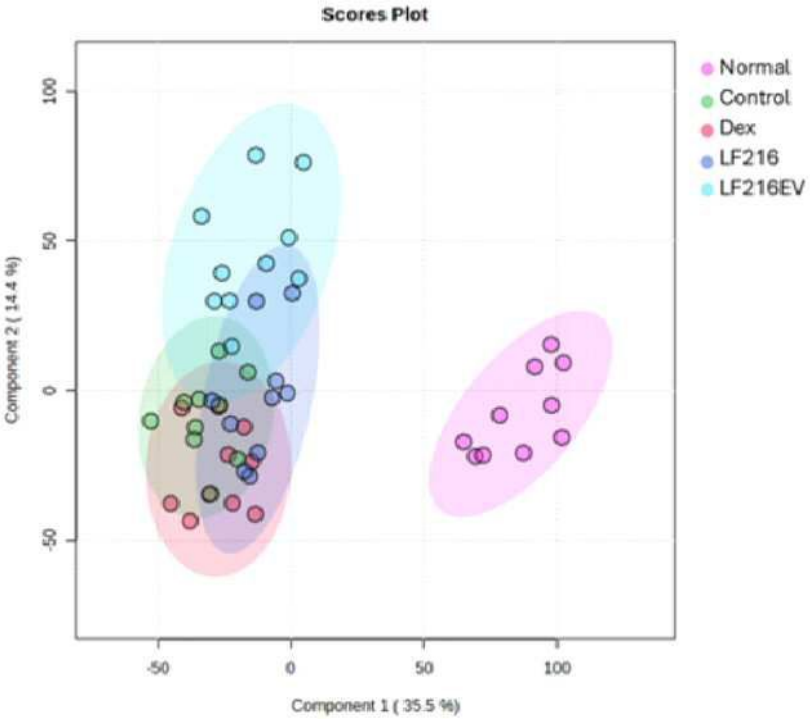
도면38



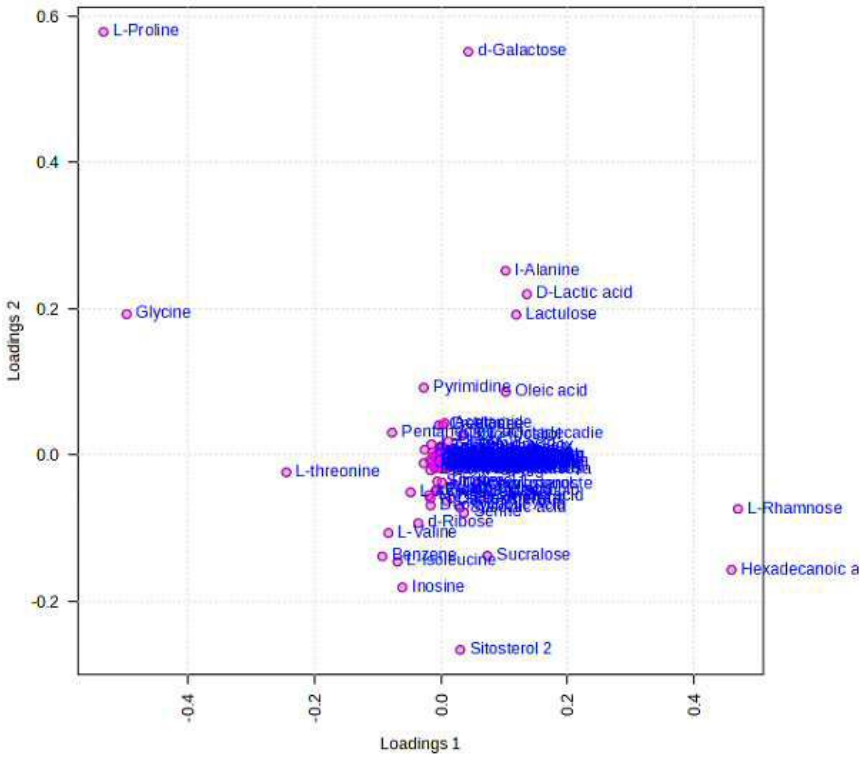
도면39


Benzene
Carboxylic acids
Fatty Acyls
Organooxygen compounds
Steroids
ACRYLIC ACID
Metacetamol
Aminocarb
Benzene
Benzoic acid
Chloropyramine
Terephthalic acid
Acetamide
Proline
2 2-Diethoxyacetamide
Acetic acid
Aminomalonic acid
Chloroacetamidine
Creatinine
Fumaric acid
Glutamic acid
Glutaric acid
Glycine
Isoleucine
L-Alanine
L-Aspartic acid
L-Butyrine
L-threonine
L-Valine
N-Acetyl-L-phenylalanine
Phenyl-Alanine
Serine
Succinic acid
Trandolapril
Erlotinib
Pyrimidine
Meta-dioxane
Hydroxybutyric acid
1-Monolinolein
Arachidic acid
Arachidonic acid
Butanedioic acid
Herculin
Hexadecanoic acid
Linoleic acid
Oleic acid
Palmitic acid
Stearic acid
Valeric acid
Butanoic acid
Glycerol monostearate
Phosphine
2-Hydroxybutanoic acid
Lactic acid
5-Hydroxy-L-tryptophan
Xanthohumol
Boric acid
Phosphate
Pseudouridine
Carbamic acid
Urea
3-Hydroxypyridine sulfate
Allose
beta-D-galactofuranose
Rhamnose
2-Bromoethanol
D-Erythrose
D-Galactose
D-Quinovose
D-Ribose
Inositol
Lactulose
L-threonate
Maltose
Mannobiose
Myo-Inositol
N-Acetylglucosamine
Propanal
Soliketal
Sucralose
Trehalose
Tris(trimethylsilyl)carbamate
Phenol
Propanoic acid
alpha-Tocopherol
Sitosterol 1
Soyasapogenol B
Deoxyinosine
Inosine
Benzo[a]pyrene
Pyrene
Uridine
Propane
beta-Sitosterol
Campesterol
Cholesterol
Coprosterol
Deoxycholic Acid
Lathosterol
1-deoxy-11beta-hydroxypentalenic acid
Cyclamic acid
unknown 1
unknown 2
unknown 3
Normal
Control
Dex
LF216
LF216EV
2.0
1.5
1.0
0.5

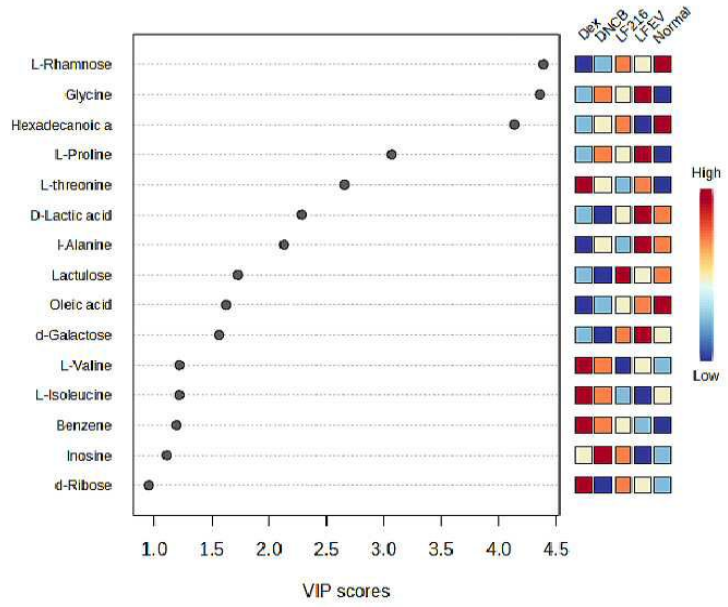
도면40


Scores Plot
Normal
Control
Dex
LF216
LF216EV
Component 2 (14.4 %)
Component 1 (35.5 %)
100
50
0
-50
-50
0
50
100

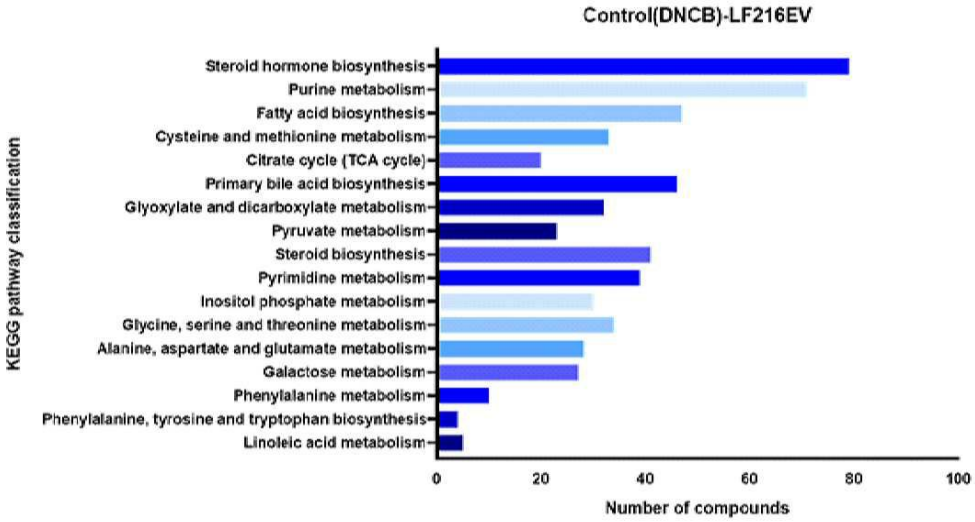
도면41


L-Proline
d-Galactose
l-Alanine
D-Lactic acid
Glycine
Lactulose
Pyrimidine
Oleic acid
L-threonine
L-Rhamnose
d-Ribose
L-Valine
Benzene
Sucralose
Hexadecanoic a
Inosine
Sitosterol 2
Loadings 2
Loadings 1
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.2
0.0
0.2
0.4

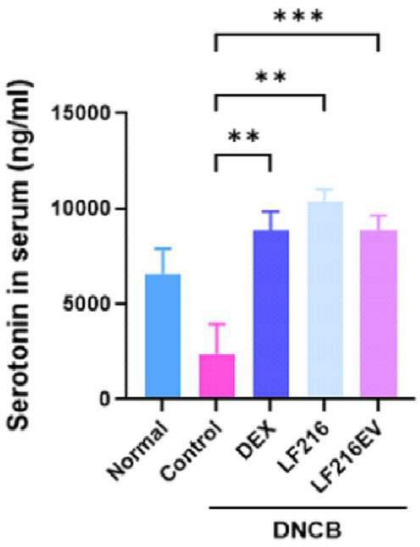
도면42


Dex
DNCB
LF216
LFEV
Normal
L-Rhamnose
Glycine
Hexadecanoic a
L-Proline
L-threonine
D-Lactic acid
l-Alanine
Lactulose
Oleic acid
d-Galactose
L-Valine
L-Isoleucine
Benzene
Inosine
d-Ribose
High
Low
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
4.5
VIP scores

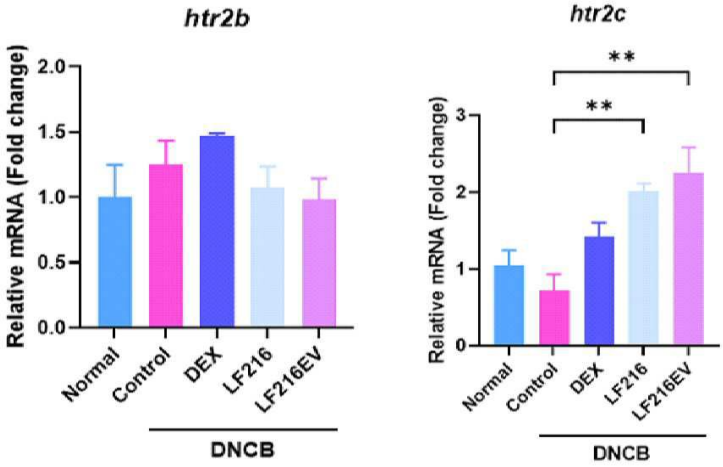
도면43


Control(DNCB)-LF216EV
KEGG pathway classification
Steroid hormone biosynthesis
Purine metabolism
Fatty acid biosynthesis
Cysteine and methionine metabolism
Citrate cycle (TCA cycle)
Primary bile acid biosynthesis
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism
Pyruvate metabolism
Steroid biosynthesis
Pyrimidine metabolism
Inositol phosphate metabolism
Glycine, serine and threonine metabolism
Alanine, aspartate and glutamate metabolism
Galactose metabolism
Phenylalanine metabolism
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis
Linoleic acid metabolism
0
20
40
60
80
100
Number of compounds

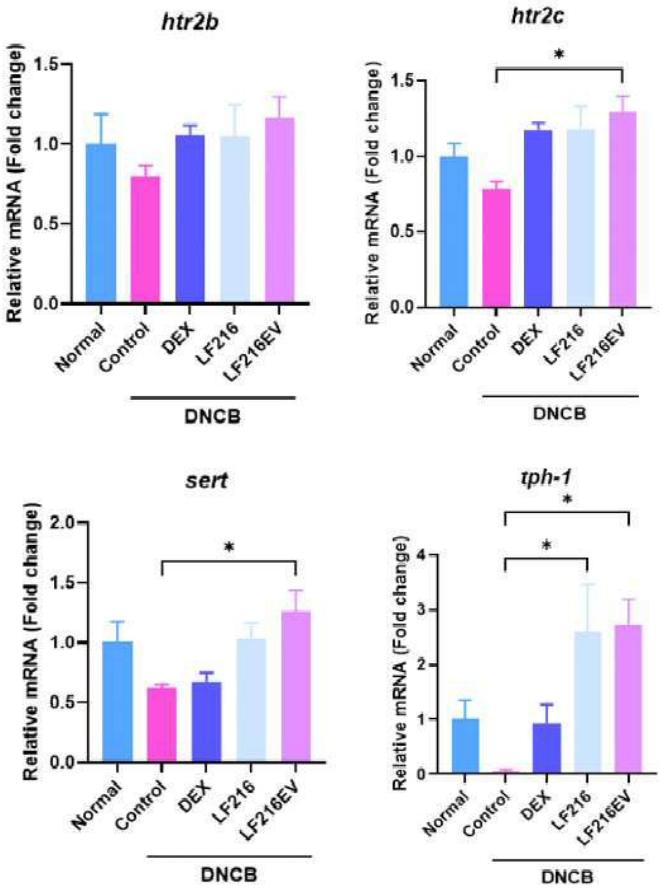
도면44


***
**
**
Serotonin in serum (ng/ml)
15000
10000
5000
0
Normal
Control
DEX
LF216
LF216EV
DNCB

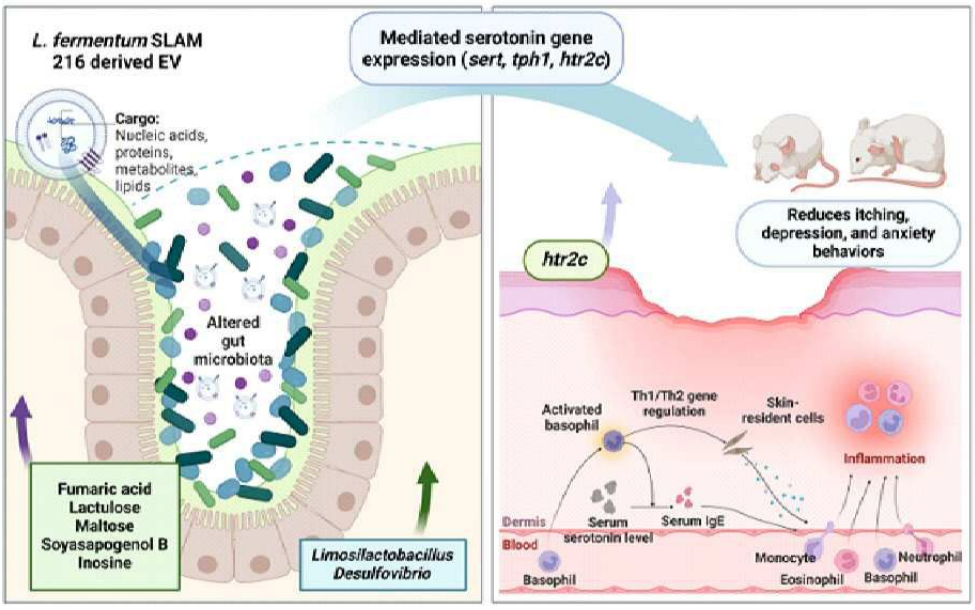
도면45


htr2b
Relative mRNA (Fold change)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Normal
Control
DEX
LF216
LF216EV
DNCB
htr2c
**
**
Relative mRNA (Fold change)
3
2
1
0
Normal
Control
DEX
LF216
LF216EV
DNCB

도면46


htr2b
htr2c
sert
tph-1
Relative mRNA (Fold change)
Normal
Control
DEX
LF216
LF216EV
DNCB
*

도면47


L. fermentum SLAM 216 derived EV
Cargo: Nucleic acids, proteins, metabolites, lipids
Mediated serotonin gene expression (sert, tph1, htr2c)
Reduces itching, depression, and anxiety behaviors
htr2c
Altered gut microbiota
Fumaric acid
Lactulose
Maltose
Soyasapogenol B
Inosine
Limosilactobacillus Desulfovibrio
Activated basophil
Th1/Th2 gene regulation
Skin-resident cells
Inflammation
Dermis
Serum serotonin level
Serum IgE
Blood
Basophil
Monocyte
Eosinophil
Neutrophil
Basophil

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.