



특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1263396 호

(PATENT NUMBER)

출원번호
(APPLICATION NUMBER)

제 2011-0006780 호

출원일
(FILING DATE:YY/MM/DD)

2011년 01월 24일

등록일
(REGISTRATION DATE:YY/MM/DD)

2013년 05월 06일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)

바실러스 쉐레우스 ATCC 13061 균주 유래의 신규 박테리오폴리머 및 이를 포함하는 세균 사멸용 조성물

특허권자 (PATENTEE)

서울대학교산학협력단(114371-0*****)

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

발명자 (INVENTOR)

등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2013년 05월 06일



특 허 청 장 김 영 민

COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE



연차등록료 납부일은 설정등록일 이후 4년차부터 매년 05월 06일까지이며 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.

특허청구의 범위

청구항 1

박테리오신 활성을 갖는 것으로, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드

청구항 2

박테리오신 활성을 갖는 것으로, 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드

청구항 3

박테리오신 활성을 갖는 서열번호 1의 아미노산 서열을 암호화하여 포함하고 있는 것으로, 서열번호 3의 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드

청구항 4

박테리오신 활성을 갖는 서열번호 2의 아미노산 서열을 암호화하여 포함하고 있는 것으로, 서열번호 5의 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드

청구항 5

서열번호 1의 폴리펩타이드 및 서열번호 2의 폴리펩타이드를 단독 또는 병합하여 포함하는 것을 특징으로 하는 세균 사멸용 조성물

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

명세서

기술분야

본 발명은 바실러스 쉐레우스 (*Bacillus cereus*) ATCC 13061 균주 유래의 신규 박테리오신 및 이를 포함하는 세균 사멸용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 대다수의 바실러스 (*Bacillus*) 및 리스테리아 모노사이토제네스 (*Listeria monocytogenes*) 균주에 대해 사멸능을 보이는 신규의 박테리오신 및 이를 포함하는 세균 사멸용 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

[0002] 바실러스 (*Bacillus*)는 호기성 혹은 통성호기성균으로 토양에서 주로 발견된다. 각종 고분자를 분해하는 여러 종류의 가수분해효소를 분비하여 셀룰로오스, 전분, 펙틴 등의 다당류, 한천 (agar), 핵산, 지질 등을 이용할 수 있으므로, 식품을 변패시켜 산과 가스를 생성하기도 한다. 이 중 바실러스 쉼레우스 (*Bacillus cereus*)는 주로 전분질 식품에서 발생하는 식중독 원인균인데, 오염 식품 섭취 후 비교적 단시간 (1~6시간)에 구토 증상이 나타나는 구토형 식중독을 일으키거나, 오염 식품 섭취 후 8~16시간 후에 복통과 설사 증상이 나타나는 설사형 식중독을 일으킨다. 그 외에 바실러스 리케니포미스 (*Bacillus licheniformis*) 역시 식품에 오염되어 설사와 구토를 유발하는 식중독을 일으키고, 바실러스 코아굴런스 (*Bacillus coagulans*) 역시 가열 포장식품의 부패균으로 알려져 있다. 하지만, 이들 균이 만드는 포자 (spore)가 높은 내열성을 보이고, 각종 화학 물질에 대한 저항성을 보이므로, 효과적인 방제기술 개발이 시급하다.

[0003] 한편, 박테리옌 (bacteriocin)은 박테리아에 의해 만들어지는 항균 펩타이드 혹은 단백질로 생산 균주와 유연관계가 가까운 세균에만 특이적으로 작용하는 항균물질이다. 지금까지 밝혀진 박테리옌은 주로 젖산균과 관련된 것이 많은데, 바실러스 속 특히 바실러스 쉼레우스 (*Bacillus cereus*)에서 생산되는 박테리옌에 관한 연구는 거의 없었다.

[0004] 한편, 식품에 적용하여 식중독균을 죽이는 물질은 유해 균에만 특이적으로 살균 효과를 보이고, 유익한 역할을 하는 균들의 성장에는 영향을 미치지 않아야 하는데, 박테리옌의 경우 숙주 특이적 항균 작용을 나타내기 때문에 이러한 요건을 충족시키며, 단백질 가수 분해 효소에 의해 그 활성을 잃게 되므로 식품에 안전하게 사용할 수 있는 특징이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에 본 발명은 식품에 오염되는 병원성 미생물인 바실러스 균을 제어할 수 있는 새로운 박테리옌 및 이를 포함하는 조성물을 개발하여 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 박테리옌 활성을 갖는 것으로, 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 제공한다. 또한, 본 발명은 박테리옌 활성을 갖는 것으로, 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 제공한다. 또한, 본 발명은 박테리옌 활성을 갖는 서열번호 1의 아미노산 서열을 암호화하여 포함하고 있는 것으로, 서열번호 3의 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 또한, 본 발명은 박테리옌 활성을 갖는 서열번호 2의 아미노산 서열을 암호화하여 포함하고 있는 것으로, 서열번호 5의 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0007] 본 발명에서는 식품 산업에서 경제적으로 악영향을 미치는 병원성 미생물을 제어할 수 있고, 항생제 내성 세균을 제어할 수 있는 새로운 항균 물질을 분리하고자 하였다. 그 결과 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061의 배양액으로부터 생산 균주를 제외한 다수의 바실러스 및 리스테리아 모노사이토제네스 균주에 대하여 숙주 특이성을 가지며 사멸 효과를 나타내는 서열번호 1 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드, 즉 박테리옌을 분리하였다.

[0008] 한편, 분석 결과, 서열번호 1 및 서열번호 2의 아미노산 서열은 각각 서열번호 3 및 서열번호 5의 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드 중 일부에 암호화되어 있었다. 즉, 본 발명에서 순수 분리된 쉼레인(cerein) 13061의 아미노산 서열을 분석한 결과, 활성을 보이는 서열번호 1 (쉼레인 13061 α) 및 서열번호 2 (13061 β)의 두 개 펩타이드 서열이 확인되었는데, 이 결과를 바탕으로 PCR을 수행한 결과, 이 두 개의 펩타이드 서열을 포함하는 전체 아미노산 서열이 서열번호 4 및 서열번호 6으로 각각 확인되었고, 이를 각각 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열이 서열번호 3 및 서열번호 5로 각각 확인되었다. 다만, 박테리옌 활성을 나타내기 위해 상기 서열번호 4 및 서열번호 6의 아미노산 서열 전체 중 '↑' 위치(도 6에 표시)가 잘라져 서열번호 1 및 서열번호 2가 되는 것이다.

[0009] 한편, 본 발명은 서열번호 1의 폴리펩타이드 및 서열번호 2의 폴리펩타이드를 단독 또는 병합하여 포함

하는 것을 특징으로 하는 세균 사멸용 조성물을 제공한다. 서열번호 1 또는 서열번호 2의 폴리펩타이드만으로도 박테리오킨 활성이 나타나기는 하나, 이들 둘이 상호 같이 존재할 때 박테리오킨 활성은 현저히 증가한다.

[0010] 한편, 본 발명은 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061의 배양액을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 세균 사멸용 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061의 배양액으로부터 분리된 단백질을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 세균 사멸용 조성물을 제공한다. 이때, 상기 단백질은 친수성 단백질 및 소수성 단백질을 모두 포함하는 의미이다. 다만, 본 발명의 세균 사멸용 조성물은 더욱 바람직하게 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061의 배양액으로부터 분리된 단백질 중 소수성 단백질만을 유효성분으로 포함할 수도 있다.

[0011] 한편, 본 발명의 세균 사멸용 조성물에 있어서, 세균 사멸용 조성물은 더욱 구체적으로 바실러스 속 균주 및 리스테리아 모노사이토제네스 균주 사멸용 조성물일 수 있다.

[0012] 한편, 본 발명의 박테리오킨은 바실러스 또는 리스테리아 모노사이토제네스 균주가 감염된 부분에 직접 투여하거나 적절한 형태의 조성물로 제조하여 투여할 수 있다. 조성물 형태로 제조된 본 발명의 세균 사멸용 조성물은 액상, 반고체상, 분말상 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다. 액상 제제는 현탁제 또는 주사액제 등이 있고, 반고체상 제제는 크림, 로션, 젤, 페이스트 등이 있으며, 고체상 제제는 분말제, 과립제, 정제 등이 있다. 이들 제제는 통상적인 단백질 제제의 제조방법에 의해 제제화될 수 있다.

[0013] 한편, 본 발명의 세균 사멸용 조성물은 필요에 따라 담체, 기타 보조제 등을 포함할 수 있는데, 담체는 생리식염수, 증류수 등이 될 수 있으며, 보조제는 pH 교정 등의 목적으로 사용되는 완충액 등이 있다.

[0014] 한편, 본 발명 세균 사멸용 조성물의 투여량은 투여 대상에서 바실러스 균 혹은 리스테리아 모노사이토제네스 균을 사멸시키는 효과를 발휘하기 위해 요구되는 정도의 양을 의미하는데, 제형의 종류 및 투여 대상의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 경로, 투여 시간 및 기간을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 가축 또는 어류에 사용하는 경우는 수의학에서 허용하는 범위 내에서 제제화하고 그에 따라 투여 경로를 정할 수 있다.

[0015] 본 발명의 박테리오킨을 포함한 세균 사멸용 조성물은 기존 항생제에 대한 내성 여부와 상관없이 바실러스 균 및 리스테리아 모노사이토제네스 균을 사멸시킬 수 있으므로, 바실러스 균 및 리스테리아 모노사이토제네스 균의 감염에 의한 질환의 치료용으로 사용할 수도 있고, 특히 항생제 내성을 갖는 바실러스 균 및 리스테리아 모노사이토제네스 균에 사용 시 기존 항생제로 제거할 수 없었던 항생제 내성균을 사멸시킬 수 있으므로, 기존 항생제 대체물로 유용하게 활용될 수 있다.

[0016] 특히, 축산 분야에서 문제가 되는 각종 세균성 질병을 제어할 수 있는 박테리오킨 제제를 개발하여 항생제를 대체하게 되면 항생제 내성균 문제의 해결과 더불어 국내 소비자에게 우리 축산물의 안전성에 대한 신뢰를 보장할 수 있을 뿐만 아니라 우리 축산물의 수출을 증대시킴으로써 국내 축산물의 부가가치를 향상시키고, 국내 축산업 전반을 활성화시킬 수도 있을 것이다.

[0017] 또한, 본 발명의 박테리오킨을 포함한 세균 사멸용 조성물은 식품에도 사용이 가능한데, 식품의 가공, 보관 과정에서 박테리오킨을 처리함으로써 병원성 세균으로 인한 식품의 오염을 막고, 부패를 일으키는 세균을 사멸시켜, 유통기한을 늘릴 수 있는 등의 많은 경제적 이익을 가져올 수도 있다.

발명의 효과

[0018] 본 발명에서 새롭게 확인한 박테리오킨 쉼레인 13061은 식중독을 일으키는 원인균 중 하나인 바실러스 속 및 리스테리아 모노사이토제네스에 속하는 균주들에 대해 특이적인 용균작용을 보이고, 넓은 온도와 pH 범위에서 안정적인 항균 활성을 보이기 때문에, 식품, 의약 및 동물 의약 산업 등에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061 배양액에 의한 바실러스 쉼레우스 ATCC 10876 (지시균)의 생장

억제 및 배양액의 희석 배수에 따른 억제환 크기의 감소를 보여준다.

도 2는 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061 배양액에 대한 고속액체크로마토그래피 결과 (A) 및 두 개 분획의 용균 활성 측정의 결과 (B)를 보여준다.

도 3은 본 발명의 박테리오신 쉼레인 13061을 정체기 단계의 지시균주, 즉 바실러스 쉼레우스 ATCC 10876 (A)과 리스테리아 모노사이토제네스 ScottA (B)에 처리했을 때, 흡광도의 변화를 보여준다.

도 4는 여러 가지 온도 (A)와 pH 범위 (B), 유기용매 환경 (C)에서 본 발명 박테리오신 쉼레인 13061의 항균 효과를 보여준다.

도 5는 환원 조건 (reduction condition)에서 본 발명 박테리오신 쉼레인 13061의 항균 효과를 보여준다.

도 6은 본 발명의 박테리오신 쉼레인 13061을 이루는 두 펩타이드 (쉼레인 13061 α , 쉼레인 13061 β)의 전체 DNA, 전체 아미노산 서열 및 용균 활성을 가지기 위해 잘리어 지는 부분 ('↑'로 표시)을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예를 통해 더욱 상세히 설명하지만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 이와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0021] **실시예 1: 본 발명 박테리오신 쉼레인 13061의 활성 측정 및 분리**

[0022] **(1) 박테리오신 쉼레인의 활성 측정**

[0023] 박테리오신 생산 균주인 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061를 TSB 액체 배지에 접종하여 37℃에서 8시간 동안 220 rpm으로 진탕 배양하였다. 원심분리한 후 여과장치를 통과시켜 균주를 제거하고, 순수한 배양액만 획득하였다.

[0024] 이어, 지시균 (indicator strain)인 바실러스 쉼레우스 ATCC 10876을 TSB 액체 배지에서 8시간 배양한 후, 이 배양액 100 μ l를 PA 반고체 배지 (0.7%) 5 ml과 섞고, TSB 고체 배지 위에 부어 균했다.

[0025] 한편, 상기에서 수득한 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061 배양액 10 μ l를 상기에서 제조한 지시균이 섞여 있는 고체배지 위에 떨어뜨린 후 37℃에서 5시간 배양하고, 성장 억제환을 관찰함으로써 항균활성의 감수성을 측정하였다.

[0026] 그 결과, 도 1에서 보는 바와 같이 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061 배양액에 의한 지시균의 성장 억제 및 배양액의 희석 배수에 따른 억제환 크기의 감소를 확인할 수 있었다. 도 1에 표시된 숫자는 희석 샘플의 번호로서, '0'은 희석되지 않은 것, '1'은 1/2배 희석된 것, '2'는 1/4배 희석된 것, '3'은 1/8배 희석된 것이다.

[0027] **(2) 박테리오신의 항균 활성 범위**

[0028] 한편, 하기 표 1에 있는 것처럼 여러가지 바실러스 속의 균주에 대한 항균활성을 측정한 결과, 확인한 균주 중 생산 균주를 제외한 모든 바실러스 균주 (*B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. circulans*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*)에 성장 억제환을 생성하였고, 리스테리아 모노사이토제네스에 대해서도 성장 억제 효과를 나타냈다.

[0029] 또한, 여러 가지 건조 식품균에서 분리한 바실러스 쉼레우스 140여 종 및 리스테리아 모노사이토제네스 38여 종에서도 같은 활성을 보였다. 다만, 스태필로코커스 에피델미디스 (*Staphylococcus epidermidis*)과 스트렙토코커스 파이오제네스 (*Streptococcus pyogenes*)와 같은 다른 그람 양성균이나 살모넬라, 대장균과 같은 그람 음성균에는 성장 억제 효과가 없었다.

[0030] 따라서, 본 발명 박테리오신의 항균활성이 바실러스 및 리스테리아 모노사이토제네스에 국한되어 있음을 확인할 수 있었다.

표 1

[0031]

본 발명 박테리오신 쉼레인 13061의 항균 범위

지시균		항균 활성
그람양성세균		
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 13061	-
	ATCC 10876	+
	ATCC 27348	+
	ATCC 21768	+
	ATCC 14579	+
	ATCC 21772	+
<i>Bacillus thuringiensis</i>	ATCC 10792	+
	ATCC 29730	+
	ATCC 35646	+
	ATCC 35866	+
	KCCM 11428	+
<i>Bacillus mycoides</i>	ATCC 21929	+
	ATCC 6462	+
<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	CCM 4872	+
<i>Bacillus circulans</i>	ATCC 4513	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	ATCC 14580	+
<i>Bacillus megaterium</i>	ATCC 14581	+
<i>Bacillus pumilus</i>	ATCC 7061	+
<i>Bacillus sphaericus</i>	ATCC 14577	+
<i>Listeria monocytogens</i>	L028	+
	ScottA	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 35983	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	-
그람음성세균		
<i>Salmonella Typhimurium</i>	SL1344	-
	LT2	-
<i>Escherichia coli</i>	MG1655	-
<i>Enterobacter sakazakii</i>	ATCC 29544	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27835	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10031	-
분리균주		
<i>Bacillus cereus</i> (140개)		+
<i>Listeria monocytogens</i> (38개)		+

[0032]

[0033] (3) 박테리오신의 분리

[0034] 1) 균주 배양

[0035] 멸균한 TSB 액체 배지에 액체 배양한 바실러스 쉼레우스 ATCC 13061 균주를 1%로 접종하여 37℃에서 9시간 동안 진탕 배양하였다.

[0036] 2) 소수성 크로마토그래피

[0037] 원심분리와 여과장치를 거쳐 균주를 제거한 상등액 400 ml을 Amberlite XAD-16 레진 20 g과 23℃에서 6시간 섞어주었다. 이렇게 섞은 혼합액을 오픈 컬럼 (open column)에 채우고 100 ml의 증류수와 100 ml의 40% 에탄올로 씻어준 후 0.1 % 트리플루오로아세트산이 포함된 70% 2-프로판올 400 ml로 박테리오신을 용출시켰다. 이

어 40℃의 진공장치로 2-프로판올을 모두 증발시킨 뒤 20 mM 트리스 버퍼 (pH 8.0)로 용해시켰다.

[0038] 3) 고속액체크로마토그래피

[0039] 소수성 크로마토그래피로부터 용출된 박테리오신 활성 분획을 0.1% 트리플루오로아세트산 용액에 용해시킨 후 동일 용액으로 평형시킨 C18 컬럼에 주입하여 고속액체크로마토그래피를 이용하여 5%~100% 아세트나이트릴 선형 농도 구배로 분리하였다.

[0040] 도 2에서 볼 수 있듯이 용출된 분획 중 두 분획에서 박테리오신 활성이 나타났다. 다만, 두 분획을 합쳤을 때 각각의 분획보다 약 8배 높은 박테리오신 활성이 나타났다.

[0041] 따라서, 본 발명의 박테리오신 켄레인 13061은 용균 활성을 가진 두 가지의 물질로 이루어져 있고, 두 물질이 함께 작용할 때 상승효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0042] **실시예 2: 박테리오신 켄레인 13061의 특성 분석**

[0043] **(1) 박테리오신 켄레인 13061의 숙주 용해능**

[0044] 정체가 단계의 바실러스 켄레우스 ATCC 10876 배양액에 실시예 1에서 분리된 박테리오신 13061을 처리하고, 약 7시간 동안 흡광도를 측정하였는데, 그 결과 시간당 1 정도로 흡광도가 감소하였다 (도 3에서 A).

[0045] 한편, 다른 속에 속한 켄레인 13061의 감수성 세균인 리스테리아 모노사이토제네스 역시 켄레인 13061 처리에 의해 정체가 상태의 균주 배양액 흡광도가 점점 줄어들었다 (도 3에서 B).

[0046] 따라서, 켄레인 13061의 작용은 감수성 균주의 성장을 단순히 억제시키는 것이 아니라 해당 균주를 용균시키는 것이라 판단할 수 있었다.

[0047] **(2) 박테리오신 켄레인 13061의 생화학적 특성**

[0048] 본 발명의 박테리오신 켄레인 13061은 α-아밀라아제 (α-amylase), 리파아제 (lipase), 라이소자임 (lysozyme)에 의해서는 활성 변화가 없지만 단백질 가수분해 효소 (proteinase K)에 의해서는 용균 활성이 없어지는 것으로 보아 단백질 유래의 항균 물질이라고 볼 수 있었다.

[0049] 항균 활성은 넓은 범위의 온도와 pH 범위에서 안정하게 나타났으며 (도 4의 A, B), 부탄올, 클로로포름, 에탄올과 같은 유기용매가 있는 환경에서도 원래의 반 정도 항균 활성을 나타냈다 (도 4의 C).

[0050] 한편, 본 발명의 박테리오신이 환원되었을 경우에도 활성을 유지하는지 알아보려고 하였다. 우선, 아크릴 아마이드 젤 (acrylamide gel)에 켄레인 13061을 이중으로 전기영동 한 후, 한 부분은 염색을 하고, 다른 한 부분은 고정시켰다. 고정된 젤을 빈 페트리 디쉬 (petri dish)에 넣고, 지시균인 바실러스 켄레우스 ATCC 10876 이 섞인 반 고체 배지 20 ml을 부어 균한 후 37℃에서 5시간 배양하였다.

[0051] 그 결과, 염색된 젤의 밴드와 같은 크기 (2~3 kDa)에서 성장 억제환이 생성되었으며, 해당 밴드를 잘라 지시균이 접종된 액체 배지에 넣고 배양했을 때에도 대조군과 확연한 차이를 보이며 흡광도가 줄어들었다.

[0052] 이 결과로, 2-머캅토에탄올 (2-mercaptoethanol)로 유도된 환원 조건 (reducing condition)에서도 켄레인 13061은 그 활성을 잃지 않고 타겟 균주를 용균시키는 특성이 확인되었다 (도 5).

[0053] **실시예 3: 박테리오신 켄레인 13061의 아미노산 및 DNA 서열 분석**

[0054] 실시예 1에서 순수 분리된 켄레인 13061의 아미노산 서열을 분석하였다.

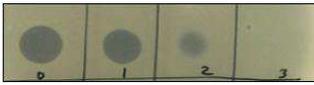
[0055] 그 결과, 두 개의 펩타이드 서열이 확인되었고, 각각을 켄레인 13061 α (서열번호 1), 13061 β (서열번호 2)라 명하였다.

[0056] 이 결과를 바탕으로 PCR을 수행함으로써 전체 DNA서열 (각각 서열번호 3 및 서열번호 5)과 전체 아미노산 서열 (각각 서열번호 4 및 서열번호 6)을 확인할 수 있었으며, 박테리오신이 활성을 가지기 위해 잘리어 지

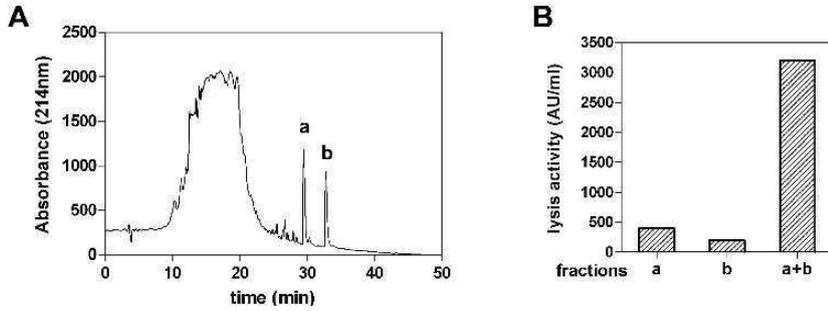
는 곳 ('↑'로 표시)까지 확인할 수 있었다. (도 6)

도면

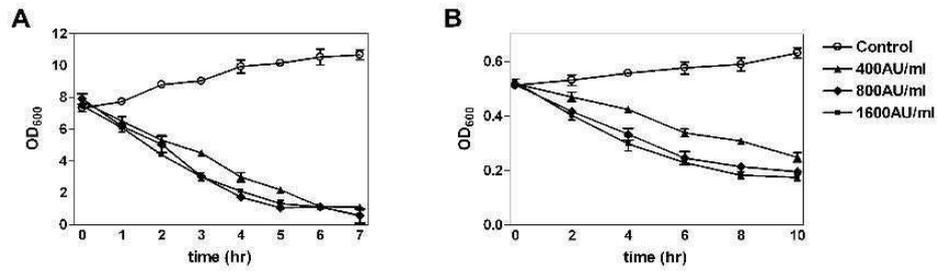
도면1



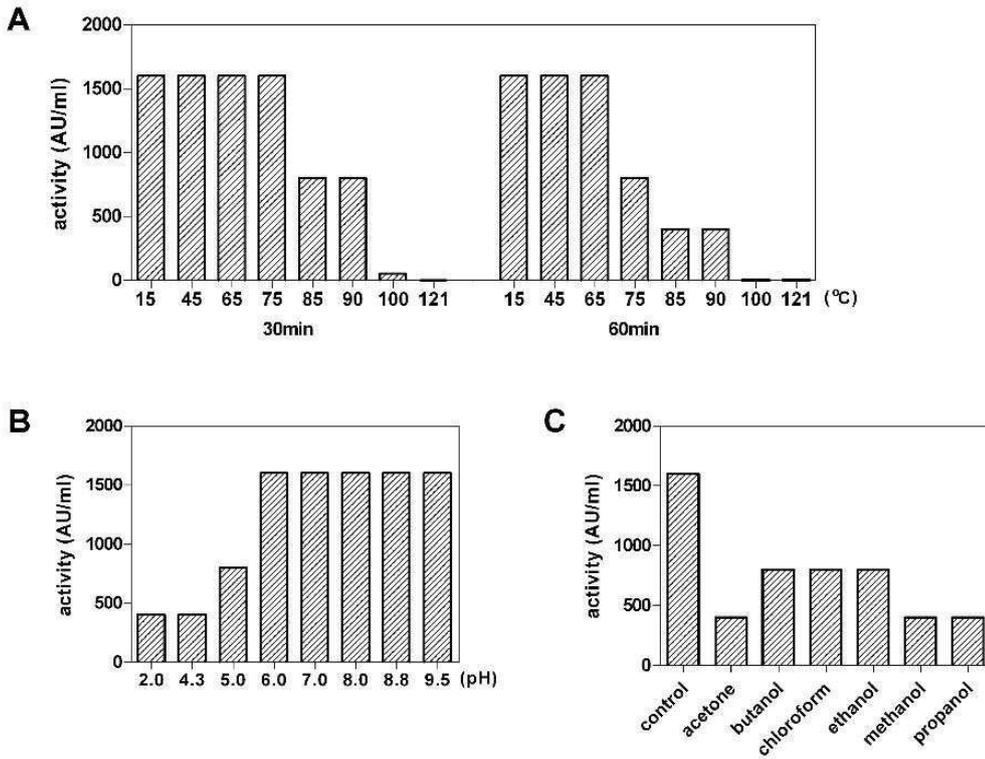
도면2



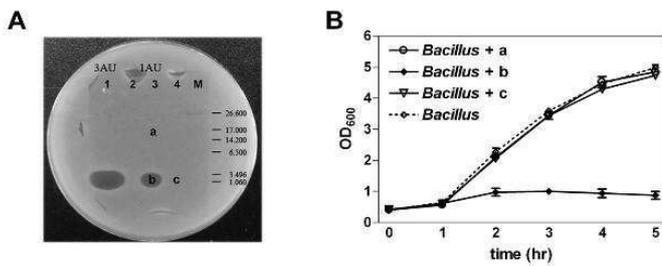
도면3



도면4



도면5



도면6

cerein 13061 α 의 전체 시퀀스

```

    20      40      60
    ATGGAAGTTATGAACAATGCTTTAATTACAAAAGTAGATGAGGAGATTGGAGGAAACGCT
    M E V M N N A L I T K V D E E I G  $\uparrow$  G N A
                                     Mature peptide
    80      100     120
    GCTTGTAATTGGTTGTATTGGCAGTTGCGTAATTAGTGAAGGAATTGGTTCACTTGTA
    A C V I G C I G S C V I S E G I G S L V

    140
    GGAACAGCATTTACTTTAGGTAA
    G T A F T L G *
    
```

cerein 13061 β 의 전체 시퀀스

```

    20      40      60
    ATGGAAGTTTTAAACAAACAAAATGTAATATTATTCCAGAATCTGAAGAAGTAGGTGGA
    M E V L N K Q N V N I I P E S E E V G  $\uparrow$  G
                                     Mature peptide
    80      100     120
    TGGGTAGCATGTGTTGGAGCATGTGTACAGTATGTCTTGCTAGTGGTGGTGTGGAACA
    W V A C V G A C G T V C L A S G G V G T

    140
    GAGTTTGCAGCTGCATCTTATTTCTATAA
    E F A A A S Y F L *
    
```

서열목록

- <110> SNU R&DB FOUNDATION
- <120> Novel bacteriocin from Bacillus cereus ATCC 13061 and antibiotic composition thereof
- <130> AP-2010-0183
- <160> 6
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 30
- <212> PRT
- <213> Bacillus cereus ATCC 13061
- <400> 1

Gly Asn Ala Ala Cys Val Ile Gly Cys Ile Gly Ser Cys Val Ile Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Gly Ser Leu Val Gly Thr Ala Phe Thr Leu Gly

20 25 30

- <210> 2
- <211> 30
- <212> PRT
- <213> Bacillus cereus ATCC 13061
- <400> 2

Gly Trp Val Ala Cys Val Gly Ala Cys Gly Thr Val Cys Leu Ala Ser
 1 5 10 15
 Gly Gly Val Gly Thr Glu Phe Ala Ala Ala Ser Tyr Phe Leu
 20 25 30
 <210> 3
 <211> 144
 <212> DNA
 <213> Bacillus cereus ATCC 13061
 <400> 3
 atggaagtta tgaacaatgc ttaattaca aaagtagatg aggagattgg aggaaacgct 60
 gcttgtgtaa ttggttgat tggcagttgc gtaattagtg aaggaattgg ttcacttgta 120

 ggaacagcat ttactttagg ttaa 144
 <210> 4
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Bacillus cereus ATCC 13061
 <400> 4
 Met Glu Val Met Asn Asn Ala Leu Ile Thr Lys Val Asp Glu Glu Ile
 1 5 10 15
 Gly Gly Asn Ala Ala Cys Val Ile Gly Cys Ile Gly Ser Cys Val Ile
 20 25 30
 Ser Glu Gly Ile Gly Ser Leu Val Gly Thr Ala Phe Thr Leu Gly
 35 40 45

 <210> 5
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Bacillus cereus ATCC 13061
 <400> 5
 atggaagttt taaacaaca aatgtaaat attattccag aatctgaaga agtaggtgga 60
 tgggtagcat gtgttgagc atgtgttaca gtatgtcttg ctagtgggtg tgttgaaca 120
 gagtttcag ctgcatctta tttcctataa 150
 <210> 6
 <211> 49

<212> PRT

<213> Bacillus cereus ATCC 13061

<400> 6

Met Glu Val Leu Asn Lys Gln Asn Val Asn Ile Ile Pro Glu Ser Glu

1 5 10 15

Glu Val Gly Gly Trp Val Ala Cys Val Gly Ala Cys Gly Thr Val Cys

20 25 30

Leu Ala Ser Gly Gly Val Gly Thr Glu Phe Ala Ala Ala Ser Tyr Phe

35 40 45

Leu