(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0098459
(43) 공개일자 2020년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 35/63* (2014.01) *A23L 33/10* (2016.01)
*A61K 8/98* (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
*A61P 17/02* (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
*A61Q 7/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 35/63* (2015.01)
*A23L 33/10* (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0101003(분할)
(22) 출원일자 2020년08월12일
심사청구일자 2020년08월12일
(62) 원출원 특허 10-2018-0072090
원출원일자 2018년06월22일
심사청구일자 2018년06월22일

(71) 출원인
**계명대학교 산학협력단**
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
**이승욱**
대구광역시 달성군 다사읍 대실역북로 26, 207동 102호(대실역청아람 2단지)
**류희정**
대구광역시 달서구 월배로34길 27, 101동 1403호(상인동, 상인삼미아파트)
(74) 대리인
**특허법인태백**

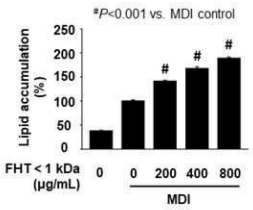
전체 청구항 수 : 총 4 항

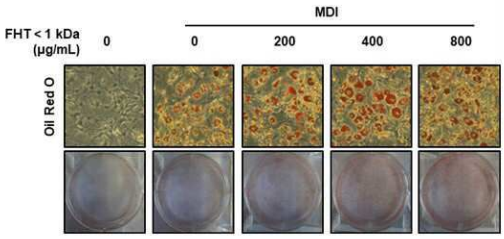
(54) 발명의 명칭 **갈색거저리(Tenebrio molitor) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 개선, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 치료, 또는 발모 촉진용 조성물**

## (57) 요 약

본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 또는 탄력 개선용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 상기 단백 가수분해물이 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하고 있어, 아디포넥틴(adiponectin), PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현을 증가시키거나, 지방세포 분화 마커 유전자의 mRNA 발현을 증가시키는 등 지방세포 분화를 촉진시킴으로써 주름 예방, 개선, 치료 효능이 우수한 것을 확인하였다. 또한, 본 발명의 조성물은 상처 치유 및 성형용 조성물 및 탈모 개선 또는 발모 촉진용 조성물 등으로 활용될 수 있다.

*대 표 도* - 도2



(52) CPC특허분류
*A61K 8/987* (2013.01)
*A61P 17/00* (2018.01)
*A61P 17/02* (2018.01)
*A61Q 19/08* (2013.01)
*A61Q 7/00* (2019.01)
*A23V 2002/00* (2013.01)
*A23V 2200/318* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

| | |
|---|---|
| 과제고유번호 | 1395053915 |
| 부처명 | 농촌진흥청 |
| 연구관리전문기관 | 국립농업과학원 |
| 연구사업명 | 공동연구사업 |
| 연구과제명 | 곤충 단백질로부터 비소세포폐암에 대한 표적 항암 펩타이드 개발 |
| 기 여 율 | 1/1 |
| 주관기관 | 계명대학교 |
| 연구기간 | 2018.01.01 ~ 2018.12.31 |

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하되, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 것을 특징으로 하는, 생체 외(in vitro)에서 지방세포로의 분화 촉진용 시약 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현 증가를 통해 지방세포로의 분화를 촉진시키는 것을 특징으로 하는, 시약 조성물.

### 청구항 3

인간을 제외한 동물에, 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 처리하는 단계를 포함하되, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 것을 특징으로 하는, 지방세포로의 분화 촉진 방법.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 방법은 PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는, 지방세포로의 분화 촉진 방법.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 다양한 용도의 조성물에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 인체의 가장 큰 기관으로 전체 인체 부피의 약 16%를 차지하고 있는 피부는 표피층, 진피층 및 피하지방층으로 구성되어 있으며, 외부환경과 직접 접하고 있어 온도 및 습도 변화, 자외선, 유해 미생물 및 공해물질 등 다양한 외부 환경의 자극으로부터 체내 기관을 보호하는 1차 방어막 역할을 하는 동시에 전신의 대사에 필요한 생화학적 기능을 담당하는 기관이다. 특히, 진피 아래에 존재하는 피하지방층은 지방세포 소엽으로 구성되어 있으며, 열 손상을 방지하고 외부 환경의 자극으로부터 충격을 흡수하여 피부 내부 기관을 보호하는 쿠션 역할을 하며, 또한 영양성분을 트리아실글리세롤(triacylglycerol)의 형태로 저장하여 필요 시 에너지원으로 사용하는 영양 저장소로서의 기능을 한다. 그러나, 나이가 들어감에 따라 점차 노화가 진행되고, 자연적인 요인과 각종 외부 자극에 의해 피부가 손상을 입게 되며, 그 결과 피부 세포들의 본래 기능이 제대로 이루어지지 않아 주름 생성, 탄력 손실 및 피부 위축 등의 현상이 발생하게 된다.

[0003] 피부의 기본적인 구조는 피하지방조직에 의해 유지되며, 이러한 피하지방 조직은 피부의 볼륨과 강도를 좌우하는 역할을 한다. 따라서 피부의 볼륨 및 탄력을 유지할 수 있는 방법은 피부 외곽층에 있는 진피나 표피에 탄력을 부여하는 방법보다 지방조직의 부피를 증가시키는 것이 좋다. 지방세포는 다양한 사이토카인(cytokine)을 분비하는데 이들 중 특히 아디포넥틴(adiponectin)과 렙틴(leptin)은 피부 진피 섬유모세포를 이용한 실험에서 섬유모세포로부터 히알루론산(hyaluronic acid) 및 콜라겐 합성을 증가시키고 피부 상처 치유를 촉진하는 것으로 보고되었다. 이와 같이 지방세포를 이용한 연구는 다양한 분야에서 활발하게 진행되고 있으며, 일반적으로 지방전구세포는(preadipocyte)는 인슐린과 같은 분화 유도 물질에 의해 지방세포로 분화되는 특징을 가지고 있기 때문에 항비만 활성 연구에 많이 이용되어 왔으나, 최근에는 얼굴 피부의 볼륨 및 탄력 증진과 피부 재생 및 상처

치유의 목적으로 지방세포 분화를 촉진시키는 물질을 개발하기 위한 연구에도 많이 활용되고 있다.

[0004] 또한, 두피 피하조직 내 지방세포는 모발 생성에 핵심적인 기능을 수행한다는 사실이 최근 밝혀져 탈모 치료의 새로운 방안으로 떠오르고 있다. 모발주기 중 새로운 모발이 생성되는 시기에는 피하조직 내에 새로운 지방세포가 만들어져 모낭 세포에 모발 생성 신호를 보내는 것으로 알려져 있으며, 동물 실험에서 새로운 방세포를 만드는 지방생성(adipogenesis) 기능에 결함이 있는 쥐의 경우 모낭이 재생되지 않는다는 연구 결과가 보고되었다. 탈모 인구 전체의 약 75% 이상이 원형탈모증으로 이는 흉터가 형성되지 않아 모낭이 유지되고 있으므로 증상개선 후 피하 조직 내 지방세포 분화 촉진을 통해 모발 재생이 가능할 것으로 판단된다. 따라서 피하조직 내 지방세포 분화의 촉진은 모낭재생 및 모낭세포 성장을 촉진함으로써 모발재생을 유도하고, 추가적으로 지방세포가 분비하는 싸이토카인에 의한 섬유모세포의 활성화 및 콜라겐 합성 증가를 통해 두피를 개선함으로써 탈모 예방 또는 발모 촉진 효과를 유도할 수 있다.

[0005] 한편, 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm)는 딱정벌레목 거저리과의 곤충으로 "갈색쌀거저리"라고도 불리며 현재 한국을 비롯한 전 세계에 분포되어 있고, 강한 적응력을 가지고 있으며 변태 기간이 짧아 쉬운 사육기술로도 연중 사육이 가능하여 산업화에 용이하다. 또한, 갈색거저리의 영양성분은 수분이 2.90%, 조단백질이 50.32%, 조지방 33.70%, 조회분 3.76%, 조섬유 4.81%로, 매우 높은 영양성분들을 가지고 있다. 이와 관련하여, 갈색거저리가 단백질 함량이 매우 높은 고단백질 소재로 2016년 식용곤충원료로 식품공전에 등록됨으로써 갈색거저리의 활용에 대한 관심이 높아지고 있다. 갈색거저리 유충은 대두보다 필수 아미노산을 많이 함유하고 있고, 육류에 비해 불포화 지방산 함량이 높으며, 비타민 A와 철, 식이섬유 등이 비교적 풍부한 편으로 영양적인 장점이 많다. 더욱이, 가축 사육과는 달리 곤충 사육에 필요한 땅을 개선할 필요가 없고, 적은 사료만으로도 간편하게 많은 양의 곤충을 사육하여 보급할 수 있으므로 경제적 부담이 적은 장점도 있다.

[0006] 국내에서 이루어진 갈색거저리 유충에 관한 연구로는 갈색거저리 유충 추출물의 간암세포에 대한 세포독성효능, 갈색거저리 에탄올 추출물의 멜라닌 생성 저해 효과 등 갈색거저리 추출물을 이용한 연구들을 들 수 있는데, 이와 달리 갈색거저리 유충의 생리활성 펩타이드에 대한 연구는 부족한 실정이다.

## *선행기술문헌*

### *특허문헌*

[0007] (특허문헌 0001) 1. 한국공개특허 제10-2017-0132388호(2017.12.04 공개)

(특허문헌 0002) 2. 한국등록특허 제10-0981995호(2010.09.07 등록)

(특허문헌 0003) 3. 한국공개특허 제10-2014-0148227호(2014.12.31 공개)

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0008] 본 발명의 목적은 효과적으로 주름을 예방, 치료 또는 개선할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 효과적으로 상처를 치유할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 효과적으로 상처를 치유하여 미용 성형 시 활용될 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 효과적으로 탈모를 예방, 치료하거나 발모를 촉진할 수 있는 조성물을 제공하는 것이다.

### *과제의 해결 수단*

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나

이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0014] 더욱이, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0015] 상기 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 상처 치유 촉진용 약학 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 상처 치유 촉진용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0017] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 미용 성형용 조성물을 제공한다.

[0018] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 발모 촉진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0020] 더욱이 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 발모 촉진용 화장료 조성물을 제공한다.

## *발명의 효과*

[0021] 본 발명은 갈색거저리 유충에 특정 가수분해 효소를 처리하여 얻은 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 다양한 용도의 조성물에 관한 것으로, 특정 효소를 사용함으로써 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 생리활성 저분자량 펩타이드를 포함하여 아디포넥틴(adiponectin), PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현을 증가시키거나, 지방세포 분화 마커 유전자의 mRNA 발현을 증가시키는 등 지방세포 분화를 촉진하는 활성을 나타내는 바, 상기 조성물을 주름 예방, 개선, 치료, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 예방, 치료 및 발모 촉진 등의 다양한 용도로 활용할 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0022] 도 1은 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물이 지방세포 분화에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 2는 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물이 지방세포 분화에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 3은 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는, 다양한 가수분해효소 처리 단백 가수분해물이 지방세포 분화에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 세포 독성을 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 지방세포 분화 조절 전사인자 단백질 발현 또는 아디포넥틴 분비에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명에 따른 갈색거저리 유충의 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 지방세포 분화 마커 유전자의 mRNA 발현에 미치는 영향을 확인한 결과이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0023] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명은 갈색거저리 유충에 특정 단백 가수분해 효소를 처리하여 제조된 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 단백 가수분해물이 지방세포 분화와 관련된 아디포넥틴(adiponectin), PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현을 증가시키거나 지방세포 분화 마커 유전자의 mRNA 발현을 증가시키는 등 지방세포 분화를 촉진시키는 효과를 나타냄을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0025] 본 발명에서 사용하는 용어 "플라보르자임(Flavourzyme)"은 진균류에서 얻을 수 있는 단백질 가수분해 효소로, pH 6-7 부근의 조건에서 단백질 분해능을 나타낼 수 있다.

[0026] 본 발명에서 사용하는 용어 "알칼라아제(Alcalase)"는 박테리아나 진균에서 생성되는 단백질 가수분해 효소로, pH 7-9 부근의 조건에서 강한 단백질 분해능을 나타낼 수 있다.

[0027] 본 발명에서 사용하는 용어 "지방세포 분화"는 동물, 바람직하게는 포유동물의 지방전구세포 또는 중간엽줄기세포가, 가장 바람직하게는 지방전구세포가 지방세포로 분화하는 것이지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0029] 따라서, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0030] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0031] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0032] 이때, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함할 수 있는 바, 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 저분자량 펩타이드를 포함하는 경우에는 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 나타내므로 바람직하지 않다.

[0033] 즉, 상기 펩타이드는 지방세포 분화를 촉진할 수 있는 바, 이러한 과정을 통해 주름을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

[0035] 더불어 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 상처 치유 촉진용 약학 조성물을 제공한다.

[0036] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 상처 치유 촉진용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0037] 이때, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함할 수 있는 바, 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 저분자량 펩타이드를 포함하는 경우에는 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 나타내므로 바람직하지 않다.

[0038] 즉, 상기 펩타이드는 지방세포 분화를 촉진할 수 있는 바, 이러한 과정을 통해 보다 효과적으로 상처를 치유할 수 있다.

[0040] 더욱이 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하

는 미용 성형용 조성물을 제공한다.

[0041] 이때, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함할 수 있는 바, 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 저분자량 펩타이드를 포함하는 경우에는 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 나타내므로 바람직하지 않다.

[0042] 즉, 상기 펩타이드는 지방세포 분화를 촉진할 수 있는 바, 이러한 과정을 통해 피부의 볼륨과 탄력을 부여하는 효능을 나타낼 수 있다.

[0043] 상기 조성물의 적용 부위는 신체의 모든 지방 조직을 포함하며, 특정 부위에 한정하지는 않지만, 예를 들면, 지방층이 많은 여성의 가슴 부위를 포함할 수 있다.

[0045] 더불어 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0046] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 발모 촉진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0047] 또한, 본 발명은 단백질 가수분해효소인 플라보르자임(Flavourzyme) 또는 알칼라아제(Alcalase) 중 어느 하나 이상으로 가수분해된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, mealworm) 유충의 단백 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 발모 촉진용 화장료 조성물을 제공한다.

[0048] 이때, 상기 단백 가수분해물은 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함할 수 있는 바, 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 저분자량 펩타이드를 포함하는 경우에는 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 나타내므로 바람직하지 않다.

[0049] 즉, 상기 펩타이드는 지방세포 분화를 촉진할 수 있는 바, 이러한 과정을 통해 탈모를 예방 내지 치료하거나, 발모 작용을 촉진할 수 있다.

[0051] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있는데, 이러한 약제학적으로 허용되는 담체는 약품 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 약학 조성물은 첨가제 및 보조제로서 충진제, 중량제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 붕해제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 방향제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0052] 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 및 멸균 주사용액으로 제형화할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 흉골내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장 내 투여, 국소 투여, 경구 투여 및 흡입을 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0053] 상기 약학 조성물은 증상 정도에 따라 투여 방법이 결정되는데, 통상적으로는 국소 투여 방식이 바람직하다. 또한, 상기 약학 조성물의 상기 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0055] 상기 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강기능식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라

적합하게 결정될 수 있다.

[0056] 상기 건강기능식품 조성물에 함유된 상기 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0057] 상기 건강기능식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

[0059] 본 발명의 조성물이 화장료 조성물인 경우, 상기 화장료 조성물은 상기 유효 성분 외에 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다. 또한 상기 화장료 조성물은 그 효과를 증진시키기 위해 피부 흡수 촉진제를 추가로 포함할 수 있다.

[0060] 상기 화장료 조성물의 제형은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 화장수, 유액, 스킨, 토너, 에멀전, 로션, 에센스, 선 스크린, 크림, 메이크업 베이스, 파운데이션, 파우더, 팩, 젤, 샴푸, 린스, 스프레이, 메이크업 제거제, 세정제, 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어 에어로졸, 헤어팩, 헤어영양팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발 염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어겔, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 및 헤어스프레이 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아님을 명시한다.

[0061] 상기 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0062] 상기 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0063] 상기 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0064] 상기 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0066] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이며 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐이므로 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0068] **<준비예 1> 시료의 준비**

[0069] 실험을 위해, 2017년 2월 17일에 농업법인회사 예천곤충나라(경북 예천군 지보면)에서 생산, 판매된 것으로, 진공 건조된 갈색거저리의 유충을 구입하여 동결고에 보관하였고 실험에 사용하였다.

[0070] 또한, 모든 실험 데이터는 최소 3번 반복하여 평균과 표준오차(평균±표준오차)로 나타내었으며, 통계 분석을 위해 SPSS Statistics 23(Version 23.0, Inc, Chicago, IL, USA)가 사용되었다. 그룹 간의 유의성 차이 검증에는 일원 배치 분산 분석(One-way ANOVA)을 사용하였으며, Duncan의 다중 범위 검정 방법을 통한 사후 검증을 시

행하였다. 유의 확률(P-value)이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다. 두 그룹 사이의 비교에는 t-검정을 사용하였으며, 유의확률이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

[0072] **<실시예 1> 갈색거저리 유충 단백질 가수분해물의 제조**

[0073] 상기 준비예 1에서 준비한 동결 건조된 갈색거저리 유충 분말을 10 mM 인산 나트륨 버퍼(pH 7.0)에 용해하여 4%(w/v)의 기질 용액으로 제조한 후, 90℃에서 20분 동안 자가 효소를 불활성화시켰다.

[0074] 다음으로 기질 대비 단백질 가수분해 효소들(플라보르자임[flavourzyme], 알칼라아제[Alcalase], 뉴트라아제[Neutrase])이 1%(w/v)이 되도록 처리하고, 최적온도인 55℃에서 24시간 반응시켰다. 이때, 각 펩타이드들을 대상으로 TNBS 및 SDS-전기영동을 수행하기 위해 시간별로 반응혼합액 5 mL씩 채취하였다.

[0075] 24시간 이후, 최종 반응혼합액을 90℃에서 20분간 가열시켜 효소를 불활성화시켰다. 그 후 반응액을 13,000 xg에서 20분 동안 원심분리하여 상등액을 얻었으며, 상등액을 추가적으로 한외여과막(Amicon Ultra-15, EMD Milipore Co., Bilerica, MA, USA)을 이용하여 2시간 동안 원심분리(5,000 xg)함으로써 최종적으로 분자량 3 kDa 이하 1 kDa 이상의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 단백 가수분해물과, 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임, 알칼라아제 또는 뉴트라아제 단백 가수분해물을 각각 얻었다. 이렇게 얻어진 단백 가수분해물은 동결건조한 후 20℃에 보관하면서 실험에 사용되었다.

[0077] **<실시예 2> 3T3-L1 지방전구세포의 분화 유도 및 시료 처리**

[0078] 실험에 사용된 3T3-L1 세포는 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 분양받아 사용하였다. 3T3-L1 세포는 지방전구세포로 분화 유도제(differentiation inducer)를 처리하면 지방세포로 분화되는 세포로, 배양 및 분화 배지는 DMEM 배지(dulbecco's modified eagle's medium high glucose, DMEM; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 10% 우태아혈청(bovine calf serum, BSA) 및 항생제(antibiotics)를 첨가하여 5% $CO_2$, 37℃ 인큐베이터에서 배양하였다. 세포가 포화(confluent) 상태가 되면 트립신(trypsin)/에틸렌다이아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)를 처리한 후, 세포를 모아 원심분리(L-70, Bekman Coulter, Fullerton, CA, USA)하였다. 그 후, 3 x $10^5$세포/well의 밀도로 6 웰에 분주한 다음 100% 포화 상태가 되면 48시간 방치한 후 DMEM에 10% 우아 혈청과 분화 유도제인 23 mg/ml 3-아이소부틸-1-메틸잔틴(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX; Sigma-Aldrich, Chem Co, St Louis, MO, USA), 5 mg/ml 인슐린(insulin; Sigma-Aldrich, Chem Co) 및 1 mM 덱사메타손(dexamethasone; Sigma-Aldrich, Chem Co)이 첨가된 배지(MDI)를 처리하여 48시간 동안 분화를 유도하였다. 그 후, 2일 마다 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS) DMEM 배지에 5 mg/ml의 인슐린이 첨가된 배지를 교체해주었다. 상기 실시예 1에서 얻은 1 kDa ~ 3 kDa 의 저분자 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 가수분해물, 1 kDa 미만의 저분자 펩타이드를 포함하는 갈색거저리 유충의 플라보르자임, 알칼라아제 또는 뉴트라아제 가수분해물은 분화 유도 배지 첨가 시점부터 같이 처리하였다.

[0080] **<실시예 3> Oil-red-O 염색**

[0081] 상기 실시예 2와 같이, 3T3-L1 전구지방세포를 7일 동안 분화시킨 후, 배지를 제거하고 인산완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)로 세척하고 10% 포름알데하이드(formaldehyde) 용액으로 세포를 고정시켰다. 다시 인산완충식염수로 세척 후, oil-red-o 용액을 첨가하여 30분간 실온에서 염색하고, oil-red-o 용액을 제거한 뒤, 증류수로 세척하여 건조시켰다. 그 후, 위상차 현미경을 이용하여 관찰하고 100% 아이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)로 염색된 지방구를 용해하여 510 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

[0083] **<실시예 4> 지방 세포의 세포 생존율 측정**

[0084] 갈색거저리 유충 단백 가수분해물이 지방 세포의 생존에 영향을 미치는지 여부를 MTT(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드) 분석법을 이용하여 확인하였다. 즉, 상기 실시예 2와 같이 3T3-L1 세포의 분화 과정 중 단백 가수분해물을 농도별로 처리한 뒤, MTT 시약을 2.5 mg/ml 농도로 20 μl씩 각 웰에 처리하고 4시간 동안 배양하였다. 이후, 상층액을 제거하고 각 웰에 100 μl의 DMSO(디

메틸 설폭사이드)를 첨가하여 생성된 포르마잔(formazan) 결정을 용해시킨 뒤, 마이크로플레이트 분광광도계(Biotek microplate spectrophotometer)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하고, 시료 처리군의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 세포 독성을 산출하였다.

[0086] **<실시예 5> 아디포넥틴(adiponectin) 단백질 발현 측정**

[0087] 특정 크기의 저분자 펩타이드를 포함하는 갈색거저리 유충 단백 가수분해물의 처리에 의한 지방세포의 아디포넥틴 방출량 및 분화 관련 단백질의 발현을 측정하기 위해 웨스턴 블롯(western bolt)을 실시하였다. 샘플 처리가 완료된 세포(분화 7일째)의 상등액 및 세포를 각각 취하여 단백질을 정량한 후, 10% 러닝겔(running gel)과 4.5% 스태킹 겔(stacking gel)을 이용하여 125V에서 SDS-폴리아크릴아마이드 겔(polyacrylamide gel) 전기영동(SE260, Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden)을 실시하였다. 전기영동으로 분리한 단백질은 트렌스퍼 버퍼(transfer buffer; 20% 메탄올, 25 mM Tris-HCl, 192 mM 글라이신)를 이용하여 350 mA에서 120분간 이모빌론-피-트렌스퍼 멤브레인(immobilon-P transfer membrane; PVDF transfer membrane, Port Washington, NY, USA)으로 이동시켰다. 단백질이 이동된 멤브레인은 5% 탈지유(non-fat dry milk; skim milk solution)로 블로킹(blocking)하였다. 4℃에서 일차 항체의 발현 정도를 검토하기 위하여 TBST(tris-buffered saline and tween 20) 용액에 1:1000으로 희석하여 24시간 반응시킨 후 TBST로 3회 세척하였다. 그 후, 이차 항체를 2시간 TBST 용액에 1:2000으로 희석하여 반응시키고 다시 TBST로 3회 세척하였다. 증류수로 한 번 더 세척한 후, 멤브레인에 ECL 감지 키트(WSE-7120s, ATTO Co., Tokyo, Japan)의 발색시약 Ⅰ과 Ⅱ를 1:1로 섞은 후 혼합액을 도포하고, X-선 필름(X-ray film; CP-G plus, Agfa Healthcare Ltd, New Orleans, LA, USA)에 노출하여 현상한 다음 필름 상에서 단백질의 발현 정도를 관찰하였다.

[0089] **<실시예 6> 지방 전구세포 분화 마커 유전자에 대한 실시간 PCR 분석**

[0090] 갈색거저리 유충 단백 가수분해물이 지방 전구세포의 분화 마커 유전자들의 mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해 실시간 PCR 분석을 수행하였다. 먼저, 상기 실시예 2의 방법으로 지방세포 분화가 완료된 세포에서 배지를 제거하고 PBS 10 mL로 두 번 세척하였다. RNA 추출을 위해 세척된 세포에 TRI 시약을 처리하고 1.5 mL 튜브에 1 mL씩 분주한 후, 1-브로모-3-클로로프로판을 200 μL 씩 첨가하여 30초간 흔들고 3,000 rpm, 4℃에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취해 새로운 튜브에 옮겼다.

[0091] 상기 상등액이 담긴 튜브에 동량의 이소프로판올(isopropanol)을 첨가하여 -20℃에서 2시간 이상 방치한 후 원심분리(13,000 rpm, 15분, 4℃)하여 상등액을 제거하였다. 상등액 제거 후 남은 침전물에 75% 에탄올을 첨가하여 세척한 후 제거하고 DEPC(디에틸 파이로카보네이트) 처리된 증류수를 첨가하여 65℃ 수조에서 10분간 반응시켜 침전물을 녹여 RNA를 추출하였다.

[0092] 상기 과정으로 추출된 RNA를 이용하여 cDNA를 합성한 후, mRNA 발현량을 확인하기 위해, SYBER Green(Takara, Ohtsu, Japan)을 이용하여 실시간 PCR (real-time PCR; Takara, Ohtsu, Japan)을 수행하였다. 분석 대상이 된 유전자는 지방세포 분화 마커인 아세틸 CoA 카르복실라아제(acetyl CoA carboxylase ; Acc), 스테아로일-CoA 불포화효소(stearoyl-CoA desaturase 1 ; Scd1), 지방산 합성 효소(fatty acid synthase ; Fas), 페리리핀(perilipin) 및 렙틴(leptin)이었다.

[0093] 실시간 PCR을 수행하기 위해 사용된 프라이머(Bioneer Co., NY, USA)의 염기서열은 하기 <표 1>과 같으며, 실시간 PCR 과정은 초기변성 95℃ 30초, 변성은 95℃ 5초, 어닐링은 60℃ 15초, 신장 반응은 72℃ 10초로 하여 40 사이클을 수행함으로써 이루어졌다.

*표 1*

[0094]

| 유전자 | 종류 | 프라이머 서열 | 서열번호 |
|---|---|---|---|
| Tbp | 정방향 | 5’-GTGAAGGGTACAAGGGGGTG-3’ | 1 |
| | 역방향 | 5’-ACATCTCAGCAACCCACACA-3’ | 2 |
| Acc | 정방향 | 5’-GAAGCCACAGTGAAATCTCG-3’ | 3 |
| | 역방향 | 5’-GATGGTTTGGCCTTTCACAT-3’ | 4 |
| Fas | 정방향 | 5’-AGCACTGCCTTCGGTTCAGTC-3’ | 5 |
| | 역방향 | 5’-AAGAGCTGTGGAGGCCACTTG-3’ | 6 |
| perilipin | 정방향 | 5’-GATGAGAGCCATGACGACCAGA-3’ | 7 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 역방향 | 5’-TGTGTACCACACCACCCAGGA-3’ | 8 |
| Scd1 | 정방향 | 5’-CAGCCGAGCCTTGTAAGTTC-3’ | 9 |
| | 역방향 | 5’-GCTCTACACCTGCCTCTTCG-3’ | 10 |
| leptin | 정방향 | 5’-GAACCTGTCTACTACTCATGCCAGCAC-3’ | 11 |
| | 역방향 | 5’-CTGGTCCTGCAGCCTGTTTG-3’ | 12 |

[0095] 용해 곡선을 얻기 위해, 55℃에서 시작하여 95℃를 종말점으로 하여, 0.5℃씩 상승시키면서 80번 반응시켜 원하는 형광 값을 검출하였다.

[0097] **<실험예 1> 갈색거저리 유충의 플라보르자임 단백 가수분해물의 지방세포 분화 촉진 활성**

[0098] 전구지방세포에 분화유도 인자인 인슐린, 덱사메타손, 아이소부틸메틸젠틴(isobutylmethylxanthine) 및 2종의 갈색거저리 유충의 단백 가수분해물을 각각 200, 400, 800, 2 μg/ml의 농도로 처리하여 지방세포로 분화시킨 결과(그래프), 및 Oil Red O 염색 결과(아래 현미경 사진)를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0099] 먼저, 도 1을 참조하면, 1 kDa 이상 3 kDa 이하의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 단백 가수분해물은 농도에 따라 지방 세포의 분화를 억제하는 활성을 나타내었다.

[0100] 그러나, 도 2를 참조하면, 1 kDa 미만의 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 단백 가수분해물은 농도 의존적으로 지방 세포의 분화를 촉진하였다.

[0102] **<실험예 2> 단백 가수 분해 효소 종류에 따른 지방세포 분화 촉진 활성 비교**

[0103] 전구지방세포에 분화유도 인자인 인슐린, 덱사메타손, 아이소부틸메틸젠틴(isobutylmethylxanthine) 및 3종 갈색거저리 유충의 단백 가수분해물(1 kDa 미만의 단백 가수분해물을 포함하는 알칼라아제, 플라보르자임 또는 뉴트라아제 처리 단백 가수분해물)을 각각 800 μg/ml의 농도로 처리하여 지방세포로 분화시킨 결과(그래프), 및 Oil Red O 염색 결과(아래 현미경 사진)를 도 3에 나타내었다.

[0104] 그 결과, 도 3을 참조하면, MDI는 처리했으나 단백 가수분해물은 처리하지 않은 양성 대조군에 비해 알칼라아제 처리 단백 가수분해물, 플라보르자임 처리 단백 가수분해물이 지방세포의 분화를 촉진하는 활성을 나타내었다. 그중에서도 특히 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 경우 뛰어난 지방세포 분화 촉진 활성을 나타내었다.

[0105] 따라서, 이러한 결과를 종합하면, 각각의 가수분해효소를 단독으로 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 조합하여 사용하는 경우, 더욱 우수한 지방세포 분화 활성을 얻을 수 있음을 알 수 있다.

[0107] **<실험예 3> 갈색거저리 유충 단백 가수분해물의 세포 독성 측정**

[0108] 1 kDa 미만의 저분자 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 세포 독성을 확인한 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 3T3-L1 지방세포의 생존율에 영향을 미치지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0110] **<실험예 4> 갈색거저리 유충 단백 가수분해물의 아디포넥틴 및 지방세포 전사인자의 발현에 미치는 영향**

[0111] 아디포넥틴은 지방세포에서 분비되는 대표적인 단백질 호르몬으로, 지방세포가 분화함에 따라 그 발현량이 증가되는 것으로 보고되었다. 따라서 지방세포 분화 촉진의 지표인 아디포넥틴이 세포 배양 배지로 분비되는 양을 측정하였다. 또한, 또한, 지방세포의 분화는 지방 조직세포에 특징적으로 발현되는 유전자들의 조절부위에 작용하는 전사인자(transcription factor)들이 지방세포로 분화되는 과정에서 발현된다. 따라서, 이외에 PPARγ, C/EBPα 단백질 발현을 확인하였다.

[0112] 그 결과, 도 5의 B를 참조하여 보면, 전구지방세포에 분화유도인자와 갈색거저리 유충의 플라보르자임 단백 가수분해물(1 kDa 미만의 펩타이드 포함)을 농도별로 처리했을 때, 세포 배양액으로 분비되는 아디포넥틴의 발현을 확인한 결과, 분화 대조구에 비해 처리 농도가 증가할수록 아디포넥틴의 발현도 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[0113] 또한, 도 5의 A를 참조하여 보면, 7일 동안 지방세포를 분화시킨 결과, 전사인자인 PPAR-γ 및 C/EBP α의 단백질 발현이 증가하였고, 본 발명에 따른 단백 가수분해물을 처리하였을 때 PPAR-γ 및 C/EBP α의 발현이 더욱 증가하는 것으로 나타나 1 kDa 미만의 저분자 펩타이드를 포함하는 플라보르자임 처리 단백 가수분해물의 지방 분화 촉진 효과를 관찰할 수 있었다.

[0115] **<실험예 5> 갈색거저리 유충 단백 가수분해물의 지방 전구세포 분화 마커 유전자 발현에 미치는 영향 확인**

[0116] 지방 전구세포의 분화 마커 유전자인 Acc, Fas, perilipin, Sdc1 및 leptin mRNA의 발현을 확인하기 위해, 실시간 PCR 분석을 수행한 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 갈색거저리 유충의 플라보르자임 단백 가수분해물(1 kDa 미만의 펩타이드 포함) 800 μg/mL이 처리된 세포에서는 지방세포 분화 마커 유전자인 Acc, Fas, 페리리핀, Scd1 및 렙틴의 mRNA 발현이 MDI 단독 처리 세포에 비해 유의적으로 증가된 것을 확인할 수 있었다.

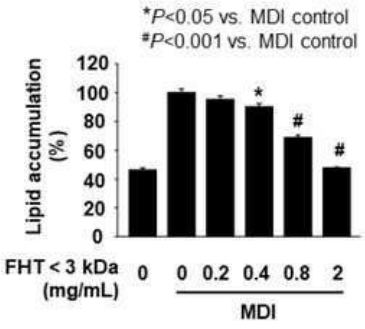
[0117] 상기 결과로부터 갈색거저리 유충의 플라보르자임 단백 가수분해물(1 kDa 미만의 펩타이드 포함)이 지방세포 분화를 촉진한다는 것을 다시 한 번 확인할 수 있었다.

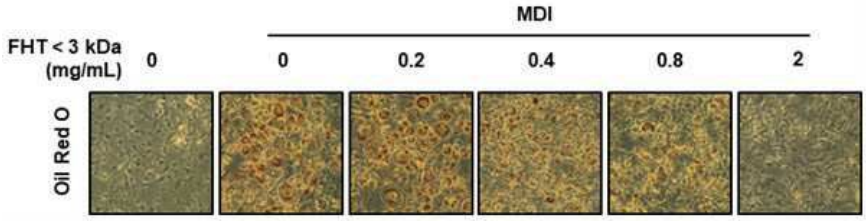
[0119] 따라서 본 발명에 따른 0.11 kDa 이상 1 kDa 미만의 저분자 펩타이드를 포함하는 갈색거저리 유충의 단백 가수분해물은 지방세포 분화 촉진을 통해 피부 주름 또는 탄력 개선용 화장료 조성물, 주름 예방 또는 치료용 약학 조성물, 상처 치유 및 성형 조성물, 주름 또는 탄력 개선용 건강식품 조성물, 탈모 개선 또는 발모 촉진용 조성물 등의 효과를 나타낼 수 있을 것으로 보이는 바, 앞서 언급한 다양한 용도의 조성물 개발을 위한 주요 유효 물질로서의 가능성을 확인하였다.

[0121] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

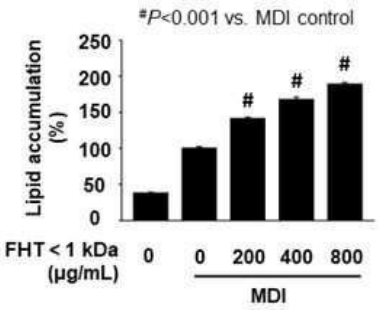
*도면*

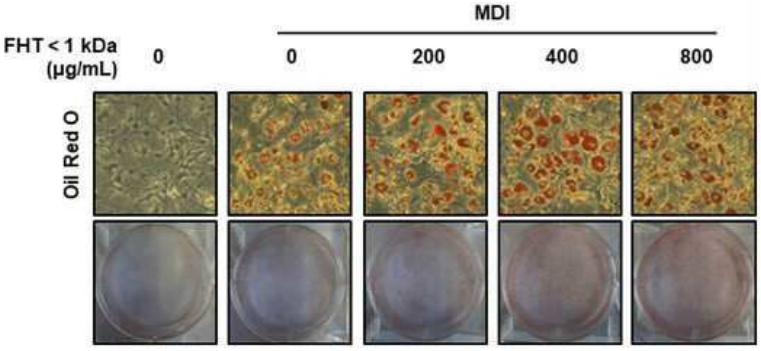
*도면1*



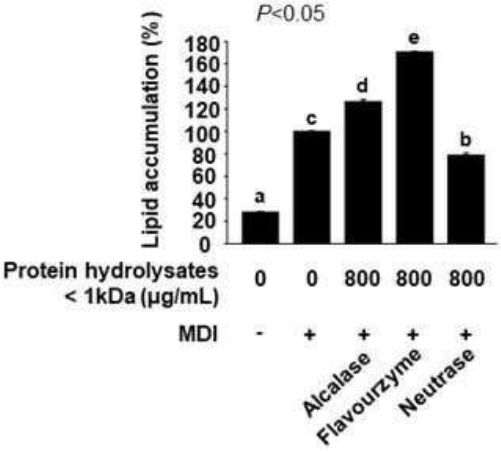



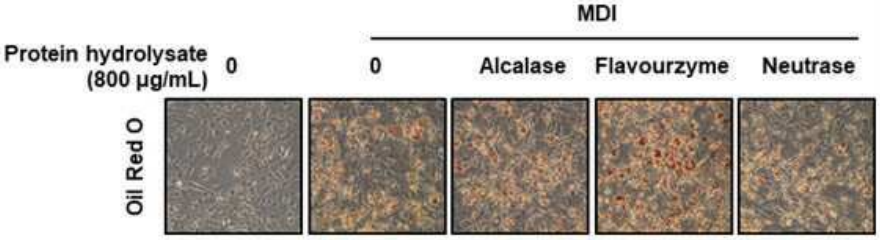
도면2


#P<0.001 vs. MDI control
Lipid accumulation (%)
250
200
150
100
50
0
#
#
#
FHT < 1 kDa (μg/mL)
0
0
200
400
800
MDI

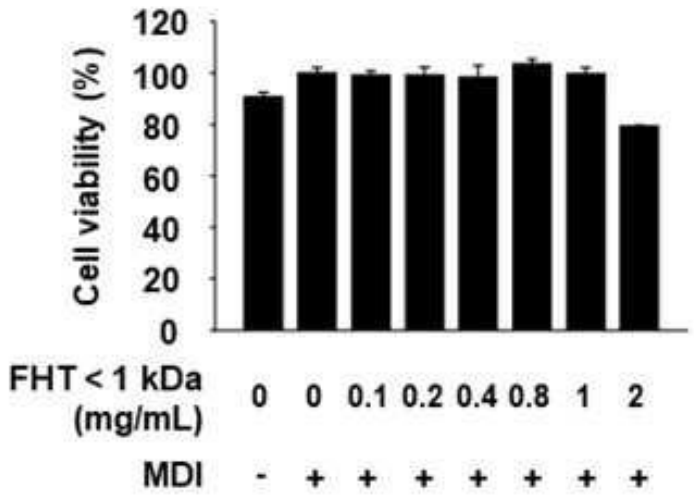

MDI
FHT < 1 kDa (μg/mL)
0
0
200
400
800
Oil Red O

도면3

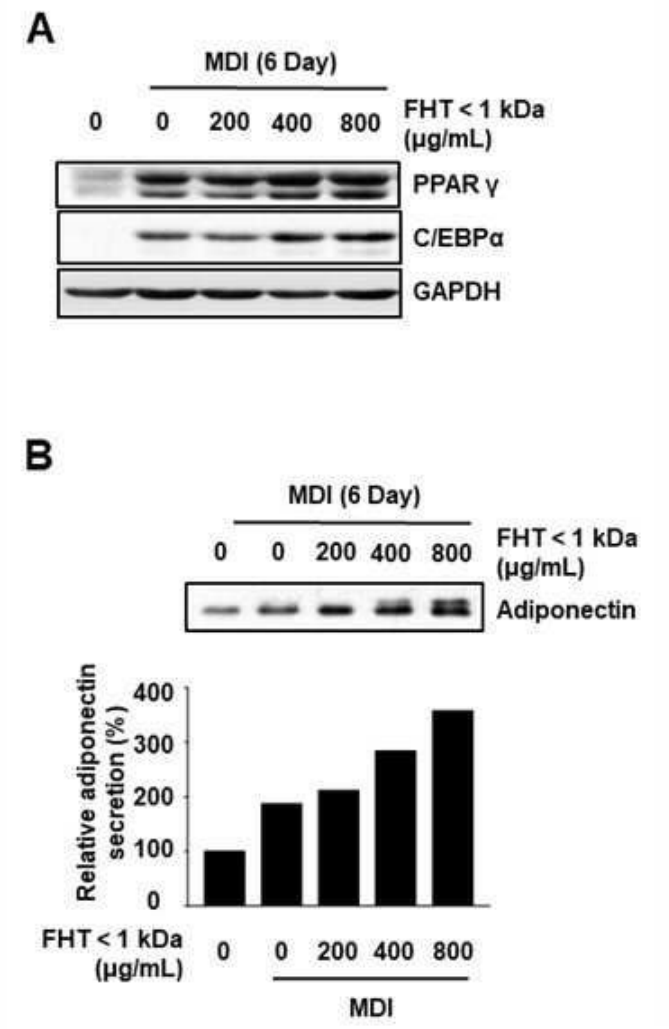

P<0.05
Lipid accumulation (%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
a
c
d
e
b
Protein hydrolysates < 1kDa (μg/mL)
0
0
800
800
800
MDI
-
+
+
+
+
Alcalase
Flavourzyme
Neutrase


MDI
Protein hydrolysate (800 μg/mL)
0
0
Alcalase
Flavourzyme
Neutrase
Oil Red O

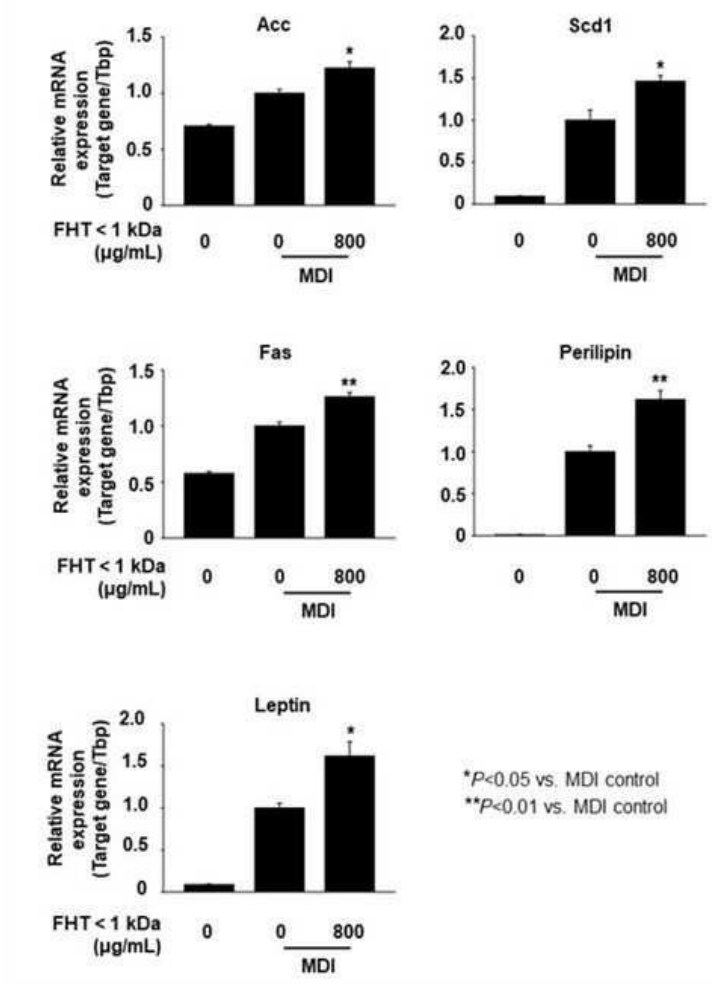
도면4


Cell viability (%)
120
100
80
60
40
20
0
FHT < 1 kDa (mg/mL)
0 0 0.1 0.2 0.4 0.8 1 2
MDI
- + + + + + + +

도면5


A
MDI (6 Day)
0 0 200 400 800
FHT < 1 kDa (μg/mL)
PPAR γ
C/EBPα
GAPDH
B
MDI (6 Day)
0 0 200 400 800
FHT < 1 kDa (μg/mL)
Adiponectin
Relative adiponectin secretion (%)
400
300
200
100
0
FHT < 1 kDa (μg/mL)
0 0 200 400 800
MDI

도면6




서 열 목 록

<110> INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION KEIMYUNG UNIVERSITY

<120> Composition for Improving Wrinkle, Wound Healing, Cosmetic Surgery, Treating Hair Loss, or Stimulating Hair Growth Comprising Protein Hydrolysate of larva of Tenebrio molitor

<130> ADP-2020-0374

<160> 12

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tbp primer

<400> 1

gtgaagggta caagggggtg 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tbp primer

<400> 2

acatctcagc aacccacaca 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Acc primer

<400> 3

gaagccacag tgaaatctcg 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Acc primer

<400> 4

gatggtttgg cctttcacat 20

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fas primer

<400> 5

agcactgcct tcggttcagt c 21

<210> 6

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fas primer

<400> 6

aagagctgtg gaggccactt g 21

<210> 7

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> perilipin primer

<400> 7

gatgagagcc atgacgacca ga 22

<210> 8

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> perilipin primer

<400> 8

tgtgtaccac accacccagg a 21

<210> 9

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Scd1 primer

<400> 9

cagccgagcc ttgtaagttc 20

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Scd1 primer

<400> 10

gctctacacc tgcctcttcg 20

<210> 11

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> leptin primer

<400> 11

gaacctgtct actactcatg ccagcac 27

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> leptin primer

<400> 12

ctggtcctgc agcctgtttg 20