

デザインペプチドによる 脂肪分解

神戸大学 理学研究科 化学専攻
研究員 飯田 禎弘

令和2年10月15日

発表者紹介

飯田 禎弘 (いいた よしひろ) 理学博士

研究経歴

- 2008年- デザインペプチドの研究開始
- 2009年- レアメタル回収ペプチドの研究
- 2012年- 脂質分解ペプチドの研究
- 2014年- タンパク質分解ペプチドの研究
- 2017年- 産総研と共同研究実施

特許出願実績

- 共同出願: 3件

所属学会

- 日本生物物理学会
- 日本タンパク質科学会

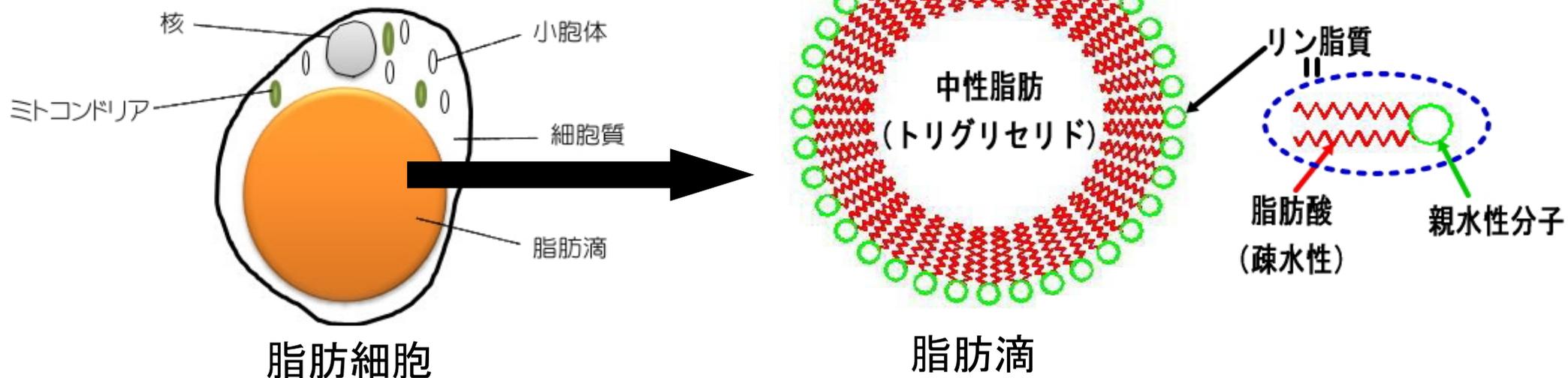
背景：肥満について

近年、世界で約10%の人が肥満であると推定されている。
肥満は様々な疾患を引き起こし、大きな問題となっている。

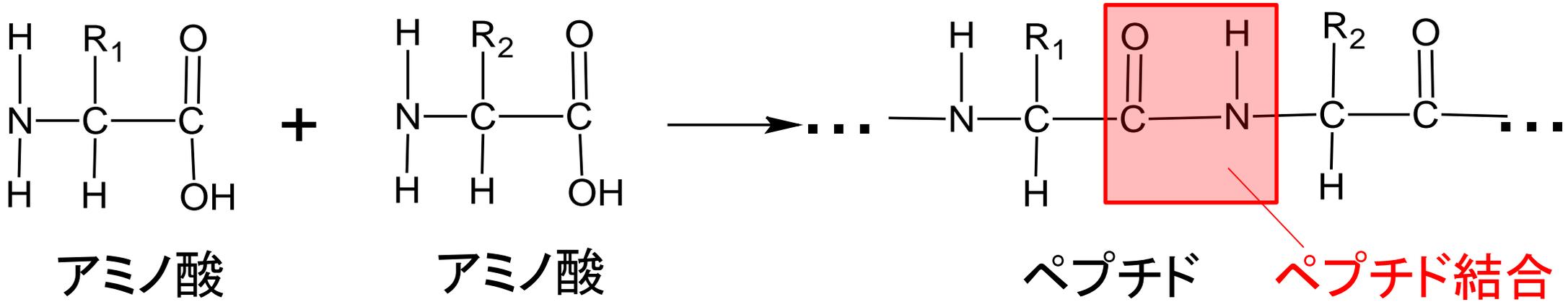
肥満とは脂肪滴(トリグリセリドとコレステロールエステルがリン脂質に覆われているもの)が大きくなった状態の脂肪細胞が多数存在している状態。

トリグリセリドは脂肪酸とグリセロールがエステル結合している物質。

このトリグリセリドのエステル結合を分解することで脂肪細胞の縮小が可能になり、肥満を解消できる。



背景：デザインペプチドについて



アミノ酸同士がペプチド結合により繋がっていくとペプチドと呼ばれるものになり、さらに長く繋がるとタンパク質と呼ばれる。

天然のアミノ酸は20種類あり、n個のアミノ酸が繋がったペプチドの配列は 20^n 通りの組み合わせがある。

この天文学的数字に届く組み合わせから、望む機能を有する配列を見出す。



機能性ペプチドの人工設計
(本発表では脂質分解酵素機能を持つペプチド)

従来技術とその問題点

既に

- ・エステル結合を分解するペプチド
- ・抗肥満薬(マジンドール、オルリスタット)

の報告はされているが、

- ・脂質を分解する報告はない
- ・食欲抑制や脂質吸収を防ぐ間接的な効果で副作用も確認されている

等、根本的な解決には繋がっていない。

本技術の概要

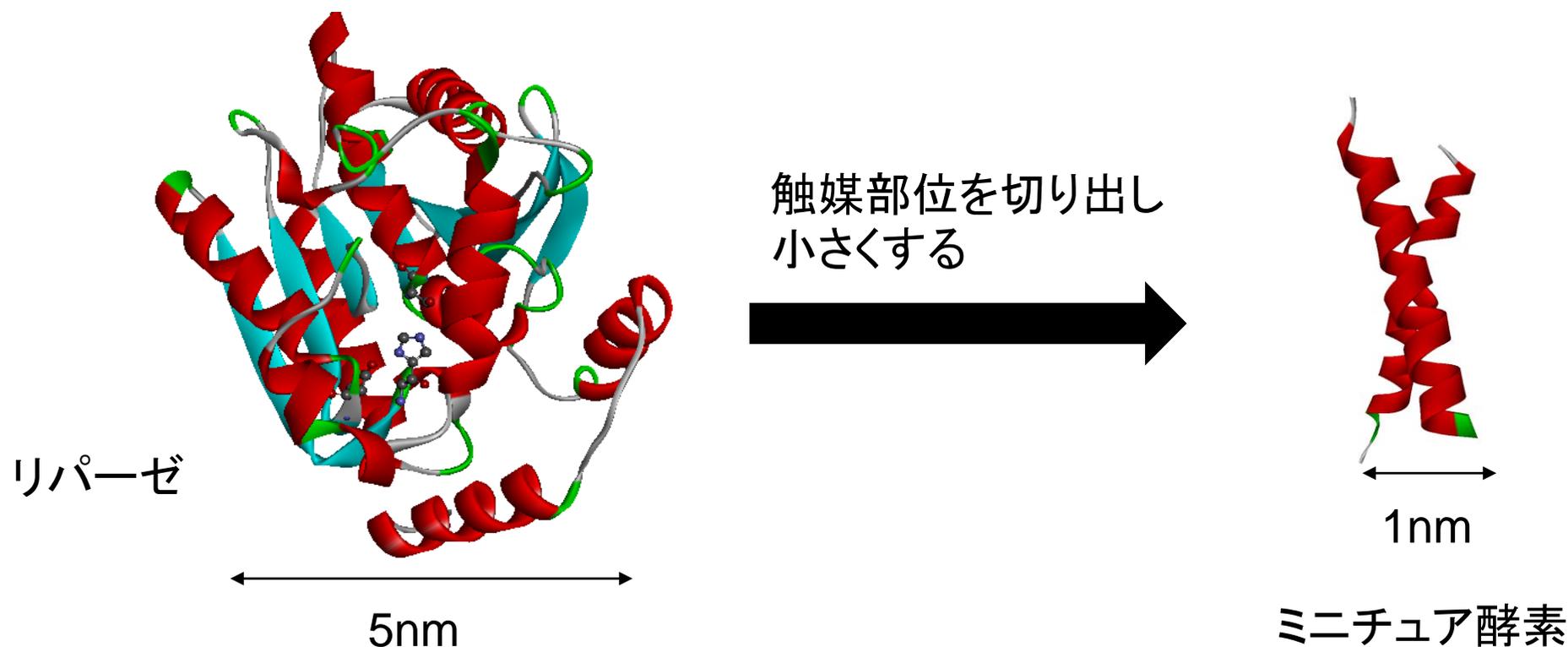
脂質(トリグリセリド)を脂肪酸とグリセロールに分解するペプチドを開発。

特徴

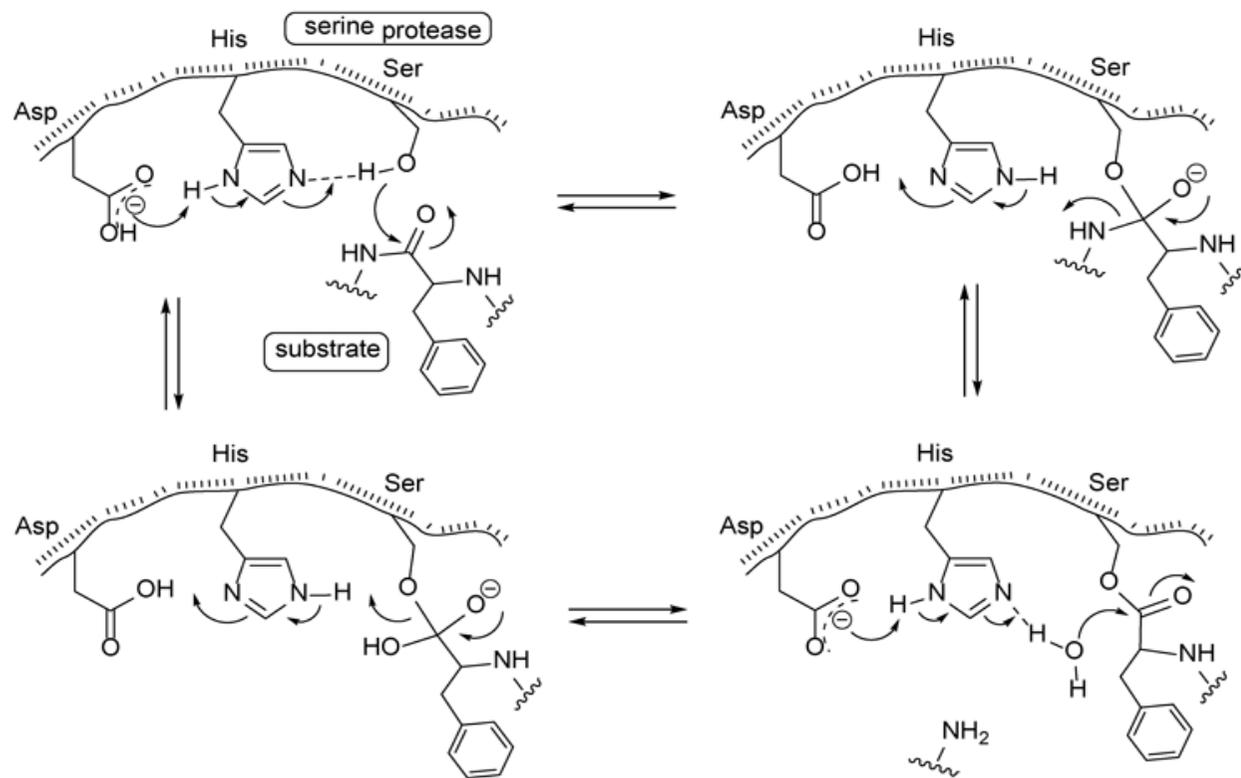
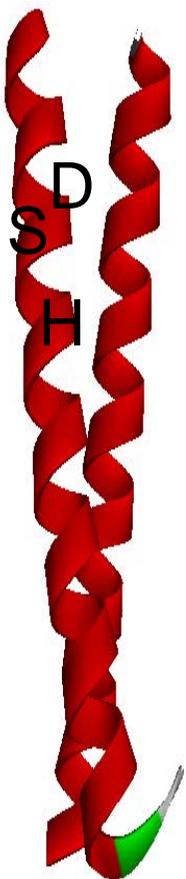
- ・トリグリセリドの3つのエステル結合を分解し、脂肪酸とグリセロールを生成。
- (・天然のリパーゼ(脂質分解酵素)はトリグリセリドの3つあるエステル結合のうち1つしか分解しない。)
- ・脂肪に直接働く作用機構。

戦略：デザインペプチドの意義

- タンパク質では入れないような狭い隙間に入れる小ささを持つ。
- ペプチドは合成、変異及び機能付与が容易。
- 基質ポケットが無いいため複数の部位が切断可能。



戦略：設計方針



赤路 健一 (2018)

設計ペプチドのイメージ

- α ヘリックス構造(配置の制御)
- 触媒三残基となるセリン、ヒスチジン、アスパラギン酸が適切な配置を取る
- ダイマー構造(構造安定性のため)
- ダイマーとなったヘリックス構造のペプチドで脂質を挟み込む(両側から攻撃)

触媒部位の反応機構

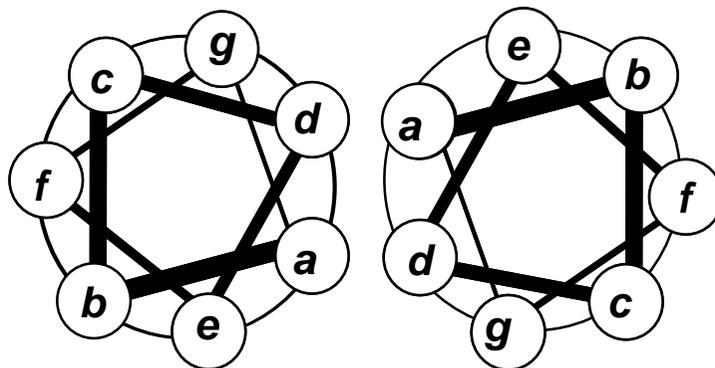
戦略：ペプチドの設計

デザインペプチドの名前 = **meX** と命名 ← (miniature enzyme)

abcdefghijklmnopabcdefghijklmnopabcdefghijklmnop

- me1 SAALEQKIAALEQK**SAAHKQDW**-NH₂
- me2 SAALEAKIAALEAKIAALEAK**SAAHRQDW**-NH₂
- me3 SAALEAKIAALEAKIAALAA**HAASDRRW**-NH₂
- me4 **HNLSDAW**IAALEAKIAALEAKIAALARR-NH₂
- me5 SAALEAKIAAL**ERK**IAALAA**HAASDAW**-NH₂

最適化 ↓



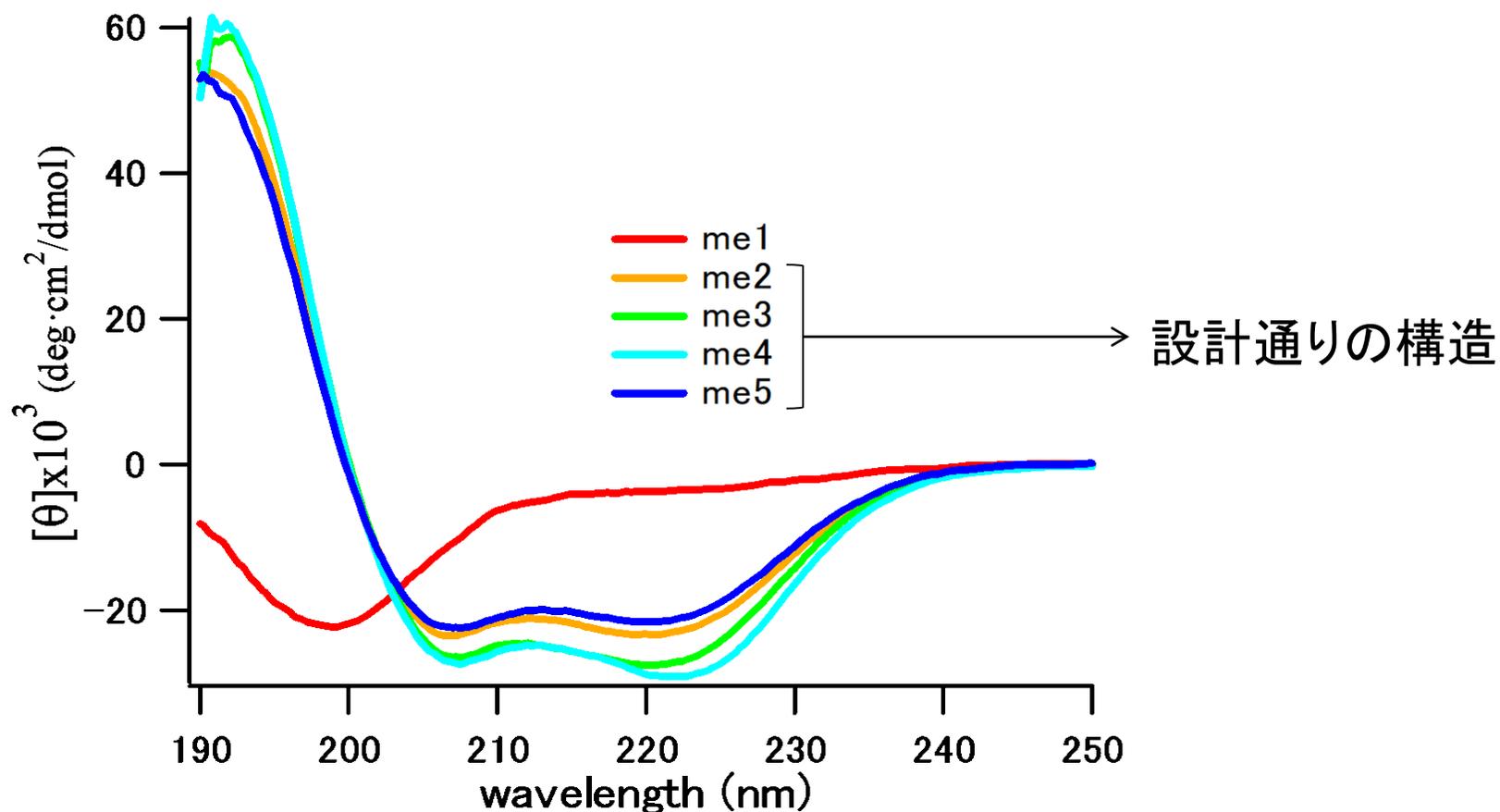
触媒三残基

リパーゼの触媒三残基の配置をペプチドで再現
 → 実験データより軌道修正し合理的設計
 → 最適化

研究結果：デザインペプチドの構造

CD(円二色性)スペクトルで検出。

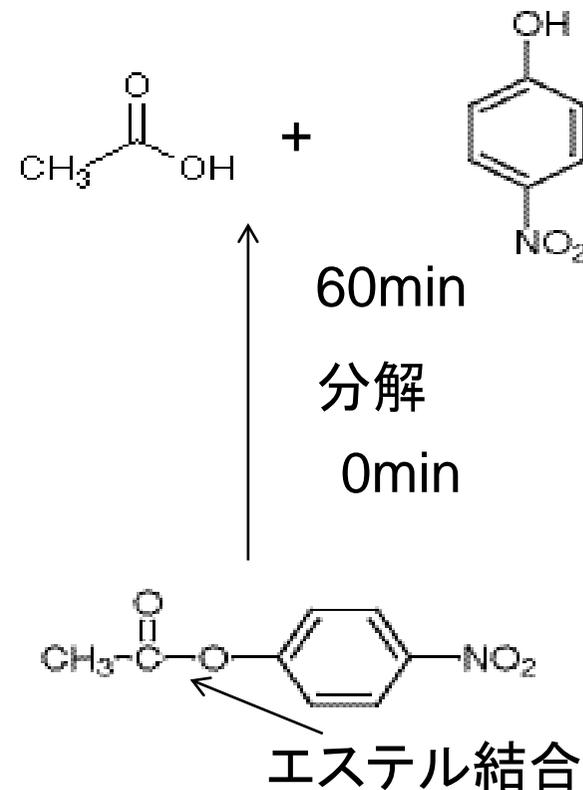
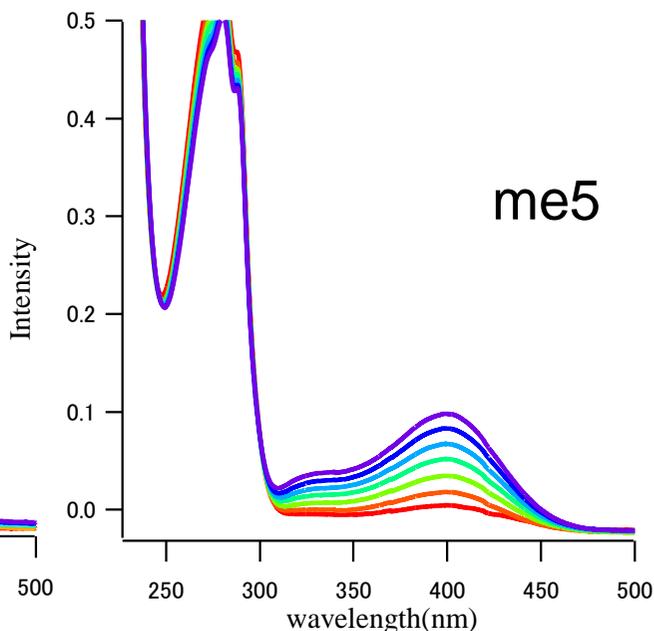
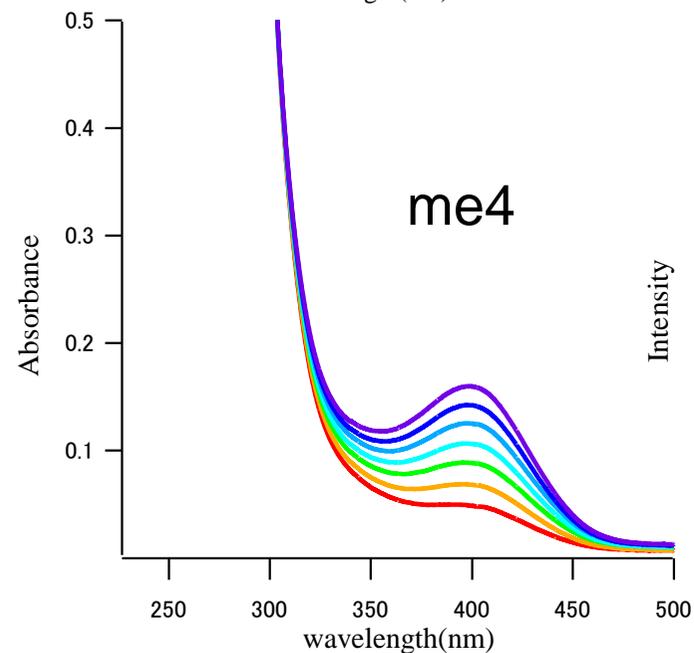
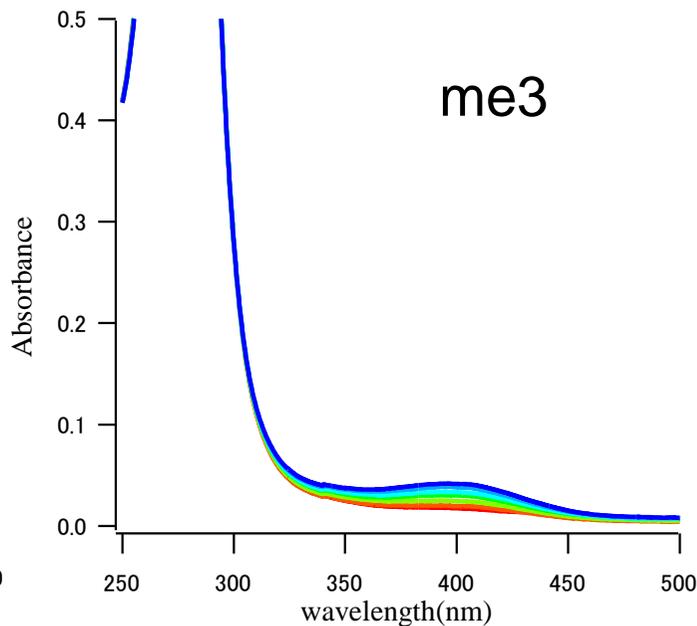
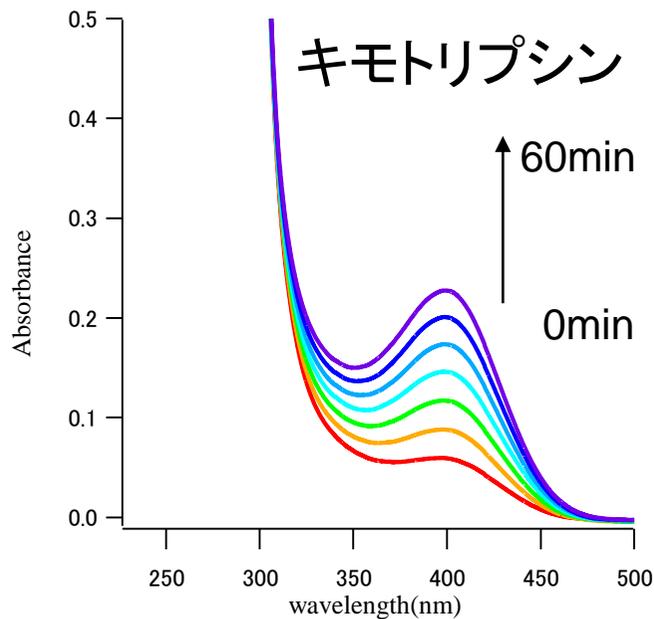
ペプチドの二次構造の調査。



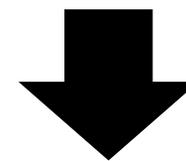
me2~5は設計通りダイマーのαヘリックス構造を取った

研究結果: エステル結合分解能

エステル分解を紫外可視吸光スペクトルで検出。



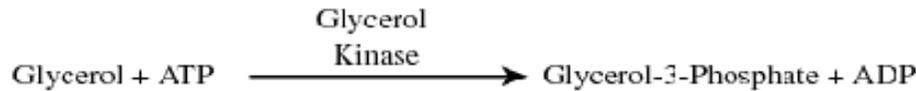
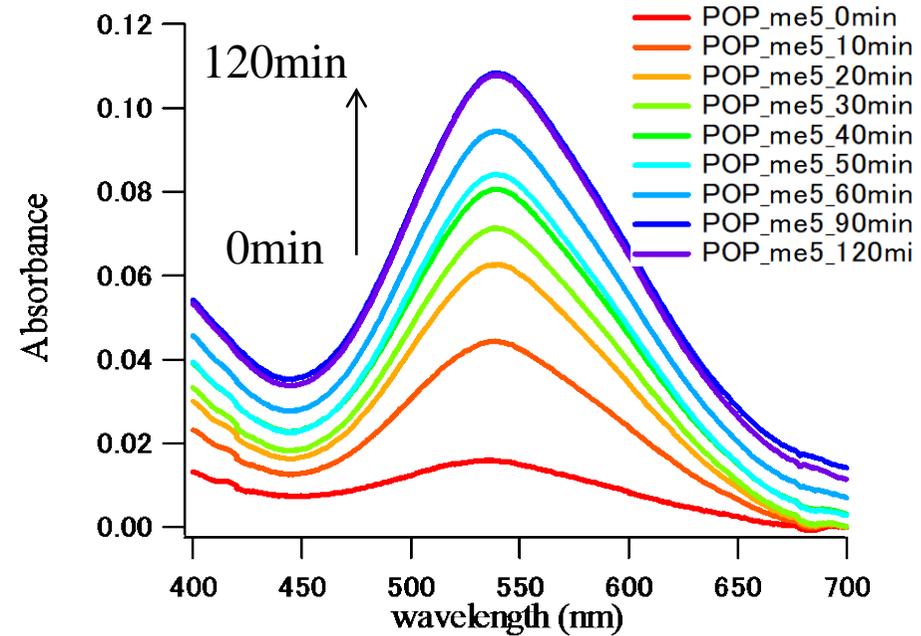
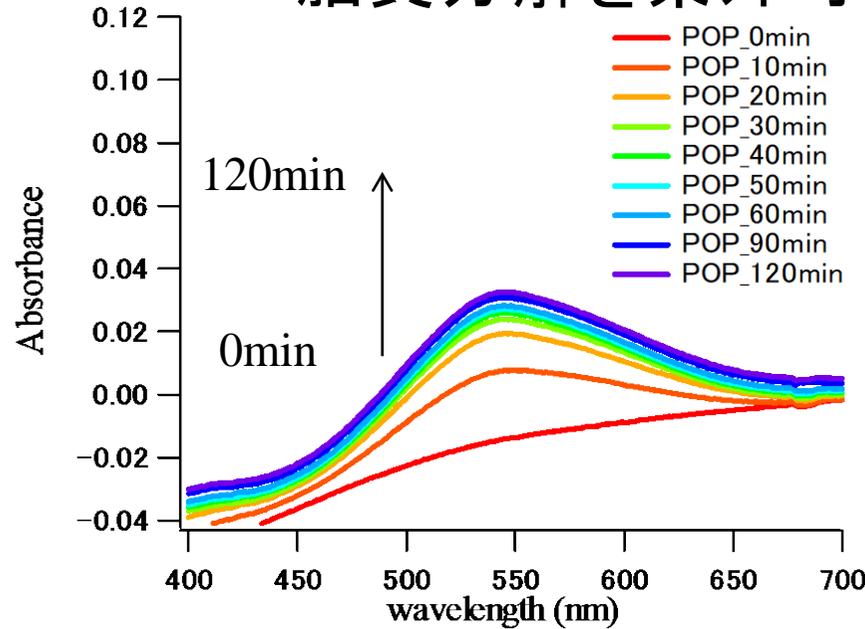
エステル結合を分解
すると吸光度が上昇



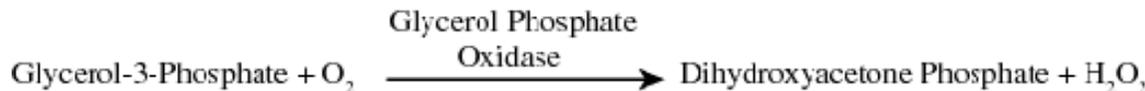
me4, me5はエステル結合分解能あり

研究結果：脂質分解能1

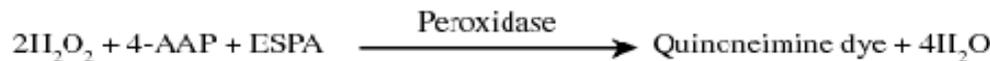
脂質分解を紫外可視吸光スペクトルで検出。



- (1) グリセロールを検知すると染色物が生成され
(2) 540nmにピーク。



- (3) Cayman Chemical
Glycerol Assay Kit



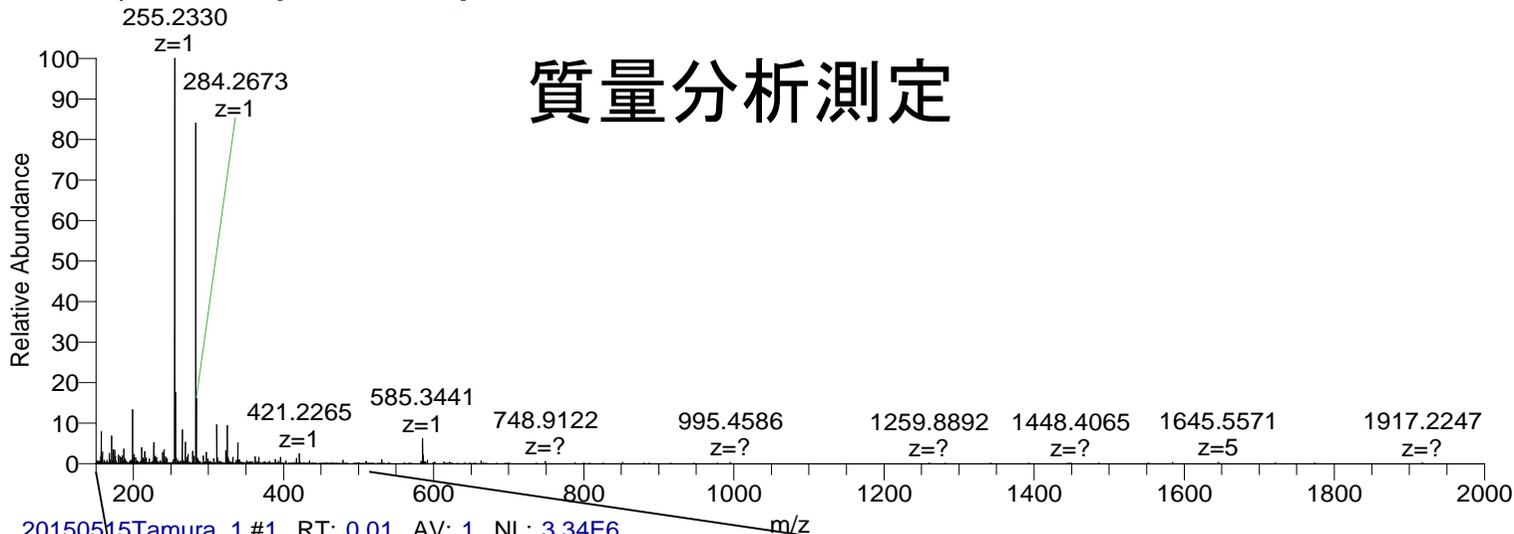
トリグリセリド(POP)を分解→グリセロール生成→吸光度上昇

デザインペプチドme5は120分で約50%の脂質を脂肪酸とグリセロールまで分解した。

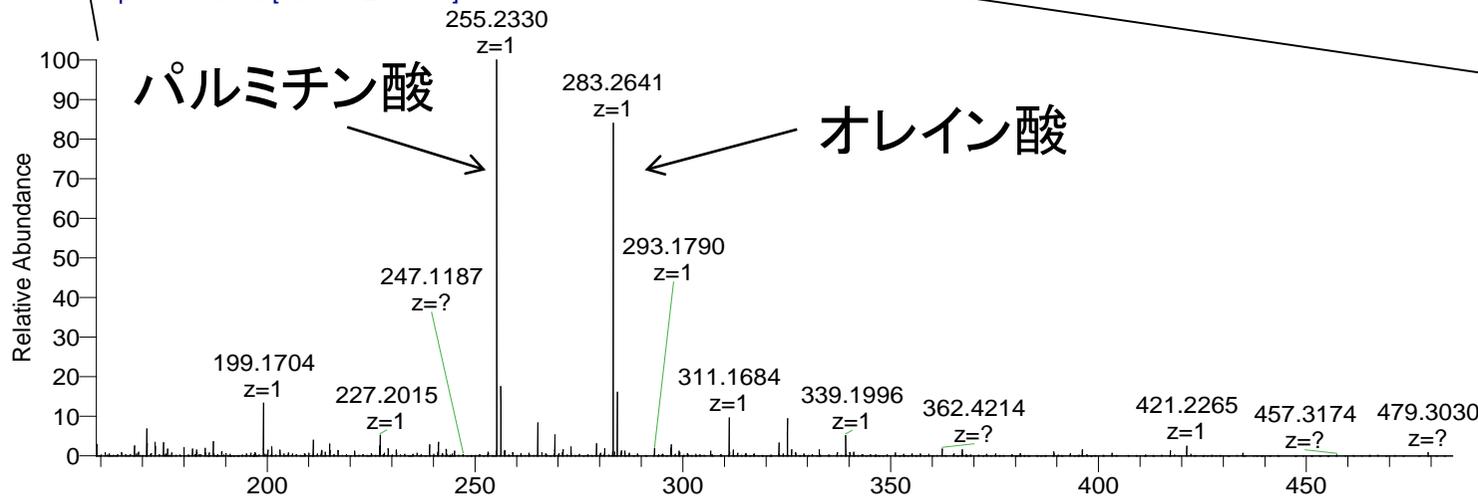
me5は脂質を分解する

研究結果: 脂質分解能2

20150515Tamura_1 #1 RT: 0.01 AV: 1 NL: 3.34E6
T: FTMS - p NSI Full ms [150.00-2000.00]



20150515Tamura_1 #1 RT: 0.01 AV: 1 NL: 3.34E6
T: FTMS - p NSI Full ms [150.00-2000.00]



デザインペプチドme5と、パルミチン酸とオレイン酸とグリセロールから成る脂質(POP)を混合→1日後質量分析→パルミチン酸とオレイン酸に分解したピーク出現

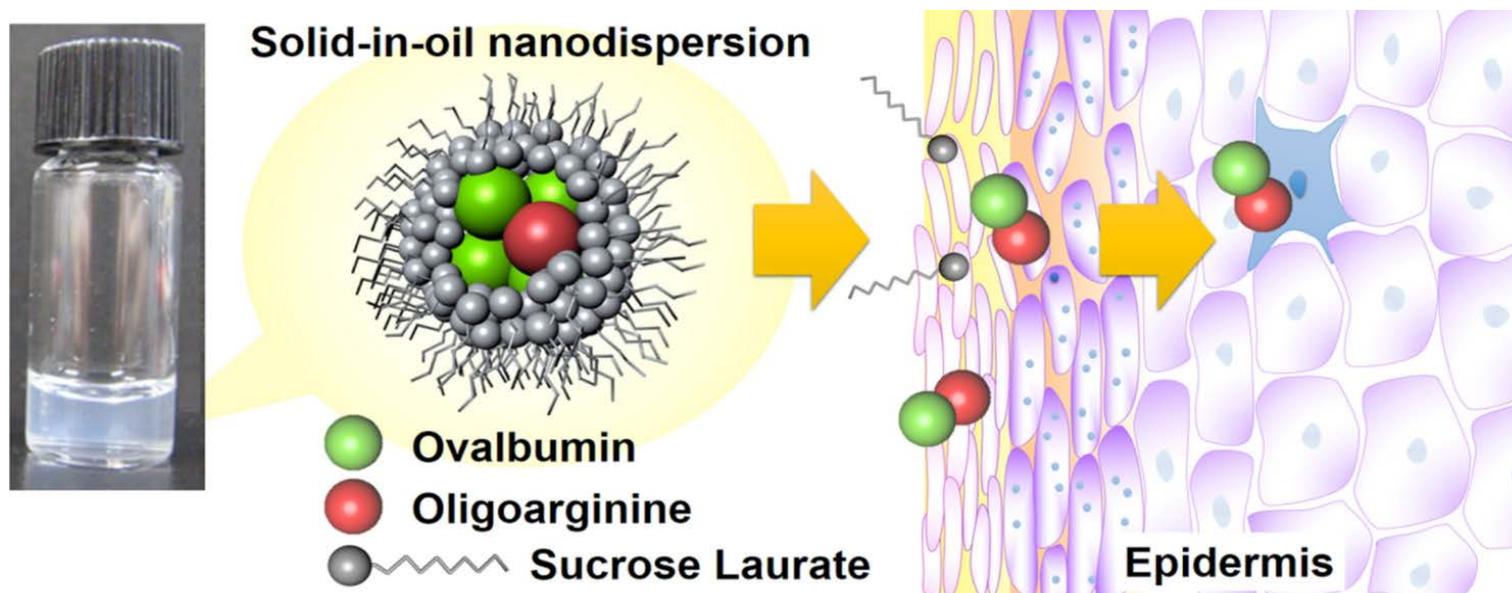
脂質分解の能力の裏付け

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術では成し得なかった脂質分解ができるペプチドの設計に成功した。
- 本技術を応用することにより、脂肪を分解するという直接的な作用での抗肥満薬が期待される。
- 従来では食事制限、運動が必要であったが、化学的に分解することで代謝による脂肪減少が可能になり、比較的広い範囲での利用が期待できる。

今後の展開

経口投与ではデザインペプチドが分解される、また、脂肪細胞まで届かない→経皮投与を試みる



Ref. Kitaoka et al. *IJP* (2013)

ポリアルギニン配列により、皮膚透過、細胞膜透過機能が付与される



デザインペプチドme5にポリアルギニン配列(R6)を付与する



経皮投与可能な抗肥満薬候補

想定される用途

- 抗肥満薬や肥満改善の薬剤として使用できると考えられる。
- エステル結合を分解するという点に着目すると、酢酸エチルなどからエタノールを生成することによる二酸化炭素を排出しないエネルギー源の生成や、ポリエチレンテレフタレート(PET)を分解することによる環境問題改善が可能であると思われる。
- 食品に添加することで、油脂を脂肪酸に分解し、異なる味覚の刺激、エネルギー代謝の向上につながる。

実用化に向けた課題

- 現在、脂質分解が可能なところまで開発済み。しかし、生体内で効果があるかどうかという点は未解明である。
- 今後、脂肪細胞を用いた細胞実験、高脂肪食摂取による肥満モデルマウスを用いた動物実験を行うことにより、in vivo、in situでのデータを取得し臨床試験に繋げていく。

企業への期待

- 実用化に向けて、動物実験など、生体での研究へ進むことに協力していただける企業との共同研究を期待します。
- 食品に添加する際の、味の変化、安全性について共同で研究をしていただけることを期待します。
- また、特許の名称にあるような発展形もございますので、そのほか、本技術の活用法のご提案を歓迎いたします。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : アミロイド分解能を有する人工ペプチドおよびその利用
- 特許番号 : 6455983号 (2018)
- 出願人 : 国立大学法人神戸大学
- 発明者 : 飯田禎弘、田村厚夫

お問い合わせ先

神戸大学

産官学連携本部 産学連携・知財部門

TEL 078 - 803 - 5945

FAX 078 - 803 - 5389

e-mail hicd-ccrd3@office.kobe-u.ac.jp