

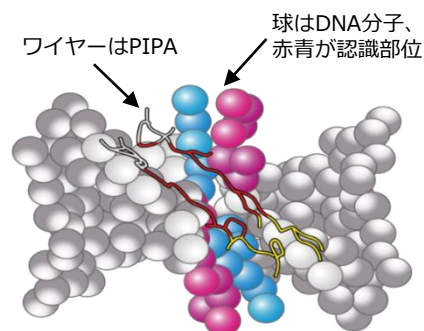
# DNA特異的認識による創薬、バイオ検出（遺伝子医療）

現在、遺伝子編集による遺伝子治療は最先端医療として注目されています。

ハイペップ研究所は **PNA=ペプチド核酸** と **PIPA=ピロール・イミダゾールを構成ユニットとするペプチド**の研究を行ってきました。双方とも受託によるデザインや合成に応じております。

**PNA**は核酸ユニットがアミド結合でつながったペプチドです。PNAはDNAとA-T、C-Gのような相補的結合を形成し、配列特異的に認識します。DNA二重らせん構造よりもDNA/PNA二重らせん構造の方が安定です。PNAとDNAとが、ハイブリダイゼーションすることでDNA発現が阻止できます。しかし、PNAは膜透過性が低いことが使用上の障壁であり、細胞膜や核膜を通過させるためのデリバリーに工夫が必要です。特に標的細胞の核内へ効率的な導入技術が不可欠です。また、分子同士の認識は検出にも応用できます（例えばFISHなどで活用されています）。PNAの細胞内へのデリバリーを行うため、モジュラー型分子の**コンジュゲート**（我々は**ペプチドビークル**、あるいは**バイオシャトル**と呼んでいます）を提案しています。

## Peptide Vehicle; Bio-shuttle モジュラー型分子（中分子）



バイオコンジュゲート化の利点（PNAのみならず抗がん剤などのdrugも搭載可能）

1. 薬物デリバリー性の向上：標的の（がん）細胞だけに導入
2. 細胞特異性、副作用の軽減：分子標的ではなく細胞を標的にできる
3. 新規特許：特許切れの薬剤も新規に知的財産権を確保
4. 細胞株に対する選択性の向上
5. 薬剤耐性のがん細胞でも活性を示す（抗がん剤搭載ペプチドビークル）

**PIPA**はピロール・イミダゾールを主なユニットとしてアミド結合でつないだペプチドです。DNA二重らせん構造の表面には深浅2種の溝があり、PIPAは浅い方の溝に入りDNA各塩基との間で水素結合を介して可逆的に結合します。PIPAは転写因子より強く配列特異的に2本鎖DNAに結合し、標的遺伝子の転写活性を強力に抑制し、核酸分解酵素などに対し耐性で、生体内で安定であり、ベクターやデリバリー試薬なしに細胞の核に取り込まれることが知られています。

## PNAとPIPAの特徴

仕様	PNA	PIPA
認識DNAの形態	1本鎖DNA	二重らせん構造DNA
結合様式	A-T ; C-Gのような相補的な結合	dsDNAのマイナーグループに結合。Py/PyがA-TとT-A ; Py/ImがC-G ; Im/PyがG-Cと結合（2対2の結合）
DNAとの結合状態の安定性	DNA二重らせん構造よりもDNA/PNA二重らせん構造の方が安定である	標的DNA配列を含むDNA二重らせん構造との結合は、Kd値でナノMオーダーと高い親和性を示す
平均分子量/塩基	300	120（PNAより低分子）
修飾オプション例	<ul style="list-style-type: none"> <li>● CPPやNLS等、膜透過モジュールとコンジュゲーション</li> <li>● 末端修飾：N末Ac化, C末アミド化等</li> </ul>	N末端のAc化、C末端のアミド化、ジアミン誘導体化等の末端修飾（認識能の向上）
修飾オプション共通例	<ul style="list-style-type: none"> <li>● イメージングのための蛍光標識（観察したい波長に適した蛍光色素の選択可能）・ビオチン化・PEG修飾・非天然骨格のアミノ酸導入</li> </ul>	

## PNA・Bio-conjugate・PIPA関連 ハイペップ研究所による論文

Pipkorn, R他, *Int. J. Med. Sci.*, **9**, 1-10, 2012. Improved Synthesis Strategy for Peptide Nucleic Acids (PNA) appropriate for Cell-specific Fluorescence Imaging

Braun, K他 *Int. J. Med. Sci.* **9**, 339-352, 2012. BioShuttle Mobility in Living Cells Studied with High-Resolution FCS & CLSM Methodologies

Nokihara, K他 *Peptide Science 2012*: K. Sugimura (Ed) The Japanese Peptide Society, pp 167-170, 2013. Improved Coupling Methods for the Difficult Amide-Bond Formation in Solid-Phase Assembly

Hirata, A他 *Peptide Science 2011*: K. Sakaguchi (Ed), The Japanese Peptide Society, pp 377-380, 2012. Synthesis and Mass-Spectrometric Characterization of the Peptide-Vehicle, Peptide that Carry Molecules into Cells

Nokihara, K他 *Peptide Science 2011*: K. Sakaguchi (Ed), The Japanese Peptide Society pp 73-76, 2012. Studies of Bioconjugates Focusing on Drug Delivery; Peptide-Vehicles Consisting of Recognition and Cell Penetrating Peptide-Modules with Anticancer Drugs

Hirata, A. and Nokihara, K., *Tetrahedron Lett.* **55**, 4091-4094, 2014. Construction of peptide-vehicles, bioconjugates having modules of cancer cell surface capture and cell-penetrating peptide with anticancer agents, focusing on efficient drug delivery

Hirata, A., Nokihara, K他 *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 11546-11554, 2014. Structural Evaluation of Tandem Hairpin Pyrrole-Imidazole Polyamides Recognizing Human Telomeres

