

27F-pm03S

Dicer ノックダウン細胞を用いたアデノウイルスベクター作製効率の改善に関する検討

○若林 圭作¹, 町谷 充洋¹, 櫻井 文教¹, 立花 雅史¹, 水口 裕之^{1,2,3} (¹阪大院薬, ²医薬基盤研, ³阪大 MEI セ)

【目的】アデノウイルス (Ad)ベクターは、遺伝子導入ベクターとして多くの長所を有することから、遺伝子治療研究等に広く利用されている。しかし、その臨床応用に向けては、ベクターを効率よく大量調製する手法の確立が必須である。我々は、Ad の増殖に関与する細胞側因子の探索のなかで、Dicer をノックダウンすると野生型 Ad の増殖が促進されることを見出した。そこで本研究では、現在 Ad ベクターのパッケージング細胞として汎用されている 293 細胞において、Dicer のノックダウンにより、更に高効率に Ad ベクターを産生可能になるのではないかと考え、検討を行った。

【方法】Dicer に対する short-hairpin RNA (shDicer) をドキシサイクリン (Dox) 依存的に発現するよう設計したカセットを、レンチウイルスベクターを用いて 293 細胞に導入し、293-shDicer 細胞を作製した。従来型 Ad ベクターのベクタープラスミドを本細胞にトランスフェクションし、Ad ベクターの増殖を示す細胞変性効果 (CPE) を観察した。さらに、Ad 増殖を促進する Ad 由来小分子 RNA (VA-RNA) 遺伝子を欠損するため、著しく増殖性が低く、293 細胞では作製不可能な VA-RNA 欠損型 Ad ベクター (Ad Δ VR ベクター) についても、同様に検討した。

【結果・考察】293-shDicer 細胞では、Dox 依存的に Dicer がノックダウンされた。従来型 Ad ベクターの調製において 293-shDicer 細胞では、Dicer のノックダウンにより CPE の増加傾向がみられた。さらに、Ad Δ VR ベクターでは、通常時にはほとんど CPE が見られなかったが、Dicer をノックダウンすることで顕著な CPE の増加が観察された。従って、本細胞が Ad Δ VR ベクターの作製に利用可能であることが示唆された。