

(2) 治療法の開発を目的とした遺伝子標識臨床研究を行う場合

本研究は該当せず。

6. 遺伝子の種類及びその導入方法

(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質

本遺伝子治療臨床研究に用いる遺伝子 pDRSV-IFN β の全塩基配列を図 1 に、その遺伝子構成成分とマップを図 2 に示した。ヒト β 型インターフェロン cDNA はラウス肉腫ウイルス LTR のプロモーターの下流に配置されている。導入遺伝子の発現によって生成されるヒト β 型インターフェロンは図 3 に示すように 166 個のアミノ酸よりなる分子量 20,000 のタンパク質である。

(2) 本計画で使用するその他の組み換え DNA の構造と性質

本研究では pDRSV-IFN β 以外の DNA 及びパッケージング細胞は使用しない。

(3) 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

本研究は正電荷リポソームに包埋した遺伝子を腎細胞癌の病巣内へ直接注入して遺伝子導入するものであり、特に取り出した細胞を標的とするものではない。

(4) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

腎細胞癌細胞への遺伝子導入はヒト β 型インターフェロンの cDNA を組み込んだ遺伝子発現プラスミドを正電荷多重膜リポソームに包埋して行う。これらは本臨床研究の研究分担者である吉田らが開発、製造したもので、主としてエンドサイトーシスの機序で内容物(プラスミド DNA)が細胞内へ取り込まれる。本リポソームによる遺伝子導入効率は細胞の種類にもよるが、10-20%程度であり、それほど高いものではない。しかし、細胞毒性は低い。さらに、この方法では主として分裂中の細胞に遺伝子発現が認められることが示されており、分裂細胞が多数含まれている癌病巣への局注は、腫瘍細胞への選択的発現という点からも利点を有する。

(5) 遺伝子導入に用いるプラスミドの調製

ヒト β 型インターフェロン cDNA は Taniguchi ら²⁰⁾がクローニングしたものを正式な惠与を受けて使用した。惠与されたプラスミドを制限酵素 *EcoR* I で消化してえられたヒト β 型インターフェロン構造遺伝子を含む断片をさらに制限酵素 *Hinc* II 及び *Bgl* II で消化した後に、pUC19 に挿入した。このように調製した pUC19 を制限酵素 *Sma* I 及び *Hind* III で消化し