

研究種目：特定領域研究
研究期間：2005～2009
課題番号：17016014
研究課題名（和文） がん治療のためのアデノウイルスベクターおよび発現制御システムの開発
研究課題名（英文） Development of adenovirus vectors and expression systems aiming cancer therapy
研究代表者
齋藤 泉（ SAITO IZUMU ）
東京大学・医科学研究所・教授
研究者番号：70158913

研究成果の概要（和文）： 播種性や転移性など「目に見えないがん」に対する遺伝子治療をめざし、細胞特異性と高い発現効率を有した「単一型特異的高度発現アデノウイルスベクター」の開発を行った。特異性の付加には癌細胞特異的プロモーターを用いたが、低い転写活性しか示さない細胞特異的プロモーターから高い組換え効率を示す Cre を発現するイッチユニットと Cre 依存的に強力なプロモーターから目的遺伝子を発現する標的ユニットを同一ベクター上に挿入した、「スタッファー除去型」と新規の「切り出し発現型」ベクターの作製法を確立した。その過程で、ベクター作製中に Cre がリーク発現し目的ベクターの生成に影響を与えることが判明したため、Cre に対するドミナントネガティブ及び shRNA の同定を行い、高純度ベクターの生成に成功した。本研究で確立したベクターは、がん細胞でのみ高い発現効率を示していたため、播種性のがんに対する治療効果を検討するためのモデルマウスの確立も行った。更に本研究の過程で見いだされた Cre あるいは FLP の遺伝子置換反応についても解析を加え、同時期に複数のベクター作製を可能にする新規のベクター作製法の確立にも成功した。

研究成果の概要（英文）： Aiming gene therapy for “invisible cancer” such as disseminating or transferring malignant microtumors, we developed a “single-type, cancer-specific adenovirus vector with high-level expression” possessing cell specificity and high expression efficiency. For addition of high specificity, we used a cancer-specific promoter. Construction methods of two vector systems, a “stuffer-deletion type” and a novel “excisional-expression type”, were established. Each system contains two expression units: a “switch unit” expressing Cre under the control of a cell-specific promoter with very low activity, and a “target unit” expressing under the control of very high activity depending on the Cre activity. During the process, it was found that Cre was expressed at a leak and influenced on production of the purpose vector. Therefore, we produced and screened dominant negatives and shRNA against Cre. Using them, we succeeded in the development of high-purity production of the “excisional-expression type” vector. Because the vector established here showed high expression efficiency selectively to cancer cells, we then established a model mouse system for examining effective treatment to disseminated cancers. In addition, we also analyzed RMCE (recombinase-mediated cassette exchange) reaction of Cre and FLP, and succeeded in establishment of novel production method, which enabled us to produce many vectors simultaneously.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	26,600,000	0	26,600,000
2006年度	25,500,000	0	25,500,000
2007年度	25,500,000	0	25,500,000
2008年度	35,000,000	0	35,000,000
2009年度	25,500,000	0	25,500,000
総計	138,100,000	0	138,100,000

研究分野：基盤研究に基づく体系的がん治療

科研費の分科・細目：A02 遺伝子治療の新戦略

キーワード：アデノウイルスベクター、遺伝子治療、部位特異的組換え酵素、Cre/loxP、FLP/FRT

1. 研究開始当初の背景

(1) アデノウイルスベクター(AdV)は高い遺伝子導入効率と発現効率からがんに対する遺伝子治療用ベクターとして注目されてきた。しかし、ベクターそのものに対する免疫原性による副反応や既に大きくなったがんの中心部まで目的遺伝子の発現が認められない等の問題が報告され、その解決に向けたベクター開発が進められてきた。申請者は前者の免疫原性の原因の1つがベクターゲノム上に残存しているアデノウイルスゲノムからリーク発現したウイルスタンパク質 pIX であることを突き止めるとともに、EF1- α プロモーターを用いることにより pIX の発現を抑制し、ベクターに対する炎症を最小限に留めることを見いだしていた (Nakai et al., Human Gene Ther., 2007)。この成果により AdV の安全性は格段に高まることが期待され、目に見えるほどに大きくなったがんを外科的あるいは放射線治療により除去した後の「目に見えないがん」に対する AdV の応用を考え検討を始めた。

(2) 申請者はがん特異的発現ベクターとして、がん細胞特異的プロモーターを応用した新規ベクター開発を進めてきた。一般的に細胞特異的プロモーターは汎用されているプロモーターの数百分の一の活性しか持たないため、単独でがんを治療するためにはベクターの大量投与が必要であり、安全性が担保されない。そこで、非常に組換え効率の高い部位特異的組換え酵素 Cre を細胞特異的プロモーターから発現するスイッチユニットを持つ AdV と Cre により強力なプロモーターからの目的遺伝子の発現を ON へと誘導する標的ユニットを持つ AdV を同時に感染することで、細胞特異性を維持したまま目的遺伝子の発現を約 50 倍に上昇することに成功した。

この「二重感染法」は有効性が高いものの 2 つのベクターが同一細胞に到達して初めて効果を発揮するため、マウスを用いた検討では効果が限定的であった。そこで「単一型特異的高度発現ベクター」の開発が必要であった。

2. 研究の目的

本研究では臨床応用が始まっているがんに対する遺伝子治療の治療効果の増強及び適用の拡大とその過程で開発されたベクターによる治療用遺伝子の探索を大きな目的として研究を行う。がんに対する遺伝子治療では治療効果とともに正常組織に対する安全性の確保という両者の性能を備えたベクターの開発が極めて重要である。そこで、本研究ではがん細胞特異的プロモーターと部位特異的組換え酵素を併用したがん細胞特異的高度発現制御機能を有する改良型アデノウイルスベクターシステムを完成し、既にプロモーターの特異性が明らかな複数のがん細胞特異的プロモーターを用いて検討を加え、臨床応用への可能性について基礎研究レベルでの最終的な評価までを行う。

また本研究において開発された部位特異的組換え酵素の遺伝子置換反応を用いた新しいウイルスベクター作製法は複数のベクターを高効率で同時に作製することを可能とする画期的な方法であった。そこでゲノム研究の進展にともない全貌が明らかになりつつあるヒト cDNA の中でがんに対する治療用遺伝子として有用な機能を持つ遺伝子を同定する戦略への全く新しいアプローチを行う。

3. 研究の方法

(1) 「スタッファー除去型・単一型特異的高

度発現ベクター」作製法の確立

スタッファー除去型ベクター作製は、約 30kb まで目的遺伝子の挿入が可能であるヘルパー依存型ベクター (HD-AdV) を用いて作製するため、まずヘルパーウイルスの混入を抑制するために必要な FLP の組換え効率の検討とヒト型 FLPe の全合成及びその評価を行った。これらの評価には、FLP 標的配列である FRT を有するプラスミドを用いた *in vitro* 法による解析を用いるとともに、FLP により目的遺伝子の発現が ON あるいは OFF へと誘導される標的配列を有する細胞株を樹立化し解析を加えた。

(2) ベクター作製時の Cre のリーク発現の解決

本研究で用いたがん細胞特異的プロモーターは、肝細胞がんのマーカー遺伝子の 1 つである α -fetoprotein (AFP) プロモーターである。非常に特異性が高く、細胞特異的プロモーターの中では特異性の高いプロモーターとして知られている。しかしベクター作製中には 293 細胞で 1 万コピーまでベクターゲノムが増幅するため、わずかに Cre がリーク発現し、目的ベクターの特異性が低下した。そこで、Cre に対する dominant negative と short-hairpin RNA (shRNA) を作製し、Cre に対する抑制効果の検討を行い、有用性の高いものを同定した。

(3) 「切り出し発現型・単一型特異的高度発現ベクター」作製法の確立

切り出し発現型ベクターは、E1 置換型である第 1 世代ベクターとして作製が可能であるため、HD-AdV と比較してベクター作製が容易であり、しかもベクター産生中の Cre のリーク発現が起きても目的遺伝子は環状分子上に存在するため特異性が高いベクターである。しかし予想を上回るベクター産生中の Cre のリーク発現により目的ベクターの生成効率が非常に低下した。そこで、(2) で同定した Cre に対する dominant negative あるいは shRNA 発現 293 細胞を樹立化し、目的ベクター生成効率を比較検討した。

(4) ベクター評価に向けた肝細胞がん播種モデルマウスの確立

本研究では「目に見えないがん」への遺伝子治療を目的としているため、実際の肝細胞がんの臨床に近い播種性のがんをもつマウスモデルが必須である。そこでルシフェラーゼを高度に発現するヒト肝細胞がん由来の HuH-7 細胞 (AFP+) を樹立化し、ヌードマウスに移植し、*in vivo* イメージングを行い、がんの状態を確認した。ヌードマウスは Balb/c マウスを用い、HuH-7 細胞を脾臓、門脈及び静脈から導入し、4 週間後にイメージングを

行った。

(5) 遺伝子置換効率の検討

本研究では部位特異的組換え酵素による遺伝子置換反応を用いた複数ベクターの同時にしかも簡便な作製法の確立も目的としている。そこで、組換え酵素によって効率的に認識されるものの、組換え酵素の本来の標的配列とは組換えを起こさない変異型標的配列について検討を加え、有用性の高い変異型標的配列を同定した。Cre あるいは FLP に対する本来の標的配列と変異型標的配列を持つ 2 種類のプラスミドを用いて *in vitro* 法により詳細に遺伝子置換効率を解析し、Cre と FLP の効率を比較検討した。

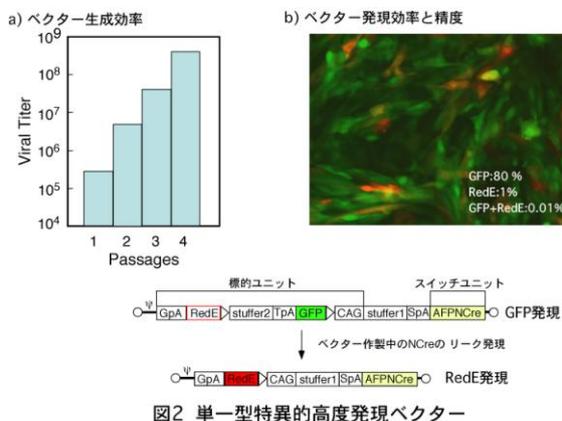
4. 研究成果

(1) 「スタッファー除去型・単一型特異的高度発現ベクター」作製法の確立

スタッファー除去型ベクターは、細胞特異的プロモーターから Cre を発現するスイッチユニットと Cre の標的配列 loxP に挟まれたスタッファー領域を Cre により環状に切り出すことでプロモーターと目的遺伝子を直結しベクター上で目的遺伝子を発現する標的ユニットを同一 AdV 上に持つ。この AdV は通常の E1 領域を目的遺伝子と置換する第 1 世代ベクターで作製可能な挿入遺伝子の大きさを超えるため、約 30kb まで目的遺伝子の挿入が可能であるヘルパー依存型ベクター (HD-AdV) として作製しなくてはならない。しかし HD-AdV は作製方法の煩雑さから未だ普及していない。そこでまずベクター作製法の効率化について検討を加えた。

HD-AdV 作製を効率的に行うためには、最終的なベクターストックへのヘルパーウイルスの混入を最小限に抑制する必要があり、ヘルパーウイルスのパッケージングシグナルの両側に部位特異的組換え酵素、通常は Cre に対する loxP を挿入し、Cre を高度に発現する 293 細胞を用いる。しかし本法では Cre/loxP 系は細胞特異的発現のために用いるため、応用が不可能である。そこで第 2 の部位特異的組換え酵素として FLP/FRT 系の応用が必須である。しかし FLP の至適温度は 30°C であり、しかも 30°C においても組換え効率は Cre の数十分の一である。そこでまず 37°C でも酵素活性を示すことが報告されていた FLP の 4 アミノ酸置換体である FLPe を発現する AdV を作製し、酵素活性の比較検討を *in vitro* 及び FRT を有する培養細胞を用いて行った。その結果、FLP の方が酵素自体の活性は高いものの、37°C では熱安定性に欠けるため FLPe の方が高い組換え効率を示すことが明らかになった (Kondo et al., J. Mol. Biol., 2009)。また FLP 発現 AdV を用いることで 100% の細胞での標的配列の組換えが可

能であり、Cre 発現 AdV と組み合わせること
で時期を変えた複数遺伝子の発現制御が可
能であることを示し、この方法はコンディシ
ョナルノックアウトマウスへも応用可能で
あることを報告した (Kondo et al.,
Microbiol Immunol., 2007,). 更に FLPe の
発現効率を上昇するために codon usage をヒ
ト型化した hFLPe を合成ヌクレオチドを用い
て全合成した。この hFLPe は同じプロモター
下で FLPe の 10 倍の発現量を示した。そこ
で本研究には hFLPe を発現する 293 細胞を用
いてベクター作製を行うことにした。その結
果、Cre と同程度あるいはそれ以上のヘルパ
ーウイルス除去効率を示すことが明らかにな
り、HD-AdV の作製効率も世界的なレベルで
ある 10 の 8 乗オーダーのベクター作製が可
能になった。



(2) ベクター作製時の Cre のリーク発現の解決

スイッチユニットと標的ユニットを同一分子上に配したベクター作製用コスミドの構築を試みた結果、意外なことに大腸菌内で Cre がリーク発現し標的ユニットのスタッファー領域が欠失したコスミドが出現した。今回用いている AFP プロモーターはヒトのプロモーターのため、ベクター作製用細胞では Cre のリーク発現によりスタッファーが欠失し、目的遺伝子の発現が ON へと誘導されたベクターが混入し特異性が低下することが予想された。そこで、まず Cre がリーク発現した場合にはコスミド、ウイルスともにパッケージングサイズ以下になるようにスタッファーのサイズを 7kb に設定した。その結果コスミドにおいてはスタッファー領域が欠失したコスミド DNA は減少した。

しかし 293 細胞でのベクター作製時にはベクターゲノムは 1 万コピーにまで増幅するため、その対策だけでは不十分であると考えられた。そこで、Cre に対する活性中心のアミノ酸に変異を加えた 4 種類の

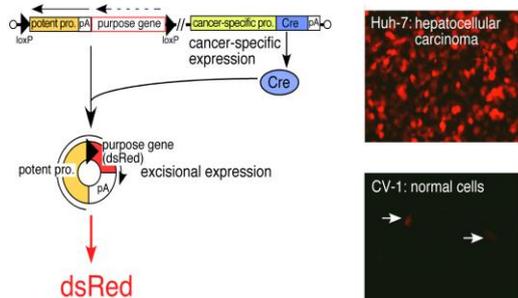
dominant negative と 4 種類の shRNA を作製し、Cre と Cre により GFP が発現するプラスミドを用いて Cre 活性の抑制効果を比較検討した。その結果 Cre 活性の抑制効果が高かった 2 アミノ酸置換体の dominant negative、Cre-RY と shRNA-4 を同定した。コスミドカセットに trc プロモーターにより IPTG 依存的に Cre-RY を発現する発現単位を組み込んだ結果、IPTG 誘導がなくても少なくとも大腸菌での複製過程では全く Cre のリーク発現による staffer 領域の欠失は確認されず有用性の高い系であると考えられた。

(3) 「切り出し発現型・単一型特異的高度発現ベクター」作製法の確立

切り出し発現型はスタッファー領域を用いず Cre により目的遺伝子を発現誘導する方法として考案した。本法は目的遺伝子の下流にプロモーターを配した切り出し発現ユニットを loxP で挟んでおり、発現した Cre により切り出された環状分子上で初めてプロモーターと目的遺伝子が順方向に結合し発現する。そのため挿入遺伝子長が短くなり、第 1 世代ベクターとしての作製が可能である。しかしベクター生成効率は HD-AdV よりも高いためか、通常の 293 細胞を用いた作製は不可能であった。そこで (2) で同定した Cre-RY を発現する 293 細胞を樹立化し、ベクター作製を試みた。その結果、Cre-RY 発現 293 細胞では、ベクター作製が可能であったものの、約 70% が切り出し発現ユニットを欠失したベクターであった。当該ベクターでは切り出し発現ユニットを欠失してもそのベクター上にはスイッチユニットのみが残存しているため、標的ユニットが残存するスタッファー除去型とは異なり、ベクター精製の過程で非特異的発現ユニットを簡便に除去することが可能であり、特異性は高く維持される。しかし、がんに対する十分な治療効果を得るためにはベクター投与量を増やす必要があり、安全性の面で問題が残る。そこで Cre に対する shRNA を発現する 293 細胞についても樹立化を行ったところ、6 クローン中 4 クローンで切り出し発現ユニットをほぼ 100% 保持したベクターの作製が可能であった。そこでまず dsRed を発現する切り出し発現ベクターを作製し、AFP 発現肝細胞癌由来の HuH-7 細胞及び AFP 非発現細胞である CV-1 細胞を用いて本ベクターの発現強度と特異性の検討を行った。その結果、HuH-7 細胞では 80% 以上の細胞で dsRed の発現が確認されたが、CV-1 細胞では dsRed 発現細胞は 1% 以下であった。また real-time PCR を用いた mRNA の解析では、AFP プロモーターから直接 dsRed を発現するベクターと比

較して当該ベクターは約100倍のmRNA量を示し、特異性、発現強度ともに有用性の高いベクターであると考えられた。

"Excisional Expression" in single-type vector



(4) ベクター評価に向けた肝細胞がん播種モデルマウスの確立

本研究では肝臓に播種性に出現するがんに対して、ヘルペスウイルスチミジンカイネースとガンシクロビルを用いた自殺遺伝子療法を行う。そのためには播種モデルマウスの確立が必須である。一般的には腹腔内、脾臓内に肝細胞がん(HuH-7)細胞を導入し、肝臓内あるいは外側に播種性のがんが出現する系を用いている。しかし脾臓内投与では脾臓に多くの細胞が滞留し効率的な肝臓における播種モデルとは言い難い。そこで本研究ではマウスの門脈経路で HuH-7 細胞を導入するシステムの確立とともに、出現したがんの可視化を目的としたルシフェラーゼ高度発現 HuH-7 細胞の樹立化を行った。まず EF1 α プロモーターと CAG プロモーターからルシフェラーゼを発現するプラスミドを HuH-7 細胞にトランスフェクションし、細胞株をクローニングした。得られた細胞株のルシフェラーゼ活性を測定した結果、総じて EF1 α プロモーターからルシフェラーゼを発現する細胞株の方が高い活性を示したので、最も高い HuH-E16 細胞を用いて播種モデルマウスシステムの確立を行うことにした。7 週齢の Balb/c、nu/nu マウスの門脈と脾臓から 1x、2x、3x 10⁶ の 6 乗の HuH-E16 細胞を導入した。4 週間後にルシフェリンを投与しルシフェリンの発光を検出した。その結果、2x 10⁶ の 6 乗の細胞を導入した群の殆どのマウスで播種性のがんが確認された。3x 10⁶ の 6 乗ではがんの出現効率が上昇するもののマウスの生存率が低下する傾向が認められた。本システムは肝臓内の播種モデルマウスとして非常に有用性が高いと考える。

(5) 遺伝子置換効率の検討

申請者は、部位特異的組換え酵素の遺伝

子置換反応によるベクター作製法の開発も進めている。遺伝子置換反応とは、組換え酵素の本来の標的配列に変異を加え、組換え酵素により効率的に認識され、かつ本来の標的配列 (T) とは組換えを起こさない変異型標的配列 (mT) を用いる。我々は Cre の特異性・効率ともに優れた mT として 2 塩基置換体である V を報告してきた。また FLP に関しても同定を進め、同様に 2 塩基置換体である変異型 FRT の G を報告した。T と mT を有する 2 分子に部位特異的組換え酵素が反応すると、T と mT の間の配列が組換えの結果 2 分子間で置換する。従って、T と mT の間に目的とする発現単位を有するプラスミドを構築し、T と mT を有する recipient AdV (ただし recipient AdV のパッケージングシグナルは T ではさみ混入を最小限にする) と同時に組換え酵素発現 293 細胞に導入するだけで、簡単に目的ベクターの作製が可能である (Nakano et al, Nucleic Acids Res., 2005)。Cre を用いた我々の解析ではわずか 3 回 Cre 発現 293 細胞でベクターを継代するだけで 90%以上が目的とするベクターであった。この方法は、同時に複数のベクター作製も可能にするため、新規遺伝子の機能解析用に多くのベクターを作製するために非常に適した方法である。Cre の組換え効率は FLP と比べ格段に高いため、置換効率も高いと考えていたが、本研究の *in vitro* 法での解析から FLP は非常に置換効率が高いことが確認された。実際に hFLPe 発現 293 細胞を用いれば、2 回の継代で殆どが目的ベクターであり、本法には FLP の方が有用性が高いことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Fukamachi K, Tanaka H, Hagiwara Y, Ohara H, Joh T, Iigo M, Alexander, D. B, Xu J, Long N, Takigahira M, Yanagihara K, Hino O, Saito I. and Tsuda H. An animal model of preclinical diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinomas. *Biochem Biophys Res Commun.* 390: 636-641, 2009.
2. Kondo S, Takata Y, Nakano M, Saito I. and Kanegae Y. Activities of various FLP recombinases expressed by adenovirus in mammalian cells. *J. Molec. Biol.* 390: 221-230, 2009.
3. Shibata H, Takano H, Ito M, Shioya H, Hirota M, Matsumoto H, Kakudo Y, Ishioka C, Akiyama T, Kanegae Y, Saito I, Noda T. α -Catenin is essential in intestinal adenoma formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104: 18199-204, 2007.

4. Nakai M, Komiya K, Murata M, Kimura T, Kanaoka M, Kanegae Y, and Saito I. Expression of pIX Gene Induced by Transgene Promoter: Possible Cause of Host Immune Response in First-Generation Adenoviral Vectors. *Hum Gene Ther.* 18: 925-36, 2007.
5. Baba Y, Yazawa T, Kanegae Y, Sakamoto S, Saito I, Morimura N, Goto T, Yamada Y, Kurahashi K. Keratinocyte growth factor transduction ameliorates acute lung injury and mortality in mice. *Hum Gene Ther.* 18: 130-141, 2007.
6. Ueda S, Fukamachi K, Matsuoka Y, Takasuka N, Takeshita F, Naito A, Iigo M, Alexander DB, Moore MA, Saito I, Ochiya T, Tsuda H. Ductal origin of pancreatic adenocarcinomas induced by conditional activation of a human Ha-ras oncogene in rat pancreas. *Carcinogenesis.* 27: 2497-2510, 2006.
7. Cheong J, Yamada Y, Yamashita R, Irie T, Kanai A, Wakaguri H, Nakai K, Ito T, Saito I, Sugano S, Suzuki Y. Diverse DNA methylation statuses at alternative promoters of human genes in various tissues. *DNA Research.* 13: 155-167, 2006.
8. Kondo S, Takahashi Y, Shiozawa S, Ichise H, Yoshida N, Kanegae Y, and Saito I. Efficient sequential gene regulation via FLP - and Cre - recombinase using adenovirus vector in mammalian cells including mouse ES cells. *Microbiol Immunol.* 50: 831-843, 2006.
9. Fukuda H, Terashima M, Koshikawa M, Kanegae Y, and Saito I. Possible mechanism of adenovirus generation from a viral genome tagged with nucleotides at its ends. *Microbiol Immunol.* 50: 643-654, 2006.
10. Baba Y, Nakano M, Yamada Y, Saito I, and Kanegae Y. Practical range of effective dose for Cre recombinase-expressing recombinant adenovirus without cell toxicity in mammalian cells. *Microbiol Immunol.* 49: 559-570, 2005.
11. Kido T, Arata S, Suzuki R, Hosono T, Nakanishi Y, Miyazaki J, Saito I, Kuroki T, and Shioda S. The testicular fatty acid binding protein PERF15 regulates the fate of germ cells in PERF15 transgenic mice. *Dev Growth Differ.* 47: 15-24, 2005.
12. Miyamoto T, Kaneko T, Yamashita M, Tenda Y, Inami M, Suzuki A, Ishii S, Kimura M, Hashimoto K, Shimada H, Yahata H, Ochiai T, Saito I, DeGregori J, and Nakayama T. Prolonged skin allograft survival by IL-10 gene-introduced CD4 T cell administration. *Int Immunol.* 17: 759-768, 2005.
13. Nakano M, Odaka K, Takahashi Y, Ishimura M, Saito I, and Kanegae Y. Production of viral vectors

using recombinase-mediated cassette exchange. *Nucleic Acids Res.* 33: e76, 2005.

14. Ugai H, Murata T, Nagamura Y, Ugawa Y, Suzuki E, Nakata H, Kujime Y, Inamoto S, Hirose M, Inabe K, Terashima M, Yamasaki T, Liu B, Nakade K, Pan J, Kimura M, Saito I, Hamada H, Obata Y, and Yokoyama K. K. A database of recombinant viruses and recombinant viral vectors available from the RIKEN DNA bank. *J Gene Med.* 7: 1148-1157, 2005.

[学会発表] (計 21 件)

2009年

1. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉. 他
Construction of "Humanized" FLP
Recombinases Aiming for Efficient
Generation of Helper-Dependent Adenovirus
Vector

第12回米国遺伝子治療学会

2009年5月28日

米国 サンディエゴ

2. 鐘ヶ江裕美、近藤小貴、斎藤 泉. 他
がん及び細胞特異的高度発現を可能にする
新規アデノウイルスベクターの開発

第68回日本癌学会学術総会

2009年10月2日

横浜

3. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉. 他
がん細胞特異的ヘルパー依存型アデノウ
イルスベクター作製法の改良

第68回日本癌学会学術総会

2009年10月2日

横浜

4. 鐘ヶ江裕美、近藤小貴、斎藤 泉. 他
細胞特異的高度発現機構を搭載した「切り
出し発現型」アデノウイルスベクターの作
製法

第57回日本ウイルス学会学術集会

2009年10月25日

東京

5. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉. 他
Development of humanized FLPe gene for
efficient recombination in mammalian cells

第32回日本分子生物学会年会

2009年12月9日

横浜

6. 裴 崢、近藤小貴、斎藤 泉、鐘ヶ江裕美、他

Improvement of excisional expression adenovirus vector with tissue-specific, high-level expression

第32回日本分子生物学会年会

2009年12月9日

横浜

2008年

7. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

Identification of Stuffer Sequences for Improvement of Helper-Development Adenovirus Vector

第11回米国遺伝子治療学会

2008年5月31日

米国 ポストン

8. 寺島美保、近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

切り出し発現システム：アデノウイルスベクターによる新規癌遺伝子治療法の開発

第67回日本癌学会学術総会

2008年10月28日

名古屋

9. 鐘ヶ江裕美、近藤小貴、斎藤 泉、他
がん特異的発現アデノウイルスベクターによる遺伝子治療法の開発

第67回日本癌学会学術総会

2008年10月29日

名古屋

10. 寺島美保、近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

新規「切り出し発現型」細胞特異的高度発現ベクターの開発

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会

2008年12月10日

神戸

2007年

11. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

Characterization of FLPrecombinase Using Adenovirus Vector and application for Gene Regulation in Mammalian Cells

第10回米国遺伝子治療学会

2007年5月31日

米国 シアトル

12. 斎藤 泉、近藤小貴、鐘ヶ江裕美、他

Adenovirus Vectors with Highly Reduced Immunogenicity: Use of EF1- α

Promoter and Improved Helper-Dependent Vector

第13回日本遺伝子治療学会

2007年6月28日

名古屋

13. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

ヘルパー依存型アデノウイルスベクターにおけるstuffer領域の検討

第55回日本ウイルス学会学術集会

2007年10月23日

札幌

14. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

ヘルパー依存型アデノウイルスベクターの作製効率上昇に向けた試み

第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会

2007年12月14日

横浜

2006年

15. Saki Kondo, Yuki Takata, Yuzuka Takhashi, Yumi Kanegae and Izumu Saito. Characterization of the recombination mediated by FLP-expressing adenovirus in mamalian cells. 20th IUBMB International congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress. Poster. Kyoto, Japan. (June 20, 2006)

20th IUBMB International congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress. Poster. Kyoto, Japan. (June 20, 2006)

16. Yumi Kanegae, Hiromitsu Fukuda, Yuzuka Takhashi, Hiyori Haraguchi, Michiko Koshikawa, Saki Kondo and Izumu Saito. The efficient method of constructing of helper-dependent adenovirus vector using the improved FLP. 20th IUBMB International congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress. Poster. Kyoto, Japan. (June 20, 2006)

20th IUBMB International congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress. Poster. Kyoto, Japan. (June 20, 2006)

17. 高田由紀、近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他

FLP を用いた遺伝子置換反応によるヘルパー依存型アデノウイルスベクターの生成効率上昇に向けた試み

第54回日本ウイルス学会学術集会

2006年11月19日

名古屋

2005年

18. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉、他
マウス ES 細胞へのアデノウイルスベクター

高効率感染法及びFLP 発現アデノウイルスを用いた簡便なコンディショナルノックアウトマウス作出法の検討

第64回日本癌学会学術総会

2005年9月14日

札幌

19. 福田尋充、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉

クローン化アデノウイルスゲノムはどの様に外来塩基の付加された末端を修

復するのか
第 53 回日本ウイルス学会学術集会
2005 年 11 月 20 日
横浜

20. 近藤小貴、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉。他
部位特異的組換え酵素 FLP 発現アデノウイルス
ベクターを用いた動物細胞における FLP 組
換え反応の特性の検討
第 28 回日本分子生物学会年会
2005 年 12 月 9 日
福岡

21. 福田尋充、鐘ヶ江裕美、斎藤 泉。他
単一型特異的高度発現アデノウイルス
ベクター作製の効率化へ向けた検討-肝
細胞癌特異的プロモーターの特異性の
問題
第 28 回日本分子生物学会年会
2005 年 12 月 9 日
福岡

[図書] (計 1 件)
斎藤 泉 (高田賢蔵 編)
株式会社 南江堂
医科ウイルス学 「第 17 章 遺伝子工学・
細胞工学・遺伝子治療」
297 頁-311 頁
2009

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/identshi/hpmain.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斎藤 泉 (SAITO IZUMU)
東京大学・医科学研究所・教授
研究者番号：70158913

(2) 研究分担者

鐘ヶ江 裕美 (KANEGAE YUMI)
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号：80251453

近藤 小貴 (KONDO SAKI)
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号：80451871

(3) 連携研究者

()

研究者番号：