

# BTK gene targeting by homologous recombination using a helper-dependent adenovirus/adenovirus-associated virus hybrid vector

山元, 裕之

<https://hdl.handle.net/2324/1654697>

---

出版情報：九州大学, 2015, 博士（医学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏 名： 山元 裕之

論 文 名： *BTK* gene targeting by homologous recombination using  
a helper-dependent adenovirus/adenovirus-associated virus hybrid vector

(ヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルスハイブリッドベクターを用いた  
*BTK* 遺伝子ターゲティング)

区 分：甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

X連鎖無ガンマグロブリン血症 (XLA) は、*BTK* 遺伝子の変異により起こる原発性免疫不全症候群の一つである。XLA に対する遺伝子治療の可能性を調べるため、*BTK* 遺伝子のエクソン 6 から 19 を含む遺伝子領域、およびサイトメガロウイルスプロモーター制御下に GFP・ハイグロマイシン耐性遺伝子を搭載したヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルス *BTK* ターゲティングベクター (HD-Ad.AAV *BTK* ベクター) を作製した。初めに、急性リンパ性白血病男性患者から樹立されたプレ B 細胞株である NALM-6 細胞において、相同組換えによる遺伝子ターゲティングの効率を測定した。その結果、2 回の実験からハイグロマイシン耐性株 107 株を得て、そのうち 10 株で相同組換えを証明した。次に、ヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞を用いて、サイトカインとハイグロマイシンを含む培地中でコロニー形成を行った。その結果、755 個のハイグロマイシン耐性コロニーを得て、そのうち 4 個のコロニーで *BTK* 遺伝子座における相同組換えを認めた。さらに、同様にベクターを感染させた CD34 陽性細胞からハイグロマイシンを含む培地中で分化誘導した CD19 陽性リンパ球前駆細胞においても相同組換えを認めた。以上の結果から、HD-Ad.AAV *BTK* ベクターにより、相同組換えによる *BTK* 遺伝子の変異修復を行える可能性を示した。