

## HIV 増殖力等欠損株相当レンチウイルスベクターの LTR について

HIV-1 のプロウイルスゲノムの両端には、レトロウイルスに共通の構造である LTR(long terminal repeat)と呼ばれる繰り返し配列がある(1)。LTR は、機能的に 5' 端より U3、R、U5 の 3 つの領域に区分される。U3 領域にはエンハンサー/プロモーター活性があり、宿主細胞の RNA ポリメラーゼ II によって、ウイルスゲノムは 5' R 領域から 3' R 領域までが転写される(2)。転写された 1 本鎖ウイルスゲノム RNA はウイルス粒子内に取り込まれる。ウイルスが細胞に感染すると、ウイルスゲノム RNA から逆転写酵素により最終的に 2 本鎖ウイルスゲノム DNA が合成されるが、その過程で 3' LTR の U3 が 5' LTR の U3 にコピーされる(3)。合成されたウイルスゲノム DNA は、宿主染色体に組み込まれプロウイルスとなる(4)。

- (1) プロウイルスゲノム DNA ==5' U3=R=U5===gag==pol==env===U3=R=U5 3' ==  
(2) ウイルスゲノム RNA 5' R-U5---gag--pol--env---U3-R 3' ウイルス粒子内  
(3) ウイルスゲノム DNA 5' U3=R=U5===gag==pol==env===U3=R=U5 3' 逆転写後  
(4) プロウイルスゲノム DNA ==5' U3=R=U5===gag==pol==env===U3=R=U5 3' == 組み込み後

HIV-1 増殖力等欠損株に該当するレンチウイルスベクターで、ポジションペーパーの要件「3. プロウイルスにおいて LTR のプロモーター活性を持たず、HIV-1 の全ゲノムが転写されないもの。」を満たすのは、SIN (self inactivating) ベクターと呼ばれるものである。SIN ベクターを作製するためのプラスミドでは、3' LTR の U3 にあるエンハンサーの一部またはすべての領域とプロモーター領域が削除されている。したがって、SIN ベクターが細胞に感染し染色体に組み込まれた後のプロウイルス状態では、両方の LTR ともプロモーター活性を持たないことになり、5' R 領域からの全ゲノムの転写は起こらないことになる。

SIN ベクタープラスミド DNA ==5' U3=R=U5===Promoter=Transgene===△U3=R=U5 3' ==  
SIN ベクターRNA R=U5---Promoter-Transgene---△U3=R  
SIN ベクターDNA 5' △U3=R=U5===Promoter=Transgene===△U3=R=U5 3'  
プロウイルス DNA ==5' △U3=R=U5===Promoter=Transgene===△U3=R=U5 3' ==

実際には以下のような 5' LTR の U3 領域を CMV プロモーターなど他のプロモーターに置換した SIN ベクタープラスミドが汎用されているが、SIN ベクターであるという点では同じである。

==5' CMV=R=U5===Promoter=Transgene===△U3=R=U5 3' ==

なお、5' LTR と 3' LTR の両方の U3 とも完全なままのレンチウイルスベクターについては当然、要件 3 を満たさず増殖力等欠損 HIV-1 株にはならない。このようなレンチウイルスベクターは、二種省令別表第一第一号ハ「宿主（注）この場合はレンチウイルスベクターを指します。）の実験分類がクラス 3 である遺伝子組換え生物等」に該当し、大臣確認を要する。