

DEAE-デキストラン法による安価で再現性のよい遺伝子導入法

内海 文彰, 大井 熙人, 田沼 靖一

1. はじめに

DNA トランスフェクションは、細胞に遺伝子を導入する操作が必要な、とりわけ分子生物学と細胞生物学的実験に必須の技術である¹⁾。この技法なくしては、種々の細胞における特定のタンパク質の機能を検討したり、予測したりすることは不可能だろう。いうまでもなく、DNA トランスフェクションは、トランスジェニック／遺伝子ノックアウト動物の作製²⁾、あるいは人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の確立にも必要とされる技術である³⁾。分子生物学が DNA を細胞に導入する方法の発展とともに進歩してきたのは確かである。

組換え DNA 実験を行う研究室では、プラスミドやバクテリオファージなどのベクターを用いて細菌を形質転換する作業を日常的に行っている。それに加えて、種々の発現ベクターの培養細胞や動植物への導入もする。そもそも真核生物は、進化の過程でその前駆細胞がタンパク質、DNA、RNA、さらにミトコンドリアや葉緑体などの細胞小器官 (オルガネラ) の祖先などを内部に取り込んできたと考えられている⁴⁾。したがって、真核細胞には、その周囲に存在するタンパク質、ヌクレオチド、糖、そして脂質などのあらゆる物質を内部に取り込む性質がもともと備わっていると考えられる。もしそれが正しいならば、細胞に DNA を導入するには、ただ DNA を細胞の周りに振りかけるだけでよいことになる。しかしながら生物学的研究では、DNA を真核細胞内に導入する場合、一般にその取り込み効率が非常に重要な問題となる。なぜなら、ベクターによるタンパク質の発現、そしてその機能や細胞挙動の変化など種々の応答を検出するには限界があるからである。いい換えれば、発現ベクターによって細胞内で翻訳される目的タンパク質の機能を示すシステムが利用できたと

しても、DNA トランスフェクション効率が十分でなければ応答がみられず結局その実験はうまくいかなかったことになってしまう。

現在までに、いくつかの DNA トランスフェクションのプロトコルが確立され、改良が加えられてきた。それらは以下のとおり、主として四つに大別される⁵⁾。

- 1) リン酸カルシウム法
- 2) リポソーム法
- 3) DEAE-デキストラン法
- 4) エレクトロポレーション法

また、試薬ばかりでなく装置や器具もまた改良されている。本稿では、DEAE-デキストラン法に焦点を絞り、その応用について述べることにする。

2. DEAE-デキストランの性質と分子生物学への応用

DEAE-デキストラン (diethylaminoethyl-dextran) は、デキストランにジエチルアミノエチル (diethylaminoethyl) 基が導入されたポリカチオン性化合物である⁶⁾。動物や培養細胞に対する DEAE-デキストランの生物学的効果は多く観察されている。たとえば、DEAE-デキストランは *in vivo* においてインターフェロン (IFN) の産生を誘導し^{7,8)}、トリ／マウス肉腫ウイルスによる細胞のトランスフォームを促進する^{9,10)}。また、腫瘍の成長を阻害するという報告もある¹¹⁾。そして、DEAE-デキストランはプロウイルス RNA、SV40 ならびにポリオーマウイルス DNA 等の効率的な細胞への導入に用いられてきた¹²⁻¹⁴⁾。水溶液中で負に荷電したヌクレオチドは、正電荷を持つ DEAE-デキストランに取り囲まれるので細胞膜表面に接触しやすくなる。次に、この DEAE-デキストラン-ヌクレオチド複合体はエンドサイトーシスで細胞に取り込まれる、という仕組みである。

トランスフェクション効率を高めるために、DMSO (dimethylsulfoxide)、クロロキン、あるいはグリセロール等がしばしば DEAE-デキストランとともに用いられる⁵⁾。DEAE-デキストランには細胞毒性があるが、利点もある。たとえば、DEAE-デキストラン法によって細胞内に取り込まれた二本鎖プラスミド DNA はヒストンタンパク質を巻き込んだミニクロモソーム構造を持つ^{15,16)}。したがって、

東京理科大学薬学部 (〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641)

Application of DEAE-dextran method to an efficient gene transfer system

Fumiaki Uchiumi, Hiroto Ohi and Sei-ichi Tanuma (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science, Yamazaki 2641, Noda, Chiba 278-8510, Japan)

投稿受付：平成 25 年 11 月 28 日

この方法で細胞内に送り込まれたプラスミドは染色体に組み込まれずにミニクロモソーム状態となるため、DNA複製/修復、転写等の核内の生化学的反応を解析するのに適している。以上に加えて、DEAE-デキストラン法は再現性が高く、安価で簡便な操作なので、このような点を優先するならば研究上好ましいだろう¹⁷⁾。

メタクリル酸メチル (MMA) 基で修飾された DEAE-デキストラン-MMA は、非ウイルスベクターの遺伝子導入法に応用されている¹⁸⁻²⁰⁾。また、DEAE-デキストランによるマクロファージ細胞のプラスミド DNA 取り込み効率は、5-アザシチジンによって増大できる²¹⁾。このように DNA を細胞に送り込む新規技術として DEAE-デキストラン法を改良することには重要な意義がある。以下、紹介する DEAE-デキストラン法によるマルチプルトランスフェクションは、血球系の細胞や iPS 細胞なども含め、動物から採取された細胞における転写活性プロファイルを評価する系として応用可能である。

3. DEAE-デキストラン法——再現性の高いレポーターアッセイのプロトコール

最近では、プラスミド DNA または siRNA 等を固相化 (付着) させておき、接着細胞に送り込むリバーストランスフェクションが可能となった^{22, 23)}。さらに、siRNA とともにデキストラン、リポフェクタミン、そしてポリビニルアルコール等を用いた方法も報告されている²⁴⁾。このリバーストランスフェクション法をレポーターアッセイに応用すれば、転写メカニズムのハイスループット分析が可能となる。このような背景のもと我々は、DEAE-デキストランを用い、非常に簡便で安価にプラスミド DNA を培養細胞にトランスフェクションするプロトコールを開発した²⁵⁾。多数の DNA ベクターを培養細胞に導入しなければならない場合、これは時間と費用を節約するばかりでなく再現性の高い結果も期待できる方法である。以下、実際の操作方法を述べる。

1) レポータープラスミド DNA の調製

トランスフェクションに用いる二本鎖 DNA プラスミドは、精製し純度の高いものが好ましい。最近では、一般に販売されているプラスミド精製キットのカラムを用いて簡単に調製ができる。使用前に、260 nm の吸光度を測定して濃度を算出し、アガロースゲル電気泳動を行って純度を確認しておくことが必要である。精製された二本鎖 DNA プラスミドは、蒸留水 (精製水) に溶解し (0.5~2 µg/µL)、-20℃ で保存する。

2) 材料の準備

①レポータープラスミド水溶液

マルチウェル細胞培養プレートに付着させるプラスミド DNA は、あらかじめ精製水を加えて 50 ng/µL に希釈しておく。

② DEAE-デキストラン

DEAE-デキストラン (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Sweden) は、精製水に溶解し、フィルター濾過滅菌しておく。この溶液 (5 µg/µL) は少なくとも 2 年間 4℃ で保存可能であるが、1 mL ずつ小分けしておくとしやすい。

③ TBS (++) 溶液 (細胞洗浄溶液)

25 mM Tris-HCl (pH 7.4), 137 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.6 mM Na₂HPO₄, 0.7 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂ の水溶液を調製し、フィルター濾過滅菌しておく。この溶液は少なくとも 2 年間 4℃ で保存可能である。

④マルチウェル細胞培養プレート

滅菌済みでディスポーザブルのプラスチック製 96 ウェル細胞培養用プレート (平底) を用意する。

⑤細胞培養用メディアウム、ウシ胎仔血清

トランスフェクションする細胞の培養に適した培地が必要である。たとえば、HeLa S3, Jurkat 細胞の場合には、10% ウシ胎仔血清 (FCS) を含む培地としてそれぞれ DME または RPMI を用いる。

⑥細胞抽出液調製液

1×Lysis 溶液 (Promega 社 5×Lysis 溶液を精製水で 5 倍希釈して使用): 25 mM Tris-phosphate (pH 7.8), 2 mM DTT, 2 mM 1, 2-diaminocyclohexane-*N, N, N', N'*-tetraacetic acid, 10% グリセロール, 1% Triton® X-100. PLB 溶液 (Promega 社 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 添付の Passive Lysis (5×) 溶液を精製水で 5 倍希釈して使用)。

3) 培養細胞への DNA 導入

DEAE-デキストランを用いたマルチプルトランスフェクションのプロトコールを図 1 に示す。

①レポータープラスミド (100 ng) と DEAE-デキストラン (10 µg) を細胞培養プレートの各ウェルにスポットし (図 1, 内枠)、滅菌状態を保って完全に乾燥させておく。DEAE-デキストラン/DNA を付着させたプレートは、4℃ 乾燥状態で少なくとも 10 か月保存できる (ただし保存する時期に湿度の高い 6 月~9 月が含まれる場合には、保存可能期間を少なく見積もる必要がある)。

②以下の操作は 96 ウェルプレート 1 枚を用いてトランスフェクションする場合で、クリーンベンチ内で操作する。まず、Jurkat 等の浮遊細胞は培養液ごと遠心し、HeLa S3 細胞等の付着細胞はトリプシン処理後、培地に

テクニカルノート

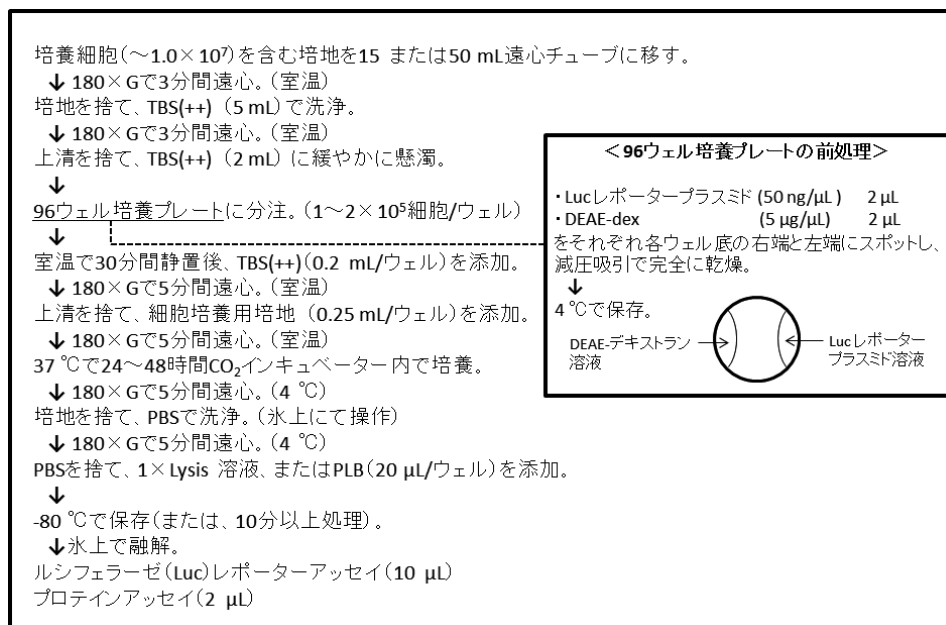


図1 96ウェル培養プレートを用いたDEAE-デキストラン法

懸濁してから遠心して、上清を除いて 1×10^7 個の細胞を回収する。次に、回収した細胞にTBS(++) (2 mL)を加え、軽く懸濁する。(デュアルルシフェラーゼアッセイを行う場合には、TBS(++)溶液にはあらかじめpGL4.74[hRluc/TK]ベクター[Promega, Madison, WI, USA]等の参照用レポータープラスミド(1 μg)を加えておけばよい)。この懸濁液をウェル1か所あたり $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ 個(20〜40 μL)ずつ分注し、30分間静置する。5〜10分おきに軽くプレートを傾けてウェル全体に溶液が行きわたるようにする。

③ TBS(++)溶液(200 μL)を各ウェルに加え、室温で5分間遠心し、上清を除いた後、細胞培養用培地(HeLa S3細胞の場合には10% ウシ胎仔血清(FCS)を含むDME培地)を各ウェルに250 μLずつ加え、37℃、CO₂濃度5%条件で24時間インキュベートする。

④ 付着細胞の場合には遠心しなくてよいが浮遊細胞の場合には遠心してから、PBSで1回洗浄する。上清を除き、各ウェルに20〜40 μLのLysis溶液を加え、軽く振とうして懸濁し、-80℃で凍結させる(この状態で2〜3日保存可能)。氷上で溶解させた溶液を用いてシングルまたはデュアルルシフェラーゼ(Luc)レポーターアッセイを行い、単位タンパク質あたりあるいは単位レニラ(ウミシイタケ) Luc活性あたりのホタルLuc活性を算出する。

以上の方法でpGL3-PromoterベクターをHeLa S3またはJurkat細胞にトランスフェクション後、細胞を回収、調製したサンプルからばらつきの少ないLuc活性を検出できる²⁵⁾。我々は、このプロトコールによる簡便かつ再現性の

高い結果を報告した^{25~27)}。DNA導入効率は細胞の状態やトランスフェクション試薬のロットに左右される場合もあるが、今回HeLa S3に対し、一般に広く用いられているリポソーム法(X社)との比較対照実験を行った(図2)。プロモーター活性の低い順に、pGL4.10[luc2](エンブティベクター)、pGL4-ESR2(ヒトESR2プロモーター領域を含むpGL4.10[luc2])、pGL3-Promoter(SV40プロモーター領域を含むpGL3-Luc)、pGL4-PIF1(ヒトPIF1プロモーター領域を含むpGL4.10[luc2])を用いたところ、いずれの場合においてもDEAE-デキストラン法を行った場合に検出される単位タンパク質あたりのLuc活性は高く、しかもデータのばらつきにも特に大きな問題はない。このように、DEAE-デキストラン法によるマルチプルトランスフェクションは、DNA導入効率、再現性、コストパフォーマンスいずれにおいても優れている。

このように多数のレポータープラスミドを同時に培養細胞に導入することによって、トランスフェクションの数を増やして統計処理できる。また、同一のレポータープラスミドを用いて、種々の薬物に対する応答をスクリーニング分析することにも応用できる。我々は、DEAE-デキストラン法を応用してテロメア関連遺伝子プロモーターの種々の薬物に対する応答を比較分析し、抗老化薬をスクリーニングする系のモデルを提唱した^{27,28)}。ウイルス感染症やがんなど、発現の増大や低下が指標となる遺伝子が明らかとなっているなら、その遺伝子のプロモーター活性を測定する系を確立することによって新規の治療薬の候補化合物が見いだされるかもしれない。

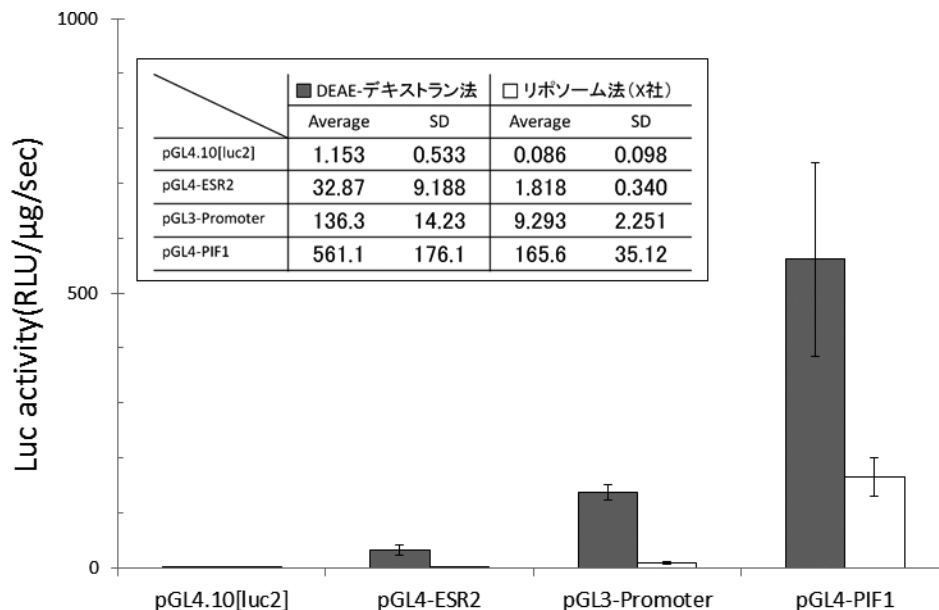


図2 DEAE-デキストラン法とリボソーム法の比較実験

HeLa S3 細胞に DEAE-デキストランまたはリボソームを用いてルシフェラーゼ (Luc) レポータープラスミドをトランスフェクションした後, 96 ウェル細胞培養プレートで培養した. 単位タンパク質あたりの Luc 活性と SD 値を表に示した ($n=10$).

4. ま と め

本稿では, 安価な DEAE-デキストランを用い, 96 ウェルプレートでの遺伝子導入を簡便に, かつ再現性よく行える技術について述べた. この方法は, 昔から種々の培養細胞に DNA を取り込ませる技術として重要であった²⁹⁾. DEAE-デキストラン自体には, 細胞毒性が認められているが, ほかのトランスフェクション法よりも DNA の導入効率が良好な場合には, 非ウイルスベクターを細胞内に送り込む方法としての選択肢の一つとなる. それに, 化合物の修飾や改変によって細胞毒性を低く抑えることは可能である. 最近まで遺伝子治療はウイルスベクターの開発とともに進められてきたが, ベクターの LTR が染色体 DNA へ組み込まれることによって細胞増殖, 細胞周期制御, アポトーシスやシグナル伝達系に関わる遺伝子の発現に影響しないよう配慮しなければならない. したがって, 細胞への導入に非ウイルス性のミニクロモソームベクターを用いる方法によって, 療法の改善を進めることには重要な意義がある.

近年, 遺伝子の変異によって発症するがんの診断が可能になった^{30,31)}. 最近のゲノム研究では, さまざまなヒト疾患における遺伝子発現の変化が示されている^{32,33)}. さらに, *cis* 定量特性部位 (QTLs) を示すトランスクリプトーム解析法は, ある疾患の患者由来の細胞における遺伝子発現と転写状態を示すのに有効である³⁴⁾. DEAE-デキストラン法

によるレポーターアッセイはトランスクリプトームやゲノム解析とはまったく違うもので, 細胞核内における転写プロファイルが示される. 我々が確立したマルチプル DEAE-デキストラン法は, まずは血球系の細胞や iPS 細胞など, 動物から採取された細胞内の転写活性プロファイルを評価する系として応用されるべきである. たとえば, iPS 細胞などで特定の *cis* エLEMENT の活性化あるいは不活化状態を知る手がかりとなる. その結果から, どの遺伝子の発現を人為的に操作すべきか, という治療指針も得られるだろう.

ゲノムワイド分析によると, 糖尿病や自己免疫疾患等では, 転写制御領域 (制御 DNA) の調節が発症に関与することが示唆されている³⁵⁾. ヒトのメラノーマ細胞では, 染色体 DNA 末端の伸長やゲノムの安定性に関与するテロメラーゼのタンパク質サブユニットをコードする *TERT* 遺伝子プロモーター領域に点突然変異が高頻度で検出されることが明らかとなった^{36,37)}. 冒頭で述べたとおり, iPS 細胞を確立するには, 基本的には 4 種類の転写因子を細胞内に導入すればよい³⁾. また最近, 三つの遺伝子 (*Blimp1*, *Prdm14* と *Tfap2c*) をエピプラスト様細胞に導入して始原生殖細胞へと導くことができるという報告がなされた³⁸⁾. 以上の報告は, 転写因子プロファイルの変化が細胞リプログラミングに関係することを示唆している. がん細胞の多くには染色体 DNA の異常³⁰⁾や細胞内代謝異常³⁹⁾が観察される. そのような変化が生ずる前には, おそらく転写プロファイルが変化している, と我々は考えている. が

テクニカルノート

んの診断と治療を的確に行うことができるようになった現在において、次のステップは遺伝子の異常が生ずる前のプロセスを理解し、がんを未然に防ぐ方法を確認することだろう。もし、マルチプル DEAE-デキストラン法を応用して細胞内転写状態を正確に評価できるようになれば、特定の *cis* エLEMENT のオン/オフ状態がわかるばかりでなく、遺伝子制御療法における方針を決める有効な手がかりが得られるかもしれない。さらに、このシステムから得られたデータが蓄積されれば、DNA 塩基配列や代謝異常の起こる前の、つまり発がん前段階細胞の転写プロファイル解析からがんの「超早期発見」が可能になると考えられる。現在、転写制御領域のゲノムワイド分析、そして人為的に転写制御を行って細胞操作する技術等が大きく進歩している。今後は、細胞核内の転写プロファイルを理解することの重要性がますます高まることだろう。

- 1) Ausbel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., & Struhl, K. (1996) *Current Protocols in Molecular Biology*, pp. 9.0.1–9.4.17, John Wiley & Sons Inc., New York.
- 2) Capecchi, M.R. (1989) *Science*, **244**, 1288–1292.
- 3) Takahashi, K. & Yamanaka, S. (2006) *Cell*, **126**, 663–676.
- 4) Rocha, E.P.C. (2013) *Science*, **339**, 1154–1155.
- 5) Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P.D. (2012) in *Molecular Cloning—A laboratory manual*, 4th ed. (Green, M.R. & Sambrook, J. Eds.), Chapter 15, pp. 1131–1208, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- 6) Youmans, A.S. & Youmans, G.P. (1972) *Infec. Immunity*, **6**, 798–804.
- 7) Dianzani, F., Rita, G., Cantagalli, P., & Gagnoni, S. (1969) *J. Immunol.*, **102**, 24–27.
- 8) Pitha, P.M. & Carter, W.A. (1971) *Virology*, **45**, 777–781.
- 9) Vogt, P.K. (1967) *Virology*, **33**, 175–177.
- 10) Somers, K.D. & Kirsten, W.H. (1968) *Virology*, **36**, 155–157.
- 11) Larsen, B. & Thorling, E.B. (1969) *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **75**, 229–236.
- 12) Pagano, J.S. & Vaheri, A. (1965) *Arch. Gesamte. Virusforsch.*, **17**, 456–464.
- 13) McCutchan, J.H. & Pagano, J.S. (1968) *J. Natl. Cancer Inst.*, **41**, 351–357.
- 14) Warden, D. & Thorne, H.V. (1968) *J. Gen. Virol.*, **3**, 371–377.
- 15) Cereghini, S. & Yaniv, M. (1984) *EMBO J.*, **3**, 1243–1253.
- 16) Reeves, R., Gorman, C.M., & Howard, B. (1985) *Nucleic Acids Res.*, **13**, 3599–3615.
- 17) Gulick, T. (2003) *Current Protocols in Cell Biology*, Chapter 20, pp. 20.4.1–20.4.10, John Wiley & Sons Inc., New York.
- 18) Onishi, Y., Eshita, Y., Murashita, A., Mizuno, M., & Yoshida, J. (2007) *Nanomedicine*, **3**, 184–191.
- 19) Eshita, Y., Higashihara, J., Onishi, M., Mizuno, M., Yoshida, J., Takasaki, T., Kubota, N., & Onishi, Y. (2009) *Molecules*, **14**, 2669–2683.
- 20) Onishi, Y., Eshita, Y., & Mizuno, M. (2010) *Polymers Res. J.*, **3**, 415–453.
- 21) Escher, G., Hoang, A., Georges, S., Tchoua, U., El-Osta, A., Krozowski, Z., & Sviridov, D. (2005) *J. Lipid Res.*, **46**, 356–365.
- 22) Mousses, S., Caplen, N.J., Cornelison, R., Weaver, D., Choudary, A., Dougherty, E.R., Suh, E., & Kallioniemi, O. (2003) *Genome Res.*, **13**, 2341–2347.
- 23) Yoshikawa, T., Uchimura, E., Kishi, M., Funeriu, D.P., Miyake, M., & Miyake, J. (2004) *J. Control Release*, **96**, 227–232.
- 24) Fujita, S., Ota, E., Sasaki, C., Takano, K., Miyake, M., & Miyake, J. (2007) *J. Biosci. Bioeng.*, **104**, 329–333.
- 25) Uchiumi, F., Watanabe, T., & Tanuma, S. (2010) *Exp. Cell Res.*, **316**, 1523–1534.
- 26) Uchiumi, F., Watanabe, T., Hasegawa, S., Hoshi, T., Higami, Y., & Tanuma, S. (2011) *Curr. Aging Sci.*, **4**, 1–7.
- 27) Uchiumi, F., Oyama, T., Ozaki, K., & Tanuma, S. (2011) in *DNA Repair* (Kruman, I. Ed.), Chapter 29, pp. 585–596, In-Tech-Open Access Publisher, Inc., Rijeka, Croatia.
- 28) Uchiumi, F., Oyama, T., Ozaki, K., Fukui, M., Ogawa, H., *et al.* (2012) *Pharm. Anal. Acta*, **3**, 166.
- 29) Shimokawa, N., Kato, Y., & Wakabayashi, K. (1990) *Endocrinol. Jpn.*, **37**, 141–150.
- 30) Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V.E., Zhou, S., Diaz, L.A., & Kinzler, K.W. (2013) *Science*, **339**, 1546–1558.
- 31) Kandath, C., McLellan, M.D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., *et al.* (2013) *Nature*, **502**, 333–339.
- 32) Nicolae, D.L., Gamazon, E., Zhang, W., Duan, S., Dolan, M.E., & Cox, N.J. (2010) *PLoS Genet.*, **6**, e1000888.
- 33) Nica, A.C., Montgomery, S.B., Dimas, A.S., Stranger, B.E., Beazley, C., Barroso, I., & Dermitzakis, E.T. (2010) *PLoS Genet.*, **6**, e1000895.
- 34) Lappalainen, T., Sammeth, M., Friedländer M.R., 't Hoen, P.A. C., Monlong, J., *et al.* (2013) *Nature*, **501**, 506–511.
- 35) Maurano, M.T., Humbert, R., Rynes, E., Thurman, R.E., Haugen, E. *et al.* (2013) *Science*, **337**, 1190–1195.
- 36) Huang, F.W., Hodis, E., Xu, M.J., Kryukov, G.V., Chin, L., & Garraway, L.A. (2013) *Science*, **339**, 957–959.
- 37) Horn, S., Figl, A., Sivaramakrishna Rachakonda, P., Fisher, C., Suker, A., Gast, A., Kadel, S., Moll, I., Nagore, E., Hemminki, K., Schadendorf, D., & Kumar, R. (2013) *Science*, **339**, 959–961.
- 38) Nakaki, F., Hayashi, K., Ohta, H., Kurimoto, K., Yabuta, Y., & Saitou, M. (2013) *Nature*, **501**, 222–226.
- 39) Seyfried, T.N. & Shelton, L.M. (2010) *Nutr. & Metabol.*, **7**, 7.

著者寸描

●内海文彰（うちうみ ふみあき）



東京理科大学薬学部生命創薬科学科准教授。博士（医学，薬学）。

■略歴 1962年北海道に生る。87年東京理科大学理学部卒業。89年東京工業大学大学院総合理工学研究科修了。93年東京大学大学院医学系研究科修了。同年東京理科大学薬学部助手。2000年バンダービルト大学にてポストドク（日米共同がん研究プログラム）研究員。01年東京理科大学薬学部講師。10年より現職。

■研究テーマと抱負 現在、重複GGAAモチーフによる転写制御メカニズムの解明を中心に研究を進めています。将来は、細胞内転写プロファイルの解析を応用することによって、がんの超早期発見を可能にしたいと考えています。

■ウェブサイト http://www.tus.ac.jp/fac_grad/p/index.php?lc52

■趣味 料理，音楽鑑賞，カラオケ，温泉。

●大井照人（おおい ひろと）

東京理科大学大学院薬学研究科修士1年。

■略歴 1991年東京都に生る。東京理科大学薬学部卒業。2014年より東京理科大学大学院薬学研究科修士課程に在籍。

■研究テーマと抱負 遺伝子プロモーターの転写調節機構について研究中。

■趣味 バイク整備，ツーリング，鍾乳洞・滝・ダム巡り。

●田沼靖一（たぬま せいいち）



東京理科大学薬学部生化学研究室教授。博士（薬学）。

■略歴 1952年山梨県甲府市に生る。80年東京大学大学院薬学系研究科博士課程薬学専攻修了。80～90年帝京大学薬学部助手・講師（82～84年米国立衛生研究所／癌研究所留学）。90～92年東京工業大学生命理工学部助教授。94年～現在東京理科大学薬学部教授。2001年～現在ゲノム創薬研究センターセンター長（併任）。

■研究テーマと抱負 細胞の生と死の決定機構の解明を基盤とした、癌などのアポトーシス疾患に対するアポトーシス制御性医薬品のリード化合物を *in silico* ゲノム創薬手法を用いて創成することを目指している。

■趣味 溪流釣り，ドライブ，焚火，サボテン栽培。