

奨励賞

石濱 泰氏 [京都大学, 薬学博士]



〔業績〕 質量分析を用いたプロテオームおよびリン酸化プロテオーム解析システムの開発

石濱 泰氏は1990年京都大学工学部を卒業後、1992年京都大学大学院工学研究科修士課程を修了し、同年エーザイ(株)に入社した。1998年に学位(薬学博士)取得後、2001~2003年質量分析を用いたプロテオミクスのパイオニアの一人である Matthias Mann 教授(南デンマーク大学)のもとで客員研究員としてプロテオミクス研究を習得すると、短期間で前処理カラム、分析カラムを含めたプロテオミクス用 nanoLC-MS システムを開発した。これを当時まだゲノム配列解析が進行中であった熱帯熱マラリアのプロテオーム解析にすぐさま応用した (*Nature*, 2002)。この研究はゲノム未知生物種のプロテオーム解析が可能であることを実証した画期的研究として高く評価され、マラリアはゲノム解析とプロテオーム解析が同時に行われた最初の生物種となった。また、ここで開発された前処理カラム “StageTip” や分析カラムは世界規模で販売され、現在広く利用されている。さらに、大腸菌シヤペロニン GroEL 基質プロテオーム解析を U. Hartl 博士(マックスプランク研究所)と行った (*Cell*, 2005)。この研究で開発された新規定量パラメータ emPAI は世界標準のタンパク質同定ソフト Mascot に採用されている。なおこのプロテオーム解析については田口英樹博士(東工大)らとのフォローアップ研究でさらなる成果を報告している (*EMBO J.*, 2010)。Mann 研究室から帰国後、石濱博士は小田吉哉博士(エーザイ(株))とタンパク質を絶対定量する方法(増幅同位体添加法)を創出し、マウス脳の定量的プロテオーム解析に応用した (*Nature Biotechnology*, 2005)。

2006年慶應義塾大学先端生命科学研究所准教授を経て、2010年から京都大学大学院薬学研究科教授として、タンパク質リン酸化修飾の大規模解析を行っている。特にオリジナルなコア技術の開発 (*Mol. Cell Proteomics*, 2007; *Nature Protocols*, 2007) から生物学への応用 (*Mol. Syst. Biol.*, 2008 など) まで幅広い分野で研究を展開している。最近、1回の測定でマイクロアレイ規模のプロテオーム解析を可能にする新しいコンセプトの計測システムを発表した (*Anal. Chem.*, 2010)。このシステムは今後、大きく注目されるものと期待される。

プロテオミクス研究はその技術的な未成熟さゆえに、常に質量分析を用いた「新規技術の開発研究」と「生命科学への応用研究」が必要である。石濱博士はこの二つの研究においていずれも独創的な研究成果を着実に挙げてきた世界的にも希有な研究者である。国内外の学会において多くの招待講演や口頭発表に選ばれ、世界的に高い評価を受けている。

以上のように石濱博士の質量分析とりわけプロテオーム解析分野での質量分析における研究業績はすばらしく、世界に通用するこの世代のリーダーとして今後の質量分析学を支えていく貴重な人材と考えられる。よって2011年度日本質量分析学会奨励賞にふさわしいと認められた。

授賞対象業績リスト

【原著】

- 1) Y. Kyono, N. Sugiyama, K. Imami, K. Miyazaki, M. Ohira, M. Tomita, and Y. Ishihama, 質量分析を用いたリン酸化プロテオミクスにおけるリン酸化ペプチド濃縮用チタニア担体の開発, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **58**, 129-138 (2010).
- 2) H. Nakagami, N. Sugiyama, K. Mochida, A. Daudi, Y. Yoshida, T. Toyoda, M. Tomita, Y. Ishihama, and K. Shirasu, Large-scale comparative phosphoproteomics identifies conserved phosphorylation sites in plants, *Plant Physiol.*, **153**, 1161-1174 (2010).

- 3) Y. Kyono, N. Sugiyama, M. Tomita, and Y. Ishihama, Chemical dephosphorylation for identification of multiply phosphorylated peptides and phosphorylation site determination, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **24**, 2277–2282 (2010).
- 4) H. Imamura, N. Yachie, R. Saito, Y. Ishihama, and M. Tomita, Towards the systematic discovery of signal transduction networks using phosphorylation dynamics data, *BMC Bioinformatics*, **11**, 232 (2010).
- 5) K. Fujiwara, Y. Ishihama, K. Nakahigashi, T. Soga, and H. Taguchi, A systematic survey of *in vivo* obligate chaperonin-dependent substrates, *EMBO J.*, **29**, 1552–1564 (2010).
- 6) M. Iwasaki, S. Miwa, T. Ikegai, M. Tomita, N. Tanaka, and Y. Ishihama, One-dimensional capillary liquid chromatographic separation coupled with tandem mass spectrometry unveils the *Escherichia coli* proteome on a microarray scale, *Anal. Chem.*, **82**, 2616–2620 (2010).
- 7) K. Imami, M. Tomita, and Y. Ishihama, Quantitative proteome and phosphoproteome analyses of cultured cells based on SILAC labeling without requirement of serum dialysis, *Mol. BioSyst.*, **6**(3), 594–602 (2010).
- 8) K. Shinoda, M. Tomita, and Y. Ishihama, emPAI Calc—for the estimation of protein abundance from large-scale identification data by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Bioinformatics*, **26**(4), 576–577 (2010).
- 9) T. Masuda, N. Saito, M. Tomita, and Y. Ishihama, Unbiased quantitation of *Escherichia coli* membrane proteome using phase-transfer surfactants, *Mol. Cell. Proteomics*, **8**, 2770–2777 (2009).
- 10) T. Umezawa, N. Sugiyama, M. Mizoguchi, S. Hayashi, F. Myouga, K. Yamaguchi-Shinozaki, Y. Ishihama, T. Hirayama, and K. Shinozaki, Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **106**(41), 17588–17593 (2009).
- 11) N. Yachie, R. Saito, J. Sugahara, M. Tomita, and Y. Ishihama, *In silico* analysis of phosphoproteome data suggests a rich-get-richer process of phosphosite accumulation over evolution, *Mol. Cell. Proteomics*, **8**(5), 1061–1071 (2009).
- 12) A. Ravichandran, N. Sugiyama, M. Tomita, S. Swarup, and Y. Ishihama, Ser/Thr/Tyr phosphoproteome analysis of pathogenic and non-pathogenic *Pseudomonas* species, *Proteomics*, **9**(10), 2764–2775 (2009).
- 13) A. Nock, J. M. Ascano, T. Jones, M. Barrero, N. Sugiyama, M. Tomita, Y. Ishihama, and S. Malik, Identification of DNA-dependent protein kinase as a cofactor for the forkhead transcription factor FoxA2, *J. Biol. Chem.*, **284**(30), 19915–19926 (2009).
- 14) M. Iwasaki, T. Masuda, M. Tomita, and Y. Ishihama, Chemical cleavage-assisted tryptic digestion for membrane proteome analysis, *J. Proteome Res.*, **8**(6), 3169–3175 (2009).
- 15) N. Sugiyama, H. Nakagami, K. Mochida, A. Daudi, M. Tomita, K. Shirasu, and Y. Ishihama, Large-scale phosphorylation mapping reveals the extent of tyrosine phosphorylation in *Arabidopsis*, *Mol. Syst. Biol.*, **4**, 193 (2008).
- 16) K. Shinoda, M. Tomita, and Y. Ishihama, Aligning LC peaks by converting gradient retention times to retention index of peptide in proteomic experiments, *Bioinformatics* (Oxford, England), **24**(14), 1590–1595 (2008).
- 17) K. Shinoda, M. Sugimoto, M. Tomita, and Y. Ishihama, Informatics for peptide retention properties in proteomic LC-MS, *Proteomics*, **8**(4), 787–798 (2008).
- 18) K. Sagane, Y. Ishihama, and H. Sugimoto, LGI1 and LGI4 bind to ADAM22, ADAM23 and ADAM11, *Int. J. Biol. Sci.*, **4**(6), 387–396 (2008).
- 19) K. Miyamoto, T. Hara, H. Kobayashi, H. Morisaka, D. Tokuda, K. Horie, K. Koduki, S. Makino, O. Nunez, C. Yang, T. Kawabe, T. Ikegami, H. Takubo, Y. Ishihama, and N. Tanaka, High-efficiency liquid chromatographic separation utilizing long monolithic silica capillary columns, *Anal. Chem.*,

- 80(22), 8741–8750 (2008).
- 20) T. Masuda, M. Tomita, and Y. Ishihama, Phase transfer surfactant-aided trypsin digestion for membrane proteome analysis, *J. Proteome Res.*, **7**(2), 731–740 (2008).
 - 21) Y. Kyono, N. Sugiyama, K. Imami, M. Tomita, and Y. Ishihama, Successive and selective release of phosphorylated peptides captured by hydroxy acid-modified metal oxide chromatography, *J. Proteome Res.*, **7**(10), 4585–4593 (2008).
 - 22) Y. Ishihama, T. Schmidt, J. Rappsilber, M. Mann, F. U. Hartl, M. J. Kerner, and D. Frishman, Protein abundance profiling of the *Escherichia coli* cytosol, *BMC Genomics*, **9**, 102(2008).
 - 23) K. Imami, N. Sugiyama, Y. Kyono, M. Tomita, and Y. Ishihama, Automated phosphoproteome analysis for cultured cancer cells by two-dimensional nanoLC-MS using a calcined titania/C18 biphasic column, *Anal. Sci.*, **24**(1), 161–166 (2008).
 - 24) K. Imami, Y. Ishihama, and S. Terabe, On-line selective enrichment and ion-pair reaction for structural determination of sulfated glycopeptides by capillary electrophoresis-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1194**(2), 237–242 (2008).
 - 25) N. Sugiyama, T. Masuda, K. Shinoda, A. Nakamura, M. Tomita, and Y. Ishihama, Phosphopeptide enrichment by aliphatic hydroxy acid-modified metal oxide chromatography for nano-LC-MS/MS in proteomics applications, *Mol. Cell. Proteomics*, **6**(6), 1103–1109 (2007).
 - 26) T. Sato, Y. Ishihama, and Y. Oda, Quantitative proteomics of mouse brain and specific protein-interaction studies using stable isotope labeling, *Methods Mol. Biol.*, **359**, 53–70 (2007).
 - 27) J. Rappsilber, M. Mann, and Y. Ishihama, Protocol for micro-purification, enrichment, pre-fractionation and storage of peptides for proteomics using StageTips, *Nat. Protoc.*, **2**(8), 1896–1906 (2007).
 - 28) M. R. Monton, M. Tomita, T. Soga, and Y. Ishihama, Polymer entrapment in polymerized silicate for preparing highly stable capillary coatings for CE and CE-MS, *Anal. Chem.*, **79**(20), 7838–7844 (2007).
 - 29) Y. Kotake, K. Sagane, T. Owa, Y. Mimori-Kiyosue, H. Shimizu, M. Uesugi, Y. Ishihama, M. Iwata, and Y. Mizui, Splicing factor SF3b as a target of the antitumor natural product pladienolide, *Nat. Chem. Biol.*, **3**(9), 570–575 (2007).
 - 30) Y. Ishihama, F. Y. Wei, K. Aoshima, T. Sato, J. Kuromitsu, and Y. Oda, Enhancement of the efficiency of phosphoproteomic identification by removing phosphates after phosphopeptide enrichment, *J. Proteome Res.*, **6**(3), 1139–1144 (2007).
 - 31) K. Imami, M. R. Monton, Y. Ishihama, and S. Terabe, Simple on-line sample preconcentration technique for peptides based on dynamic pH junction in capillary electrophoresis-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1148**(2), 250–255 (2007).
 - 32) M. Hashimoto, Y. Ishihama, M. Tomita, and T. Soga, Microelectrospray interface with coaxial sheath flow for high-resolution capillary electrophoresis/mass spectrometry separation, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **21**(22), 3579–3584 (2007).
 - 33) Y. Wakabayashi, M. Kobayashi, S. Akashi-Takamura, N. Tanimura, K. Konno, K. Takahashi, T. Ishii, T. Mizutani, H. Iba, T. Kouro, S. Takaki, K. Takatsu, Y. Oda, Y. Ishihama, S.-I. Saitoh, and K. Miyake, A protein associated with toll-like receptor 4 (PRAT4A) regulates cell surface expression of TLR4, *J. Immunol.*, **177**(3), 1772–1779 (2006).
 - 34) H. Saito, Y. Oda, T. Sato, J. Kuromitsu, and Y. Ishihama, Multiplexed two-dimensional liquid chromatography for MALDI and nanoelectrospray ionization mass spectrometry in proteomics, *J. Proteome Res.*, **5**(7), 1803–1807 (2006).
 - 35) K. Murata, N. Mano, N. Asakawa, and Y. Ishihama, Simplified gradient generator for micro- and nano-liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **1123**(1), 47–52 (2006).
 - 36) Y. Ishihama, J. Rappsilber, and M. Mann, Modular stop and go extraction tips with stacked disks

- for parallel and multidimensional peptide fractionation in proteomics, *J. Proteome Res.*, **5**(4), 988–994 (2006).
- 37) M. Kokubu, Y. Ishihama, T. Sato, T. Nagasu, and Y. Oda, Specificity of immobilized metal affinity-based IMAC/C18 tip enrichment of phosphopeptides for protein phosphorylation analysis, *Anal. Chem.*, **77**(16), 5144–5154 (2005).
 - 38) M. J. Kerner,* D. J. Naylor, * Y. Ishihama,* T. Maier,* H. C. Chang, A. P. Stines, C. Georgopoulos, D. Frishman, M. Hayer-Hartl, M. Mann, and F. U. Hartl, Proteome-wide analysis of chaperonin-dependent protein folding in *Escherichia coli*, *Cell*, **122**(2), 209–220 (2005) (* shared first authors).
 - 39) Y. Ishihama, T. Sato, T. Tabata, N. Miyamoto, K. Sagane, T. Nagasu, and Y. Oda, Quantitative mouse brain proteomics using culture-derived isotope tags as internal standards, *Nat. Biotechnol.*, **23**(5), 617–621 (2005).
 - 40) Y. Ishihama, Y. Oda, T. Tabata, T. Sato, T. Nagasu, J. Rappsilber, and M. Mann, Exponentially modified protein abundance index (emPAI) for estimation of absolute protein amount in proteomics by the number of sequenced peptides per protein, *Mol. Cell. Proteomics*, **4**(9), 1265–1272 (2005).
 - 41) H. Katayama, T. Tabata, Y. Ishihama, T. Sato, Y. Oda, and T. Nagasu, Efficient in-gel digestion procedure using 5-cyclohexyl-1-pentyl-beta-D-maltoside as an additive for gel-based membrane proteomics, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**(20), 2388–2394 (2004).
 - 42) J. Rappsilber,* Y. Ishihama,* and M. Mann, Stop and go extraction tips for matrix-assisted laser desorption/ionization, nanoelectrospray, and LC/MS sample pretreatment in proteomics, *Anal. Chem.*, **75**(3), 663–670 (2003) (* shared first authors).
 - 43) E. Lasonder, Y. Ishihama, J. S. Andersen, A. M. Vermunt, A. Pain, R. W. Sauerwein, W. M. Eling, N. Hall, A. P. Waters, H. G. Stunnenberg, and M. Mann, Analysis of the *Plasmodium falciparum* proteome by high-accuracy mass spectrometry, *Nature*, **419**(6906), 537–542 (2002).
 - 44) Y. Ishihama, J. Rappsilber, J. S. Andersen, and M. Mann, Microcolumns with self-assembled particle frits for proteomics, *J. Chromatogr. A*, **979**(1–2), 233–239 (2002).
 - 45) Y. Ishihama, H. Katayama, N. Asakawa, and Y. Oda, Highly robust stainless steel tips as microelectrospray emitters, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **16**(10), 913–918 (2002).
 - 46) H. Katayama, Y. Ishihama, Y. Oda, and N. Asakawa, Electrophoretic mobility-assisted identification of proteins by nanoelectrospray capillary electrophoresis/mass spectrometry under methanolic conditions, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**(14), 1167–1178 (2000).
 - 47) Y. Ishihama, H. Katayama, and N. Asakawa, Surfactants usable for electrospray ionization mass spectrometry, *Anal. Biochem.*, **287**(1), 45–54 (2000).

【総説】

- 1) K. Imami, M. Tomita, and Y. Ishihama, Development of dual stable isotope labeling by amino acids in cell culture and application to quantitative proteomics, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **58**(2), 81–87 (2010).
- 2) T. Masuda and Y. Ishihama, Sample preparation methods for large-scale analysis of membrane proteins using shotgun proteomics, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **57**(3), 145–151 (2009).
- 3) Y. Ishihama, プロテオーム解析用固相抽出ミニカラム StageTip の開発, *BUNSEKI KAGAKU*, **57**(12), 1011–1018 (2008).
- 4) Y. Ishihama, Optimization of nano-liquid chromatography coupled with mass spectrometry for proteomics, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **55**(3), 157–164 (2007).