
総 説

プロテオームを理解する

池 川 雅 哉

京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学*

Understanding Proteome

Masaya Ikegawa

*Department of Genomic Medical Sciences,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

プロテオーム研究は、質量分析技術とバイオインフォマティクスなどの周辺技術の発達によって大きく発展している。特に、プロテオームを用いたバイオマーカー研究は、トランスレーショナルリサーチの重要性の着目される中、非常に期待されている。タンパク質同定は、細胞・組織などから抽出したタンパク質を二次元電気泳動ゲルにて展開し、ゲルから切り出した試料をソフトレーザー脱離イオン化(MALDI)型TOF-MSによって同定する。また多次元LCとTOF-MS/MSを結びつけてタンパク質同定を網羅的に行なうショットガンアプローチも有効な方法である。質量分析の検出力が上がると同時に、調整する細胞数を減らし、少量のサンプルから解析することも可能となった。一方、プロテオミクスは難易度の高い分野であり、その方法はまだ、必要な質や量のデータが作成されていない。本稿では、最新のプロテオーム研究の利点や問題点について総説し、我々の最近の研究を紹介した。

キーワード: ゲノム, プロテオーム, バイオインフォマティクス, バイオマーカー, マスイメージング。

Abstract

Proteome research has been greatly developed with the invention of mass spectrometry (MS) and related technologies including bioinformatics. Of note, translational research (TR) has become a keyword for today, proteomic approach is appealing many scientists as well as clinicians. In proteome analysis, a large number of proteins are separated on 2-DE gels and was detected by matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)-TOF MS. Recently, "shotgun" proteomics has become useful by using multidimensional LC, followed by tandem MS to determine the sequences. This enables us to start experiments with much less amount of cells and tissue samples for proteome analysis. However, with all these developments, quantitative and functional proteome is still challenging. Here we discuss suitability and pitfall of proteome research today and will introduce some of our recent study.

Key Words: Genome, Proteome, Bioinformatics, Biomarker, Imaging mass spectrometry.

はじめに

20世紀後半は、「生命科学」の時代といわれ、分子生物学が爆発的に進歩し、ゲノムに書き込まれた遺伝情報が読み取られてタンパク質が作られる基本原理が明らかとなった。その潮流の到達点として、ヒトゲノムの塩基配列の解読が達成され、2001年に粗稿が、2003年に最終稿が公表された。国際ヒトゲノム計画は、このDNA配列を解明するため、10年以上にわたり多大な努力を重ね、米国におけるゲノムマップ完成式典において、クリントン大統領の隣には、フランシス・コリンズとクレイグ・ベンターが並んだ。「人類がこれまで作成した地図の中でこの地図こそ最も重要で最も驚くべきものであることは疑いありません。今日、私たちは、神が生命を造られるのに用いた言語を学んでいるのであります。」¹⁾。文字通り、我々は、人体の設計図を手に入れたことになる。その設計図はATGCの4文字で書かれた暗号文である。その解読にはまだかなりの時間を要するとはいえ、ゲノム情報は生命科学の様々な分野の今後の発展にきわめて強固な基盤となっていることは間違いない。そしてRNA、プロテオーム、構造生物学、糖鎖生物学、細胞生物学などが、目覚ましい速度で発展しつつある。

その発展を象徴するような大きな発見が、2006年の京都から発信された。山中伸弥博士らによるiPS細胞の開発である²⁾。山中教授と高橋助手は、ES細胞のトランスクリプトーム解析の結果を詳細に検討し、マウス体細胞の再プログラミングに挑み、これまで誰もがいもよらない方法で実証してみせた。すなわち、4つの遺伝子、Klf4, Oct3/4, Sox2, c-Mycをウイルスベクターを用いて導入する方法である。さらに2007年、ヒト繊維芽細胞を用いたiPS化に成功した。この成果は、現在の生命科学のみならず、医学にも大きなインパクトを与え、難病の治療や薬の開発に一条の光を与えたことは、新しい可能性に向けての再生医療の第一歩である。

ゲノムからプロテオームへ

21世紀を「ポストゲノム時代」とみなす研究者は多い。それは、ゲノム配列の決定や既知のゲノムの配列の分析が完全に終了した、という意味ではない。ポストゲノム時代は単に、ゲノム情報を得るための技術的な障害が解決された、ということの意味する。次の大きな課題は、プロテオーム (proteome) について理解することである。プロテオームがまだ完全に定義されていないため、プロテオミクス (proteomics) は、難しい分野であるといわれている³⁾。その一方で、プロテオームは流動的なものを対象としているので、難易度が高いともいわれている。我々の身体の細胞は、すべて同じゲノムを備えており、生まれてから死ぬまでずっと同じDNA配列である。しかし、身体の各細胞には、それぞれ異なるプロテオームがある。細胞間で生じる変異に加えて、時間をかけてプロテオームが変化する細胞もある。また、年齢を重ねるにつれて、プロテオームも刻々と変化する。薬、運動、食事など、プロテオームは、細胞内環境と細胞外環境のあらゆる変動に反応して変化する。我々は、それぞれのタンパク質がどのように機能するか (分子機能)、タンパク質がどの細胞回路に対して作用するか (生物学的プロセス)、およびタンパク質が細胞内のどの部分に位置するか (細胞構成成分)を知りたいと考えている。これらの特性を発見する一つの方法は、ある遺伝子をノックアウト (不活化) し、新しい表現型を探すことである。表現型を見分けるために一つの遺伝子を欠失させるのは、ある意味、古典的な遺伝学的手法であるともいえる。その一例を引用しよう。

我々は、分泌型タンパク質であるWntアンタゴニストSFRP2 (SDF-5)の機能解析を目的としてSDF5欠損マウスを作成した⁴⁾。SDF5欠損マウスの表現型 (合指症、軸前性多指症およびkinked tail)を、3系統、500匹以上のマウスを対象として詳細に検討した。また、whole mount *in situ* など、発生学的手法を用いて四肢形態形成におけるSFRP2の役割について検討した。合

指症は、129SvJ inbred および、CBA/N x 129SvJ chimeric background にて、優位に認められ、また、軸前性多指症は、C57Bl/6 x 129SvJ に優位であった。また、webbing の位置情報と *SFRP2* allele 量および遺伝子背景には、非常に特徴的な傾向が認められた。合指症モデルで、指間細胞のアポトーシスの抑制と *Msx2* 発現の抑制が認められた。指間細胞のアポトーシスに関して AER dysfunction の関与の可能性は否定的である。なぜなら、このモデルにおける AER の形成は、正常である。この軸前性多指症モデルは、これまでにマウス、ニワトリ、ヒトにおいて報告例のある *Shh* 発現に異常を認めるようなミラーイメージ異常ではないこと、ホメオボックス異常ではないことなどから、新しい軸前性多指症モデルと考えられた。*SFRP2* の四肢形成における特徴的な発現パターンから、*SFRP2* が、軟骨分化や、パターン形成に何らかの役割を果たしている可能性が示唆されてきたが、今回の解析では、軸前性多指症の histology において、異所性の軟骨分化や、成長版の過形成などの表現型が観察された。kinked tail の histology においても、異所性の軟骨分化や、成長版の過形成など、軸前性多指症によく似た表現型が観察された。以上の考察より、*SFRP2* は、マウス指形成において、その時間空間的発現に特徴が認め

られるだけでなく、非常に重要な機能を果たしていることが明らかとなった。すなわち、*SFRP2* は、指間細胞のアポトーシスや、*Msx2* 発現制御にかかわっていること、関節部位における軟骨分化の制御にかかわっていることなどが示唆された。同一の遺伝子欠損によって、遺伝的背景ごとに合指症と軸前性多指症および尾形成異常を引き起こす新しいモデルと考えられる。

このノックアウトマウスの解析から、我々が学んだことは、二つある。まず、一つ目は、上述のように、マウスにおいて、たった一つの遺伝子を改変したとしても、その表現型を修飾する遺伝的因子 (genetic modifier) が存在するため、表現型は、マウスのストレイン (遺伝的背景) によって浸透率や表現型は多様になる可能性のあること、また二つ目には、四肢形態形成に関わる分子メカニズムの解析を非常にエレガントな genetic な方法を用いて証明してきた発生学の成果の重要性である。これは、いわば四肢形態形成システムの解析を可能としたコンテキストであり、このシステムの情報があったからこそ、我々のノックアウトマウスの表現型の分類が可能となった。たとえば、図 1 に示したのは、我々の解析した *SFRP2* (SDF-5) と *GDF-5* の同じステージにおける mRNA の分布 (*in situ* hybridization) の結果である。両遺伝子のマウ

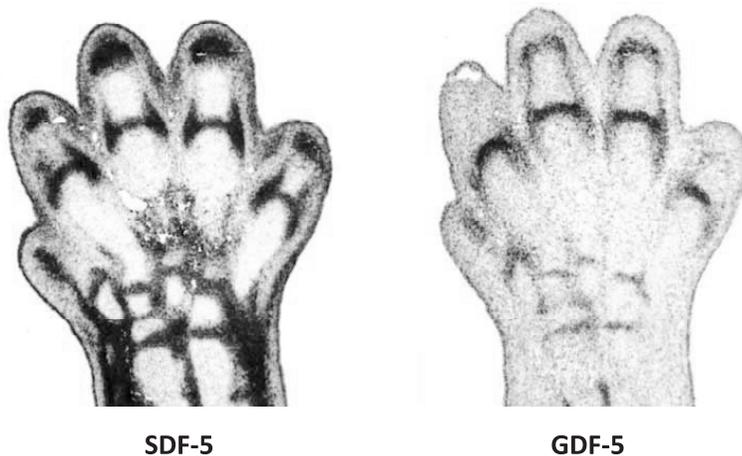


図 1

ス胎仔の発達途上の関節における発現パターンは、非常によく似かよっているにも関わらず、GDF-5のノックアウトマウスの表現型は、短指症 (brachydactyly) で、まるでSFRP2ノックアウトマウスの軸前性多指症や合指症とは、対照的であった⁴⁾。すなわち、これからは、トランスクリプトの解析から得られた情報に加えて、エフェクター分子としてのタンパク質の解析へと発展させることの重要性を示唆している。

2次元電気泳動法によるプロテオーム

さまざまな時点でプロテオームに存在するタンパク質のリストは不可欠である。脳細胞にはどのようなタンパク質が含まれているだろうか、肝臓細胞や筋肉についてはどうだろうか、さらに大腸菌や酵母細胞ではどうだろうか。細胞周期の各段階で、プロテオミクスが重大な影響を与えるのであれば、これらの疑問は解決する必要がある。この分野におけるこうした研究の主要目的は、ある時点での細胞内タンパク質を各々同定し定量化することである。すなわち、プロテオームを定義すること。最近まで、プロテオームを定義するための最も優れた方法は、2次元電気泳動であった。

1970年代半ば以来、2次元電気泳動法はプロテオミクスに大きく貢献した³⁾。2次元電気泳

動法は、等電点 (1次元目) と分子量 (2次元目) に基づいてタンパク質を分離する。あらゆる分子と同じように各タンパク質の純電荷は、周辺の環境のpHに左右される。pHが変化すると、純電荷も変化する。タンパク質の純電荷がゼロでタンパク質の運動が停止すれば、局所環境のpHは、等電点に相当するであろう。タンパク質の等電点は、そのアミノ酸配列に左右される。そのために電荷に基づいてタンパク質の混合物を分離できる。タンパク質は、等電点によっていったん分類されると、標準SDS-PAGEを使用して2番目のゲルに配置され、分子量によって分離される。最終生成物は、複雑なプロテオームにおけるタンパク質を各々定義するパターンのスポットとスメアである。残念なことに、この方法では十分に分離されないタンパク質もあるので、そのようなタンパク質は検出されないことがよくある。特に塩基性の強いタンパク質、微小なペプチド、可溶化が難しいタンパク質が二次元ゲルでは検出されないことがある。2次元ゲルは多くのタンパク質を分離するが、この方法の限界にプロテオームの定義を試みる研究者たちは、いらだつ。標本作製は、非常に重要で、どのプロテオームを研究したいかによって大いに左右される (図2)。

たとえば、脳実質からタンパク質を抽出する

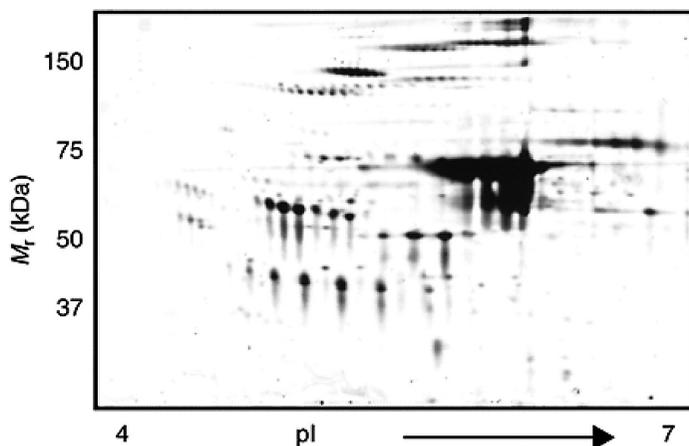


図2

には、特別な分画法を試す必要がある。また、中間期のクロマチン構造を決定するプロテオームとは何か？という問いかけを大量のリンパ球の培養を行い、念入りの細胞分画法の末、細胞機能と結びつくような未知のタンパク質をリスト化した優れた研究がある⁵⁾。彼らは各スポットをゲルから取り出し、MALDI/MS/MSを使ってタンパク質を同定した。すでに説明したように、この方法では簡単に分離できないタンパク質もある。最も厄介な問題は、1) スポットの検出 2) 各スポットの定量化 3) 各スポットの識別である。これらを克服するため、いくつかの新しい技術が報告されている。すなわち、スポットの検出のための Western Blot, クーマシー染色, 蛍光色素, 各スポットの定量化のための蛍光色素, 各スポットの識別のためのフィンガープリントなどである。

質量分析によるタンパク質の同定

生命科学の分野においてマススペクトロメトリー (mass spectrometry, MS) が大いに威力を発揮する以前から、MS は低分子や元素の解析に利用されていた。筆者は、1990~1992年、南極あすか基地で越冬を経験し⁶⁾、この際採取した南極の表面雪を持ち帰り、誘導結合型プラズマ・マススペクトロメトリー (ICP-MS) を用いて、南極・北極の大気・水環境の解析を通じて地球規模の物質循環や元素の起源についての研究を行った^{7,8)}。一方、生命科学における MS には二つの主要要素がある³⁾。一つは、タンパク質がすべて、質量電荷比 (mass to charge ratio. タンパク質の電荷に対する分子量の比) に基づいて分類できること、もう一つは、タンパク質がペプチド断片に分割され、各タンパク質の同定が容易になることである。各タンパク質の同定に必要な四つのステップを考察する。2) と 4) では別々の質量分析計が使用されるので、プロセス全体をタンデム MS (MS/MS) と呼ぶことがよくある。

1) イオン化：タンパク質の標本を、タンパク質をイオン化する装置に注入する。マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) と

熱スプレイイオン化 (ESI) という二つの方法がよく利用される。これらの方法はともに、電荷した (イオン化した) タンパク質の混合物を照射し、エネルギーを吸収するとタンパク質がイオン化される。そして、質量分析計 (MS) に送られる。ESI では、タンパク質を含む溶媒に強い電荷が加えられ、溶媒が蒸発し、タンパク質がイオン化される。MALDI においても ESI においても、イオン化したタンパク質は MS に入る。

2) 分離：タンパク質はいったんイオン化されると、質量と電荷を測定する必要がある。このプロセスは2段階になっている。最初にイオンが集められ、次に同一のタンパク質のグループがそれぞれ検出器に移動するのに要した時間が計測される。このタイミングによって、質量 (m) 電荷 (z) 比 (m/z と省略) が決定される。m/z の検出技術は急速に進んでいるが、詳細にこだわる必要はない。各タンパク質の m/z 比がいったん測定されると、コンピュータによって、一つの標本から (m/z 比によって定義される) 同一のタンパク質が選別され、活性化槽に送られる。このプロセスは自動化されているので、m/z 比が異なるタンパク質が、次から次へとすばやく活性化槽に送られる。

3) 活性化：タンパク質を m/z 比によって選別してから、小さな断片に分割する必要がある。これはタンパク質をおのおの、アルゴンを充填した槽に送ることによって行われる。この不活性ガスはイオン化したタンパク質と衝突し、ガスの振動エネルギーによってタンパク質を2個の断片に分割する。このタンパク質の各断片には、もとのタンパク質のアミノ基 (標識 b) とカルボキシル基 (標識 y) の部分がそれぞれ含まれており、この各断片によって電荷が運ばれると考えられる。同じタンパク質のグループの分割は複数の場所で起こっているため、ペプチド断片の組み合わせがいくつも生成されるであろう。タンパク質はどこでも分割できるので、タンパク質が大きければ、生成されるペプチドの断片組み合わせは多くなる。

4) 質量決定：二つの隣接する MS がある。

在、我々も血清などの臨床サンプルから複合体の解析ができないか、新しい手法について模索している。

どのようなタンパク質が存在するのか、それぞれのタンパク質はどのように機能して、どのパートナーと相互作用するのかが複合体のテーマであった。しかし、プロテオームを完全に理解するには重要な問題がまだ二つ残っている。タンパク質はおのおのどのくらい存在するのか：定量的プロテオーム¹⁴、リン酸化などのタンパク質の修飾を測定できるか：翻訳後修飾の解析¹⁵。この分野における進展も著しい。両テーマにおける最新のすばらしい研究成果を引用したい¹⁴⁾¹⁵⁾。

バイオインフォマテイクス

プロテオーム全体の相互作用を理解する事は可能か。今では、プロテオームは、遺伝子より多くのタンパク質を有するとともに複雑なネットワークであり、各々の相互作用に関する機能上の役割の理解を助ける有益な方法が多数ある。目標は、この情報をすべてタンパク質の集積回路図に統合する事である。多くの役立つプロテオミクス情報が依然として発表されたゲノム配列の中に隠れたままである。ゲノムの *in silico* 分析によって、合理的なモデルが製作される。そのモデルは、研究室において検査できるが、ある種の単一遺伝子ともう一つの種の複数の遺伝子によってコードされたタンパク質に限定される。確かに、これらの基準に適さないタンパク質の相互作用が存在するに違いない。したがって、そのような相互作用を計測する方法もまた必要である。配列分析は、不十分なので、より直接的なハイスループット法が必要である。

ショットガンプロテオミクスとよばれる解析方法によって、膨大な量の同定されたタンパク質がリスト化された後、これをどのように解釈すればいいだろうか？最近、プロテオミクスの分野においても Gene Ontology と呼ばれるゲノムグループのコンソーシアムによって提案された分類方法を当てはめることが提唱され始めた¹⁶⁾。GOC は、その協同研究において、「機能

という言葉の意味を、次のように厳密に分類した。

1. 生物学的プロセス：なぜそのように行動するのか？
2. 分子機能：どのような種類の分子か？
3. 細胞構成成分：細胞のどこに局在するのか？

これによって、健常と異常サンプルにおいて2群間で量的な差の認められたタンパク質を特定して、一個一個の候補タンパク質を、ELISA や Western Blot 法などの方法で validation してゆく、という従来の方法から、一歩進んで、その病気の進行の結果、タンパク質レベルの差が認められる分子群が、はたしてどのような機能を担っている分子群であるか、についての「機能的」プロテオームが得られる。この手法を応用するための、さまざまなソフトの開発が試みられており、データベースそのものの update も盛んに行われている状況である。

バイオマーカーの探索

2002年、われわれがプロテオームの手法を用いて細胞内のタンパク質複合体解析を行っていたとき、島津製作所の田中耕一博士が、ノーベル化学賞を受賞したことは、今も記憶に新しい。あれから7年近くがすぎ、田中博士は、最新の質量分析機の開発に今も余念がなく、質量分析討論会などでは、自らポスターの前にたち発表を行っておられる。田中博士の常々、掲げておられる目標は、ベッドサイド診断にも資する質量分析、一滴の血液から万病を知る、である。我々は、過去に、血清中に微量しか存在しないケモカインの高感度定量法を開発し、AIDS における genetic association を 1980年代から研究している米国 National Cancer Institute (NCI, Frederick) の S.J. O'Brien 博士のグループと共同研究を行い、米国のゲノムコホート調査の結果得られた SDF-1 3'UT の single nucleotide polymorphism (SNP) が、AIDS outcome と関連があるという同博士らの仮説の検証に取り組み、日本人における HIV 耐性遺伝子多型の疫学研究を行った¹⁷⁾。その結果、200人に及ぶ日本

人 HIV-1 感染者血清中 SDF-1 濃度と AIDS の進展との間に関連のあることを見いだした。広義での multi-factorial disease における genetic association の研究において、タンパク質レベルの観察に考察を進めた。この研究で、非常に濃度の低い血中ケモカイン濃度の測定のために、実に様々な要因について検討した。このことは、血清プロテオームの課題について考察することに通じている。

血清プロテオームの問題点は、特にさまざまなバイオマーカー探索分野で問題にされてきた¹⁸⁾。タンパク質の存在比の問題、定量的な評価の必要性などである。また、疾患ごとに、血清あるいは血漿に反映される病態や組織特異性の問題などである。これを克服するために、さまざまなアプローチが行われている。たとえば、あらかじめアルブミンやイムノグロブリンを除去してから濃縮したサンプルを解析するなどである。

最近、このような複雑な体液組織からバイオマーカー探索を行う目的で開発されたマグネットビーズ・MALDI-TOF MS (ClinProt) 法がある¹⁹⁾。この手法は、SELDI 法というタンパクチップ法と概念を一にしたバイオマーカー・パターン解析法に、さらに改良を加えた手法である。ClinProt は、対象とする分子群の修飾状況(糖鎖付加, リン酸化)によって選別することも可能である。我々も、この手法を用いて涙液¹⁹⁾、脳脊髄液などを対象とした臨床プロテオーム解析を行っている(図4)。

統合的プロテオームへの展望

プロテオームを簡単に定義でき、どのタンパク質が相互作用するのか決定されていて、in vitro での機能を測定できたとして、そのとき、何か残っているものはないだろうか。脂質、糖、ステロイドはどうか、ミネラルやイオン濃度²⁰⁾は、代謝中間体は？細胞構成成分のリストは多

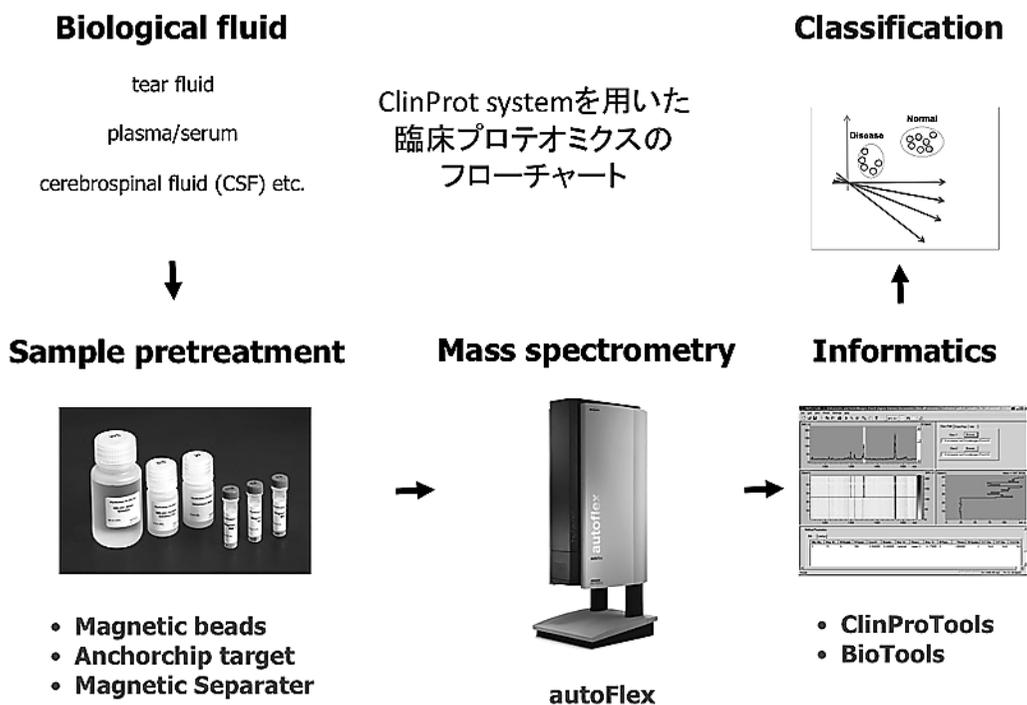


図4

様なものなので、タンパク質とmRNAしか取り扱わなかった、すなわち、生体のホメオスタシスは、単に転写や、翻訳だけではない。プロテオームについてもまだ完全に定義できていないが、世界中の研究者たちはすでに、メタボローム (metabolome; 細胞の代謝状態全体) の可能性を追求しはじめている (図5)。

プロテオミクス研究は、現在の科学技術の最前線である。進歩は最先端領域のさまざまな場所から起きるが、その領域の間を埋めるように

他の進歩が起きる。後発する進歩のペースは速い。プロテオミクスの方法は変化が速く、大きく進歩している。数年後には、多くのトピックに関する展望が変わっていくだろう。新しい展望によって、細胞網の複雑さに対する新しい疑問と洞察が生まれるであろう。また、このような網羅的解析が、時には人々を驚嘆させるような生命現象の神秘に誘うことは前述したとおり、山中博士らのiPS細胞の研究開発がまさに現在を象徴している。近年、細胞の再プログラ

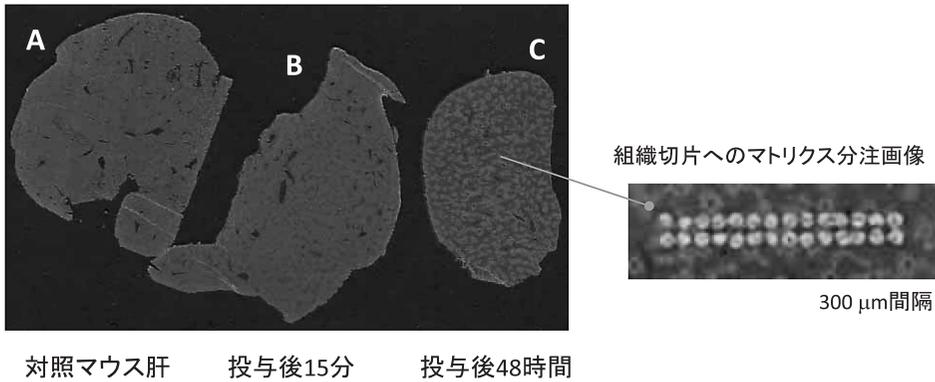
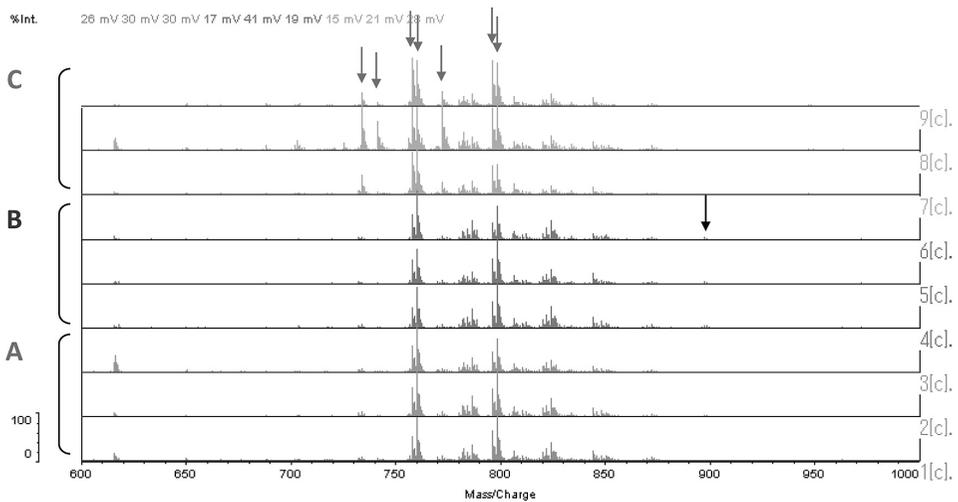


図5-1



A: 組織切片A(対照マウス肝)、B: 組織切片B(投与後15分)、C: 組織切片C(投与後48時間)

図5-2

ム化に必要な特定因子は、タンパク質の形でも実行可能であることが明らかとなり、今後も、国境を越えた研究成果が続々と報告されることが期待される。

プロテオミクスは、依然として難易度の高い分野であり、その方法はまだ、必要な質や量のデータが作成されていない。二次元ゲルは、プロテオームにあるタンパク質を同定する最初の方法であったが、タンデム質量分析法を利用する新しい方法では、より多くのタンパク質が同定できる。安定同位体を組み入れることによって、時間とともに変化するプロテオームにあるタンパク質を同定するだけでなく定量化もできる。タンパク質チップは急速に高性能化され、間違いなくプロテオミクスに大きな影響を与えるであろう。ツールの精度が増したことで、単一タンパク質の研究が開始され、複数の分子からなる大きなプールで研究していたときには見えなかった新たな特性が発見されている。単一分子の機能から単一細胞プロテオミク

スまで、タンパク質の異種性と複雑な細胞回路、およびタンパク質の代謝生成物が認識され始めている。時間とともに新しい技術が生まれ、新しい研究領域に対する見方も変化することがある。一方で、ベッドサイドにおける臨床医の診断²¹⁾に基づいた貴重な観察や試料が、臨床におけるプロテオーム理解の出発点である。近年、迅速臨床研究についての重要性が指摘されている²²⁾。われわれもプロテオームを理解して、さらにその知識をベッドサイドで役立てるため、その可能性を追究してゆきたい。

謝 辞

このような研究の機会を与えてくださった田代 啓先生（京都府立医科大学，ゲノム医科学）に深謝いたします。また、共同研究者として、大見奈津江，田中雅深（京都府立医科大学，ゲノム医科学），関山英一，木下茂（京都府立医科大学，眼科），戸口田淳也（京都大学，再生医学研究所），嶋田崇史，佐藤孝明，中西 豪，箕畑俊和，藤分秀司（鳥津製作所），松山由美子，葦澤 崇（ブルカールダルトニクス）諸先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Francis Collins. 「ゲノムと聖書」中村 昇訳. NTT 出版, 2008.
- 2) Takahashi K, Okita K, Nakagawa M and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. *Nature Protocols* 2007; 2: 3081-3089.
- 3) Campbell AM, Heyer LJ. Discovering GENOMICS, PROTEOMICS, & BIOINFORMATICS. Pearson Education Inc, 2003.
- 4) Ikegawa M, Han H, Okamoto A, Matsui R, Tanaka M, Omi N, Miyamae M, Toguchida J, Tashiro K. Syndactyly and Preaxial Synpolydactyly in the Single *Sfrp2* Deleted Mutant Mice. *Developmental Dynamics* 2008; 237: 2506-2517.
- 5) Uchiyama S, Kobayashi S, Takata H, Ishihara T, Hori N, Higashi T, Hayashihara K, Sone T, Higo D, Nirasawa T, Takao T, Matsunaga S, and Fukui K. Proteome analysis of human metaphase chromosomes. *J Biol Chem* 2005; 16994-17004.
- 6) Ikegawa M, Kimura M, Makita K, Itokawa Y. Psychological studies of a Japanese winter-over group at Asuka Station, Antarctica. *Aviat Space Environ Med* 1998; 69: 452-460.
- 7) Ikegawa M, Kimura M, Honda K, Makita K, Fujii Y, Itokawa Y. Springtime peaks of trace metals in Antarctica now. *Environ Health Perspectives* 1997; 105: 654-659.
- 8) Ikegawa M, Kimura M, Honda K, Akabane I, Makita K, Motoyama H, Fujii Y, Itokawa Y. Geographical variation of major and trace elements in East Antarctica. *Atmospheric Environment* 1999; 33: 1457-1467.
- 9) Kinoshita K, and Honjo T. Linking class-switch recombination with somatic hypermutation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2001; vol.2: 493-502.
- 10) Doi T, Kinoshita K, Ikegawa M, Muramatsu M, Honjo T. De novo protein synthesis is required for the activation-induced cytidine deaminase function in class-switch recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 2634-2638.
- 11) Ta VT, Nagaoka H, Catalan N, Durandy A, Fischer A, Imai K, Nonoyama S, Tashiro J, Ikegawa M, Ito S, Kinoshita K, Muramatsu M, Honjo T. AID mutant

- analyses indicate requirement for class-switch-specific cofactors. *Nat Immunol* 2003; 4: 843-848.
- 12) Matsui Y, Watanabe J, Ikegawa M, Kamoto T, Ogawa O, Nishiyama H. Cancer specific enhancement of cisplatin-induced cytotoxicity with triptolide through an integration of inactivated glycogen synthetase kinase-3 beta with p53. *Oncogene* 2008; 27: 4603-4614.
 - 13) Ruotolo BT, Benesch JLP, Sandercock AM, Hyung S-J & Robinson CV. Ion mobility-mass spectrometry analysis of large protein complexes. *Nature Protocols* 2008; 3: 1139-1152.
 - 14) Gygi SP, Rist B, Gerber SA, Turecek F, Gelb MH, Aebersold R. Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tag. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 994-999.
 - 15) Oda Y, Nagase T, Chait BT. Enrichment analysis of phosphoproteome. *Nature Biotech* 2001; 19: 379-382.
 - 16) Dimmer EC, Huntley RP, Barrell DG, Binn D, Draghici S, Camon EB, Hubank M, Talmund PJ, Apweiler R, and Lovering RC. The Gene Ontology-Providing a Functional Role in Proteomic Studies. *Practical Proteomics* 2008; 1: 2-11.
 - 17) Ikegawa M, Yuan J, Matsumoto K, Herrmann S, Iwamoto A, Nakamura T, Matsushita S, Kimura T, Honjo T, Tashiro K. Elevated plasma stromal cell-derived factor 1 protein level in the progression of HIV type 1 infection/AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001; 17: 587-595.
 - 18) Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1: 845-867.
 - 19) Sekiyama E, Matsuyama Y, Higo D, Nirasawa T, Ikegawa M, Kinoshita S, Tashiro K. Applying Magnetic Bead Separation / MALDI-TOF Mass Spectrometry to Human Tear Fluid Proteome Analysis. *J of Proteomics and Bioinformatics* 2008; Vol.1.7: 365-370.
 - 20) 池川雅哉. 「第5編 第3章 リチウム」ミネラルの科学と最新応用技術, シーエーシー出版, 2008; 324-330.
 - 21) 池川雅哉, 枝 雅俊, 金地研二, 木村雅英翻訳. Dr. ウイリスのベッドサイド診断—病歴と身体診察でここまでわかる! G.C. Willis 著, 松村理司監訳. 東京: 医学書院, 2008.
 - 22) 井村裕夫. 統合的迅速研究とオミックスへの期待. 日本ヒトプロテオーム機構 (JHUPO) 第7回大会. 東京: SIL-1, 2009.

著者プロフィール



池川 雅哉 Ikegawa Masaya

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学 准教授

略 歴：1987年 京都大学医学部医学科 卒業

1987年 京都大学医学部附属病院 内科学教室 研修医

1988年 市立舞鶴市民病院 内科医師

1990年 国立極地研究所 第32次南極地域観測隊越冬随員 文部技官

1994年 京都大学大学院医学研究科社会医学系社会予防医学部門環境

医学専攻（博士課程）入学 1998年 同上終了，博士号取得

1994年 京都拘置所 医務課長 法務技官 医師

1998年 京都大学大学院医学研究科分子生物学 研修員

2004年 京都府立医科大学大学院研究科分子医科学部門ゲノム医科学教室

准教授（現在に至る）

専門分野：ゲノム医科学

- 業 績：1. Ikegawa M, Kimura M, Honda K, Makita K, Fujii Y, Itokawa Y. (1997) Springtime peaks of trace metals in Antarctic snow. *Environ Health Perspect.* 105(6): 654-9.
2. Ikegawa M, Kimura M, Makita K, Itokawa Y. (1998) Psychological studies of a Japanese winter-over group at Asuka Station, Antarctica. *Aviat Space Environ Med.* 69(5): 452-60.
3. Ikegawa M., Kimura M., Honda K., Akabane I., Makita K., Motoyama H., Fujii Y., Itokawa Y., (1999) Geographical variation of major and trace elements in East Antarctica., *Atmospheric Environment*, 33, 1457-1467.
4. Ikegawa M, Yuan J, Matsumoto K, Herrmann S, Iwamoto A, Nakamura T, Matsushita S, Kimura T, Honjo T, Tashiro K. (2001) Elevated plasma stromal cell-derived factor 1 protein level in the progression of HIV type 1 infection/AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 17(7): 587-95.
5. Kanatsu-Shinohara M, Ogura A, Ikegawa M, Inoue K, Ogonuki N, Tashiro K, Toyokuni S, Honjo T, Shinohara T. (2002) Adenovirus-mediated gene delivery and in vitro microinsemination produce offspring from infertile male mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99(3): 1383-8.
6. Tanigaki K, Han H, Yamamoto N, Tashiro K, Ikegawa M, Kuroda K, Suzuki A, Nakano T, Honjo T. (2002) Notch-RBP-J signaling is involved in cell fate determination of marginal zone B cells. *Nat Immunol.* 3(5): 443-50.
7. Doi T, Kinoshita K, Ikegawa M, Muramatsu M, Honjo T. (2003) De novo protein synthesis is required for the activation-induced cytidine deaminase function in class-switch recombination. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100(5): 2634-8.
8. Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, Okazaki T, Honjo T. (2003) PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver. *J Exp Med.* 198(1): 39-50.
9. Ta VT, Nagaoka H, Catalan N, Durandy A, Fischer A, Imai K, Nonoyama S, Tashiro J, Ikegawa M, Ito S, Kinoshita K, Muramatsu M, Honjo T. (2003) AID mutant analyses indicate requirement for class-switch-specific cofactors. *Nat Immunol.* 4(9): 843-8.
10. Matsui Y., Watanabe J., Ikegawa M., Kamoto T, Ogawa O. and Nishiyama H. (2008) Cancer-specific enhancement of cisplatin-induced cytotoxicity with triptolide through an integration of inactivated glycogen synthetase kinase-3 beta with p53. *Oncogene* 27(33): 4603-14.
11. Ikegawa M, Han H, Okamoto A, Matsui R., Tanaka M., Omi N., Miyamae M., Toguchida J., Tashiro K. (2008) Syndactyly and preaxial synpolydactyly in the single *Sfrp2* deleted mutant mice. *Dev Dyn.* 237(9): 2506-17.
12. Sekiyama E., Matsuyama Y., Higo D., Nirasawa T., Ikegawa M., Kinoshita S., and Tashiro K. (2008) Applying Magnetic Bead Separation/MALDI-TOF Mass Spectrometry to Human Tear Fluid Proteome Analysis. *J Proteomics & Bioinformatics.* Vol.1.7, 368-373.