

|                  |   |
|------------------|---|
| Title            | 多階層のオミクス技術が解き明かす生命現象  |
| Sub Title        | Biosystems revealed by multi-layered omics technology   |
| Author           | 岩崎, 未央(Iwasaki, Mio)  |
| Publisher        | 慶應SFC学会   |
| Publication year | 2023  |
| Jtitle           | Keio SFC journal Vol.22, No.2 (2022. ) ,p.82- 93  |
| JaLC DOI         | 10.14991/003.00220002-0082  |
| Abstract         | 生体内には多階層のオミクス情報が存在している。例えば私たちヒトでは、46本の染色体からなるゲノム情報、ゲノムに後天的な修飾を受けたエピゲノム情報、そこから転写された数万種類の転写物(トランスクリプトーム)の情報、翻訳された数十万種類のタンパク質(プロテオーム)の情報、数千種類存在する代謝物(メタボローム)の情報である。これまでの測定・解析手法では、単一階層の情報を取得し解析することが精一杯であったが、近年の技術発展により、多階層のオミクス解析を統合して生命現象の理解に挑むことができるようになった。本総説では、各オミクス解析技術の中でも一番難しかったプロテオーム解析技術に焦点を当て、技術的な発展の歴史を背景に、多階層のオミクス技術を用いた研究例について概説したい。 |
| Notes            | 特集 SFCバイオの軌跡<br>第2章 SFCから羽ばたくバイオサイエンス<br>招待論文: 総説・ レビュー論文   |
| Genre            | Journal Article   |
| URL              | <a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AA11671240-00220002-0082">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AA11671240-00220002-0082</a>   |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

[招待論文：総説・レビュー論文]

# 多階層のオミクス技術が解き明かす生命現象

## Biosystems Revealed by Multi-Layered Omics Technology

岩崎 未央

京都大学 iPS 細胞研究所講師

Mio Iwasaki

Junior Associate Professor, Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University

Correspondence to: omio@cira.kyoto-u.ac.jp

**Abstract:** 生体内には多階層のオミクス情報が存在している。例えば私たちヒトでは、46本の染色体からなるゲノム情報、ゲノムに後天的な修飾を受けたエピゲノム情報、そこから転写された数万種類の転写物(トランスクリプトーム)の情報、翻訳された数十万種類のタンパク質(プロテオーム)の情報、数千種類存在する代謝物(メタボローム)の情報である。これまでの測定・解析手法では、単一階層の情報を取得し解析することが精一杯であったが、近年の技術発展により、多階層のオミクス解析を統合して生命現象の理解に挑むことができるようになった。本総説では、各オミクス解析技術の中でも一番難しかったプロテオーム解析技術に焦点を当て、技術的な発展の歴史を背景に、多階層のオミクス技術を用いた研究例について概説したい。

There are multiple layers of omics information in living organisms: for example in humans, genomic information consisting of 46 chromosomes, epigenomic information consisting of acquired modifications to the genome, information on tens of thousands of transcripts transcribed from the genome (transcriptome), information on hundreds of thousands of proteins translated from the genome (proteome), and information on thousands of metabolites (metabolome). While conventional measurement and analysis methods could only analyze each of these layers individually, recent technological developments have made it possible to integrate omics analysis of other layers to understand biological phenomena. In this review, I focus on the proteome analysis technology, which has been the most difficult of the various omics analysis techniques and show examples of trans-omics research.

**Keywords:** プロテオーム、トランスクリプトーム、システム生物学、液体クロマトグラフィー、質量分析計、多能性幹細胞  
proteome, transcriptome, systems biology, liquid-chromatography, mass spectrometry, pluripotent stem cells

## 1 はじめに

我々の体は数十兆個の細胞で構成されている。個々の細胞は集団となって、臓器の機能を担い、外部からの情報に反応することで、その恒常性を発揮している。細胞集団の動きは細胞内に存在する膨大な種類の分子によって制御されており、その根幹を担っているのが46本の染色体からなるゲノム情報である。「ゲノム (genome)」とは「gene (遺伝子)」と集合をあらわす「-ome」を組み合わせた言葉であり、生物のもつ遺伝情報の全体を示す。このゲノムの遺伝子情報がRNAへと転写され、タンパク質に翻訳される。細胞内には、RNAへの転写されやすさを制御する仕組みであるエピゲノム情報、転写された数万種類の転写物(トランスクリプトーム)情報、翻訳された数十万種類のタンパク質(プロテオーム)情報、タンパク質によって代謝される数千種類の代謝物(メタボローム)情報という個々のオミクス情報が存在する。それぞれの階層のオミクス情報を解析するために、それぞれの階層に存在する分子に対応した手法が開発されている。ここでは、プロテオーム解析手法を主に紹介し、筆者が最近報告した多能性幹細胞を使用した多階層のオミクス解析について述べる。

## 2 プロテオーム測定技術の発展

「プロテオーム」という言葉は1994年にMark Wilkinsが初めて提唱した言葉で、ゲノムと同様にタンパク質の集合を示す際に用いられる。プロテオームを解析する研究はプロテオミクスと呼ばれ、細胞や組織で発現するすべてのタンパク質を対象としている。細胞機能を主に調節しているのはタンパク質であり、プロテオームの違いを調べるということは、トランスクリプトームを調べるよりも直接的にゲノム情報と細胞の生化学的機能の繋がりを示す手がかりとなる。

プロテオームの解析手法は主に2種類存在する。一つ目は抗原抗体反応を利用し蛍光などでタンパク質を検出する手法である。スウェーデンのUhlenらのグループは、ヒトの全てのタンパク質に対する抗体と、各種細胞や臓器、疾病別にその抗体を用いた結果をデータベース化して公開している(The Human Protein Atlas) (Uhlen et al., 2010)。2022年7月現在において、

17,268 種類の遺伝子に対する 27,173 種類の抗体が作製されている。個々のタンパク質に対する抗体をチップ上にアレイ化した抗体アレイ (もしくはタンパク質アレイ) を用いてプロテオームを検出する手法もある。通常、固定化されている抗体は約 1,000 種類未満であることが多いが、遺伝子の機能種類で絞ったプロテオームを解析したい場合などでは非常に有用性が高い。

もう一つの方法は、質量分析計を用いた方法である。質量分析計をプロテオーム測定に用いる場合、タンパク質のままでは感度およびマスペクトルの複雑性の点で不利であり、トリプシンなどの特異的なアミノ酸を切断する消化酵素によってタンパク質をペプチドに断片化してから測定を行う。さらに、試料に含まれるすべてのペプチドのマスペクトルを取得することは難しいため、質量分析計に液体クロマトグラフィーを連結させて、ペプチドを分離しながらエレクトロスプレイイオン化法でペプチドを直接イオン化させ、質量分析計で測定する。質量分析計でペプチドイオンの質量とアミノ酸配列情報が得られ、その情報をゲノム情報から得られたタンパク質配列情報に照らし合わせることで、そのペプチドが含まれるタンパク質を同定する。この手法はタンパク質の種類・量を網羅的に解析する有効な手法であるが、後述するようにタンパク質は mRNA に比べて濃度範囲が 1,000 倍以上広く、選択的スプライシングや翻訳後に様々な修飾を受けることで、その複雑性は遺伝子数の 10 倍以上になる (Aebersold et al., 2018)。そのため、特定の細胞のタンパク質を 1 回の分析で網羅的に同定することは試料の複雑さ故に困難であった。

この問題を解決してタンパク質の同定効率を改善するために、世界中で開発競争が行われていた。当時、慶應義塾大学先端生命科学研究所に所属していた石濱泰准教授 (現在、京都大学薬学研究科教授) らの研究グループも、最先端の研究成果を挙げるために日夜研究を行っていた。筆者も学部在籍時から石濱研究グループに参画し、様々なプロテオーム解析手法の開発に関わってきた。2008 年当時は、大腸菌などのゲノムサイズが比較的小さい生物に関しても、細胞内のプロテオームを一度に解析することが難しかった。特に膜タンパク質は疎水性が高く、可溶化し消化すること自体が困難であった。石濱研究グループの増田らは、疎水性度の高いタンパク質でも可溶化でき、

---

消化酵素の活性を阻害せず、さらに簡便に除去可能な溶解剤の探索を行い、デオキシコール酸ナトリウム (SDC) と N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウム (SLS) を組み合わせた相間移動溶解剤 (Phase Transfer Surfactant, PTS) を用いた試料調製方法を開発した (Masuda et al., 2009; Masuda et al., 2008)。この手法を用いることで、既存の手法よりもタンパク質同定数を2倍以上改善することに成功した。2022年現在においても、本手法は広く使用されており、ヒトプロテオーム解析の前処理法としても使用されている (Takahashi et al., 2022)。また、筆者らは大腸菌の膜タンパク質に特徴的に存在するシステイン残基を利用し、システイン残基のN末端側を切断する新規の化学的消化法を酵素消化法と組み合わせて用いることで、大腸菌膜タンパク質の同定効率を改善する手法を開発した (Iwasaki et al., 2009)。さらに、分析条件の改善を行い、背圧が低いモノリス型カラムを用いることで、カラムの長さで分離能を高めることに成功し、1回の測定で大腸菌細胞の全てのプロテオームの同定を可能にした (Iwasaki et al., 2010)。ここまでで開発された試料調製方法と分析方法をヒト試料に応用することで、約7,000ヒトタンパク質の1回測定が可能となり、これまでタンパク質として同定不可能であった極微量のヒトタンパク質 (1,091個) が同定され、定量精度も向上した (Iwasaki et al., 2012; Yamana et al., 2013)。しかし、ヒトの細胞では約1万5千種類の遺伝子が発現しており、かつ様々な翻訳後修飾がタンパク質に付加されているため、網羅性という意味で未だに改善が必要である。

タンパク質の修飾情報に関しては、石濱研究グループの杉山らは、ヒロドキシ酸修飾酸化金属クロマトグラフィー (HAMMOG) を用いた濃縮方法を用いることで、95%以上のリン酸化ペプチド濃縮効率を達成し、リン酸化ペプチドの同定効率を大幅に向上させる手法を開発した (Kyono et al., 2008; Sugiyama et al., 2007)。この手法を用いて、石濱研究グループの今見らは、キナーゼ阻害剤であるラパチニブの抗乳癌作用に関連する細胞内シグナル伝達ネットワークの定量化に成功し (Imami et al., 2012)、さらに今村らは、特定のリン酸化モチーフ配列に関与する責任キナーゼの同定に有効な手法を開発した (Imamura et al., 2014)。リン酸化の修飾を受けることで、タンパク質の機能がどのように変化するかは未知な点が多いが、石濱研究グループは重

要なリン酸化サイトの検出に有用な手法を開発し続けている。

現在は、これまで解析の主流であった Data dependent acquisition (DDA) に対して、Data independent acquisition (DIA) という手法が用いられるようになってきている (Gillet et al., 2012)。この DIA 法では、すべてのペプチドイオンのフラグメントイオンを質量分析計で取得後、情報解析によって元のペプチドイオンの質量とフラグメントイオンを対応させ、ペプチドを同定・定量する。DDA 法と比較して、DIA 法ではより少ない試料量及び分析時間でタンパク質の同定効率を 1.4 倍程度改善できることが示されている。さらに、気相中のイオンをその質量と立体構造に応じて分離するイオンモビリティという分離モードを使うことで、ペプチドを液体クロマトグラフィーの分離度、質量、および立体構造の三次元で分離できるようになり、タンパク質試料の複雑性の高さにさらに対応できつつある。このように、質量分析計の性能向上は目覚ましく、ヒト試料を用いた場合でも 1 時間程度の 1 測定で 1 万種類のヒトタンパク質の同定を行うことがスタンダードとなりつつある (Kawashima et al., 2022; Takahashi et al., 2022)。

### 3 mRNA とタンパク質の遺伝子発現量の違い

ゲノム DNA から転写された mRNA からタンパク質が翻訳される。質量としては、mRNA に対してタンパク質は平均して約 1 桁小さい。これは、単一のアミノ酸をコードするのに 3 つのヌクレオチドを要するためと、ヌクレオチドの平均的な質量は平均的なアミノ酸の質量の 3 倍程度であるからである。1 つの mRNA を鋳型にして、約十から数万種類のタンパク質が翻訳され (ヒト、マウス) (Matsumoto et al., 2017; Schwanhäusser et al., 2011)、また、mRNA よりもタンパク質の方が平均 5 倍は安定であるため、mRNA に比べてタンパク質の濃度範囲は 1000 倍以上広い (Schwanhäusser et al., 2011)。さらに、進化的に見てもタンパク質の量は mRNA よりも変動しづらいことが示されている (Khan et al., 2013)。

これまでの様々な研究結果から、全体的な mRNA とタンパク質の量の相関はそこまで高くなく、その係数 ( $R^2$ ) は 0.4 から 0.6 程度である (Matsumoto et al., 2017; Schwanhäusser et al., 2011)。遺伝子の機能種類によってもその

相関の強さが変わることがわかっており、解糖系・糖新生系といった細胞内のエネルギー産生をつかさどる遺伝子発現系は、細胞種類関係なく mRNA とタンパク質の量の相関が高い。一方で、DNA や RNA に結合する遺伝群の量的な相関は低い。他にも、概日リズムを司る CLOCK 遺伝子は、マウスの多能性幹細胞で転写されているがタンパク質は発現していない。細胞が分化するにつれて徐々に CLOCK タンパク質が翻訳され、概日リズムが生じてくる (Umemura et al., 2017)。その量的な制御機構には mRNA とタンパク質の各々に対して様々な種類があることが報告されている。mRNA は転写された後、その 3' 非翻訳領域の下流にポリアデニル化が付加され安定性を向上させるが、そのポリアデニル化の長さによって分解速度が制御される (Subtelny et al., 2014)。タンパク質同士の複合体形成がタンパク質の安定化に寄与し、タンパク質合成途中から合成後に他のタンパク質との複合体が形成されない場合は、タンパク質の分解が促進される (McShane et al., 2016; Taggart et al., 2020)。また、ユビキチンプロテオアソーム系でタンパク質が分解される速度が細胞の種類によって異なることも示されている (Iwasaki et al., 2022)。

このように、mRNA とタンパク質の量は、それぞれが時空間的な制御を受け、最終的に細胞内で機能するタンパク質の量が厳密に調節されている。今後、定量的なプロテオーム解析データをトランスクリプトームデータや、リボソームプロファイリングデータと組み合わせることで、個々の遺伝子についての細胞特異的な制御の理解が飛躍的に高まると考えている。各細胞におけるタンパク質の量的な制御機構は筆者の研究対象であり、次の章で筆者らが報告した mRNA とタンパク質における量的な違いとその制御機構について述べる。

#### 4 多階層のオミクス解析技術を用いた多能性幹細胞研究

多能性幹細胞研究において、転写因子などの主要な遺伝子は主に mRNA による遺伝子発現解析でよく研究されてきたが、転写後制御を受けてタンパク質量が制御された遺伝子の種類や機能には不明な点が多かった。そこで、筆者らはヒト iPS 細胞および ES 細胞と、iPS 細胞の由来であるヒト線維芽細胞のタンパク質の量と mRNA 量の比較を行い、タンパク質のみが制御されてい

るような遺伝子群の解析を行った (Iwasaki et al., 2022)。その結果、mRNA の量比は変わらないが、タンパク量比のみが著しく異なっている 228 種類の遺伝子群をヒト iPS 細胞で同定した。そのような転写後翻訳制御を受けていると考えられる遺伝子群がヒト iPS 細胞でどのような役割を担っているのかを解明するため、siRNA による遺伝子群のノックダウン実験を行った。その結果、20 種類の遺伝子はノックダウンすると iPS 細胞特異的に細胞数が減少し、多能性幹細胞の生存に影響がある可能性が示唆された。さらに、多能性幹細胞から分化する細胞集団である内胚葉、中胚葉、外胚葉由来の分化細胞と比較しても、多能性幹細胞のみで mRNA の量非依存的にタンパク質の量が向上しており、分化細胞とは異なる発現制御機構があることが示唆された (図 1)。

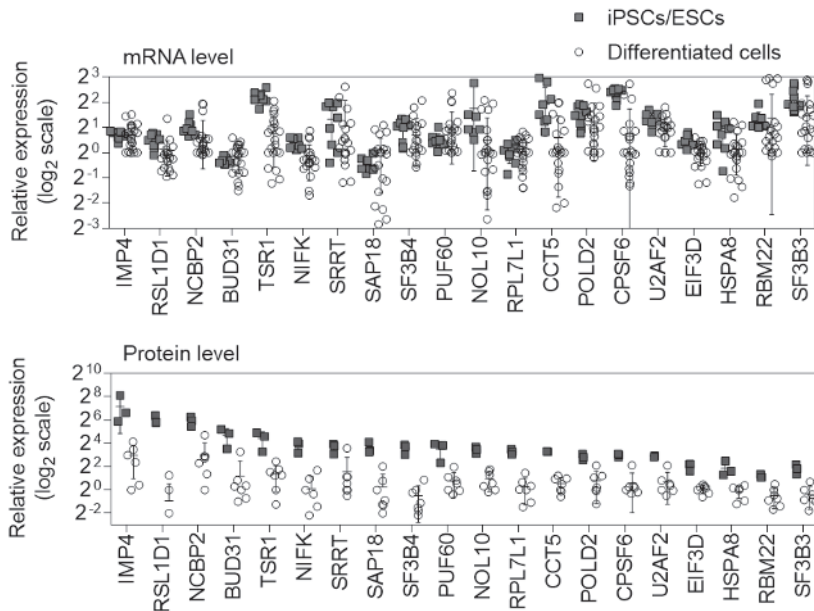


図 1 多能性幹細胞と分化細胞を用いた 20 種類の遺伝子に対する遺伝子発現量解析  
多能性幹細胞 (iPSCs, ESCs) および三胚葉由来の分化細胞 7 種類を用いて、mRNA 量は RT-qPCR によって、タンパク量は抗体による定量分析によって解析を行った。(Iwasaki et al., 2022 図 3C, D から改編)



これら転写後に制御を受け多能性幹細胞の生存に必須な遺伝子群のタンパク質発現量がどのように制御されているかを調べるため、制御を担っていると考えられる主な3種類の機構、即ち、① mRNAの局在、②翻訳過程、③タンパク質分解について検討した(図2)。

まず、mRNAの局在を調べるため、細胞内画分を分画してmRNAの細胞量を比較した。その結果、分化後の細胞ではmRNAの局在が核に偏っており、20種類の遺伝子群のほぼすべての核局在の割合が高いことが分かった。そのうち1種類の遺伝子(SRRT)に関して、人工的にmRNAを合成して分化細胞で細胞質のmRNA存在量を向上させたところ、分化細胞でタンパク質は翻訳されたため、細胞質におけるmRNA量が翻訳量を規定している可能性が示唆された。

次に、タンパク質への翻訳過程を調べるため、分化前後の細胞におけるリボソームの結合量を調べたところ、一般的に翻訳が亢進していると考えられている複数のリボソームが結合した領域で、顕著に細胞間で差があった遺伝子群は2種類のみであり(NIFK、RSL1D1)、リボソームの結合量からは大部分の遺伝子の翻訳量を推定することは困難であった。mRNAの翻訳量の研究では、リボソーマルプロファイリング法に代表されるような、mRNAに対するリボソームの結合量に応じて翻訳量を推定する手法がよく用いられるが、タンパク質発現量は増加するもののリボソームの結合量と翻訳量との間に相関がないような遺伝子群の存在を示したことで、タンパク質の量を直接的にプロテオーム解析で解析する重要性があることが示された。さらに、タンパク質発現量が抑制されている分化細胞においても、18種類の遺伝子において多能性幹細胞と同等以上のリボソーム結合量が示された。これまでの報告によると、翻訳が停止しているmRNAとリボソームの複合体では、翻訳異常として新生ペプチド鎖とmRNAが分解されていく機構が働き、mRNAの量が低下していくことが示唆されている(D'Orazio and Green, 2021)。もし分化細胞で翻訳停止が起こっているのであれば常に過剰量のmRNAが転写されているはずである。しかし、mRNA量は分化前後で顕著な差はないため、既存の機構は当てはまらないことが示唆される。

最後に、タンパク質の分解による制御を調べるため、オートファジーとプ

ロテアソーム分解系を阻害した際に、分化細胞でタンパク質発現量が回復するかを解析した。その結果、分化細胞では3種類の遺伝子 (HSPA8、EIF3D、NCBP2) のタンパク質発現量はタンパク質分解の促進によって制御されていることがわかった。

このように、一部の制御機構はわかったものの、これら20種類の遺伝子群が多能性幹細胞の生存になぜ必要なのか、どうやってタンパク量が多く制御されているのか、さらにどうやって分化した細胞でタンパク量が抑制されているのか、に関しては不明な点が多い。筆者が主宰している岩崎研究室では、これらの謎に現在挑戦しており、今後の研究の進展を期待していただきたい。

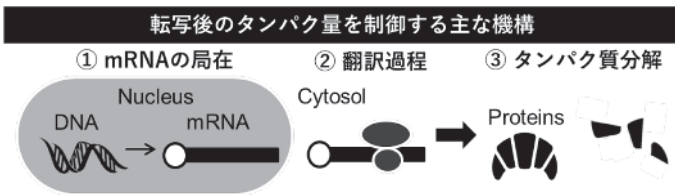


図2 タンパク質の量を制御する主な機構

## 5 おわりに

多階層のオミクス情報を統合して解析することで、これまで分からなかった様々な現象が明らかになりつつある。他にも、翻訳される mRNA を濃縮する解析手法 (リボソームプロファイリング法) を用いてプロテオームを解析してみると、タンパク質が翻訳されないと考えられてきた領域から短いタンパク質が翻訳されることがわかってきた (Chen et al., 2020)。このようなタンパク質は細胞の初期発生において重要であることが示されている (Kondo et al., 2010)。

慶應義塾大学先端生命科学研究所で行ったプロテオーム解析の技術開発研究を基盤として研究者となり、未だ埋もれている生物学的な発見を多階層のオミクス解析技術を用いて明らかにできる時代に生きていることに喜びを噛みしめている。これからも、岩崎研究室に集う研究者とともに生命現象の理解に挑んでいきたい。

## 謝辞

筆者はSFC・15期生であり、学部1年時から富田勝教授の研究室で研究を行った。学部3年からは山形県の鶴岡キャンパスにある先端生命科学研究所において、モチベーションの高い富田研メンバーと日々議論を繰り広げ、最高の環境で研究にどっぷりと浸かる生活ができた。現在、幸運にも大学の研究者として生活できているのは、その時の密度の濃い経験があったからこそであり、そのような研究環境を作ってくださった富田教授に感謝している。

また、筆者は慶應女子サッカー部の前身となった女子サッカーサークル出身であり、そのご縁で、同じく環境情報学部出身で男子サッカー部出身の兄が2006年の創設から11年もの間、慶應女子サッカー部の監督を務めさせていただいた。サッカーと慶應サッカー部を愛する筆者として、長らく慶應サッカー部の部長を務めていただいた富田勝教授への感謝をこの場を借りて示したい。

## 参考文献

- Aebersold, R., Agar, J.N., Amster, I.J., Baker, M.S., Bertozzi, C.R., et al. (2018) "How many human proteoforms are there?", *Nat Chem Biol.* 14, pp. 206-214. 10.1038/nchembio.2576.
- Chen, J., Brunner, A.D., Cogan, J.Z., Nuñez, J.K., Fields, A.P., et al. (2020) "Pervasive functional translation of noncanonical human open reading frames", *Science.* 367, pp. 1140-1146. 10.1126/science.aay0262.
- D'Orazio, K.N., and Green, R. (2021) "Ribosome states signal RNA quality control", *Mol Cell.* 81, 1372-1383. 10.1016/j.molcel.2021.02.022.
- Gillet, L.C., Navarro, P., Tate, S., Röst, H., Selevsek, N., et al. (2012) "Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data-independent acquisition: a new concept for consistent and accurate proteome analysis", *Mol Cell Proteomics.* 11, O111.016717. 10.1074/mcp.O111.016717.
- Imami, K., Sugiyama, N., Imamura, H., Wakabayashi, M., Tomita, M., et al. (2012) "Temporal profiling of lapatinib-suppressed phosphorylation signals in EGFR/HER2 pathways", *Mol Cell Proteomics.* 11, pp. 1741-1757. 10.1074/mcp.M112.019919.
- Imamura, H., Sugiyama, N., Wakabayashi, M., and Ishihama, Y. (2014) "Large-scale identification of phosphorylation sites for profiling protein kinase selectivity", *J Proteome Res.* 13, pp. 3410-3419. 10.1021/pr500319y.
- Iwasaki, M., Kawahara, Y., Okubo, C., Yamakawa, T., Nakamura, M., et al. (2022) "Multi-omics approach reveals posttranscriptionally regulated genes are essential for human pluripotent stem cells", *iScience.* 25, 104289. 10.1016/j.isci.2022.104289.
- Iwasaki, M., Masuda, T., Tomita, M., and Ishihama, Y. (2009) "Chemical cleavage-assisted tryptic digestion for membrane proteome analysis", *J Proteome Res.* 8, pp. 3169-3175. 10.1021/pr900074n.
- Iwasaki, M., Miwa, S., Ikegami, T., Tomita, M., Tanaka, N., and Ishihama, Y. (2010) "One-dimensional capillary liquid chromatographic separation coupled with tandem mass spectrometry unveils the Escherichia coli proteome on a microarray scale", *Anal Chem.* 82, pp. 2616-2620. 10.1021/ac100343q.
- Iwasaki, M., Sugiyama, N., Tanaka, N., and Ishihama, Y. (2012) "Human proteome analysis by using reversed phase monolithic silica capillary columns with enhanced sensitivity", *J*

- Chromatogr A.* 1228, pp. 292-297. S0021-9673(11)01601-3 [pii] 10.1016/j.chroma.2011.10.059.
- Kawashima, Y., Nagai, H., Konno, R., Ishikawa, M., Nakajima, D., et al. (2022) “Single-Shot 10K Proteome Approach: Over 10,000 Protein Identifications by Data-Independent Acquisition-Based Single-Shot Proteomics with Ion Mobility Spectrometry”, *J Proteome Res.* 21, pp. 1418-1427. 10.1021/acs.jproteome.2c00023.
- Khan, Z., Ford, M.J., Cusanovich, D.A., Mitrano, A., Pritchard, J.K., and Gilad, Y. (2013) “Primate transcript and protein expression levels evolve under compensatory selection pressures”, *Science.* 342, pp. 1100-1104. 10.1126/science.1242379.
- Kondo, T., Plaza, S., Zanet, J., Benrabah, E., Valenti, P., et al. (2010) “Small peptides switch the transcriptional activity of Shavenbaby during *Drosophila* embryogenesis”, *Science.* 329, pp. 336-339. 10.1126/science.1188158.
- Kyono, Y., Sugiyama, N., Imami, K., Tomita, M., and Ishihama, Y. (2008) “Successive and selective release of phosphorylated peptides captured by hydroxy acid-modified metal oxide chromatography”, *J Proteome Res.* 7, pp. 4585-4593. 10.1021/pr800305y.
- Masuda, T., Saito, N., Tomita, M., and Ishihama, Y. (2009) “Unbiased quantitation of *Escherichia coli* membrane proteome using phase transfer surfactants”, *Mol Cell Proteomics.* 8, pp. 2770-2777. 10.1074/mcp.M900240-MCP200.
- Masuda, T., Tomita, M., and Ishihama, Y. (2008) “Phase transfer surfactant-aided trypsin digestion for membrane proteome analysis”, *J Proteome Res.* 7, pp. 731-740. 10.1021/pr700658q.
- Matsumoto, M., Matsuzaki, F., Oshikawa, K., Goshima, N., Mori, M., et al. (2017) “A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome”, *Nat Methods.* 14, pp. 251-258. 10.1038/nmeth.4116.
- McShane, E., Sin, C., Zauber, H., Wells, J.N., Donnelly, N., et al. (2016) “Kinetic Analysis of Protein Stability Reveals Age-Dependent Degradation”, *Cell.* 167, pp. 803-815.e821. 10.1016/j.cell.2016.09.015.
- Schwahnhäuser, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J., et al. (2011) “Global quantification of mammalian gene expression control”, *Nature.* 473, pp. 337-342. 10.1038/nature10098.
- Subtelny, A.O., Eichhorn, S.W., Chen, G.R., Sive, H., and Bartel, D.P. (2014) “Poly(A)-tail profiling reveals an embryonic switch in translational control”, *Nature.* 508, pp. 66-71. 10.1038/nature13007.
- Sugiyama, N., Masuda, T., Shinoda, K., Nakamura, A., Tomita, M., and Ishihama, Y. (2007) “Phosphopeptide enrichment by aliphatic hydroxy acid-modified metal oxide chromatography for nano-LC-MS/MS in proteomics applications”, *Mol Cell Proteomics.* 6, pp. 1103-1109. 10.1074/mcp.T600060-MCP200.
- Taggart, J.C., Zauber, H., Selbach, M., Li, G.W., and McShane, E. (2020) “Keeping the Proportions of Protein Complex Components in Check”, *Cell Syst.* 10, pp. 125-132. 10.1016/j.cels.2020.01.004.
- Takahashi, K., Okubo, C., Nakamura, M., Iwasaki, M., Kawahara, Y., et al. (2022) “A stress-reduced passaging technique improves the viability of human pluripotent cells”, *Cell Rep Methods.* 2, 100155. 10.1016/j.crmeth.2021.100155.
- Uhlen, M., Oksvold, P., Fagerberg, L., Lundberg, E., Jonasson, K., et al. (2010) “Towards a knowledge-based Human Protein Atlas”, *Nat Biotechnol.* 28, pp. 1248-1250. 10.1038/nbt1210-1248.
- Umemura, Y., Koike, N., Ohashi, M., Tsuchiya, Y., Meng, Q.J., et al. (2017) “Involvement of

posttranscriptional regulation of Clock in the emergence of circadian clock oscillation during mouse development”, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114, E7479-E7488. 10.1073/pnas.1703170114.

Yamana, R., Iwasaki, M., Wakabayashi, M., Nakagawa, M., Yamanaka, S., and Ishihama, Y. (2013) “Rapid and deep profiling of human induced pluripotent stem cell proteome by one-shot NanoLC-MS/MS analysis with meter-scale monolithic silica columns”, *Journal of Proteome Research.* 12, pp. 214-221.

〔受付日 2022. 7. 20〕