

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03605

研究課題名(和文)キノームの生理的基質同定に基づく細胞内シグナルパスウェイ大規模解析

研究課題名(英文)Identification of endogenous kinase substrates for analyzing intracellular signaling pathway

研究代表者

石濱 泰 (Ishihama, Yasushi)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：30439244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、キナーゼの生理的基質を大規模に同定する方法を確立し、細胞内キナーゼ基質相関を解明することにより、細胞内リン酸化ネットワークの分子基盤を明らかにし細胞内シグナルパスウェイ大規模解析法を確立することを目的とした。キナーゼの生理的基質を同定するため、キナーゼ摂動に伴うリン酸化の変化を大規模に計測する手法、インビトロキナーゼアッセイから各キナーゼのリン酸化モチーフを抽出し、そのモチーフとの一致度をスコア化する手法およびキナーゼ基質間過渡的相互作用を解析する手法を開発した。さらにそれらの情報をもとにリン酸化プロテオーム情報から活性化キナーゼを推定する手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内外のゲノムワイド関連解析により、様々な疾病原因は個々の遺伝子よりもシグナルパスウェイ毎の異常に集積されており、特に癌は十数種のパスウェイに原因遺伝子が分布することがわかってきた。これらのパスウェイにはすべてリン酸化シグナルが関わっており、その異常はがんそのものの発症因子ともなり、その進行、薬剤感受性および治療予後とも深く関わる。本研究の成果により、様々なパスウェイ毎のリン酸化動態を全体として理解することが可能となり、がんをはじめとする疾病の分子基盤の解明につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：The goal of this study is to establish a method to identify the endogenous kinase substrates on a large scale, and to apply to intracellular signal pathway analysis. To accomplish this goal, we have developed three methods as follows: (1) a method to measure changes in phosphorylation upon kinase perturbation, (2) a method to calculate the motif score based on the extracted phosphorylation motif of each kinase from in vitro kinase assay, and (3) a method to analyze the kinase-substrate transient interactions. These three methods were combined and applied to identifying endogenous kinase substrates successfully. In addition, we developed a method for estimating the activated kinase from the phosphoproteome information based on kinase-substrate relationships.

研究分野：プロテオミクス

キーワード：キナーゼ キナーゼ基質 リン酸化プロテオーム 細胞内シグナル伝達

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国内外のゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study ; GWAS) により、様々な疾病原因は個々の遺伝子よりもシグナルパスウェイ毎の異常に集積されており、特にガンは十数種のパスウェイに原因遺伝子が分布する「pathway-based disease」であることがわかってきた。これらのパスウェイにはすべてリン酸化シグナルが関わっており、その異常はガンそのものの発症因子ともなり、その進行、薬剤感受性および治療予後とも深く関わる。したがって、限られたタンパク質分子のリン酸化シグナルではなく、様々なパスウェイ毎のリン酸化動態を全体として理解することが、細胞内シグナル解析には必要とされる。代表者らは特異的リン酸化ペプチド濃縮法 HAMMOC と液体クロマトグラフィー-質量分析法 (LC-MS) を駆使したリン酸化プロテオーム解析法を世界に先駆けて開発した。一方、結果の大半が機能未知分子であるリン酸化プロテオーム解析結果をシグナル研究に用いるには、キナーゼ-基質ペア情報が必須である。しかし、キナーゼの生理的基質をその基質認識情報のみから予測することは困難で、また生理的な責任キナーゼが判明しているリン酸化部位は全体の 1%にも満たず、実験情報が圧倒的に不足しているが、研究開始当初、実験的にキナーゼの内在性基質をプロテオーム規模で同定する手法はなかった。

2. 研究の目的

キナーゼの生理的基質を大規模に同定する方法を確立し、細胞内キナーゼ 基質相関を解明することにより、細胞内リン酸化ネットワークの分子基盤を明らかにし、細胞内シグナルパスウェイ大規模解析法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

キナーゼの生理的基質を同定するため、キナーゼ振動に伴うリン酸化の変化を大規模に計測する手法、in vitroキナーゼアッセイから各キナーゼのリン酸化モチーフを抽出し、そのモチーフとの一致度をスコア化する手法およびキナーゼ 基質間過渡的相互作用を解析する手法の開発を目指した。さらにそれらの情報をもとにリン酸化プロテオーム情報から活性化キナーゼを推定する手法の開発を試みた。

4. 研究成果

(1) セリンスレオニンキナーゼの内在性基質同定

ビオチンリガーゼ融合キナーゼ発現HEK293T細胞と野生型のHEK293T細胞を用意し、それぞれにビオチンを施した後、タンパク質抽出、ビオチン化タンパク質濃縮およびトリプシン消化を行い、LC/MS/MSにより測定した。その結果、CK2及びPKAの相互作用タンパク質として、それぞれ574種、518種のタンパク質が同定された。さらに、HEK293T細胞にCX-4945またはforskolinを施した後、細胞を回収し、タンパク質抽出、トリプシン消化、リン酸化ペプチド濃縮、およびTMT標識を行った後、LC/MS/MSによりリン酸化ペプチドを定量した。リン酸化部位はCX-4945処理、forskolin処理細胞からそれぞれ1,959種、2,355種定量され、前者では、262種のリン酸化部位がCX-4945により減少し、そのうち76種のリン酸化部位は59種のCK2相互作用タンパク質上に存在していた。一方、後者では230種のリン酸化部位がforskolinにより増加し、そのうち44種のリン酸化部位は35種のPKA相互作用タンパク質上に存在していた。これらの各標的キナーゼ相互作用タンパク質上のリン酸化部位に対してPSPスコア⁽²⁾を算出し、標的キナーゼの各リン酸化部位への指向性を評価した。上記の、BioIDと細胞内リン酸化プロファイ

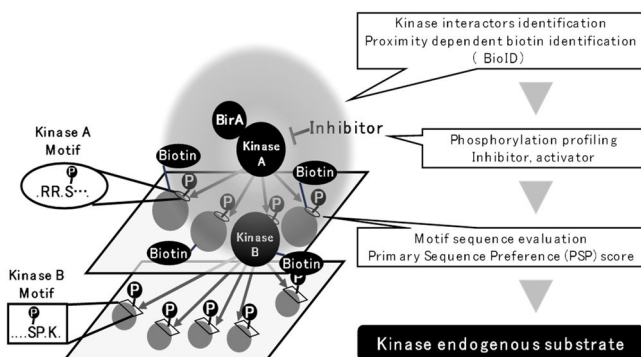


図1 内在性キナーゼ基質同定のためのワークフロー

リング及びモチーフ配列評価の三つのフィルターにより、33種のCK2基質と52種のPKA基質を抽出した。これらのキナーゼ基質について、がんゲノムデータベースcBioPortalからアミノ酸置換情報を取得し、野生型、変異型両方の配列に対してPSPスコアを算出、比較した。その結果、33個のCK2基質から121個のミスセンス変異、52個のPKA基質から189個のミスセンス変異が検出された。これらの変異を含む基質配列については、PWMスコアを用いてキナーゼによるリン酸化率変動を予測し、野生型配列と比較した。次に、変異によりリン酸化率低下を示す野生型/変異型の基質対(CK2については5対、PKAについては1対)を選択し、合成ペプチドを用いた*in vitro*キナーゼアッセイを行った。その結果、6組のうち5組では、変異によるリン酸化ストイキオメトリーの低下が観察された。これらの結果は、基質のリン酸化部位近傍のミスセンス変異がCK2やPKAによるリン酸化に悪影響を与え、対応する癌細胞の下流シグナル伝達ネットワークに影響を与える可能性を示唆している。

(2) チロシンキナーゼの内在性基質同定

続いて、チロシンキナーゼである、Src、Fer、Fyn について、基質同定を行った。BioID では、各キナーゼについて既知相互作用タンパク質を含む 400 種以上の相互作用タンパク質を同定した (Fer: 778, Fyn: 397, Src: 414)。標的チロシンキナーゼを過剰発現させた際のリン酸化変動プロファイリングでは、TMT チャネルに *in vitro* キナーゼ反応によってリン酸化させた細胞抽出タンパク消化物に加え、*in vitro* キナーゼアッセイと *in vivo* リン酸化プロファイリングアッセイを同時に行う Boosting 法を採用した。CK2, PKA の場合と同様に、BioID、*in vitro* キナーゼアッセイ、*in vivo* リン酸化プロファイリングの三つを合わせることで、各キナーゼから数十種の基質候補を抽出することに成功した (Fer: 45, Fyn: 13, Src: 94)。

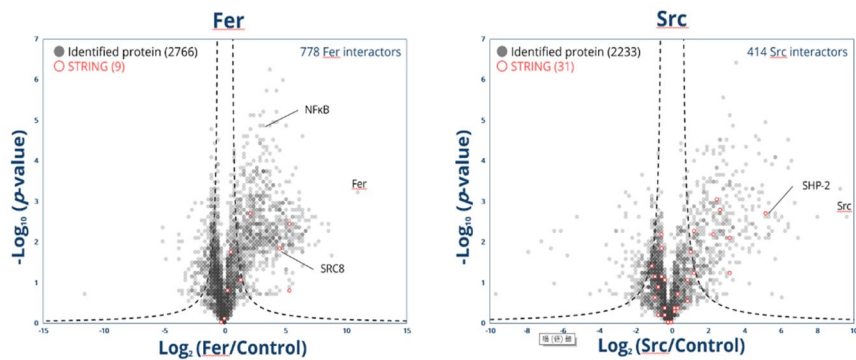


図2 BioIDを用いた相互作用タンパク質の同定

(3) 細胞内リン酸化情報から活性化キナーゼを推定する手法の開発

キナーゼ阻害薬処理による細胞内リン酸化変動情報を取得し、どのキナーゼ群が影響を受けたのかを予測するアルゴリズムを開発した(図3)。予測には、キナーゼ基質情報に加え、タンパク質間相互作用及び細胞内局在情報

手順1. 各キナーゼ-基質ペアについてPWM scoreを算出する

	Kinase A	Kinase B	Kinase C	$\log_2(\text{ratio})$
Site 1	5	4	1	-1.2
Site 2	-5	3	-4	-2.5
Site 3	3	1	-3	0.1

手順3. 各マスについて各行の和で割る (→各行の和が1になる)

	Kinase A	Kinase B	Kinase C	$\log_2(\text{ratio})$
Site 1	0.64	0.32	0.04	-1.2
Site 2	0.0039	0.99	0.0077	-2.5
Site 3	0.79	0.20	0.012	0.1
Sum	1.43	1.51	0.060	

→ Kinase score (Control) と定義する

手順2. 各マスについて2^{PWM score}を計算する (対数を外す)

	Kinase A	Kinase B	Kinase C	$\log_2(\text{ratio})$
Site 1	32	16	2	-1.2
Site 2	0.031	8	0.063	-2.5
Site 3	8	2	0.13	0.1

手順4. 各マスについてリン酸化部位の変動値 $\log_2(\text{ratio})$ をかける

	Kinase A	Kinase B	Kinase C	$\log_2(\text{ratio})$
Site 1	-0.77	-0.38	-0.05	-1.2
Site 2	-0.01	-2.47	-0.02	-2.5
Site 3	0.08	0.02	0.001	0.1
Sum	-0.70	-2.8	-0.07	

→ Kinase score (KI) と定義する (KI: Kinase Inhibitor)

$$\text{活性変動予測スコア } \alpha = \text{Kinase score (KI)} / \text{Kinase score (Control)}$$

図3 キノーム活性予測法

報を加え、スコア化した。その結果、293 個のキナーゼのうち、キナーゼ阻害薬によって活性低下が予測されるキナーゼ群がそれ以外のものと区別することに成功した。また既存手法 KSEA との性能比較をおこなったところ、KSEA より優れた予測能を有していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 TAKAHASHI Chisato, YAZAKI Tatsuya, SUGIYAMA Naoyuki, ISHIHAMA Yasushi	4. 巻 40
2. 論文標題 Selected Reaction Monitoring of Kinase Activity-Targeted Phosphopeptides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 39 ~ 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2019.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sugiyama Naoyuki, Imamura Haruna, Ishihama Yasushi	4. 巻 9
2. 論文標題 Large-scale Discovery of Substrates of the Human Kinome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10503
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46385-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tajima Kazuki, Ikeda Kenji, Chang Hsin-Yi, Chang Chih-Hsiang, Yoneshiro Takeshi, Oguri Yasuo, Jun Heejin, Wu Jun, Ishihama Yasushi, Kajimura Shingo	4. 巻 1
2. 論文標題 Mitochondrial lipoylation integrates age-associated decline in brown fat thermogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 886 ~ 898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-019-0106-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 OGATA Kosuke, KROKHIN Oleg V., ISHIHAMA Yasushi	4. 巻 34
2. 論文標題 Retention Order Reversal of Phosphorylated and Unphosphorylated Peptides in Reversed-Phase LC/MS	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1037 ~ 1041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.2116/analsci.18SCP11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sugiyama Naoyuki, Miyake Satomi, Lin Miao Hsia, Wakabayashi Masaki, Marusawa Hiroyuki, Nishiumi Shin, Yoshida Masaru, Ishihama Yasushi	4. 巻 24
2. 論文標題 Comparative proteomics of Helicobacter pylori strains reveals geographical features rather than genomic variations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 139 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/gtc.12662	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsai Chia-Feng, Ku Wei-Chi, Chen Yu-Ju, Ishihama Yasushi	4. 巻 1636
2. 論文標題 Absolute Phosphorylation Stoichiometry Analysis by Motif-Targeting Quantitative Mass Spectrometry	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 313 ~ 325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/978-1-4939-7154-1_20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogata Kosuke, Ishihama Yasushi	4. 巻 -
2. 論文標題 Extending the Separation Space with Trapped Ion Mobility Spectrometry Improves the Accuracy of Isobaric Tag-Based Quantitation in Proteomic LC/MS/MS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c01695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計49件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 22件)

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Toolbox for Phosphoproteomics in Cancer Signaling
3. 学会等名 Keystone Symposia_Proteomics and its Application to Translational and Precision Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kosuke Ogata, Tomoya Niinae, Chia-Feng Tsai, Koshi Imami, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Additional Separation Space by Trapped Ion Mobility Spectrometry Improves Accuracy of Isobaric Tag-based Quantitation
3. 学会等名 Keystone Symposia_Proteomics and its Application to Translational and Precision Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山直幸、中園純菜、八児一隆、坂本大、Hsin-Yi Chang、石濱泰
2. 発表標題 人工基質ペプチドを用いたキノーム活性プロファイリング
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoya Niinae, Koshi Imami, Chia-Feng Tsai, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Proximity-dependent identification of in vivo substrates of putative kinases
3. 学会等名 第67回アメリカ質量分析学会 (ASMS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Yoshikawa, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Kinome Activity Analysis Based on Quantitative Phosphoproteomics
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoya Niinae, Koshi Imami, Chia-Feng Tsai, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Development of novel method for identifying kinase endogenous substrates and application to mutant substrates analysis
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八兒一隆、坂本大、高橋知里、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 キナーゼ基質ペプチドライブラリを用いた細胞内チロシンキナーゼ活性計測
3. 学会等名 BMAS2019 第32回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小形公亮、杉山直幸、KROKHIN Oleg V.、石濱泰
2. 発表標題 プロテオミクスLC/MSにおけるリン酸化ペプチドの保持挙動
3. 学会等名 PPF2019 第17回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Toolbox for human proteome, kinome and phosphatome analysis
3. 学会等名 Short course in Frontier Sciences and Technology: Data Analysis in Quantitative Proteomics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中園 純菜・坂本 大・杉山 直幸・石濱 泰
2. 発表標題 セリン/スレオニンキナーゼ特異的人工基質ペプチドを用いたキノーム活性計測
3. 学会等名 日本分析化学会 第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoya Niinae・Koshi Imami・Chia-Feng Tsai・Naoyuki Sugiyama・Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Proximity-dependent approach for identifying putative endogenous substrates of protein kinases
3. 学会等名 HUP02019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoyuki Sugiyama, Kazutaka Yachigo, Masato Tsuyuguchi, Takayoshi Kinoshita, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 In vitro Profiling of Ser/Thr/Tyr Selectivity of Human Protein Kinome
3. 学会等名 HUP02019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junna Nakazono, Dai Sakamoto, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Monitoring intracellular kinome activities using kinase specific substrate peptides
3. 学会等名 HPLC2019 Kyoto (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazutaka Yachigo, Tatsuya Yazaki, Chisato Takahashi, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Targeted phosphoproteomics for profiling tyrosine kinase activities
3. 学会等名 HPLC2019 Kyoto (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中園 純菜, 坂本 大, 杉山 直幸, 石濱 泰
2. 発表標題 キナーゼ特異的人工基質ライブラリを用いた細胞内キヌーム活性プロファイリング
3. 学会等名 第30回クロマトグラフィー科学会議 (SCS30)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八兒一隆、矢崎達也、高橋知里、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 ターゲットプロテオミクスによるチロシンキナーゼ活性計測
3. 学会等名 第30回クロマトグラフィー科学会議 (SCS30)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Challenges to illuminate human kinome
3. 学会等名 AOMSC2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazutaka Yachigo, Dai Sakamoto, Tatsuya Yazaki, Chisato Takahashi, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Comprehensive monitoring of intracellular tyrosine kinase activities
3. 学会等名 4th Symposium on Kyoto Biomolecular Mass Spectrometry Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junna Nakazono, Dai Sakamoto, Naoyuki Sugiyama and Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Kinome-wide Libraries of Exogenous Substrates for Profiling Intracellular Kinome Activities
3. 学会等名 4th Symposium on Kyoto Biomolecular Mass Spectrometry Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中田花菜、南部早紀、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 配位子交換クロマトグラフィーによるリン酸化チロシン選択的ペプチド濃縮法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中園純菜・坂本大・張心儀・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 キナーゼ基質大規模同定に基づくキナーゼの基質配列指向性評価
3. 学会等名 Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (MSP2018) (日本質量分析学会・日本プロテオーム学会 2018年合同大会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八児一隆・高橋知里・坂本大・張心儀・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 チロシンキナーゼ特異的人工基質ペプチドを用いたin vitroキノーム活性計測
3. 学会等名 Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (MSP2018) (日本質量分析学会・日本プロテオーム学会 2018年合同大会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉山直幸・今村春菜・坂本大・中園純菜・八児一隆・高橋知里・Hsin-yi, Chang・石濱泰
2. 発表標題 キノームプロファイリングによるリン酸化ネットワーク解析
3. 学会等名 Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (MSP2018) (日本質量分析学会・日本プロテオーム学会 2018年合同大会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoyuki Sugiyama
2. 発表標題 H. pylori proteomics
3. 学会等名 International Proteogenome Workshop in Kyoto (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 南部早紀、小笠原実穂、張心儀、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーを用いたチロシンリン酸化ペプチド濃縮法の開発
3. 学会等名 BMAS2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 "Naoyuki Sugiyama, Dai Sakamoto, Junna Nakazono, Kazutaka Yachigo, Hsin-Yi Chang, Yasushi Ishihama"
2. 発表標題 Direct Profiling of Kinome Activities Using Kinase-Specific Substrate Peptides
3. 学会等名 25th International Symposium on Electro- and Liquid Phase-Separation Techniques(ITP2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoyuki Sugiyama
2. 発表標題 Phosphoproteome and Kinome Profiling Using NanoLC-MS/MS
3. 学会等名 2nd International BMS Symposium 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 南部早紀、小笠原実穂、張心儀、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 固定化金属イオンに対する相互作用に基づいたチロシンリン酸化ペプチド濃縮法の開発
3. 学会等名 第29回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Human Kinome Profiling by Quantitative Phosphoproteomics
3. 学会等名 2018 Annual meeting of Taiwan Proteomics Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Human Kinome and Phosphatome Profiling
3. 学会等名 The 9th International Forum on Chemistry of Functional Organic Chemicals (IFOC-9) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新苗 智也, 今見 考志, Tsai Chia-Feng, 杉山 直幸, 石濱 泰
2. 発表標題 プロテオミクスによる細胞内キナーゼ基質大規模同定法の開発
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中園純菜・坂本大・張心儀・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 キノーム活性測定に向けたin vitroキナーゼ基質の大規模同定
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八兒 一隆・張 心儀・杉山 直幸・石濱 泰
2. 発表標題 セリウム錯体を用いた脱リン酸化法のin vitroキナーゼ試験への適用
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石濱 泰
2. 発表標題 キナーゼ収斂型リン酸化プロテオミクス
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム若手ワークショップ「トランスオミクスによる精神疾患の分子基盤解明に向けて」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 " Saki Nambu, Miho Ogasawara, Hsin-Yi Chang, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama "
2. 発表標題 Tyrosine phosphoproteomics based on immobilized metal ion affinity chromatography
3. 学会等名 3rd KBMSSシンポジウム(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoya Niinae, Koshi Imami, Chia-Feng Tsai, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Evaluation of kinase substrate relationships
3. 学会等名 3rd KBMSSシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川侑樹・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 キナーゼ収斂型リン酸化プロテオミクスを用いた分子標的薬プロファイリング
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新苗智也・小形公亮・今村春菜・若林真樹・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 キナーゼ阻害薬と定量的リン酸化プロテオミクスを用いたPKA基質探索
3. 学会等名 第65回質量分析総合討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉山直幸、石濱 泰
2. 発表標題 リン酸化プロテオーム解析技術を用いたキノームプロファイリング
3. 学会等名 第77回分析化学討論会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Chia-Feng Tsai, Masaki Wakabayashi, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Kinase activity profiling by motif-targeting phosphoproteome analysis
3. 学会等名 65th ASMS（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉山直幸、石濱 泰
2. 発表標題 プロテオミクスを用いたキナーゼ収斂型シグナルネットワーク解析
3. 学会等名 質量分析フォーラム2017（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Chia-Feng Tsai, Naoyuki Sugiyama, Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Kinase activity profiling by motif-targeting phosphoproteome analysis
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2017年大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新苗智也、張心儀、杉山直幸、石濱泰
2. 発表標題 異なる細胞株由来タンパク質に対するキナーゼのリン酸化モチーフ解析
3. 学会等名 第28回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石濱 泰
2. 発表標題 プロテオミクスを用いて暗黒キノーム世界を照らす
3. 学会等名 第37回キャピラリー電気泳動シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石濱 泰
2. 発表標題 プロテオミクスを用いたキノーム活性プロファイリング
3. 学会等名 ConBio2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Kinome activity profiling based on large-scale kinase-substrate relationships
3. 学会等名 AOMSC 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoyuki Sugiyama , Yasushi Ishihama
2. 発表標題 Human Kinome Profiling using Phosphoproteomic Approaches
3. 学会等名 KBMS2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石濱 泰
2. 発表標題 ショットガンプロテオミクスにおける計測と情報の新展開
3. 学会等名 第15回北里疾患プロテオーム研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新苗智也・今見考志・Hsin-Yi Chang・杉山直幸・石濱泰
2. 発表標題 細胞抽出タンパク質プールを用いたキナーゼの基質モチーフ解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	杉山 直幸 (Sugiyama Naoyuki) (50545704)	京都大学・薬学研究科・准教授 (14301)	