

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770101

研究課題名(和文) In Cell NMR法の一般化に向けたデータ解析アルゴリズムと信号処理法の開発

研究課題名(英文) New NMR data analysis and signal processing methods for in-cell NMR

## 研究代表者

池谷 鉄兵 (Ikeya, Teppei)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：30457840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、細胞内蛋白質の立体構造解析(in-cell NMR)を、より汎用的な手法に拡張するために、新規計算手法開発の観点から、NMR法の改良を進めていくことを目標とした。主に、NMRスペクトルの質向上のための信号処理法の開発と、立体構造計算手法の開発を行った。信号処理法の開発では、QME法の開発に成功し、実際のin-cell NMRスペクトルの質を大きく向上させた。構造計算手法の開発では、立体構造計算プログラムCYANAを改良し、ベイズ推定に基づいた新規手法の開発に成功した。また、Pseudo-Contact Shift(PCS)の解析をCYANAの中で再帰的に計算可能な手法も開発した。

研究成果の概要(英文)：In this project, we developed new NMR protein structure calculation and signal processing methods specifically for in-cell NMR. In the signal processing, Quantitative Maximum Entropy (QME) that we recently developed dramatically improved in-cell NMR spectra, and achieved recording the first 3D NOESY spectra in an Eukaryotic cell (Sf9 cell). In the NMR structure calculation, we succeeded to implement a new structure calculation method based on Bayesian inference, which notably improved in-cell NMR structures. Furthermore, we succeeded to implement into CYANA a function to iteratively analyse PseudoContact Shift (PCS) data with structure calculation. These new methods will contribute to extend in-cell NMR structure determination to generalized technique.

研究分野：構造生物学

キーワード：In-cell NMR 蛋白質立体構造計算 pseudocontact shift Maximum Entropy

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内環境は、膨大な数の生体高分子などが存在し、「分子クラウディング」と呼ばれるこれらが複雑に絡み合った環境を形成している。細胞内に占めるこうした分子の割合はその体積の30%以上、濃度は300g/Lに達するとも言われる。蛋白質分子の構造と機能の一層の理解には、こうした影響を含む細胞内での構造解析が欠かせない。しかしながら、これまでのX線結晶構造解析や溶液NMRは、単離・精製した分子の測定であり、本来の細胞質には程遠い人工環境での解析に過ぎなかった。こうした中、我々はin-cell NMR法という新技術を応用して世界初の生きた細胞中での蛋白質立体構造決定に成功した。この方法をさらに発展させることで、蛋白質が実際に働く、より自然な環境での立体構造情報や動的性質を細胞周期に合わせて観察することも可能となる。

### 2. 研究の目的

2009年の我々のin-cell構造決定以後、まだこれに続く新しい立体構造決定の報告はなく、現時点では多くの研究者がこの手法を用いて様々な蛋白質を解析できる汎用技術となっていない。本技術の一般化に向けて、申請者らは、科研費スタート支援(平成22-23年)の助成により、最近、世界第2番目のin-cell構造となり得る蛋白質立体構造決定に成功した。ここでは、1.スペクトル測定法の改良と、2.信号再構成アルゴリズムの改良により問題点を克服した。本成果は、in-cell NMR法汎用化に向けた大きな前進であるが、この技術はまだ新しく、さらなる多方面からの技術開発が必要である。In-cellスペクトルは、試料の短寿命に伴い測定時間が短いことと、試料濃度が顕著に低いことにより、S/N比が低く、膨大なノイズを含んで著しく複雑化するため、解析困難となる点が課題の1つである。

In-cell NMR技術の汎用化には、試料調製、NMR測定、データ解析、評価の全段階において多角的改良が必要であるが、本課題では特にNMR信号を得た後の計算機が担うデータ解析に焦点を当てる。信号再構成技術とノイズを含む複雑なスペクトルを統計的に解析可能なアルゴリズムを開発し、低感度のin-cell信号でも高精度構造解析可能となるシステム開発を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究は、in-cell NMR法の一般化に向けて、特に計算アルゴリズム開発に焦点を絞り、主に以下の3項目について、新規手法を開発する。I.スペクトル自動解析アルゴリズムのin-cellスペクトルへの最適化、II.構造計算アルゴリズムの改良、III.信号処理手法の開発、IとIIのスペクトル自動解析アルゴリズム開発は、申請者がこれまで従来の溶液NMR法を主目的として開発してきたCYANA、

FLYAを基盤にin-cell NMR法への最適化を進める。これにより、既存システムをそのまま利用可能なため新規アルゴリズム開発のみ集中でき、本課題の最終目標の1つである本手法の世界普及を進める点においても優位な戦略となる。IIIの信号処理手法の開発は、信号解析・統計科学の専門のグループと共同で開発を進めていく。

### 4. 研究成果

#### (1) NMR信号処理法の開発

世界初の細胞内蛋白質立体構造決定では、Non-Uniform Sampling (NUS)によってNMR測定点数を減らすことで、計測時間の大幅な短縮を行った。これにより、NMR試料管での細胞寿命時間内で3次元NMRスペクトル測定を行い、Maximum Entropy (MaxEnt)法により、削られたデータ点を再構成することで、構造解析可能な良好なスペクトルの習得に成功した。本課題では、さらに、MaxEntを発展させたQuantitative Maximum Entropy (QME)法の開発に成功した。QME法は、従来のMaxEntと比較して特にダイナミックレンジの大きなスペクトルに有効であることが示された。この手法を、Sf9細胞を用いたin-cell NMRに応用することで、3次元NMRスペクトルの測定に成功し、78%の蛋白質主鎖原子の化学シフト帰属を達成した(図1)。本成果は、真

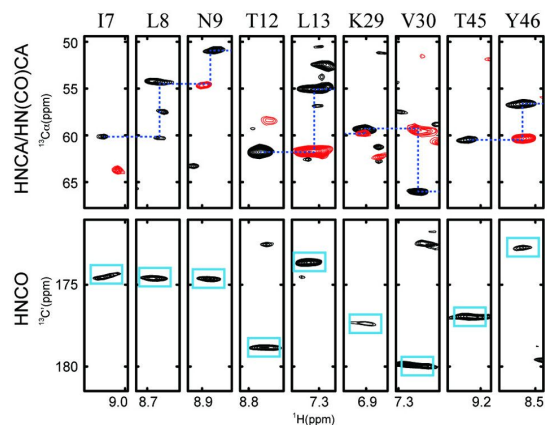


図1. Sf9内のGB1蛋白質の3D HNCA(黒)とHN(CO)CAスペクトル(赤). 青の点線は、主鎖連鎖帰属を示す。

核細胞を用いたin-cell NMRで、3次元スペクトル測定を可能にした世界初の事例として、学術論文誌上に発表した(*J. Am. Chem. Soc.*, 135(5), 1688-1691)。これにより、本課題の1つの大きな目標である、生きた真核細胞内での蛋白質立体構造決定への大きな足掛かりとなった。

また、現在提案されている複数の信号処理法(MaxEnt, QME, Iterative Soft Thresholding (IST), Iteratively Reweighted Least Squares (IRLS))について、3D, 4D NOESYスペクトルの再構成に関する包括的な性能評価を行った。この結果、我々が開発したQME法が、近年開発が活発に進められているIST, IRLS法と比較しても、十分に

高い再現性能を持つことが示され、この成果を学術論文誌に発表した(*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 457, 2015, 200-205).

さらなるスペクトルの向上を目的として、内点法を用いた圧縮センシングのプログラム開発に取り組み、プログラムの初期バージョンの開発にも成功した。現在、1/8 までデータを間引いた HNCQ スペクトルを高い再現性で再構成できることは示せたが、さらなる性能向上に向けて、現在改良を進めている。

## (2) 新規 NMR 立体構造計算手法の開発

NMR 立体構造解析プログラム CYANA に実装されている 2 面角系分子動力学計算(TAMD)を改良し、Cartesian 系 MD(CMD)の代表的ソフトウェアである Amber の物理ポテンシャルを導入、TAMD と CMD の包括的な比較を行った。CMD では、4fs のタイムステップで計算が発散してしまうのに対し、TAMD と Leap-Frog Verlet 法を組み合わせた CYANA では、12fs のタイムステップでも安定して計算可能であることを示した。また、この MD 計算機能を CYANA の NOE 自動帰属と組み合わせることで従来法では、ほとんど収束しなかった極端に NOE が少ないデータにも、収束した構造を得ることに成功した(図 2)。複数の異なる蛋白質、シミュレーションデータに適用し、本手法の包括的な評価も行った。

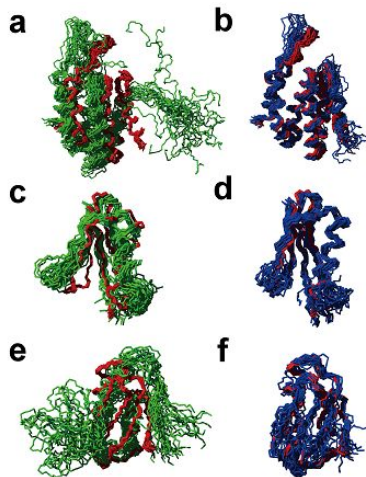


図 2. NOE ピークをランダムに間引いたデータセットを用いた立体構造計算の結果。従来の CYANA による計算結果(緑)と新規手法(青)との比較。赤は参照構造。構造は、ENTH (a,b), GB1 (c,d), TTHA1718 (e,f)を示す。

また、ベイズモデリングを用いた新規立体構造計算手法の実装に成功し、物理ポテンシャルを用いた TAMD と組み合わせることで、従来よりも少ない実験データにおいても高精度に立体構造決定が可能であることを示した。本手法では、NOE のピーク強度から原子間距離への変換パラメータを従来法の定数から、分布関数に再定義することで、実験データに含まれる曖昧さを分布関数の広がりによって表現することが可能となった。さらに、実験データの説明変数をマルコフ連鎖モンテカルロ(MC)法で、原子座標を MD によって探

索するハイブリッド MC 法を導入した。パラメータが極小値にとどまってしまう問題はレプリカ交換 MC 法により解決した。

さらに、ベイズ推定を利用した本手法を、NOE 解析と構造計算を再帰的に実行可能なプログラムへの拡張にも成功した。加えて、本手法の有用性を検証するために、立体構造と NMR 緩和データから NOESY スペクトルを逆計算するシミュレーションアルゴリズムも新たに開発した。このシミュレーションにより、実験データに含まれるような曖昧さを完全に排除したスペクトルを立体構造から作成可能となった。実際に、GB1 蛋白質の構造を元に  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -NOESY スペクトルをシミュレーションし、ここで作成された 95%のシグナルを消失させたデータを従来法と本手法の両方に適応させたところ、従来法では正解構造からの RMSD 値が 4.3 と収束した構造が得られなかったが、本手法では 2.4 と大幅な改善が確認できた(図 3)。また、実際の実験データに対する適用可能性を検証するため、in-cell NMR 法により測定された生細胞内の GB1 蛋白質のスペクトルデータに対しても本手法を適応した。解析の結果、従来法では、in-vitro の構造との RMSD 値が 1.8 であったのに対し、ベイズ推定を利用した本手法では、0.7 と大幅な改善が確認できた。以上により、ベイズ推定を利用した新規立体構造計算手法は、シミュレーションおよび実際の実験データに対して、従来法と比較して非常に高精度の解析が可能であることを示すことができた。

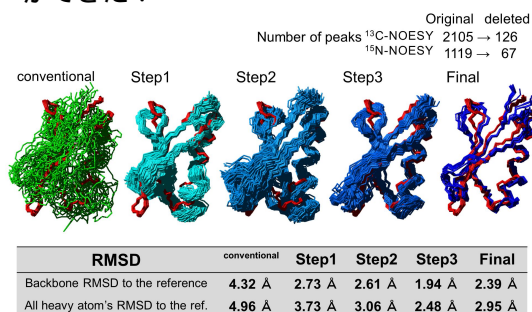


図 3. ベイズ推定を用いた立体構造計算と NOE の自動帰属の繰り返し計算による構造の変化。従来法の構造(緑)を繰り返し計算により構造最適化することで、参照構造(赤)に近づいている。

## (3) 常磁性金属を用いた NMR 立体構造解析

常磁性金属から得られる構造情報は、最も標準的な NOE を用いた手法に比べて、遠距離の距離情報、角度情報を得ることができると近年研究が活発化している。本課題で、常磁性金属を蛋白質に結合させるために新たに設計したキレートタグ DOTA-M8 の合成に成功し、モデル蛋白質にこれを簡便かつ安定的に結合させられることを示した。この蛋白質試料を用いた NMR 実験では、in-vitro 環境下で、PRE(Paramagnetic Relaxation Enhancement)と PCS(PseudoContact Shift)の観測にも成功した。今後はこのスペクトル

の帰属を行い、化学シフトやピーク強度変化から、距離、角度情報を抽出することを目指す。

計算手法開発の観点では、磁化率テンソルを計算する新規手法を、CYANA に実装することに成功した。これにより、構造の最適化と磁化率テンソルの計算を再帰的に行うことが可能となり、より高精度の構造情報を習得できる。シミュレーションデータを用いた計算実験では、良好な結果を示したことから、今後は DOTA-M8 を用いた実際の実験データを用いて、本手法の有用性を検証する。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

Shigemitsu, Y., Ikeya, T., Yamamoto, A., Tsuchie, Y., Mishima, M., Smith, B.O., Guentert, P. & Ito, Y., "Evaluation of the reliability of the maximum entropy method for reconstructing 3D and 4D NOESY-type NMR spectra of proteins.", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有, 457, 2015, 200-205, DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.12.088

Lin, Y. J., Ikeya, T., Kirchner, D. K. & Guentert, P., "Influence of incomplete NOESY peaks of the interface residues on structure determinations of homodimeric proteins.", *J. Chin. Chem. Soc.*, 査読有, 61, 2014, 1297-1306, DOI: 10.1002/jccs.201400095

Schmidt, E., Ikeya, T., Takeda, M., Loehr, F., Buchner, L., Ito, Y., Kainosho, M., Guentert, P., "Automated resonance assignment of the 21 kDa stereo-array isotope labeled thioldisulfide oxidoreductase DsbA.", *J. Magn. Reson.*, 査読有, 249, 2014, 88-93, DOI: 10.1016/j.jmr.2014.10.005

Hembram D.S., Haremake T., Hamatsu J., Inoue J., Kamoshida H., Ikeya T., Mishima M., Mikawa T., Hayashi N., Shirakawa M. and Ito Y., "An in-cell NMR study of monitoring stress-induced increase of cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration in HeLa cells.", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有, 438, 2013, 653-659, DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.07.127. Epub 2013 Aug 8.

Lin Y.J., Ikeya T., Guentert P. and Chang L.S., "NMR solution structure of a Chymotrypsin inhibitor from the Taiwan cobra *Naja naja atra.*", *Molecules*, 査読有, 18, 2013, 8906-8918, DOI: 10.3390/molecules18088906.

J. Hamtsu, D. O'Donovan, T. Tanaka, T. Shirai, Y. Hourai, T. Mikawa, T. Ikeya, M. Mishima, W. Boucher, B. O. Smith, E. D. Laue, M. Shirakawa and Y. Ito,

"High-Resolution Heteronuclear Multi-dimensional NMR of Proteins in Living Insect Cells Using a Baculovirus Protein Expression System", *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 135, 2013, 1688-1691, DOI: 10.1021/ja310928u

伊藤隆, 濱津順平, 池谷鉄兵, "蛋白質機能における構造-ダイナミクス-安定性の関係: In-cell NMR からわかること", *生物物理*, 査読有, 53, 2013, 76-81, DOI: 10.2142/biophys.53.076

[学会発表](計 48 件)

Teppei Ikeya, "A NMR protein structure determination algorithm based on Bayesian inference", The Global Human Resource Program Bridging Across Physics and Chemistry, 2015 年 01 月 30 日, 首都大学東京 東京

Teppei Ikeya, Yutaka Ito, "Three-Dimensional Protein Structure and Dynamics in Living Cells", "Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions" The 3rd International Symposium, 2015 年 01 月 10 日 ~ 11 日, 合歡の郷 三重

池谷鉄兵, 伊藤隆, "NMR 法の基礎", 「生命分子システムにおける動的秩序形成と高次機能発現」計算・計測セミナー(招待講演), 2015 年 01 月 09 日, 合歡の郷 三重

木川隆則, 葛西卓磨, 池谷鉄兵, "スパースモデリングによる NMR 計測・解析の高速高精度化", 新学術領域「スパースモデリングの深化と高次元データ駆動科学の創成」公開シンポジウム, 2014 年 12 月 15 日 ~ 17 日, 東京大学 東京

Teppei Ikeya, Jin Inoue, Peter Guentert, Yutaka Ito, "Three-Dimensional Protein Structure and Dynamics in Living Cells", 7th Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences (招待講演), 2014 年 11 月 26 日 ~ 28 日, ソウル, 韓国

池谷鉄兵, 伊藤隆, "生きた細胞内での蛋白質の立体構造とダイナミクス", 第 42 回構造活性相関シンポジウム(招待講演), 2014 年 11 月 13 ~ 14 日, くまもと森都心プラザ 熊本

鴨志田一, 石川真帆, 田中孝, 井上仁, 池谷鉄兵, 三島正規, 白川昌宏, 伊藤隆, ヒト培養細胞を用いた calbindin D9k の in-cell NMR 測定, 第 53 回 NMR 討論会, 2014 年 11 月 04 日 ~ 06 日, 大阪大学 大阪

田中孝, 濱津順平, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, Sf9 細胞の in-cell NMR を用いた 3D NOESY スペクトルの測定, 第 53 回 NMR 討論会, 2014 年 11 月 04 ~ 06 日, 大阪大学 大阪

池谷鉄兵, 伊藤隆, Peter Guentert, ベイズ推定を利用した NMR 蛋白質構造最適化法の開発, 第 53 回 NMR 討論会, 2014 年 11 月 04 日 ~ 06 日, 大阪大学 大阪

Kazuya Sumikoshi, Teppei Ikeya,

Yutaka Ito, Kentaro Shimizu, “NMR スペクトルの再構成における圧縮センシングの基底選択の影響”, 第 52 回日本生物物理学会年会, 2014 年 09 月 25 日 ~ 27 日, 札幌コンベンションセンター 北海道

池谷鉄兵, 伊藤隆, Peter Guentert, “ベイズ推定を利用した NMR 蛋白質構造最適化法の開発”, 第 52 回日本生物物理学会年会, 2014 年 09 月 25 日 ~ 27 日, 札幌コンベンションセンター 北海道

池谷鉄兵, 井上仁, 伊藤隆, “生きた細胞中の天然変性蛋白質の動態”, 第 52 回日本生物物理学会年会 (招待講演), 2014 年 09 月 25 日 ~ 27 日, 札幌コンベンションセンター 北海道

池谷鉄兵, 伊藤隆, Peter Guentert, “タンパク質の立体構造計算における NMR データの可視化”, 日本分光学会 NMR 分科会 (招待講演), 2014 年 09 月 11 日, 東京大学 東京

Dambarudhar Shiba Sanker Hembram, Hajime Kamoshida, Takahiro Haremake, Jumpei Hamatsu, Jin Inoue, Teppei Ikeya, Masaki Mishima, Masahiro Shirakawa, Yutaka Ito, “An in-cell NMR study of monitoring stress-induced increase of cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration in HeLa cells”, XXVIth ICMRBS, 2014 年 08 月 24 日 ~ 29 日, Dallas, Texas USA, XXVIth ICMRBS, 2014 年 08 月 24 日 ~ 29 日, Dallas, Texas USA

Takashi Tanaka, Jumpei Hamatsu, Emiko Seiwa, Teppei Ikeya, Masaki Mishima, Yutaka Ito, “Structural analysis of proteins inside living sf9 cells by in-cell NMR spectroscopy”, XXVIth ICMRBS, 2014 年 08 月 24 日 ~ 29 日, Dallas, Texas USA

Teppei Ikeya, Yutaka Ito, Peter Guentert, “A refinement method for NMR protein structure determination based on Bayesian inference.”, XXVIth ICMRBS, 2014 年 08 月 24 日 ~ 29 日, Dallas, Texas USA

伊藤隆, 池谷鉄兵, “生細胞内の秩序構造が誘起する蛋白質立体構造の安定性”, 新学術領域「生命分子システムにおける動的秩序形成と高次機能発現」領域会議, 2014 年 08 月 04 日 ~ 07 日, 小松 石川

伊藤隆, 井上仁, 池谷鉄兵, NMR を用いた細胞内環境における蛋白質のフォールディング解析, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014 年 06 月 25 日 ~ 27 日, ワークピア横浜 神奈川

池谷鉄兵, 池田思朗, 木川隆則, 伊藤隆, Peter Guentert, “ベイズ推定を用いた NMR データのモデリングと蛋白質立体構造計算”, 新学術領域「スパースモデリングの深化と高次元データ駆動科学の創成」領域会議, 2014 年 06 月 19 日 ~ 21 日, 東京大学 東京

伊藤隆, 池谷鉄兵, “Applications of nonlinear sampling and maximum entropy

reconstruction to problematic protein samples”, 阪大学蛋白質研究所セミナー IPR Seminar (招待講演), 2014 年 06 月 19 日, 名古屋大学 愛知

⑲ 池谷鉄兵, 伊藤隆, “A NMR structure calculation algorithm based on Bayesian inference”, 阪大学蛋白質研究所セミナー IPR Seminar (招待講演), 2014 年 06 月 19 日, 名古屋大学 愛知

⑳ 池谷鉄兵, 解析法: CYANA を用いた新しい高次構造計算, In-cell NMR 講習会 (招待講演), 2014 年 03 月 18 日 ~ 19 日, 理化学研究所横浜研究所 神奈川

㉑ 池谷鉄兵, “In-cell NMR 法を用いた生きた細胞内での天然変性蛋白質の立体構造とダイナミクス”, 天然変性タンパク質の分子認識機構と機能発現 第 3 回公開シンポジウム (招待講演), 2014 年 02 月 27 日, 九州大学 九州

㉒ 池谷鉄兵, “生きた細胞中での蛋白質立体構造決定とダイナミクス解析”, 第 346 回 CBI 学会研究講演会 (招待講演), 2014 年 02 月 13 日, 東京大学 東京

㉓ Teppei Ikeya, “A NMR protein structure determination algorithm based on Bayesian inference”, The Global Human Resource Program Bridging Across Physics and Chemistry, 2014 年 01 月 31 日, 首都大学東京 東京

㉔ 池谷鉄兵, 嶋崎真那人, 三島正規, 伊藤隆, Peter Guentert, “NMR タンパク質立体構造決定のための新規構造最適化法の開発”, CREST/構造生命 合同キックオフミーティング・研究成果報告会, 2013 年 12 月 19 日 ~ 20 日, ホテルラフォーレ琵琶湖 滋賀

㉕ 鴨志田一, 晴波貴洋, 濱津順平, 井上仁, 池谷鉄兵, 三島正規, 白川昌宏, 伊藤隆, “In-cell NMR を用いた, HeLa 細胞内のストレス応答による Ca<sup>2+</sup> 濃度変化のモニタリング”, 第 52 回 NMR 討論会, 2013 年 11 月 12 日 ~ 14 日, 石川県立音楽堂 石川

㉖ 田中孝, 浜津順平, 清和恵美子, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, “Sf9 細胞の in-cell NMR におけるアミノ酸選択的安定同位体標識”, 第 52 回 NMR 討論会, 2013 年 11 月 12 日 ~ 14 日, 石川県立音楽堂 石川

㉗ 嶋崎真那人, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, Peter Guentert, “NMR 蛋白質立体構造決定のための新規構造最適化法の開発”, 第 52 回 NMR 討論会, 2013 年 11 月 12 日 ~ 14 日, 石川県立音楽堂 石川

㉘ 池谷鉄兵, “NMR による蛋白質分子立体構造解析の高精度化および細胞内計測を目指した CS とベイズ法適用の試み”, 新学術領域 4 班合同ミニワークショップ (招待講演), 2013 年 11 月 07 日, 京都大学 京都

㉙ 角越和也, 池谷鉄兵, 伊藤隆, 清水謙多郎, 圧縮センシングを用いた NMR スペクトルの復元法, 第 51 回 日本生物物理学会年会, 2013 年 10 月 28 日 ~ 30 日, 京都

③② 嶋崎真奈人, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, Peter Guentert, “NMR タンパク質立体構造決定のための新規構造最適化法の開発”, 第 51 回 日本生物物理学会年会, 2013 年 10 月 28 日 ~ 30 日, 京都国際会議場 京都

③③ Tanaka T., Hamatsu J., Seiwa E., Ikeya T., Masaki M. and Ito Y., “Structural analysis of proteins inside living sf9 cells by in-cell NMR spectroscopy”, 5th Asia-Pacific NMR Symposium, 2013 年 10 月 27 日 ~ 31 日, Brisbane, Australia

③④ 池谷鉄兵, “天然変性蛋白質の細胞内解析に向けたペプチド分子の in-cell NMR 計測”, 「天然変性タンパク質」領域班会議, 2013 年 09 月 03 日 ~ 05 日, ひだホテルプラザ 岐阜

③⑤ Teppei Ikeya, Bayesian-based protein structure refinement, RRR 2013(招待講演), 2013 年 01 月 31 日 ~ 02 月 01 日, 大阪大学 大阪

③⑥ Dambrudhar Shiba Sanker Hembram, Jumpei Hamatsu, Takahiro Haremaki, Kaori Oonishi, Masahiro Shirakawa, Teppei Ikeya, Masaki, Mishima, Yutaka Ito, “Multi-dimentional In-cell NMR Spectroscopy of Proteins in Hela Cells”, 第 85 回日本生化学会, 2012 年 12 月 14 日 ~ 16 日, 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 福岡

③⑦ Dambrudhar Shiba Sanker Hembram, Jumpei Hamatsu, Takahiro Haremaki, Kaori Oonishi, Masahiro Shirakawa, Teppei Ikeya, Masaki Mishima, Yutaka Ito, “Multi-dimentional In-cell NMR Spectroscopy of Proteins in Hela Cells”, 第 35 回日本分子生物学会, 2012 年 12 月 11 ~ 14 日, 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 福岡

③⑧ 晴椋貴洋, Dambrudhar Shiba Sanker Hembram, 浜津順平, 池谷鉄兵, 三島正規, 白川昌宏, 伊藤隆, メチル基選択的プロトン標識を用いた HeLa 細胞中の in-cell NMR 解析, 第 35 回日本分子生物学会, 2012 年 12 月 11 日 ~ 14 日, 福岡

③⑨ 嶋崎真那人, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, Peter Guentert, “二面角系分子動力学計算を用いたタンパク質立体構造決定における構造最適化計算法の開発”, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 日 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑩ 山本晃広, 池谷鉄兵, 角越和也, 三島正規, 伊藤隆, “Nonlinear Sampling データに対する複数の信号再構成法の包括的な比較”, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 日 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑪ 田中孝, 浜津順平, 清和恵美子, 池谷鉄兵, 三島正規, 伊藤隆, “Sf9 細胞の in-cell NMR における測定条件の最適化”, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 日 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑫ 浜津順平, 田中孝, 白井隆弘, 池谷鉄兵, 三島正規, 白川昌宏, 伊藤隆, “Sf9 細胞の in-cell NMR: シグナル帰属と構造解析の試

み”, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 日 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑬ 晴椋貴洋, 浜津順平, Dambrudhar Shiba Sanker Hembram, 池谷鉄兵, 三島正規, 白川昌宏, 伊藤隆, メチル基選択的プロトン標識を用いた HeLa 細胞中の in-cell NMR 解析, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 日 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑭ 池谷鉄兵, 嶋崎真那人, 三島正規, 伊藤隆, Peter Guentert, ベイズ法を利用した新規構造計算法の開発, 第 51 回 NMR 討論会, 2012 年 11 月 08 ~ 10 日, ウィンク愛知 愛知

④⑮ 池谷鉄兵, “測定時間を劇的に短縮: Non-Uniform Sampling 法の津々浦々”, NMR 分光部会集中講義(招待講演), 2012 年 10 月 24 日, 東京大学 東京

④⑯ Junpei Hamatsu, Dambrudhar Shiba Sanker Hembram, Masaki Mishima, Teppei Ikeya, Masahiro Shirakawa, Yutaka Ito, “Structural and dynamics studies of protein in living cells by in-cell NMR spectroscopy”, XXVth ICMRBS, 2012 年 08 月 19 日 ~ 24 日, フランスリヨン

④⑰ 池谷鉄兵, “最新 NMR 構造決定法”, NMR discussion in KYOTO 2012 (招待講演), 2012 年 07 月 27 日, 京都大学 京都

④⑱ Junpei Hamatsu, Daniel Nietlispach, Teppei Ikeya, Masaki Mishima, Mashiro Shirakawa, Yutaka Ito, “Structure determination of the protein G B1 domain in living cells by in-cell NMR spectroscopy”, Molecular Crowding 2012, 2012 年 06 月 10 日 ~ 14 日, スイス ルカルノ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

(1) ホームページ  
首都大学東京有機構造生物化学研究室  
[http://www.comp.tmu.ac.jp/osbc/Group\\_Ito/index.html](http://www.comp.tmu.ac.jp/osbc/Group_Ito/index.html)  
NMR 立体構造解析ソフト CYANA  
[http://www.cyana.org/wiki/index.php/Main\\_Page](http://www.cyana.org/wiki/index.php/Main_Page)

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
池谷 鉄兵 (IKEYA, Teppei)  
首都大学東京・理工学研究科・助教  
研究者番号: 30457840

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
伊藤 隆 (ITO, Yutaka)  
首都大学東京・理工学研究科・教授  
研究者番号: 80261147  
GUENTERT PETER (GUENTERT, Peter)  
首都大学東京・理工学研究科・客員教授  
研究者番号: 20392110