

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440032

研究課題名(和文) NMR自動解析手法の細胞内蛋白質構造決定への最適化

研究課題名(英文) Optimization of automated NMR data analysis for in-cell NMR structure determination

研究代表者

PETER GUENTERT (Peter, Guentert)

首都大学東京・理工学研究科・教授

研究者番号：20392110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：In-cell NMR法と呼ばれる近年急速に開発が進む新しいNMRの手法は、細胞が生きたままの状態下での蛋白質のNMRスペクトル測定を可能にした。本課題では、膨大なノイズと信号強度の減少により、曖昧、複雑化したNMRデータを、統計的、客観的に分析し、立体構造計算を行う自動解析システムを開発に成功した。この自動解析手法を、実際のin-cell NMRデータにも適用し、極めて高精度の構造決定が可能であることを示した。また本手法が、従来の溶液、固体NMRにも適用可能な汎用手法であり、様々な蛋白質やRNAのNMR解析に有効であることを示した。

研究成果の概要(英文)：In-cell NMR has enabled the direct observation of proteins in living cells. We developed the CYANA software specifically for in-cell NMR. The automated chemical shift and NOE assignment algorithms in CYANA were adapted for better handling of in-cell NMR spectra processed with nonlinear sampling techniques. The automated chemical shifts assignment is significantly more robust and efficient than previous methods, and NMR structure calculation algorithm based on Bayesian inference are cornerstones for this. Compared to spectra of purified proteins, in-cell NMR ones typically show a significant number of background signals, low signal-noise ratio, and broadened signals that lead to much higher assignment ambiguity, which makes it difficult and cumbersome to check all possibilities manually. An algorithm can exhaustively search all candidates and determine assignments more quickly and more objectively. The viability of the in-cell CYANA approach was shown by applying it to in-cell NMR data.

研究分野：構造生物化学

キーワード：NMR立体構造計算 NMR信号自動解析

### 1. 研究開始当初の背景

蛋白質が実際に働く環境での「その場観察」は、分子生物学研究の最終ゴールの1つである。In-cell NMR 法と呼ばれる近年急速に開発が進む新しい NMR の手法は、細胞が生きたままの状態下での蛋白質の NMR スペクトル測定を可能にした。この手法を用いて、細胞内での蛋白質の構造変化、運動性、分子間相互作用等の観測成功例も報告されている。一方で、in-cell NMR 法では低感度と短い細胞寿命によって、十分な構造情報を得ることが困難であった。そこで、首都大学東京の伊藤教授のグループと、申請者らの共同チームは、in-cell NMR を応用し、測定・試料調製を伊藤グループが、データ解析・立体構造計算を申請者のグループが担当し、互いの強みを生かしあうことで、世界で初めて大腸菌を用いた細胞内蛋白質の立体構造決定に成功した。こうして次の研究対象として、真核細胞中での蛋白質構造解析法を確立することを1つの大きな目標として視野に入れた研究を開始することとなった。

### 2. 研究の目的

本課題では、膨大なノイズと信号強度の減少により、曖昧、複雑化した NMR データを、統計的、客観的に分析し、立体構造計算を行う自動解析システムを開発する。これにより、計算手法の側面から、in-cell NMR を様々な試料に適用可能な汎用手法へ拡張させることを支援する。

### 3. 研究の方法

本課題では、CYANA ソフトウェアを in-cell NMR データに一層最適化させる。In-cell NMR では、短い細胞寿命による測定時間の制約により、データを間引いて(スパース)測定し、欠損部分は信号処理技術による再構成が必須である。しかしながら、再構成によるアーティファクトが逆に問題となるため、CYANA によるデータ解析も、こうしたスペクトルに最適化させる必要がある。CYANA に最近実装した新規化学シフト自動解析アルゴリズムは、以前の手法よりはるかに安定で、計算効率が高いことから、これを in-cell データにも適用できるよう修正を加える。さらに、in-cell データから原子間距離情報を正確に取得するための礎石となる情報理論に基づいた新規の NOE 解析アルゴリズムを開発する。in-cell のスペクトルは、in-vitro と比較して、膨大な背景シグナルと低い S/N 比、および線幅の増大による分解能の低下のために、帰属候補数の増加、すなわち可能性の幅が莫大となり、従来の手動解析では事実上帰属不可能である。そこで、候補数の増大による関数空間の広がりを網羅し、高速、客観的に広域探索できるアルゴリズムを開発する。

一方で、真核細胞の in-cell NMR では、従

来の NOE の距離情報を中心とした立体構造計算では、構造決定に十分な情報が得られない可能性がある。よって、近年溶液 NMR で活発に研究が進んでいる、常磁性緩和効果(PRE,PCS)の手法を in-cell NMR にも世界に先駆けて採用し、これを立体構造計算に効果的に利用可能なアルゴリズム開発を進める。すでに申請者らは従来の溶液 NMR 法には適用可能な PRE 解析アルゴリズムの開発に成功し、これにより7回膜貫通ヘリックス蛋白質であるプロテオロドプシンの世界初の NMR 構造決定にも成功している。したがって、このプログラムをもとに、in-cell データへの最適化も短期間で可能である。

### 4. 研究成果

(2013 年度 実績)

本年度は、NMR 自動解析プログラム CYANA に実装されている FLYA アルゴリズムを、より難易度の高いデータに適用可能にするための改良を行った。これにより、固体 NMR のデータ(J. Biomol. NMR 56, 243-254(2013)), NOESY スペクトルのみしか利用できないデータ(J. Biomol. NMR 57, 193-204 (2013)), および RNA 試料 (Nucl. Acids Res. 41, e172 (2013)) といった解析困難なデータに対しても、自動構造解析可能なことを示した。これらの成果は、本課題の目標の1つである in-cell NMR による立体構造決定にも、本手法が十分適用可能であることを強く示唆している。



図 1. NOESY データのみを用いた自動帰属と立体構造計算。本自動解析法を NOESY データのみのデータに適用した際も、複数のスペクトルを入力とした従来法とほぼ同一の構造を得ることに成功した。1例として、HR2876B 蛋白質の構造計算結果を示した。

また、CYANA の立体構造を高速化させるため、プログラムコードの一部の GPGPU (General Purpose Computation on Graphics Processing Unit)化にも成功した。In-cell NMR 計測では、アフリカツメガエルの卵母細胞中でのペプチジルプロリン異性化酵素 Pin1 のシグナル観測に成功した。この解析から、細胞内での分子混雑環境下では、活性化 Pin1 は、基質と認識する前に細胞内蛋白質と非特

異的に複合体を形成していることが分かった (J. Am. Chem. Soc. 135, 13796-13803 (2013)). また, Ficoll 70 を分子クラウディング剤として用いた人工環境下では, ここで示した Pin1 の細胞内動態を再現することができないことも明らかにした. 我々の結果は, 「生理的条件下に近い環境下で表面電荷を持たない球状蛋白質の多くは, 細胞内の分子混雑状況下では, 他の蛋白質分子と巨大分子複合体となって存在する」という McConkey の仮説を裏付けるものとなった.

(2014 年度 実績)

本年度は, CYANA プログラムをより高難度試料に対応するために, CYANA の機能の 1 つである自動帰属と立体構造計算の改良に注力を注いだ. また, 具体的な解析対象として, アミロイド線維化する蛋白質 (Schuetz et al. Angew. Chem. Int. Ed. 54, 331-335 (2015)), 20kDa を超える蛋白質 (Schmidt et al., J. Magn. Reson. 249, 88-93 (2014)), RNA (Kraehenbuehl et al. J. Biomol. NMR 59, 87-93 (2014)) などの構造解析を行った. これらの結果はいずれも極めて良好であり, 今回改良を加えた新機能が, 高難度試料にも十分適用可能であることを示した.

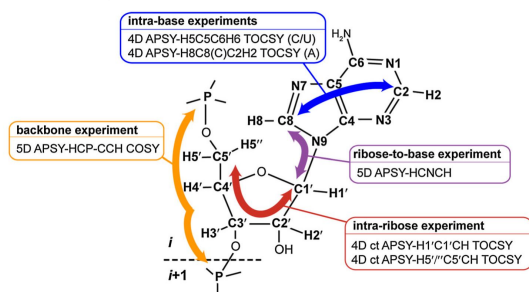


図 2. RNA 主鎖のホスホジエステル結合を介して,  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$  および  $^{15}\text{N}$  原子核共鳴の自動帰属に最適化した APSY NMR 実験の模式図

一方で, in-cell NMR スペクトルの改善を目指して, 3D,4D NOESY スペクトルに対する最大エントロピー法(MaxEnt)の評価を行った (Shigemitsu et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 457, 200-205 (2015)). In-cell NMR 解析には, 高速な NMR 測定が必須であるが, ここでは我々が開発を進めてきた MaxEnt が, かなり効果的であることを再評価できた.

NMR 立体構造の新規計算手法も開発した. NMR 構造計算では, 一般的に複数の計算結果をまとめたアンサンブル構造を最終構造とし, この収束度を計算精度の指標としている. 一方で, これは構造の確度と必ずしも一致しない点がこれまで問題とされてきた. 我々は, NOESY の自動帰属と立体構造計算を複数回繰り返して, 計算毎の一致度をみることで, 極端に構造が収束することを避けられる手法の開発に成功した (Buchner et al. Structure 23, 425-434 (2015)).

(2015 年度 実績)

本課題の最終年度は, CYANA プログラムの自動帰属と立体構造計算の改良に成功し, 細胞内蛋白質, 創薬の開発に重要な蛋白質-リガンド複合体, 蛋白質のダイナミクス解析など, 複数の試料に応用し, 新たな知見を得ることに成功した.

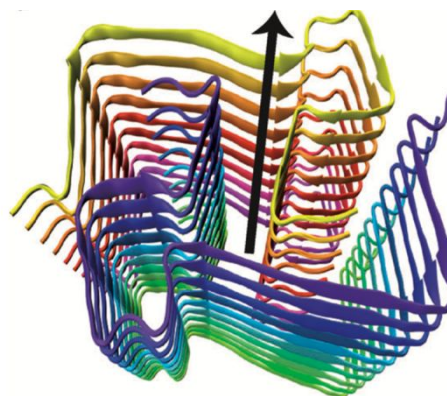


図 3. NMR データから得られた距離および 2 面角の拘束条件を用いて計算した Aβ1-40 E2D の 3 次元構造.

新規に改良を加えた NOE 自動解析法と立体構造計算手法の開発は, J. Biomol. NMR 62, 453-471 (2015) に報告している. また, ベイズ推定を立体構造計算に応用した手法を, J. Phys Conf. Ser. 699, 012005 (2016) に報告した. 本手法は, NOE クロスピークの自動解析を実行しながら, 水を陰に考慮した物理ポテンシャルから得られる事前確率分布を活用し, 構造計算を行うことで, 従来法より遙かに高精度に構造解析が可能であることを示した.

また, これらの NMR 解析法を, これまでの蛋白質や核酸のみから, 任意の有機分子にも適用可能な改良を加え, その有効性を検証した (J. Biomol. NMR 63, 21-37 (2015)). これにより, 特に創薬研究に応用されるような蛋白質-リガンドの構造解析に応用が可能となった. 複合体の構造解析では, これに加えて, 測定とデータ解析を組み合わせた新手法として, 薬の候補分子と蛋白質の構造活性を推定可能な, NMR @ の開発に成功した. 本手法は, 複合体の結合部位を原子解像度で決定できる高速・堅牢な手法として, 今後の創薬開発に大きく貢献できると期待される.

本年度はさらに, NMR データから正確な距離情報を見積もることのできる eNOE 法 (J. Struct. Biol. 191, 306-317 (2015); Biophys. J. 110, 113-126 (2016)) やシクロフィリン酵素の 2 状態解析にも成功した (Angew. Chem. 54, 11657-11661 (2015)).

さらに, 新たな in-cell NMR 法の開発にも成功した. これまでに細胞内蛋白質の立体構造決定に成功した例は, 2009 年の我々の報告以外なく, 様々な蛋白質に適用可能な汎用手

法となっていない点が問題であった。ここでは、QMEによる信号処理、FLYA法による自動帰属、ベイズ推定を用いた立体構造という我々が開発した3つの新しい手法を組み合わせることにより、より生理的条件に近い蛋白質濃度においても構造決定が可能であることを示した。細胞内濃度が約250 μM程度のGB1蛋白質においても高精度の構造決定が可能であることを示すことができた。

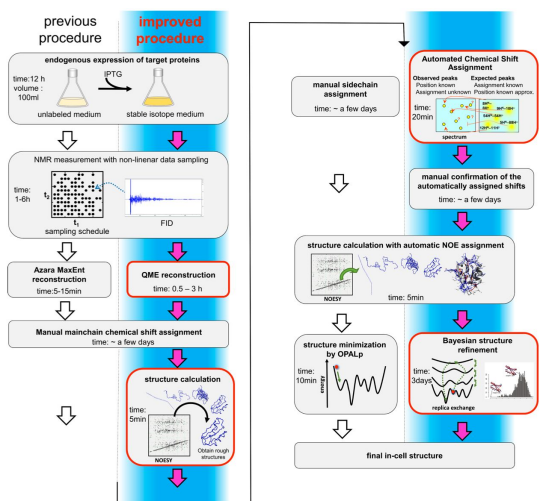


図4. 我々が2009年に採用したin-cell NMR構造決定と本課題で開発した新しい解析法の比較した流れ図。

## 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 39 件)

- Orts, J., Wälti, M. A., Marsh, M., Vera, L., Gossert, A. D., Güntert, P. & Riek, R. NMR-based determination of the 3D structure of the ligand-protein interaction site without protein resonance assignment. *J. Am. Chem. Soc.* 138, 4393–4400 (2016). 査読有 DOI 10.1021/jacs.5b12391
- Ikeya, T., Ikeda, S., Kigawa, T., Ito, Y. & Güntert, P. Protein NMR structure refinement based on Bayesian inference. *J. Phys. Conf. Ser.* 699, 012005 (2016). DOI 10.1088/1742-6596/699/1/012005
- Wiegand, T., Gardiennet, C., Ravotti, F., Bazin, A., Kunert, B., Lacabanne, D., Cadalbert, R., Güntert, P., Terradot, L., Böckmann, A. & Meier, B. H. Solid-state NMR sequential assignments of the N-terminal domain of *HpDnaB* helicase. *Biomol. NMR Assign.* 10, 13–23 (2016). 査読有 DOI 10.1007/s12104-015-9629-8
- Vögeli, B., Olsson, S., Güntert, P. & Riek, R. The exact NOE as an alternative in ensemble structure determination. *Biophys. J.* 110, 113–126 (2016). 査読有 DOI 10.1016/j.bpj.2015.11.031
- Vögeli, B., Olsson, S., Riek, R. & Güntert, P. Compiled data set of exact NOE distance limits, residual dipolar couplings and scalar couplings for the protein GB3. *Data in Brief* 5, 99–106 (2015). 査読有 DOI 10.1016/j.dib.2015.08.020
- Chi, C. N., Vögeli, B., Bibow, S., Strotz, D., Orts, J., Güntert, P. & Riek, R. A structural ensemble of the enzyme cyclophilin reveals an orchestrated mode of action at atomic resolution. *Angew. Chem.* 127, 11657–11661 (2015). 査読有 DOI 10.1002/anie.201503698
- Yilmaz Maden, E. & Güntert, P. NMR structure calculation for all small molecule ligands and non-standard residues from the PDB Chemical Component Dictionary. *J. Biomol. NMR* 63, 21–37 (2015). 査読有 DOI 10.1007/s10858-015-9959-y
- Vögeli, B., Olsson, S., Riek, R. & Güntert, P. Complementarity and congruence between exact NOEs and traditional NMR probes for spatial decoding of protein dynamics. *J. Struct. Biol.* 191, 306–317 (2015). 査読有 DOI 10.1016/j.jsb.2015.07.008
- Güntert, P. & Buchner, L. Combined automated NOE assignment and structure calculation with CYANA. *J. Biomol. NMR* 62, 453–471 (2015). 査読有 DOI 10.1007/s10858-015-9924-9
- Huang, S. Y., Chang, C. F., Fan, P. J., Naik, M. T., Güntert, P., Shih, H. M. & Huang, T. H. The RING domain of human promyelocytic leukemia protein (PML). *J. Biomol. NMR* 61, 173–180 (2015). 査読有 DOI 10.1007/s10858-015-9901-3
- Buchner, L. & Güntert, P. Increased reliability of NMR protein structures by consensus structure bundles. *Structure* 23, 425–434 (2015). 査読有 DOI 10.1016/j.str.2014.11.014
- Shigemitsu, Y., Ikeya, T., Yamamoto, A., Tsuchie, Y., Mishima, M., Smith, B. O., Güntert, 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.* 457, 200–205 (2015). 査読有 DOI 10.1016/j.bbrc.2014.12.088
- Schütz, A. K., Vagt, T., Huber, M., Ovchinnikova, O. Y., Cadalbert, R., Wall, J., Güntert, P., Böckmann, A., Glockshuber, R., and Meier, B. H. Atomic-resolution three-dimensional structure of amyloid  $\beta$  fibrils bearing the Osaka mutation. 査読有 *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 331–335 (2015). DOI 10.1002/anie.201408598
- Schmidt, E. & Güntert, P. Automated structure determination from NMR spectra. *Meth. Mol. Biol.* 1261, 303–329 (2015). DOI 10.1007/978-1-4939-2230-7\_16
- Lin, Y. J., Ikeya, T., Kirchner, D. K. & Güntert, P. Influence of incomplete NOESY peaks of the interface residues on structure determinations of homodimeric proteins. *J. Chin. Chem. Soc.* 61, 1297–1306 (2014). 査読有 DOI 10.1002/jccs.201400095
- Schmidt, E., Ikeya, T., Takeda, M., Löhr, F., Buchner, L., Ito, Y., Kainosho, M. & Güntert, P. Automated resonance assignment of the 21 kDa stereo-array isotope labeled thioldisulfide oxidoreductase DsbA. *J. Magn. Reson.* 249, 88–93 (2014). 査読有 DOI 10.1016/j.jmr.2014.10.005

17. Tsuda, K., Kuwasako, K., Nagata, T., Takahashi, M., Kigawa, T., Kobayashi, N., Güntert, P., Shirouzu, M., Yokoyama, S. & Muto, Y. Novel RNA recognition motif domain in cytoplasmic polyadenylation element binding protein 3. *Proteins* 82, 2879–2886 (2014). 査読有 DOI 10.1002/prot.24651
18. Kuwasako, K., Takahashi, M., Unzai, S., Tsuda, K., Yoshikawa, S., He, F., Kobayashi, N., Güntert, P., Shirouzu, M., Ito, T., Tanaka, A., Yokoyama, S., Hagiwara, M., Kuroyanagi, H. & Muto, Y. RBFOX and SUP-12 sandwich a guanine base to cooperatively regulate tissue-specific splicing. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21, 778–786 (2014). 査読有 DOI 10.1038/nsmb.2870
19. Uggerhøj, L. E., Munk, J. K., Hansen, P. R., Güntert, P. & Wimmer, R. Structural features of peptoid-peptide hybrids in lipid-water interfaces. *FEBS Lett.* 588, 3291–3297 (2014). 査読有 DOI 10.1016/j.febslet.2014.07.016
20. Watson, R. P., Christen, M. T., Bumbak, F., Ewald, C., Reichen, C. Mihajlovic, M., Schmidt, E., Güntert, P., Caflisch, A., Plückthun, A., Zerbe, O. Spontaneous self assembly of fragments of engineered Armadillo repeat proteins into a folded structure. *Structure* 22, 985–995 (2014). 査読有 DOI 10.1016/j.str.2014.05.002
21. Krähenbühl, B., El Bakkali, I., Schmidt, E., Güntert, P. & Wider, G. Automated NMR resonance assignment strategy for RNA via the phosphodiester backbone based on high-dimensional through-bond APSY experiments. *J. Biomol. NMR* 59, 87–93 (2014). DOI 10.1007/s10858-014-9829-z
22. Tufar, P., Rahighi, S., Kraas, F. I., Kirchner, D. K., Löhr, F., Henrich, E., Köpke, J., Dikic, I., Güntert, P., Marahiel, M. A. & Dötsch, V. Crystal structure of a PCP/Sfp complex reveals the structural basis for carrier protein posttranslational modification. *Chem. Biol.* 21, 552–562 (2014). 査読有 DOI 10.1016/j.chembiol.2014.02.014
23. Vögeli, B., Orts, J., von Strotz, D., Chi, C., Minges, M., Wälti, M., Güntert, P. & Riek, R. Towards a true protein movie: A perspective on the potential impact of the ensemble-based structure determination using exact NOEs. *J. Magn. Reson.* 241, 53–59 (2014). DOI 10.1016/j.jmr.2013.11.016
24. Kogure, H., Handa, Y., Nagata, M., Kanai, N., Güntert, P., Kubota, K. & Nameki, N. Identification of residues required for stalled-ribosome rescue in the codon-independent release factor YaeJ. *Nucl. Acids Res.* 42, 3152–3163 (2014). 査読有 DOI 10.1093/nar/gkt1280
25. Tikole, S., Jaravine, V., Rogov, V., Dötsch, V. & Güntert, P. Peak picking NMR spectral data using non-negative matrix factorization. *BMC Bioinformatics* 15, 46 (2014). 査読有 DOI 10.1186/1471-2105-15-46
26. Orts, J., Vögeli, B., Riek, R. & Güntert, P. Stereospecific assignments in proteins using exact NOEs. *J. Biomol. NMR* 57, 211–218 (2013). 査読有 DOI 10.1007/s10858-013-9780-4
27. Bagaria, A., Jaravine, V. & Güntert, P. Estimating structure quality trends in the Protein Data Bank by equivalent resolution. *Comp. Biol. Chem.* 46, 8–15 (2013). 査読有 DOI 10.1016/j.compbiolchem.2013.04.004
28. Schmidt, E. & Güntert, P. Reliability of exclusively NOESY-based automated resonance assignment and structure determination of proteins. *J. Biomol. NMR* 57, 193–204 (2013). 査読有 DOI 10.1007/s10858-013-9779-x
29. Aeschbacher, T., Schmidt, E., Blatter, M., Maris, C., Duss, O., Allain, F. H.-T., Güntert, P. & Schubert, M. Automated and assisted RNA resonance assignment using NMR chemical shift statistics. *Nucl. Acids Res.* 41, e172 (2013). 査読有 DOI 10.1093/nar/gkt665
30. Luh, L. M., Hänsel, R., Löhr, F., Kirchner, D. K., Krauskopf, K., Pitzius, S., Schäfer, B., Tufar, P., Corbeski, I., Güntert, P. & Dötsch, V. Molecular crowding drives active Pin1 into nonspecific complexes with endogenous proteins prior to substrate recognition. 査読有 *J. Am. Chem. Soc.* 135, 13796–13803 (2013). DOI 10.1021/ja405244v
31. Rogov, V. V., Suzuki, H., Fiskin, E., Wild, P., Kniss, A., Rozenknop, A., Kato, R., Kawasaki, M., McEwan, D. G., Löhr, F., Güntert, P., Dikic, I., Wakatsuki, S. & Dötsch, V. Structural basis for phosphorylation-triggered autophagic clearance of *Salmonella*. *Biochem. J.* 454, 459–466 (2013). 査読有 DOI 10.1042/BJ20121907
32. Montelione, G. T., Nilges, M., Bax, A., Güntert, P., Herrmann, T., Richardson, J. S., Schwieters, C., Vranken, W. F., Vuister, G. W., Wishart, D. S., Berman, H. M., Kleywegt, G. J. & Markley, J. L. Recommendations of the wwPDB NMR Validation Task Force. *Structure* 21, 1563–1570 (2013). 査読有 DOI 10.1016/j.str.2013.07.021
33. Lin, Y. J., Ikeya, T., Güntert, P. & Chang, L. S. NMR solution structure of a chymotrypsin inhibitor from the Taiwan cobra. *Molecules* 18, 8906–8918 (2013). 査読有 DOI 10.3390/molecules18088906
34. Tikole, S., Jaravine, V., Orekhov, V. Y. & Güntert, P. Effects of NMR spectral resolution on protein structure calculation. *PLoS ONE* 8, e68567 (2013). 査読有 DOI 10.1371/journal.pone.0068567
35. Schmidt, E., Gath, J., Habenstein, B., Ravotti, F., Székely, K., Huber, M., Buchner, L., Böckmann, A., Meier, B. H. & Güntert, P. Automated solid-state NMR resonance assignment of protein microcrystals and amyloids. *J. Biomol. NMR* 56, 243–254 (2013). 査読有 DOI 10.1007/s10858-013-9742-x
36. Hefke, F. & Güntert, P. Prediction of peak overlap in NMR spectra. *J. Biomol. NMR* 56, 113–123 (2013). 査読有 DOI 10.1007/s10858-013-9727-9
37. Nagata, T., Tsuda, K., Kobayashi, N., Güntert, P., Yokoyama, S. & Muto, Y. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, and <sup>15</sup>N resonance assignment of the dsRBDs of mouse RNA helicase A. *Biomol. NMR Assign.* 7, 69–72 (2013). 査読有 DOI 10.1007/s12104-012-9380-3
38. Buchner, L., Schmidt, E. & Güntert, P. Peakmatch: a simple and robust method for peak list matching. *J. Biomol. NMR.* 55, 267–277 (2013). DOI 10.1007/s10858-013-9708-z
39. Vögeli, B., Güntert, P. & Riek, R. Multiple-state ensemble structure determination from eNOE spectroscopy. *Mol. Phys.* 111, 437–454 (2013). DOI 10.1080/00268976.2012.728257

1. [Güntert, P.](#) Automated assignment of NMR spectra with FLYA. Leiden University, Leiden, The Netherlands, March 30–31, 2016.
2. [Güntert, P.](#) NMR structure analysis with CYANA. 2<sup>nd</sup> G-NMR School, Goethe University Frankfurt am Main, Germany, February 29–March 4, 2016.
3. [Güntert, P.](#) Molecular multibody dynamics. 京都大学(京都府・京都市), February 15, 2016.
4. [Güntert, P.](#) Computation methods to study biomolecular systems. 京都大学(京都府・京都市), February 9, 2016.
5. [Güntert, P.](#) CYANA: A tool for structure calculation NMR Meets Biology: An Interaction Week, Kerala, India, January 14–19, 2016.
6. [Güntert, P.](#) Insight into protein structure and dynamics from solution- and solid-state NMR. WPI-NEXT Workshop on High Resolution Cell Biology, 名古屋大学(愛知県・名古屋市), October 1, 2015.
7. [Güntert, P.](#) Automated NMR resonance assignment and structure calculation. 名古屋大学(愛知県・名古屋市), September 30, 2015.
8. [Güntert, P.](#) Consensus structure bundles and the information content of NMR restraints. Wakate NMR Meeting, まほろばマインズ(神奈川県・三浦市), Japan, September 29, 2015.
9. [Güntert, P.](#) NMR structure calculation. EMBO Practical Course on Structure Determination of Biological Macromolecules by Solution NMR, München, Germany, July 31–August 7 2015.
10. [Güntert, P.](#) Advances in automated assignment and structure determination of difficult proteins. Paulo Foundation Symposium, Satellite Meeting Finnbox, Helsinki, Finland, June 9, 2015.
11. [Güntert, P.](#) Advances in automated assignment and structure determination of difficult proteins. Symposium on in-cell NMR studies, 首都大学東京(東京都・千代田区), April 24, 2015.
12. [Güntert, P.](#) Fully automated NMR assignment and structure calculation. Leiden University, The Netherlands, January 19, 2015.
13. [Güntert, P.](#) New methods for assignment and structure determination. NEF Meeting, Rutgers University, New Brunswick, USA, January 7–9, 2015.
14. [Güntert, P.](#) New methods for assignment and structure determination. NMR in Structural Biology, Mini-Symposium, University of Gothenburg, Sweden, 16.10.2014.
15. [Güntert, P.](#) NMR structure calculation and automated assignment. Biomolecular NMR: A hands-on PhD Course, Swedish NMR Centre, University of Gothenburg, Sweden, 13–17.10.2014.
16. [Güntert, P.](#) Handling NMR data in CYANA. CCPN Meeting, Brno, Czech Republic, 21–23.5.2014.
17. [Güntert, P.](#) Automated assignment and the information content of NMR data. TMRS 2014 Conference, National Tsing-Hua University, Hsin-Chu, Taiwan, February 13–14, 2014.
18. [Güntert, P.](#) Automated assignment and the information content of NMR data. Academia Sinica, Taipei, Taiwan, February 12, 2014.
19. [Güntert, P.](#) Automated assignment and the information content of NMR data. NMRS 2014 Conference, Tezpur University, Assam, India, February 2–5, 2014.
20. [Güntert, P.](#) Handling NMR data in CYANA. wwPDB Workshop on a Unified NMR Restraints Format, EMBL-EBI, Hinxton, UK, 18–19.11.2013.
21. [Güntert, P.](#) NMR structure calculation. EMBO Practical Course on Structure, Dynamics and Function of Biomacromolecules by Solution NMR, Basel, Switzerland, July 20–27, 2013.
22. [Güntert, P.](#) Automated assignment and the information content of NMR data. Computational Aspects of Biomolecular NMR Gordon Research Conference, Mt. Snow Resort, West Dover, Vermont, USA, June 2–7, 2013.
23. [Güntert, P.](#) Automated assignment and the information content of NMR data. 54<sup>th</sup> ENC Conference, Asilomar, Pacific Grove, California, USA, April 14–19, 2013.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
[www.cyana.org](http://www.cyana.org)  
[www.bpc.uni-frankfurt.de/quentert](http://www.bpc.uni-frankfurt.de/quentert)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

Peter GUENTERT (Peter Güntert)  
首都大学東京・理工学研究科・客員教授  
研究者番号： 20392110

### (2) 研究分担者

池谷 鉄兵 (Teppei Ikeya)  
首都大学東京・理工学研究科・助教  
研究者番号： 30457840

### (3) 連携研究者

伊藤 隆 (Yutaka Ito)  
首都大学東京・理工学研究科・教授  
研究者番号： 80261147