課題名(タイトル):

分子動力学シミュレーションによる生体分子の構造とダイナミクスの解明

利用者氏名:

杉田 有治 (1)、松岳 大輔 (1)、森 貴治 (1)、〇八木 清 (1)、大滝 大樹 (1,2)、伊東 真吾(1)、Hisham Dokainish (1)、Weitong Ren (1)、優 乙石 (1,3)

### 理研における所属研究室名:

(1)理化学研究所 開拓研究本部 杉田理論分子科学研究室

(2)長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 分子標的医学研究センター

(3)前橋工科大学 工学部 生命情報学科

# 分子認識に関わる生体分子の水素結合構造の解明 (担当:大滝,八木)

### 1. 本課題の研究の背景と目的

分子の振動状態は,水素結合などの局所的な化学的環 境に対し非常に敏感である.例えば,同じ分子であっても 分子内の水素結合パターンが異なれば振動分光法によっ て得られるスペクトルは全く異なる.これを利用して,振動ス ペクトルと量子化学計算(調和振動解析)によって得られる スペクトルとの比較により,これまで多くの分子構造が決定 された.

近年,実験技術の進歩により、タンパク質の一部を切り 取ったポリペプチドを非破壊的に蒸発させ極低温に冷却す ることで,安定構造の振動スペクトルを構造選択的かつ高 分解能で取得することが可能になり、タンパク質の部分構 造を決定する手法として注目を集めている. 共同研究者の 藤井ら(東工大)は、β2-アドレナリン受容体におけるアドレ ナリン結合部位の水素結合構造の解明を目的として、この 技術を利用した振動分光実験を行っている. β2-アドレナリ ン受容体は,主に気管支や血管の平滑筋細胞膜に存在す るタンパク質である.細胞外にあるアドレナリンなどと結合す ると、そのシグナルを細胞内に伝達し、平滑筋を弛緩させる 役割を担っている.藤井グループでは、アドレナリン結合部 に相当する5残基ペプチド SIVSF(S=セリン(Ser), I=イソ ロイシン(Ile), V=バリン(Val), F=フェニルアラニン(Phe)) を合成し, 末端を変えた SIVSF 単体(Fig. 1.1) およびアド レナリンのプロトン付加体との複合体の振動スペクトルの取 得に成功している.



Fig. 1.1. SIVSF の構造式. (a) 末端非修飾の SIVSF-NH<sub>2</sub>, (b) N 末端のみを修飾した Ace-SIVSF-NH<sub>2</sub>, (c) 両末端を修飾した Ace-SIVSF-NHMe.

一方,ポリペプチドのような分子の場合,(i)構造が柔らか く膨大な数の準安定構造が存在するため,最安定構造の 探索が難しい,(ii)振動の非調和性が強い水素結合が分子 内に多数存在するため,調和振動解析は信頼性が低い, などの理論計算側の問題が生じていた.申請者らは,レプ リカ交換分子動力学法,クラスタ解析,非調和振動状態計 算を組み合わせた構造決定手法を考案・適用し,これらの 問題を克服した.これまでに,RICC(一般利用:G14007), HOKUSAI(一般利用:G15020,G16018),名古屋大 CX400(HPCI 一般課題:hp140105),東工大 TSUBAME(HPCI 一般課題:hp150022)を用いて SIVSF-NH<sub>2</sub>(Fig. 1a),Ace-SIVSF-NH<sub>2</sub>(Fig. 1b)(2 つ),Ace-SIVSF-NHMe(Fig. 1.1c)(2つのうち1つ)の構 造決定に成功した.Ace-SIVSF-NHMe の残り1つについ

### 2019年度 利用報告書

ては、クラスタ解析手法の改良を行い、幾つかの構造について非調和計算を行ったが、構造の決定には至っていない(HOKUSAI 一般利用:G17024,G18029).本課題では、残り1つの構造を決定するため、候補構造について非調和振動計算を行った。

### 2. 具体的な利用内容、計算方法

これまでに、クラスタ解析により得られている約 700 個の グループから代表構造を選び、Gaussian を用いて調和振 動計算を行った。その中でエネルギーが低いものや調和ス ペクトルが実験スペクトルに比較的近いものを候補として選 び出した。非調和振動計算には、Gaussian を用いた Hessian 計算およびエネルギーー点計算を行い、精確な 非調和ポテンシャルを構築した。密度汎関数は B3LYP を 使用し、基底関数は 6-31(++)G\*\*(diffuse 関数は N, Oと それらに結合している H に使用)とした。得られた非調和ポ テンシャルを用いて、 oc-VQDPT 法を用いて振動数計算 を行った。計算された振動数と強度の寄与を半値幅 5 cm<sup>-1</sup> の Lorentz 関数として足し合わせてスペクトル計算を行っ た。

### 3. 結果

34 個の候補構造に対して非調和振動計算を行った。その中で数点の構造について、実験スペクトルとよく似ているスペクトルが得られた。

### 4. まとめ

両末端を修飾した 5 残基ペプチド Ace-SIVSF-NHMe の構造を決定するために, 候補構造の中から 34 点を選び 出し非調和振動計算を行った。非調和振動計算には量子 化学計算を用いてポテンシャルを構築した。計算により得ら れたスペクトルの中には実験スペクトルとよく似ているもの が数点見つかった。

### 5. 今後の計画・展望

今後は、実験スペクトルとスペクトルが似ている数点の構造について、より高精度なスペクトル計算を行う。具体的には、(1)取り扱う振動モードの数を増やす、(2)より多くのグリッド点を導入することで非調和ポテンシャルを高精度化する、ことなどを考えている。計算により得られたスペクトルを精査し、実験で観測されている Ace-SIVSF-NHMe の構造を決定する。

Atomistic simulation of hPGK conformational transition with string method (担当:Ren)

### 1. Background and purpose

PGK (Phosphoglycerate kinase) protein is an enzyme that catalyzes the transfer of the phosphate group from 1-3-biphosphoglycerate (1,3-bPG) to MgADP generating phosphoglycerate (3-PG) and MgATP in the first ATP-generating step of the glycolytic pathway. It is consisted of two domains termed as the N- and C-terminal domains respectively. The N-terminal domain binds the phosphoglycerate species (1,3-bPG or 3-PG) and the C-terminal domain binds the nucleotides (MgADP or MgATP). In apo state (without ligand binding), PGK exists in an open conformation. The catalytic reaction requires a large-amplitude conformational change of PGK to bring the two domains close to each other and to provide the micro-environment for the phosphate group transfer. It's found that the open conformation of PGK is more stable due to the exposure of a hydrophobic region of the protein upon domain closure. This implies that the closed conformation will exist for catalysis to occur and that the overall thermodynamic preference for the open conformation will eventually destabilize the closed conformation, leading to the release of products and rebinding of substrates. So we want to use MD simulation to study the mechanism of the conformational transition of PGK(with and without substrate binding).



Fig. 2.1. The substrate induced conformational transition of PGK (M.W. Bowler / FEBS Letters 587 (2013)).

### 2. Usage, Computational methods

In this project, firstly we performed replica path(rpath) sampling simulation of PGK by using the cartesian cooridnates of several Ca atoms located at the interface between the N- and the C-terminal domains as the CV to obtain the minimum free energy pathway of the conformational transition. The closed(2WZB) and the open(2XE7) crystal structures were chosen as the intial and end state respectively. 20 ns rpath simualtion with 24 replicas was performed for different ligand-bound PGK. After that 20ns umbrella sampling simulation with 24 replicas along the minimum free energy pathway were performed to get the free energy surfaces of PGK conformational change.

### 3. Result

From the simulation, we verified the previous finding that PGK exists in the open conformation in the apo state. Substrate binding will stabilize the closed conformation and shift the equilibrium toward the closed conformation. In addition, we observed an meta-stable half-closed state of apo-PGK for the first time.



Fig. 2.2. The 2D free energy surface of apo-PGK projected onto the RMSD with respect to the closed and the open crystal structures.

### 4. Summary

In this project, by using the some enhanced sampling methods (replica path sampling and

# umbrella sampling), we simulated the conformational transition of PGK(w and w/o ligand binding). We successfully characterize the mininum free energy pathway and the free energy profile of PGK conformational transition. Moreover our MD simulation revealed an meta-stable half-closed conformation of apo-PGK for the first time.

### 5. Future perspectives

In the next fiscal year, we will perform more simulations on different ligand-bound PGK at different salt concentration or at different nutrient concentration to study how the PGK respond to the different cellular envronments.

# Computational investigation of Order to Disorder Transition in Drk N-SH3 Domains (担当:Dokainish)

### 1. Background and purpose

Drk (*Drosophila adapter protein*) is a small protein that mediate signal transduction from RTK to RAS G-protein. It contains a Src homology 2 (SH2) domain and two SH3 domains. In which, the isolated N-terminal SH3 (N-SH3) domain has been experimentally shown to exist in 1:1 equilibrium of folded and unfolded states. Notably, N-SH3 domain folded/unfolded equilibrium was found to shift toward unfolding in the presence of the other two domain (SH2 & C-SH3) in Drk.

In this project, as continuation of previous year project, we aimed to elucidate the origin of N-SH3 domain instability of full length Drk. In which we aimed to elucidate the effect of intra and inter-domain interactions on the domain stability. In the previous year (2018), we used MD simulation of Drk at low salt conc., in this year we extended our investigation wherein we ran 2  $\mu$ s of Drk in 150 mM KCl at two different temperatures to match experimental conditions. In addition, we extended our investigation to the human homologue Grb2, wherein we used classical MD as well as enhanced sampling (gREST) to elucidate the conformation of this adapter protein.

### 2. Usage, Computational methods

For this project, Drk and Grb2, 8,653,650 CPU\*hours were used, mainly on GW-MPC. In which, we ran classical MD (cMD) of full length Drk in 150 mM KCl at 298 K and 278 K for 2  $\mu$ s each. In addition, we simulated full length Grb2 protein using both cMD and gREST approach. cMD were performed for 2  $\mu$ s and gREST were performed for 500 ns per replica using 12 replica. The simulation covered temperature range between 300 -650 K and a novel solute selection approach was used to enhance the sampling. In addition, preliminary mutations were also tested using the same approach.

### 3. Result

Drk results at different condition show that the conformation is quite different from X-ray structure of the dimer protein. More importantly, High salt cMD trajectory show that the stability of N-SH3 domain is correlated to inter- and intra-domain interaction (salt bridge), see figure 3.1. As a result, important residues that influence N-SH3 domain were identified and currently tested by experimentalist.



Figure 3.1, Partially unfolded and folded structures' contact map from the first and last 500 ns of the cMD, respectively.

Grb2, cMD results show that the formation of multiple salt bridges between the three domains which hindered the conformational sampling. Applying gREST approach significantly enhanced conformational search, see figure 3.2, and allowed the identification of multiple stable conformations.



Figure 3.2, Free energy landscape of principal components (PC1/PC2 and PC1/PC3) using both cMD and gREST approaches. Representative structures of stable basins are also included.

- 4. Summary
- We were able to unravel important residues that affect the stability of N-SH3 domain in full length Drk.
- We proposed a new approach to significantly enhance conformational sampling in Grb2 protein

### 5. Future perspectives

First, Drk results will further be confirmed by our experimental collaborator. Second, we currently investigating the conformation of Grb2 in the presence of RTK based peptide including phosphor tyrosine. Third, we will apply our new gREST approach to other multi proteins. Finally, after finalizing all simulations, the results will be submitted for publication

# **FGFR3**の **Tyr** 変異体の二量体構造サンプリング (担当:松岳)

### 1. 本課題の研究の背景と目的

FGFR3 は細胞表面に存在するシグナル伝達タンパク質 で、細胞の分化・増殖などに関与する。FGFR3 は細胞外ド メイン、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインの 3 つのドメインから 構成されている二量体タンパク質である。細胞外ドメインに リガンド分子が結合すると、FGFR3 は構造変化を起こし、 活性状態へと構造変化する。膜貫通 (TM)ドメインは、細 胞外ドメインから細胞内ドメインへとシグナルを伝える重要 な働きを持つ。TM ドメインに生じるアミン酸変異によって、 FGFR3 はリガンド非結合時でも活性状態を示すもの(常時 2019 年度

活性型変異体)があることから、TMドメインはFGFR3の活 性状態を制御する大事なドメインである。

したがって、不活性がと活性型の構造の違いを明らかす ることが、FGFR3 の活性化メカニズムを解明するために重 要である。しかし、脂質二重膜に埋もれている TM ドメイン の3次元構造を実験的に得るのは困難であり、特に活性状 態にある TMドメインの二量体構造はなお不明である。

ただし、京都薬科大学の佐藤 毅 教授らは、FT-IR 測 定によって不活性型と活性型で TM ヘリックスの、膜法面 に対する傾き角(tilt angle)が異なることを発見した。すな わち、常時活性型変異体であるG380R変異体では、不活 性型である野生型 (WT) より tilt angle が小さくなることか ら、TM ヘリックスの tilt angle が活性状態と関連している のではないかと提案した(Tamagaki et al, (2014) *Biochemistry*)<sub>o</sub>

FGFR3のTMドメインは、C 末端側には R397や R399 が存在し、それらアルギニン残基がリン脂質のリン酸基と相 互作用することで、TM ドメインの膜内での位置を決めてい るアンカリング残基としての役割を果たしている(図 4.1)。 一方 N 末端側では Y373 や Y379 が存在し、このどちらか のチロシン残基がリン脂質の極性残基や水分子と相互作 用することで、TM ドメインの膜内での位置を決めているア ンカリング残基であると思われる。Y373C 変異体が常時活 性型変異体であることから、Y373がFGFR3活性に関与し ていると考えられる。佐藤教授らの実験でも Y373A 変異体 では、tilt angle が WT より小さくなっている結果を得た。

しかし、FT-IR 測定では tilt angle の見積もりはできるも のの、それがどういう立体構造に由来しているかは分からな い。そこで担当者は、FGFR3 TMドメインの Tyr 変異体に 対して gREST シミュレーションを行い、Tyr 変異体の二量 体構造を調べることとした。



# 図 4.1. FGFR3 TM 領域の二量体 構造

TM ドメインの脂質二重膜内で の位置をきめる役割を果たすア ンカリング残基を球状モデルで 示した。本課題では N 末端側に ある残基Y373,Y379に対して変 異体を作成し、tilt angle の変化 を調べた。細線はリン脂質分子を 表す。

利用報告書

2. 具体的な利用内容、計算方法

FGFR3のTMドメインについて、WTとY373A変異体、 Y379A変異体に対して、拡張アンサンブル法の1種である gREST シミュレーションを行った。gREST 法におけるレプ リカの温度範囲は310 K-350 Kとし、レプリカ数はそれぞ れ 10 個であった。TM ドメインからなる二量体ペプチドを POPC/POPS 混合膜に埋めた状態でシミュレーションした。 力場は CHARMM36m パラメータセットを使用した。シミュ レーションは分子動力学シミュレーションプログラム GENESIS を用いて行った。本計算は HOKUSAI GW-MPC と分子研 計算科学研究センターのスパコンを 利用して行った。

### 結果 3.

不活性型である WTと、Y373A 変異体では tilt angle の 値が有意に異なっていた(図 4.2)。Y379A 変異体でも、 WTと比較すると tilt angle は小さくなっているが、Y373A よりは大きい。佐藤教授らの FT-IR 測定では、tilt angle の値はWT. Y379A > Y373A であったことから、シミュレー ションによって得られた結果は、実験結果とよく一致してい る。変異によって tilt angle が変化したということは、Y373 残基が N 末端側のアンカリング残基として重要であると考 えられる。



# 図 4.2. FGFR3 TM ヘリッ クスの tilt angle の比較 本結果は、310 K にあるレ プリカの結果から計算した

ものである。平均、誤差の 値は 200 ns - 400 ns にあ るスナップショット構造か ら計算した。



### 4. まとめ

Y373C 変異体は常時活性型であることから、Y373 残基 も FGFR3 の活性発現に関与している残基であると考えら れている。FT-IR 測定では、Y373A 変異体では WT よりも tilt angle よりも小さく、本計算でも同様の結果が得られた ことから、Y373がFGFR3TMドメインのアンカリング残基と して機能していることが示唆された。

5. <br />
今後の計画・展望

膜脂質との相互作用形態などを調べることで、なぜWTと Y373A 変異体、Y379A 変異体とで、tilt angle に違いが 生じたのかについて明らかにする。また、tilt angle の違い が二量体界面の違いと関連しているかを調べ、活性化メカ ニズムとの関係性を議論する予定である。

# ミセル連続体近似モデルを用いた膜タンパク質の立体構 造予測 (担当:森)

### 1. 本課題の研究の背景と目的

膜タンパク質は、膜を隔てた物質輸送やシグナル伝 達に中心的な役割を果たす生体分子である。膜タンパ ク質は主に脂質二重膜中で機能を発現するが、構造解 析などの実験では界面活性剤を用いて構造を安定化さ せる。界面活性剤は水中で球状のミセルを形成し、疎 水部分を膜タンパク質に向けて膜貫通ドメインを取り 囲むことから膜環境を模倣していると考えられている。 一方、これまでの NMR 構造解析研究において、ミセ ル中と脂質二重膜中で膜タンパク質の構造が大きく異 なるケースが多く報告されており、ミセル環境は必ず しも膜環境を模倣するとは言えない。従って、構造解 析において、このような膜環境のアーキファクトを知 ることは、細胞膜中での構造と機能の関係を理解する 上で必要不可欠である。

膜タンパク質の二重膜中とミセル中での構造の相違 を調べる上で、MD シミュレーションが有効である。 しかしながら、全原子モデルを用いた計算では、ミセ ル形成や平衡化に時間がかかり、計算コストも大きい。 計算コストを削減する方法として、陰的溶媒モデルが よく用いられる。これは、真空中の溶質のエネルギー 関数に溶媒和自由エネルギー項を加えて計算を実行す る方法である。これまでに平面膜モデルは考案されて いるが、ミセルを表現するようなモデルは無かった。 そこで、本研究では、陰的溶媒モデルとしてミセルモ デルを新たに提案し (IMIC モデル)、アミロイド前駆体 タンパク質 APP を対象として、二重膜環境 (IMM1 モ デル)とミセル環境中での立体構造予測を試みた。 利用報百音

2. 具体的な利用内容、計算方法

当研究室で開発している分子動力学計算プログラム GENESIS に IMIC モデルおよび IMM1 モデルを導入 し、APP のレプリカ交換 MD シミュレーションを行っ た。IMIC モデルでは DPC 分子が 60 個および 85 個会 合した系、IMM1 モデルでは脂質二重膜の厚さが 28.8 および 32.0 Å の系を設定することで、ミセルサイズお よび膜厚のタンパク質構造への影響を調べた。16 個の レプリカを用意し、CHARMM36m 力場を用いて各レ プリカ 100 ns の計算を行った。温度は 287.63 K から 521.39 K までの間で割り振り、2000 ステップに 1 回の 温度交換をメトロポリス判定に従って実行した。

### 3. 結果

シミュレーションを行ったところ、APP を構成する2 本のヘリックスが繰り返し会合したり解離したりする 様子が見られ、heft-handed構造に比べてright-handed 構造が頻繁にサンプリングされた。図 5.1 に温度 300 K および 447 K の自由エネルギー地形を示す。300 K で はすべての系において主に Gly-in および Gly-side 型構 造が安定であることが分かった。一方、447 K の場合、 特にミセル系と膜厚が薄い系において Gly-out 型構造 も出現することが分かった。



図 5.1. アミロイド前駆体タンパク質 APP のミセル中 および脂質二重膜中での自由エネルギー地形

ミセル構造は表面が大きくカーブしており、疎水コア 領域もコンパクトである。従って、APP がミセル中に 埋め込まれると、カーブした表面と Hydrophobic matchingの効果によって2本のヘリックスがX型の形

### 2019年度 利

を取りやすくなり、その結果 Gly-out 型構造が出現し やすくなったと考えられる。

### 4. まとめ

陰的溶媒モデルとして新たに IMIC モデルを開発し、 GENESIS に導入した。アミロイド前駆体タンパク質 APP を対象として、ミセル環境中と二重膜環境での立 体構造予測を行い、得られた結果は NMR 実験結果と も良い一致を示した。今後、低計算コストでミセル環 境を考慮したタンパク質の立体構造モデリングへの応 用が期待される。本研究成果は、原著論文 T. Mori and Y. Sugita. J. Chem. Theory Comput., 2020. において 発表した。

# ロドプシンの内部水とプロトンポンプ機能に関する 理論的研究 (担当:八木)

1. 本課題の研究の背景と目的

バクテリオロドプシン(BR)は、光を吸収し、濃度勾配に 逆らいプロトンを細胞内から外へ輸送する、光駆動型プロト ンポンプである(図 6.1)。Lys216 のシッフ塩近傍には、3 つの内部水と極性残基による水素結合ネットワークが存在 する。名工大の神取らは、重水環境で光反応中間体のス ペクトルを測定し、その差から OD 伸縮振動を帰属した (Shibata and Kandori, Biochemistry 2005)。さらに、 変異体のスペクトルを解析することで、プロトン移動経路が 解明された(Garczarek and Gerwert Nature 2006)。



図 6.1. バクテリオロドプシンのプロトン化シッ フ塩(青)とその周辺に存在する内部水による水 素結合ネットワーク. Shibata and Kandori, Biochemistry 44, 7406 (2005)より抜粋. 利用報告書

態計算を用いて、ロドプシン内部水の振動バンドを計算した。その結果、実験値と計算値は定性的な一致が得られたが、低波数側のスペクトルが実験と計算で100 – 200 cm<sup>-1</sup> ほどずれており、定量的と言える精度にはまだ達していなかった。その原因を探るため、本年度は計算設定が結果へ与える影響を詳細に調べた。QM 領域の大きさに対する依存性、および結晶構造と生体環境(脂質膜と水)の違いに着目し、計算を実行した。

### 2. 具体的な利用内容、計算方法

BRの結晶構造(PDBID: 1M0L)を出発点とし、水素原 子と欠損残基を加え、全原子モデルを作成した。タンパク 質の重原子に拘束を加えた MD 計算を実行し、水素原子 の位置を緩和した。

次に、QM/MM 計算を実行した。QM 領域は、最小モデ ルとして水素結合ネットワークを形成する Arg82, Asp85, Tyr185, Lys216,レチナールおよび 3 つの内部水とした (QM1)。また、より大きな QM 領域として, Tyr57, Thr89, Tyr185 を含めたモデル(QM2)、QM2 にレチナール周辺 のトリプトファンやチロシンを加えたモデル(QM3)、QM2 に Arg82 より下方にある水素結合ネットワーク(Tyr83, Ser193, Glu194, Glu204)を加えたモデル(QM4)で計算 した。QM 計算のレベルは密度汎関数法(B3LYP-D3)と 基底関数には aug-cc-pVDZ を、力場には CHARMM36 を用いた。

振動モードを適当な領域(ドメイン)に局所化させ、ドメイ ン内では非調和性を考慮するが、ドメイン間では調和ポテ ンシャルのみを考慮する振動計算法を新たに開発した。図 6に示すように、シッフ塩近傍と3つの水分子をそれぞれ局 所化のドメインとし、計算を実行した。非調和ポテンシャル には2モード結合項まではgrid ポテンシャル,3モード結 合項はQFFを用いた。得られたポテンシャルのもとで、 VQDPT2法により振動数と赤外吸収強度を求めた。

生体環境の影響を調べるため、POPC 脂質二重膜へ埋め込み,水溶液環境に配置したモデルを作成した。

3. 結果

2019 年度 利用報告書



図 6.2. 実験による BR の基底状態と K 状態の赤外差スペ クトル(上段)と、QM 領域を QM1, QM2, QM4 へ変えたと きの計算スペクトル。

本計算で得られた赤外スペクトルを図 6.2 に示す。QM1 から QM2 ではまだ変化が見られるが、QM2 から(QM3) QM4 ではほぼ同等の結果が得られ、QM 領域の大きさに 対する収束が確認できた。

脂質膜と水環境を考慮し、MD 計算のスナップショットと して 2 つの構造(800 と 1000)を用いた計算結果を図 6.3 に示す。#1000 では、MD 計算中に水素結合構造が壊れ てしまったため、スペクトルが大きく変化し、実験との一致が 悪くなった。一方、水素結合構造が保たれている#800は結 晶構造(Xtal)と大きく変わらないが、実験のメインピークと の一致は改善している。



図 6.3. 実験による BR の基底状態とK 状態の赤外差スペ クトル(上段)と、脂質膜・水環境を考慮した計算 (Snapshot 1000, 800)と結晶構造に基づく計算(Xtal)で 得られた赤外スペクトル。 4. まとめ

本課題では、BR のプロトンポンプ機能に強く関わってい るレチナールのシッフ塩近傍に形成される強い水素結合ネ ットワークに対する振動スペクトルを計算した。振動モード をドメインへ局所化し、ドメイン間の非調和結合項を無視す る近似を導入することで、精度を落とすことなく、計算負荷 を大幅に下げることができた。実験値と比較するため、QM 領域の大きさ、生体環境の影響、などを詳細に調査した。

### 5. 今後の計画・展望

本年度の計算により、計算の細かな設定をカリブレーショ ンすることができた。しかし、当初から課題であった一番低 波数側にあるスペクトルのピーク位置が実験のメインピーク から大きく離れている問題は未解決のままである。その原 因として、今後は K 状態も計算し、差スペクトルを求める。 また、水素結合構造が壊れないように MD 計算を実行し、 そのスナップショットから構造を取り出し、振動計算を実行 する。

### 2019年度利用研究成果リスト

### 【雑誌に受理された論文】 Accepted papers

- Amide A band is a fingerprint for water dynamics in reverse osmosis polyamide membranes,
   D. Surblys, T. Yamada, B. Thomsen, T. Kawakami, I. Shigemoto, J. Okabe, T. Ogawa, M. Kimura, Y. Sugita, K. Yagi, J. Membr. Sci. 596, 117705 (2020).
- [2] Role of the N-terminal transmembrane helix contacts in the activation of FGFR3,

D. Matsuoka, M. Kamiya, T. Sato and Y. Sugita, J. Comput. Chem., 41, 561 – 572 (2020).

[3] Implicit micelle model for membrane proteins using superellipsoid approximation, T. Mori and Y. Sugita, J. Chem. Theory Comput., **16**, 711-724 (2020).

# 【会議の予稿集】Proceedings

なし

# 【口頭発表】Oral presentations

- [1] EGFR 膜近傍領域のリン酸化が EGFR TM-JM 領域の二量体構造に与える影響,
- 松岳 大輔〇、杉田 有治, 「日本物理学会 2019 年秋季大会」、2019 年 9 月 10 日、岐阜。
- [2] Modeling complex biological systems, Workshop on molecular dynamics based binding free energy calculations, post-processing of trajectories and force field development, T. Mori, 2019年11月, Warsaw, Poland.
- [3] Dynamic structures of the RNA polymerase II elongation complex by cryo-EM and MD approaches, T. Mori, The 57th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2019年9月 Miyazaki, Japan
- [4] ミセル連続体近似モデルを用いた膜タンパク質の立体構造 予測", 森貴治,杉田有治,日本物理学会 2019 年秋季大会,2019 年 9 月,岐阜.
- [5] Domain localized vibrational method for studying hydrogen-bond network in biomolecules, K. Yagi, 2019年4月, 257<sup>th</sup> ACS National meeting, Orlando FL, USA.
- [6] 振動擬縮退摂動法の開発と複雑分子系への展開、
- 八木清, 2019年5月, 2019年度日本分光学会年会講演会, 京都大学, 京都.
- [7] Generation of anharmonic PES using SINDO, K. Yagi, 2019年7月, XVth International Workshop on Quantum Reactive Scattering, 埼玉大学, 埼玉.
- [8] ローカル X-H 伸縮モードを用いた高振動励起状態の計算, 八木清,2019 年 7 月,国際シンポジウム「量子化学による分光分析の高精度化」,近畿大学,大阪.
- [9] QM/MM in GENESIS: Anharmonic vibrational calculations of biomolecules,
   K. Yagi, 2019年11月, WRHI International Workshop on Advanced Laser Spectroscopy for Soft Molecular Systems, 東工大, 神奈川.
- [10] Vibrational Quasi-Degenerate Perturbation Theory: Applications to Molecular Clusters,
   K. Yagi, 2020年1月, Molecular and Ionic Clusters, Gordon Research Conference, Ventura CA, USA.

# 【ポスター発表】Poster presentations

- [1] Investigation of EGFR activity regulation mechanism using MD simulations and in vitro experiments. 松岳 大輔○、前田 亮、佐甲 靖志、杉田 有治,「第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会」、2019 年 6 月 24 日、神戸.
- [2] The impact of phosphorylation in the EGFR JM region on the dimer structure of EGFR TM-JM region. 松岳 大輔○、杉田 有治,「第 57 回日本生物物理学会年会」、2019 年 9 月 24 日、宮崎.
- [3] 脂質膜組成が EGFR 膜近傍領域の構造に与える影響に関する比較研究, 松岳 大輔〇・杉田 有治、2019 年 11 月 1 日,「第 6 回「京」を中核とする HPCI システム利用研究課題 成果 報告会」、品川.
- [4] Dimer Conformation Sampling of FGFR3 TM-JM Region through gREST Simulation, Daisuke Matsuoka<sup>O</sup>, Yuji Sugita, "The 5th International Conference on Molecular Simulation", 4th November 2019, Jeju (Korea).
- [5] GENESIS 1.4 の開発と生体分子系への応用, 森貴治〇、八木清、尾嶋拓、Jaewoon Jung、小林千草、松永康 佑, スーパーコンピュータワークショップ 2019, 2019 年 12 月, 岡崎.
- [6] Dynamic structures of RNA polymerase II revealed by cryo-EM and MD approaches, 森貴治、江原晴彦、 関 根俊一、杉田有治, 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 2019年6月, 神 戸.

【その他(著書、プレスリリースなど)】 Book, Press release

なし