

課題名 (タイトル) :

## 膜輸送蛋白質の動力学計算

利用者氏名 : ○杉田有治, 李秀榮, 宮下尚之, 小串典子, 森貴治,  
Andrei Pisliakov, Pai-Chi Li, 小室靖明, 天能精一郎  
所属 : 和光研究所 基幹研究所 杉田理論生物化学研究室

細胞における様々な生命現象は、直接的には蛋白質が担っている。蛋白質の機能の発現は、立体構造やダイナミクスと密接に関係しており、膜や溶液中における蛋白質の運動や会合の様子を明らかにすることが重要である。近年、X線構造解析やNMR等の実験から多くの蛋白質の立体構造が明らかになっている。我々は膜輸送蛋白質の運動と機能の関係を明らかにするため、こういった実験から得られた構造をもとに分子動力学計算等を用いた研究を行った。また、次世代京速計算機の利用をふまえ、レプリカ交換分子動力学プログラムの開発も行っている。具体的には、(1) 膜タンパク酵素反応の分子シミュレーション (李)、(2) レプリカ交換分子動力学プログラムの開発と蛋白質の機能解析 (宮下)、(3) 生体膜の組成と形態変化 (小串)、(4) Sec トランスロコンの分子動力学シミュレーション (森、杉田)、(5) Proton and ion transport in membrane proteins (Pisliakov)、(6) Structure prediction of transmembrane proteins MIR1, MIR2 (Li)、(7) Tom20 の分子動力学計算 (小室)、(8) 大規模系に向けた GH0-MP2 エネルギー勾配プログラムの並列化 (天能) の、以上7つのテーマについて研究を行った。以下、各課題について個別に報告する。

## 【膜タンパク酵素反応の分子シミュレーション】

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) 生体内の化学反応の多くは、酵素の触媒を受け進行する。近年の構造解析技術の進歩に伴い、タンパク質の立体構造に基づき酵素反応の理解が大きく進展したが、反応サイクルのダイナミクスと機能との相関を捉えるのは容易ではない。本研究では、量子化学と分子動力学計算を用いて、基質認識から触媒反応、構造変化まで酵素反応サイクルのダイナミクスを統合的に理解することを目的とした。
2. (具体的な利用内容、計算方法) 前年度に引き続き、Ca<sup>2+</sup>ポンプのリン酸化ドメインと良く似た構造をもつ Phosphoserine Phosphatase (PSP) を取り上げた。リン酸化酵素の遷移状態モデルを構築するために、触媒サイクルに含まれるリン酸化及び脱リン酸化反応の QM (量子) /MM (古典) 混合計算を行った。また、触媒サイクルでの構造変化

を調べるために、サイクルに含まれるリン酸化状態の異なるタンパク質について、各々  $\mu s$  の分子動力学計算を行った

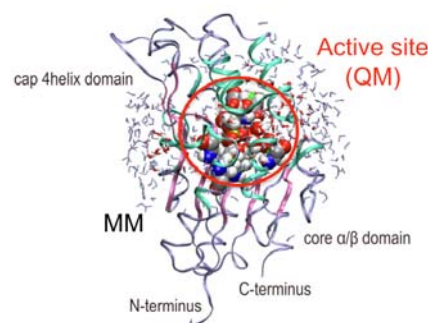


図 1 QM/MM 混合計算

3. (結果) リン酸化、脱リン酸化反応について、リン酸転移座標とプロトン移動座標を用いた2次元のポテンシャルエネルギー面を求め遷移状態を明らかにした。

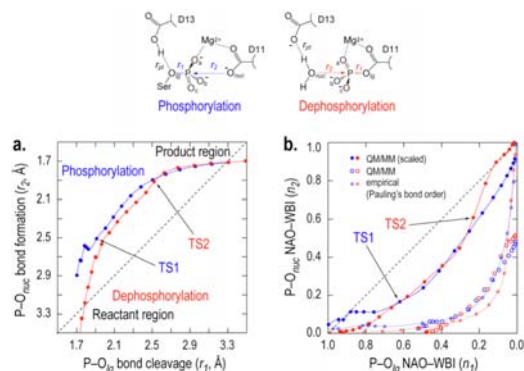


図 2 リン酸化反応過程の構造及び電子状態変化

両反応の遷移状態の構造は酷似しており、いずれも構造的にはコンパクトな 5 配位様であるのに対して、電子状態的には 3 配位様であることを示した。この結果は、広範囲のリン酸転移酵素に対する結晶構造解析及び物理有機化学実験の結果と良く一致しており、リン酸化酵素の一般的な遷移状態モデルへの足掛りとなる。同時に、基質結合から生成物の放出に至る過程でプロトンの複雑な移動が触媒機構と密接に関わっていることを示した。リン酸化状態の異なるタンパク質の分

子動力学計算からは、実験で考えられていた様な活性部位の開閉運動を確認することができた。また、反応の始状態と終状態で活性部位付近の構造揺らぎが異なることもわかってきた。終状態の計算では 500ns 程度で活性部位の反応生成物が溶媒水分子と入れ替わっており、この過程がサブ  $\mu$ s オーダーの比較的早い過程であることが示唆された。

4. **(まとめ)** プロトン移動を露に考慮した QM/MM 混合計算により、PSP リン酸化反応の遷移状態モデルを提案した。反応サイクルに含まれる異なる状態の分子動力学計算から、サイクル中のタンパク質の構造変化について初歩的な描像を得た。
5. **(今後の計画・展望)** 基質認識から触媒反応、構造変化に至る過程の自由エネルギー変化を明らかにして、酵素反応サイクルの統合的な理解を目指す。そのために、QM/MM ポテンシャルを用いた自由エネルギー計算及び、タンパク質の多様な構造を十分にサンプルした分子動力学計算による自由エネルギー解析を実現する。
6. **(RICC の継続利用を希望する場合：利用状況)**  
現在、共同研究者と開発中の QM/MM 計算プログラム GELLAN がテスト段階を終えつつある。GELLAN を用いてパスサンプリング法による QM/MM 自由エネルギー計算を行うために継続利用を希望する。

[多次元レプリカ交換インターフェースプログラムの開発]

1. **(本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係)** タンパク質の機能は形と構造変化、複合体形成に大きく依存している。多次元レプリカ交換分子動力学法は、コンピュータが multi-core 化して来ている現在、これら形状、構造変化、複合体形成を原子解像度でコンピュータ上で再現・予測するのに多有効な方法である。  
そこで、次世代計算科学プロジェクトのグラン

ドチャレンジでレプリカ交換インターフェース (REIN) という、既存の分子動力学プログラムを使って多次元レプリカ交換分子動力学計算を行なうプログラムを開発している。また、レプリカ交換数を予め見積もる、支援ソフトウェアであるレプリカ交換トンネリング評価 (RETUNE) プログラムの開発を行なっている。

2. **(具体的な利用内容、計算方法)** REIN に関しては性能評価を、RETUNE に関しては、それに必要なデータを取る事及び、パラメータサーチの為に RICC を用いている。計算方法はレプリカ交換分子動力学計算である。
3. **(結果)** ここでは、分子動力学法 (MD) に用いる core 数を一定 (8 cores) にしてレプリカ数を増やした場合の効率について掲載する。対象とした系は水中の (AAQAA)<sub>3</sub> という 15 残基のペプチドである。全原子で 3 万原子である。レプリカ数を増やし 1000 レプリカにしても、効率低下が少ない事がわかる。この計算では 1 回のレプリカ交換の MD 計算を 1000 ステップ行なっている。更に大きな系になると緩和の為にこのステップ数を増やす必要があるが、10000 ステップにすると効率は 1000 ステップより 10 倍よくなる。対象となる系が大きくなるほど、レプリカの数も必要となり、ステップ数も必要となる事から、効率は落ち難い。

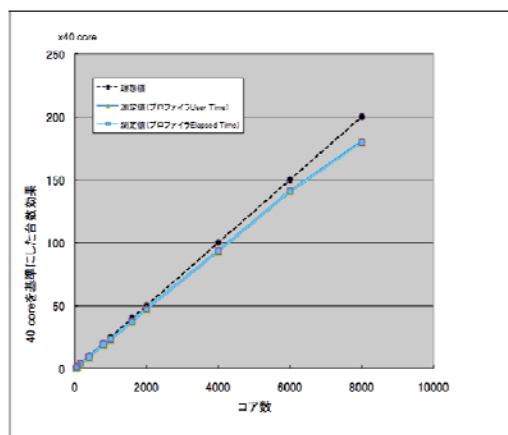


図 3 コア数に対するレプリカ交換効率

温度一次元 REMD 計算も、一次元 REUS 計算、温度-REUS の二次元レプリカ交換法もほぼ同じ結果が得られている。現在、(AAQAA)<sub>3</sub> で多次元レプ

リカ交換分子動力学計算のパラメータサーチおよび、幾つかのレプリカ交換分子動力学計算を RICC を用いて行っており、end to end の PMF で多次元レプリカ交換のサンプリング効率の評価しようとしている。

4. (まとめ) 現在プログラムの開発及び、論文の為の計算を行なっている段階である。
5. (今後の計画・展望) 来年度も引き続き REIN の開発を行い、実際に京速コンピュータ『京』を用いた計算を行なう前に、テスト計算で RICC を使用したいと考えている。
6. (RICC の継続利用を希望する場合：利用状況) REIN の開発の基本はできた。開発の仕上げ及び、REIN の大規模計算のテストができていないので、来年度はその様な利用を行ないたい。
7. (利用研究成果が無かった場合の理由) 開発が今年度中に終わらなかったため。

#### [生体膜の組成と形態変化]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) 細胞内における生体膜は、膜融合や分裂、ベシクル形成などの多様な構造を持つ。こうした生体膜の構造変化は、様々な細胞周期過程や蛋白質の機能の発現に重要な役割を担っている。実際には非常に多種類の脂質分子や蛋白質からなる混合系であり、このことが膜の多様な構造変化を可能にしている。しかし、構造変化の素過程や、実際の生体膜で重要であるより頻繁な融合と分裂を伴う構造変化についての理解は、未だ十分ではない。本研究では、活発な構造変化を伴う膜を扱うため、自発曲率の違いに加え垂直拡散係数の異なる分子を含む混合膜を扱う。
2. (具体的な利用内容、計算方法) マイクロ秒のシミュレーションを行うため、粗視化モデルを用いた。具体的には 4 原子を 1 粒子に対応させた MARTINI モデルを用いた。また、脂質分子は最も一般的な脂質分子の一つであるフォスファチジ

ルコリン (PC) とジアシルグリセロール (DAG) 混合膜を扱う。DAG は極性頭部がヒドロキシル基であるため小さく、また PC に比べ垂直拡散係数も数万～数十万倍大きい。分子動力学計算には、分子動力学計算ソフトウェアパッケージである GROMACS を用いた。

3. (結果) DAPC 二重膜中に 10%~60% の DAG が混合された膜を 3 層重ねたラメラ構造を初期構造とし、ラメラ構造からの構造変化の様子を調べた。また、脂質に対する全系の含む水の量に対する依存性も調べた。各系について 4 マイクロ秒の計算を行った。

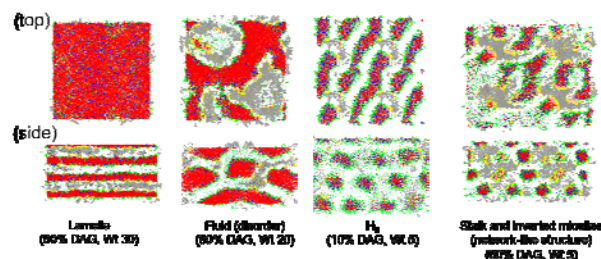


図 4 DAPC/DAG/W 混合膜の平衡構造

その結果、膜の構造変化では非常に早い段階で半融合により枝分かれ構造が出来、その後 DAG の局在を通し様々な構造へと緩和して行く様子が見られた。DAG は DAPC に比べ非常に大きな垂直拡散係数を持つため、構造変化の過渡段階で DAG の逆ミセル構造が形成される過程も見られた。

4. (まとめ) DAPC(di20:4-PC) と DAG のマルチラメラ構造からの構造変化について、MARTINI の粗視化モデルを用いて分子動力学計算を行った。系はラメラ構造から構成比に応じて異なる構造へと変化するが、本研究から、特に膜の構造変化の素過程における半融合過程と DAG の局在の重要性を示唆する結果が得られた。
5. (今後の計画・展望) 今回得られた結果から、膜のラメラ構造からの構造変化には大きく分けて 2 つの素過程が存在することが分かった。今後は、半融合過程を誘起する主因については構成比により膜の揺らぎと DAG の局在のどちらが優位であるかを明らかにし、より一般的な混合膜の構造変化の理解を得ることを目的とする。また、フル



イド相の構造の特徴づけを行う。

6. (RICC の継続利用を希望する場合 : 利用状況) 現在、統計平均をとるため独立した初期条件の計算を行なっている。また、混合膜の解析では膜の平衡構造だけでなく、過渡状態における構造や局所的な各構成要素の分布やその変化も重要であり、現在こういった解析を行うためのパラメータを検討中である。

[Sec トランスロコンの分子動力学シミュレーション]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) 細胞内で合成されるタンパク質の 30%以上は細胞外に分泌されるか、膜タンパク質として膜に埋め込まれる。通常、タンパク質は細胞膜を簡単には通り抜けることはできないため、ある特定の経路を通過して透過する。このとき重要な役割を果たしているのがタンパク質膜透過装置 Sec トランスロコンである。Sec トランスロコンは異なる機能を持つ複数のタンパク質、すなわち、タンパク質を透過させる SecYEG チャンネル、ATP 加水分解反応を利用しタンパク質をチャンネルに押し込める SecA、ペリプラズム側で透過タンパク質を捕捉する SecDF などから構成され、それぞれが緊密に相互作用し、大規模構造変化することでタンパク質を膜透過させる。近年、SecA, SecYEG チャンネルの結晶構造が解かれ、生化学実験によりそれぞれのタンパク質同士の相互作用の様子が理解され始めてきた。しかしながら、タンパク質の大きな構造変化と機能の原子レベルでのメカニズムは未だよくわかっていない。

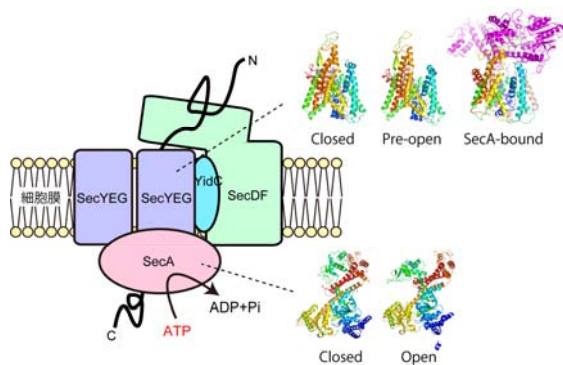


図 5 タンパク質透過装置 Sec トランスロコン

我々はこれまでに SecYE チャンネルの膜中での分

子動力学シミュレーションを行い、タンパク質膜透過過程初期における分子メカニズムを明らかにした。本研究では新たに結晶構造が解かれた SecDF を対象として、タンパク質膜透過における SecDF の役割を明らかにすることを目指す。本申請において、SecDF のペリプラズム側の大きなドメインおよび膜貫通領域の構造変化機構を分子動力学シミュレーションにより明らかにする。なお、本研究は、JST-BIRD プロジェクト「ダイナミクスを考慮した膜蛋白質の構造モデリング法の開発」の一環として行われた。

2. (具体的な利用内容、計算方法) 分子動力学計算ソフトウェア NAMD を用い、SecDF の P1 ドメインの水中での分子動力学計算を行った。系は約 3 万原子で、温度 300K および 320K にて 1 マイクロ秒の計算を行った。さらに、SecDF の POPE 膜中のシミュレーションについても、1 マイクロ秒の計算を行った。機能に重要と考えられる保存されたアミノ酸残基のプロトン化状態についても検討し、構造ゆらぎおよび水分子のダイナミクスの解析を行った。後者の系のサイズは約 15 万原子である。
3. (結果) 水中での P1 ドメインのシミュレーションの結果、F 型構造から I 型構造へドメイン運動により大きく転移の様子が観察された(下図)。一方、I 型から出発したシミュレーションでは、構造転移は見られなかった。すなわち、SecDF は I 型が F 型に比べて安定であることを示唆した。また、SecDF の膜中での MD 計算を行ったところ、ペリプラズム側から細胞質側へ水分子が流れる水チャンネルの形成が数十ピコ秒にわたって観察された。このことから、SecDF のプロトン輸送機構はゆらぎの中で形成される water wire により実現されることを示唆した。

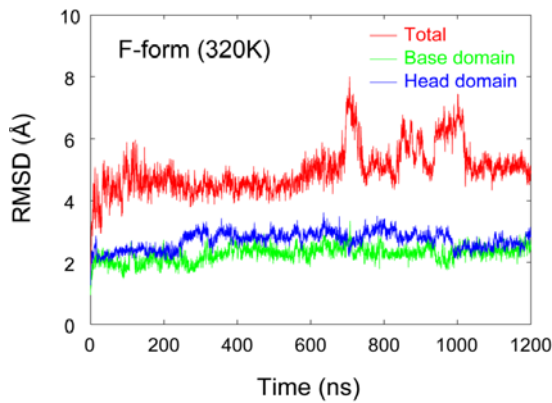


図 6 SecDF P1 ドメインの RMSD 時間変化

4. (今後の計画・展望) 今回のシミュレーションでは、水中と膜中でマイクロ秒にわたる長時間の計算を行ったが、膜中でのシミュレーションでは当初期待していた、F 型から I 型への大きな構造変化があまり見られなかった。現在、タンパク質のミリ秒スケールのダイナミクスを実現できるような新しいシミュレーション法を開発しており、今回の研究結果と比較する予定である。

[Proton and ion transport in membrane proteins]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) Nitric oxide reductase (NOR) is a membrane protein which catalyzes the key part of the denitrification cycle in anaerobic bacteria, namely the reduction of nitric oxide. This enzyme is also an important step in the evolution of a respiratory system, since it is related to proteins involved in aerobic respiration, in particular to cytochrome c oxidase. The goal of our project is to describe the detailed mechanism of NOR functioning through computer simulations
2. (具体的な利用内容、計算方法) The first step was to identify plausible pathways for the proton transfer in NOR. We have performed the first fully atomistic molecular dynamics (MD) simulations of NOR (two types: cNOR and qNOR enzymes) in a natural environment, i.e. embedded in membrane and water solvent. The timescale of the simulations (300 ns) allowed

us to assess a stability of the forming water chains as well as an overall stability of the protein-membrane complexes.

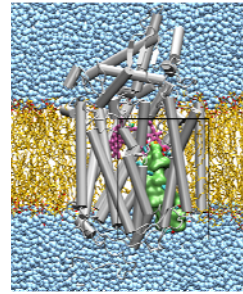


図 7 All-atom simulation system includes qNOR enzyme

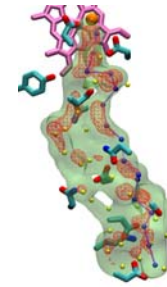


図 8 The calculated water volume map in the K-channel

3. (結果) Our simulations have provided many important dynamical details which were obscure in a static crystal structure. We have described water behavior inside the proteins and fully characterized water channels and transiently forming H-bonded networks, which can be utilized for efficient proton transport. Some of the found pathways confirmed those suggested on a basis of crystal structures (namely, Channel 1 in cNOR and K-channel in qNOR). However, other previous experimental suggestions (e.g. Channel 2 in cNOR) were not supported by dynamical simulations and we concluded that they are not relevant for the function. Furthermore, we have established new pathways (Channel 3 in cNOR and possible connections to periplasm in qNOR), which had “problems” in the X-ray structure and could be identified only by means of computer simulations. Finally, we have proposed that our predictions can be verified by future mutational/biochemical studies of selected protein groups.
4. (まとめ) Summarizing, despite a high structural similarity between cNOR and qNOR, MD simulations have revealed strikingly

different proton uptake mechanisms utilized by these enzymes. Namely, in cNOR protons for catalytic reaction are taken up from the periplasmic side of the membrane, while in qNOR - from cytoplasm, though connections to periplasm can also form in qNOR, but require protein dynamics on a longer timescale. These findings, along with comparisons to cytochrome c oxidase structures, allowed us to hypothesize about the evolution of proton transfer pathways and of respiratory enzymes, in general.

#### 5. (RICC の継続利用を希望する場合 : 利用状況)

1) In order to validate our simulations, we have to reproduce and explain the results of previous mutagenesis experiments. That requires additional MD simulations for the mutant systems.

2) In order to get complete understanding of the NOR functioning, one needs to explain the details of the enzymatic reaction (i. e. nitric oxide reduction) at the enzyme's active site. For this purpose, we will utilize quantum chemistry and QM/MM approaches.

#### [Structure prediction of transmembrane proteins MIR1, MIR2]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (KSHV), which causes a serious cancer "Kaposi's sarcoma" in human, encodes two membrane-bound E3 ubiquitin ligases, modulator of immune recognition (MIR) 1 and 2, and evades the host immune system through the ubiquitination-mediated degradation of the immune recognition-related

proteins (MHC I, B7-2, ICAM-1) [1]. Therefore, it is important to reveal how MIR1 and 2 ubiquitinate their substrates. The proposed evasion mechanism is illustrated in Figure 1 (Left); ubiquitination is initialized by the interaction (binding) between the transmembrane (TM) regions of the MIRs and their targets. However, it is still unclear how MIR1 and 2 recognize different set of target membrane proteins: MIR1 ubiquitinates MHC I only, while MIR2 ubiquitinates B7-2 and ICAM-1 in addition to MHC I. In order to understand how MIRs function, it is necessary to study the interaction between MIRs and their targets at the atomic level.

2. (具体的な利用内容、計算方法) A temperature replica-exchange molecular dynamics method with the GBSW implicit membrane model is employed to predict the structure of the TM helical hairpin of MIR2 and the structure of B7-2.

3. (結果) We tested several parameters for the membrane and found the proper parameters for the MIR proteins. We have predicted the structure of MIR2 and B7-2 and found out that the juxtamembrane region of them are important for the recognition and identified several possible hot spot residues for the recognition.

4. (まとめ) In the next year, we will predict the MIR1 and MHC I structures and three complex structures.

5. (今後の計画・展望) Currently we do not have any publication yet. However, we are in the final stage of writing the paper about the MIR2 and B7-2 recognition mechanism. We are performing one extra simulation of the MIR2 mutant and waiting the results of MIR2 mutant experiment.

[Tom20 の分子動力学計算]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) ミトコンドリア外膜に存在する Tom20 は、内部に輸送される蛋白質を最初に認識する膜蛋白質である。輸送される蛋白質には経路、目的地を示す“プレ配列”が付加されている。Tom20 がプレ配列を認識する複合体形成時には、複数の結合様式を含み、その様式間で状態遷移が起きる事が NMR 実験により示唆されている。本研究では Tom20 の状態遷移を始めとした認識メカニズムを分子動力学計算により解析する。

2. (具体的な利用内容、計算方法) Tom20-前駆体蛋白質の計算を以下 2 通り行った。ともに X 線回折実験で得られた 2 種類の複合体結晶構造 (下図) を初期構造とした。

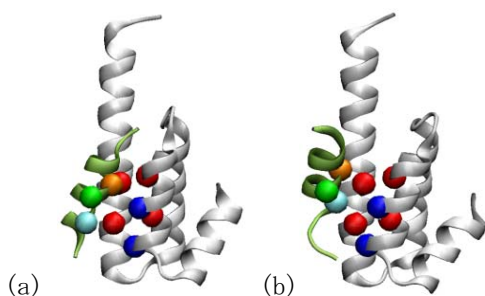


図 7 Tom20(白)-プレ配列(緑)複合体の二つの X 線結晶構造

- (1) 前駆体のアミノ酸一残基を全 20 種類のアミノ酸で置換し、20 ns 計算した。そこから状態の遷移が見られた 11 アミノ酸を選び、100 ns 計算した。
- (2) 前駆体と Tom20 の二つの相互作用距離を調和ポテンシャルでトラップした。拘束距離を変化させ、計 81 パターンで 2 ns 計算した。

3. (結果)

(1) X 線結晶構造で得られている 2 種類の結合様式のまま安定に存在する場合と、それとは異なった新しい結合状態に変化する場合の 2 種類のパターンが得られた。

新しい結合様式はアミノ酸によらず共通で、下図の Other states と似た構造であった。

(2) 前駆体と Tom20 の幅広い結合様式をサンプルする

事が出来た。プレ配列の自由エネルギーが最小なる結合様式の探索に加え、2 つの X 線結晶構造 (A-state, Y-state) 間の自由エネルギー差を見積もる解析プログラムを現在開発中である。

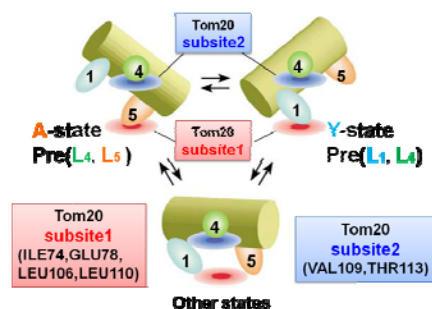


図 8 Tom20-プレ配列複合体の結合様式と状態遷移

4. (まとめ)

(1) のアミノ酸置換により X 線結晶構造に由来する局所的な安定状態から抜け出し、新しい結合様式を探索する事が出来た。これは複数あるとされる結合様式のうち、比較的メジャーな複合体構造であると思われる。

(2) のサンプリングから各状態間の自由エネルギー差を見積もるプログラムを開発中である。

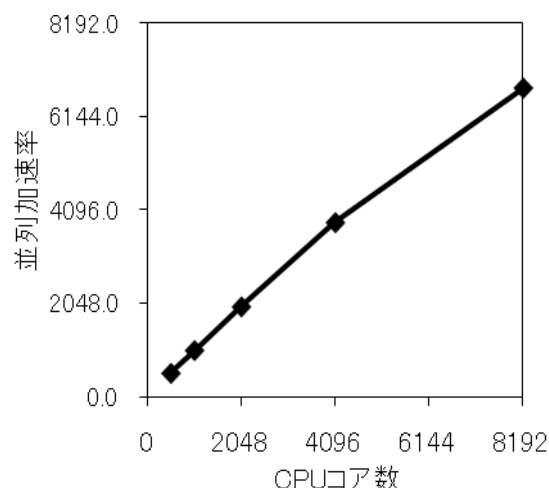
5. (今後の計画・展望)

(1) に関連し、Tom20 複合体の実験研究者とディスカッションしながらプレ配列中の他のアミノ酸を置換し、状態遷移を観測したい。また (2) により各状態間の自由エネルギー差を見積もる事で、結合様式間の相対的な安定性やエネルギー障壁を定量的に議論したい。

6. (RICC の継続利用を希望する場合：利用状況) 分子動力学計算を行う事で、実験では結晶化出来ない複合体の結合様式が得られた。これはプレ配列のアミノ酸を一残基置換しただけであり、他の位置のアミノ酸も置換しその結合様式を観測したい。また調和ポテンシャルでトラップするパラメータは現在相互作用間の距離だが、今後はパラメータの最適化を行いたい。

## [大規模系にむけた GH0-MP2 エネルギー勾配プログラムの並列化]

1. (本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係) QM/MM (Quantum Mechanics / Molecular Mechanics) 計算において、QM 部分(量子化学計算)は計算時間の大部分を占め、またスーパーコンピュータレベルの並列化がまだ十分なされていない。そこで、量子化学計算の高速かつ並列化効率の良いアルゴリズム及びプログラムを開発した。
2. (具体的な利用内容、計算方法) 量子化学計算方法の中で、分散力など非共有結合相互作用の記述ができる 2 次の摂動(MP2)法のエネルギー計算について、数値的求積法を利用した MPI/OpenMP ハイブリッド並列アルゴリズムを開発し、GELLAN プログラムに実装した。数値的求積計算のグリッド点を各ノードに分散させることで、計算負荷及びデータをほぼ均等に分散させている。ノード内並列化を OpenMP で行い、配列データをノード内のすべての CPU コアで共有することで、MPI のみの並列化に比べて大きな配列サイズを確保することができる。
3. (結果) フラーレン(C<sub>60</sub>) (基底関数:6-31G)の並列計算結果を図 11 に示す。8192CPU コア計算の並列加速率は約 6770 倍となり、計算実時間は 239.9 秒であった。通信にかかった時間は、2048 コアで 44.6 秒、4096 コアで 30.7 秒、8192 コアで 30.4 秒となった。プロセス数が増えるほど一回当たりの送受信データサイズは小さくなることから、通信レイテンシが原因であると考えられ、さらなる大規模計算では通信の効率化が必要になる。

図 9 フラーレン(C<sub>60</sub>)の並列加速率

4. (まとめ) 今回開発したアルゴリズムは並列化効率が非常に良く、さらに大容量中間データを各ノードのメモリに分散保存させることで、これまで困難であったサイズの分子の計算を可能にした。計算部分については十分並列化ができたが、通信部分についてはできるだけデータをまとめて送受信するなどの改良が今後の課題である。
5. (今後の計画・展望) 今回開発した並列化手法を基に、エネルギー微分計算へ展開し、QM/MM ダイナミクス計算全体の高速化に取り組む。並列化効率向上のため、通信部分の改良も行う。
6. (RICC の継続利用を希望する場合：利用状況) 通信を含めた量子化学計算の並列加速率は 8192CPU コアで約 6770 倍である。次年度は通信の効率化を行った上での 8192CPU コアの時間測定を行う。



平成 22 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

1. S. Re, T. Imai, J. Jung, S. Ten-no, and Y. Sugita, “Geometrically Associative Yet Electronically Dissociative Character in the Transition State of Enzymatic Reversible Phosphorylation”, *J. Comput. Chem.* 32 (2011) 260-270.
2. S. Ahmad, Y. H. Singh, Y. Paudel, T. Mori, Y. Sugita, and K. Mizuguchi, “Integrated prediction of one-dimensional structural features and their relationships with conformational flexibility in helical membrane proteins”, *BMC Bioinformatics*, **11**, 533 (2010).
3. Pisliakov AV, Shiro Y, Sugita Y, “Proton transfer pathways in nitric oxide reductase (cNOR) revealed by MD simulations” (to be submitted)
4. Matsumoto Y, Tosha T, Pisliakov AV, Hino T, Sugimoto H, Nagano S, Sugita Y, Shiro Y, “Quinol-Dependent Nitric Oxide Reductase from *Geobacillus Stearothermophilus*: Structural Basis of Molecular Evolution in Respiration Enzymes” (to be submitted)

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 李秀栄、今井隆志、Jaewoon Jung、天能精一郎、杉田有治、「蛋白質リン酸化酵素の触媒機構に関する理論的研究」、第 13 回理論化学討論会、札幌 (2010 年 5 月)
2. 李秀栄、今井隆志、Jaewoon Jung、天能精一郎、杉田有治、「タンパク質リン酸化反応の分子シミュレーション」、日本化学会第 90 春季年会、大阪 (2010 年 3 月)
3. “Molecular dynamics simulations of the SecY protein-conducting channel: Structure modeling and protein-lipid interactions”, Takaharu Mori, Telluride workshop “*Protein and Peptide Interactions in Cellular Environments*”, Telluride (USA), 2010/7
4. 「分子動力学シミュレーションに基づくタンパク質透過チャネル SecY の構造変化機構と脂質ダイナミクス」森貴治、理研シンポジウム”細胞システムの動態と論理 II” (理研)、2010/4
5. 小串典子、石塚玲子、小林俊秀、杉田有治、「混合膜における脂質分子の運動と構造」、第 65 回日本物理学会年次大会、岡山 (2010 年 3 月)
6. Pisliakov AV, Warshel A, Sugita Y, “Biological proton transfer: simulation methods and applications”, European Bioenergetics Conference, Warsaw (Poland), 2010 07 (poster)
7. Pisliakov AV, Sugita Y, “Proton transfer in cytochrome c oxidase and nitric oxide reductase”, Gordon Conference on Computational Chemistry, Les Diablerets (Switzerland), 2010 08 (poster)

## 平成 22 年度 RICC 利用報告書

8. Pisliakov AV, Sugita Y, “Molecular dynamics simulations of NORs”, *Frontiers in the Simulations of Macromolecules*, Los Angeles (USA), 2010 11 (poster)

### 【その他】

1. 2P120 『膜タンパク質系の分子動力学シミュレーションのための精密な構造モデリング法の開発』○森貴治、森田瑞樹、Shander Ahmad、水口賢司、杉田有治、第 48 回生物物理学会年会、2010/9
2. P207, 小串典子, 石塚玲子, 小林俊秀, 杉田有治, 「Flip-flop motions of Ceramides, Diacylglycerols, and Cholesterols in phospholipid bilayer systems」, ISSP International workshop on Soft Matter Physics, 柏 (2010 年 8 月)
3. 3P224 小串典子, 石塚玲子, 小林俊秀, 杉田有治, 「Lipid dynamics in mixed bilayer systems with micro domains of cholesterol and diacylglycerol」, 第 48 回日本生物物理学会年会, 仙台 (2010 年 9 月)
4. 26pPSB-45 小串典子, 石塚玲子, 小林俊秀, 杉田有治, 「構成比の異なるジアシルグリセロール混合膜におけるラメラ構造からの構造変化」, 第 66 回日本物理学会年次大会, 新潟 (2011 年 3 月)
5. Pos-L146 小串典子, 石塚玲子, 小林俊秀, 杉田有治, 「Topology changes of membrane systems revealed by molecular dynamics simulations」, *Biophysical Society 55<sup>th</sup> Annual Meeting*, Baltimore (2011 年 3 月)
6. Pisliakov AV, Sugita Y, “Proton transfer pathways in cNOR revealed by MD simulations”, 48<sup>th</sup> Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sendai, 2010 09 (poster)
7. Pisliakov AV, Sugita Y, “Water channels and proton transfer pathways in nitric oxide reductase” *Symposium on Hydration Dynamics and Molecular Processes*, RIKEN Advanced Science Institute, 2010 12 (oral)