

MARBLE-K講習会

2014年10月24日

山根 努

1. MARBLEの概要・研究例

2. MARBLEによる計算実習

分子動力学(MD)シミュレーション

MDの基本アルゴリズム

原子間力の計算

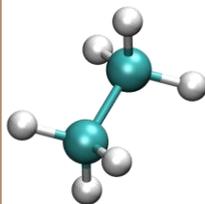


運動方程式による
原子位置の更新

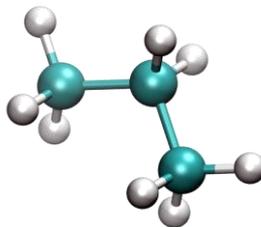


MDの力場ポテンシャル関数

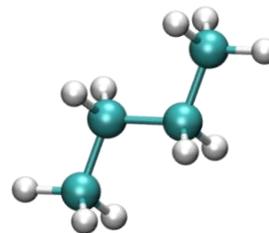
Bond



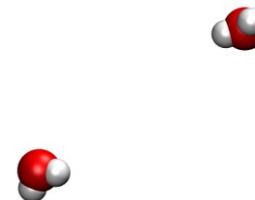
Angle



Torsion



Nonbond (Elec, vdW)



初のタンパク質MDを行ったKarplusらが2013年ノーベル化学賞を受賞

The Nobel Prize in Chemistry 2013



Photo: A. Mahmoud
Martin Karplus



Photo: A. Mahmoud
Michael Levitt

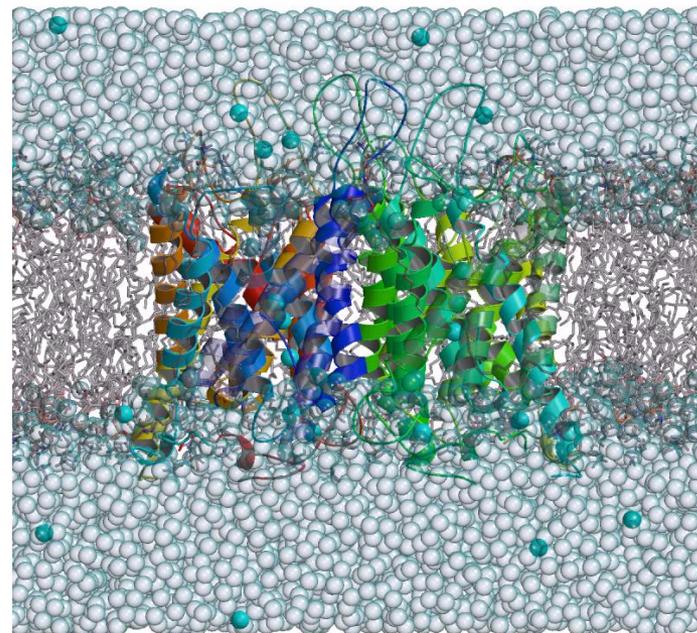


Photo: A. Mahmoud
Arieh Warshel

(<http://www.nobelprize.org/>)

アクアポリンの 生体膜中でのMD

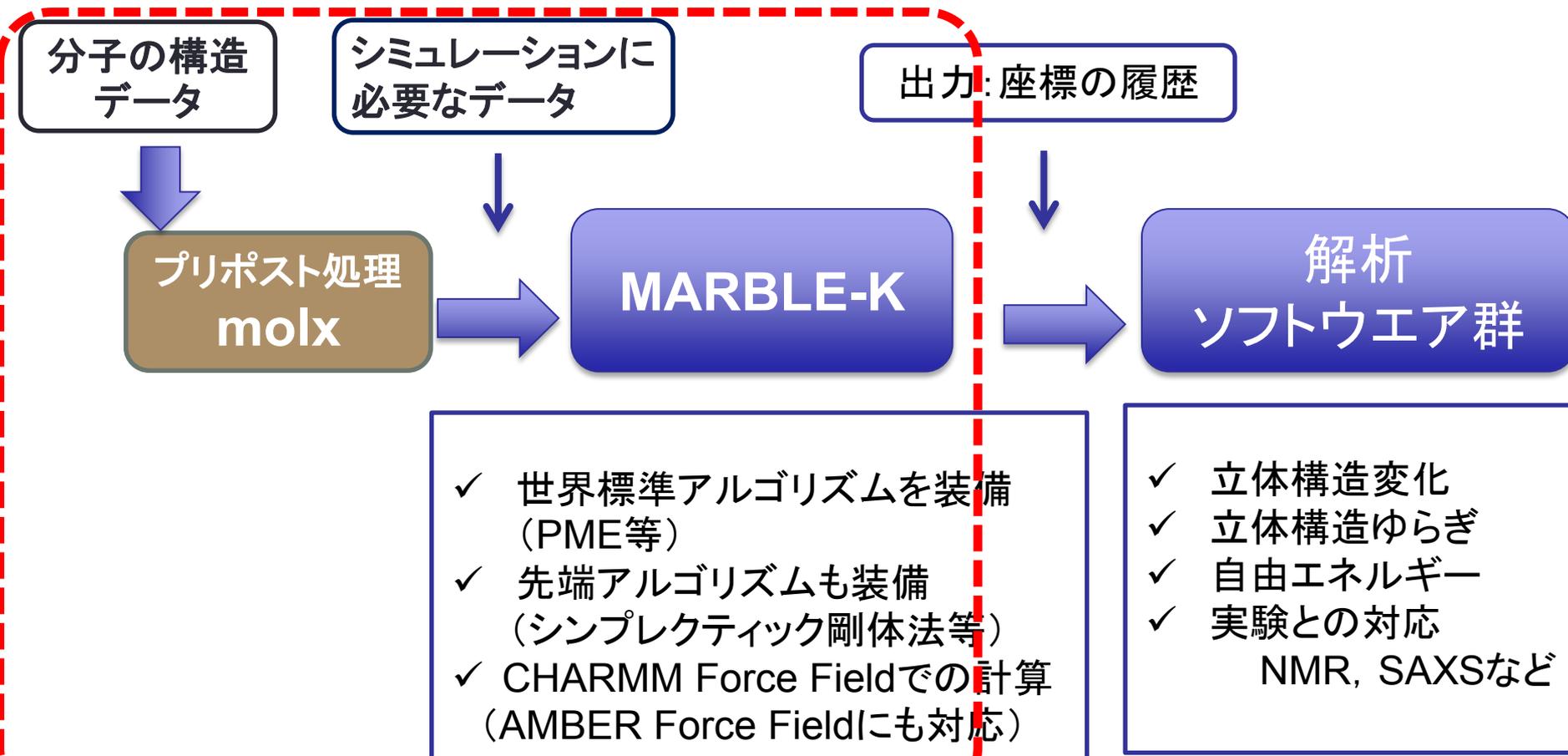
- ✓ 全原子数～16万
- ✓ 数千万～数十億
ステップの計算
- ✓ スパコンが必要



MARBLE (Molecular Simulation program for Biomolecules)

- 蛋白質をはじめとする生体高分子の全原子シミュレーションを目的として開発された分子シミュレーションプログラム
- X線・中性子溶液散乱、NMR、質量分析等、各種構造生物学データを活用した生体分子構造機能解析を行うことを目指して開発。

パッケージとして提供



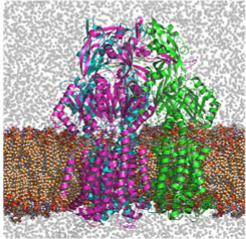
MARBLE Home Page

MARBLE HOME PAGE (<http://tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/bioinfo/marble/>)

MolecularAR simulation package for BiomoLEcules

MARBLE

[Home](#) [Download](#) [Release Note](#) [Document](#) [License](#) [Benchmark](#) [Mailing list](#) [Link](#)



MARBLEとは？

MARBLE(Molecular simulation package for BiomoLEcules)は、蛋白質をはじめとする生体高分子の全原子シミュレーションを目的として、開発された分子シミュレーションプログラムです。

ニュース

MARBLE0.6.2 を公開しました。(2012 10.31)

[ホーム](#)
[ダウンロード](#)
[リリースノート](#)
[ドキュメント](#)
[ライセンス](#)
[ベンチマーク](#)
[メーリングリスト](#)
[リンク](#)

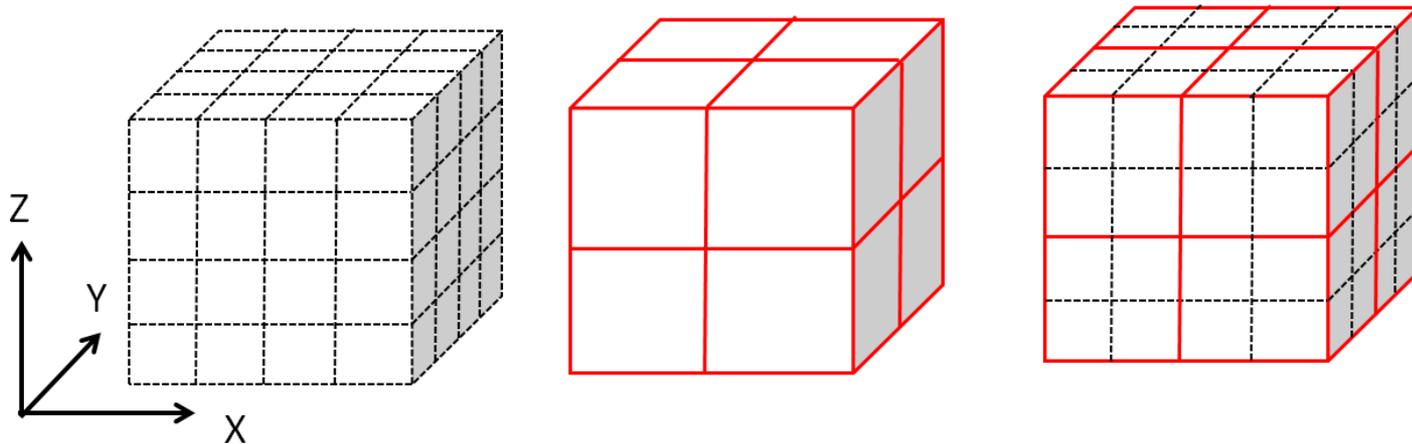
横浜市立大学大学院
生命ナノシステム科学研究科
生体超分子システム科学専攻
生体超分子情報科学研究室

MARBLEのパッケージ
マニュアルをダウンロードできます。

メーリングリスト(marble-users)開設

計算原理

並列化の方法



- シミュレーションを行う系の空間をX, Y, Z方向に等間隔な複数のセルに分割
- 並列計算に用いるプロセスをX, Y, Z方向に配置。
- 各プロセスが、配置された場所の空間上隣接する複数のセルの計算を担当するように分割。

MARBLEでは、インプットファイル中でPME(Particle Mesh Ewald)法のパラメータd_gridを指定することで自動的にセルの分割とプロセスの配置数を算出して計算を実行している

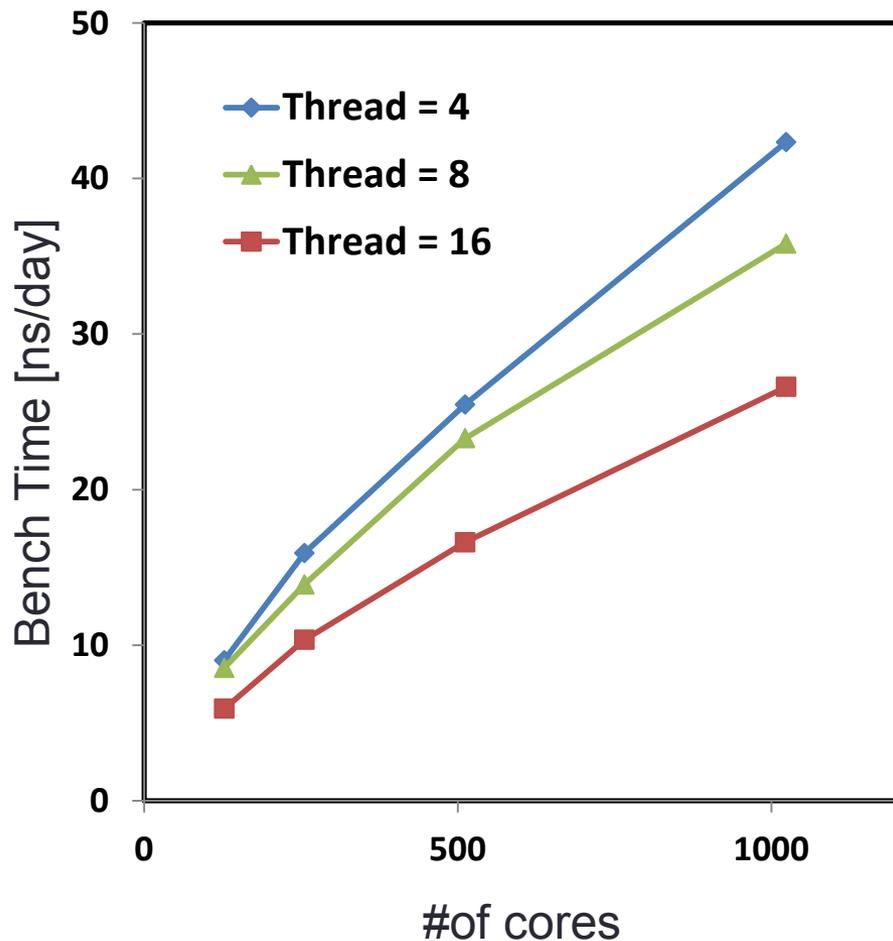
計算速度 (small system, FX10)

Ubiquitin (76 residues, 1231 atoms) in explicit water (7713 water molecules)

Total Number of Atoms: 24370

Periodic Boundary Condition: 62.17 [Å] x 62.17 [Å] x 62.17 [Å]

PT Control: NVE ensemble



計算速度 (large, FX10)

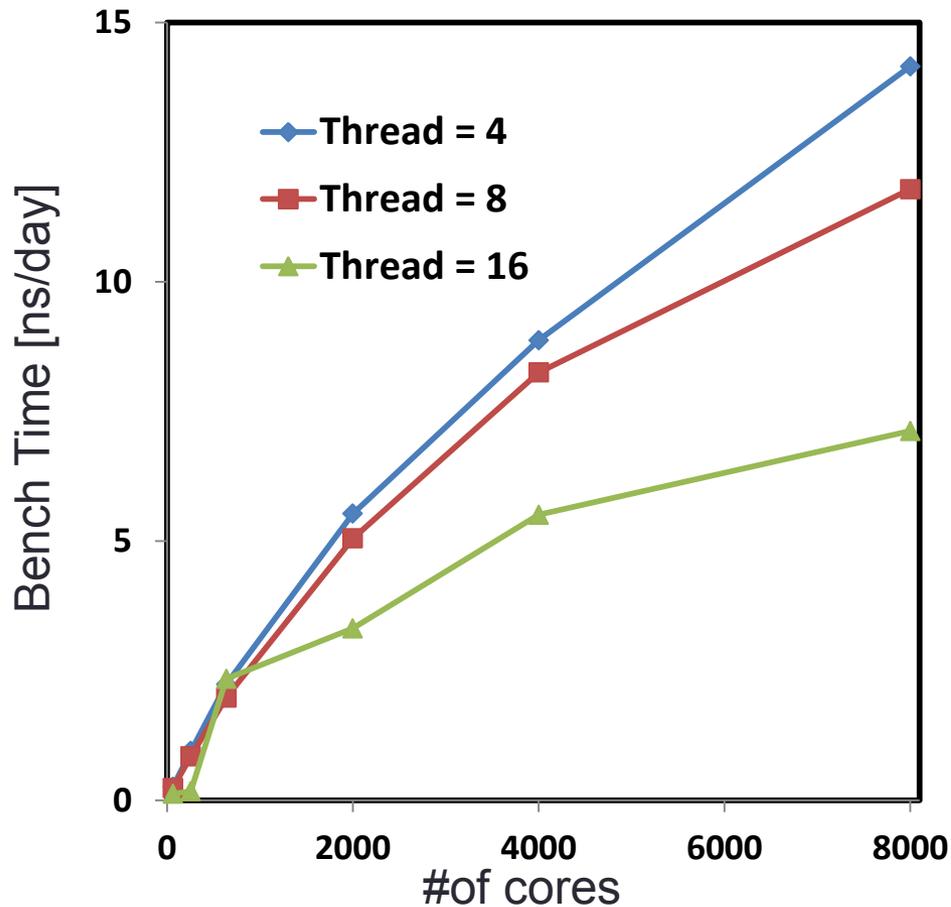
AcrB (1033x3 residues, 47554 atoms)

in explicit water (108565 water molecules) and lipid (811 POPE molecules)

Total Number of Atoms: 474665

Periodic Boundary Condition: 167.17 [Å] x 167.17 [Å] x 165.61 [Å]

PT Control: NVE ensemble



計算速度 (large, K)

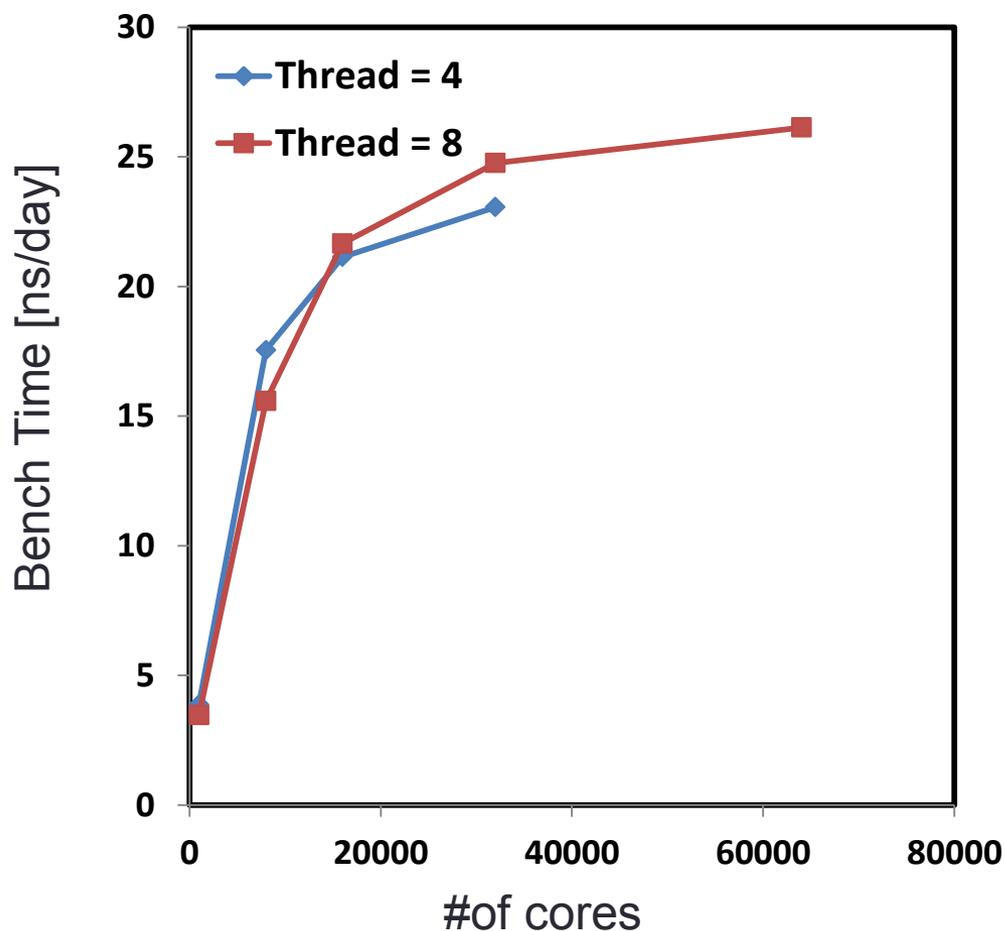
AcrB (1033x3 residues, 47554 atoms)

in explicit water (108565 water molecules) and lipid (811 POPE molecules)

Total Number of Atoms: 474665

Periodic Boundary Condition: 167.17 [Å] x 167.17 [Å] x 165.61 [Å]

PT Control: NVE ensemble



MARBLE-K講習会

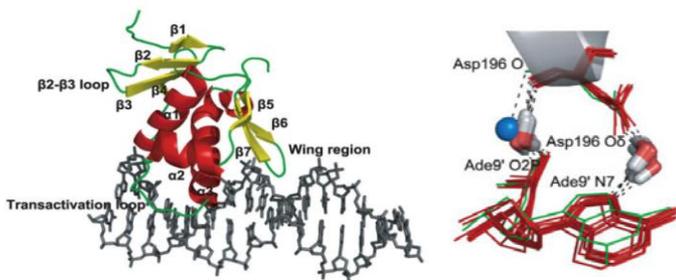
(MARBLEを用いた計算例)

2014年10月24日

山根 努

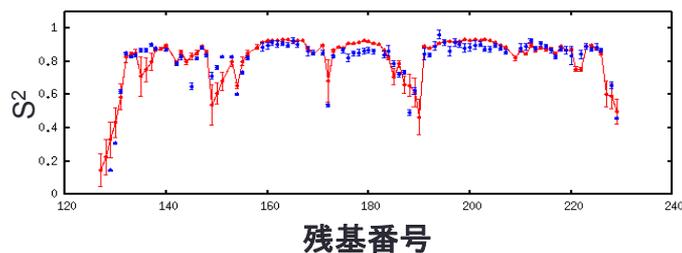
MARBLEを用いた研究例 (MARBLEによる実験データの解釈)

NMRでの例



DNA結合タンパク質
PhoB

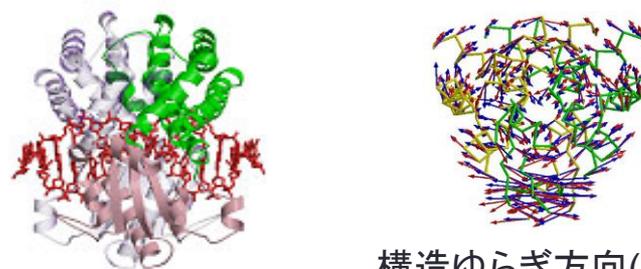
水を介した
分子認識



オーダーパラメータの検証
(赤: 計算、青: 実験)

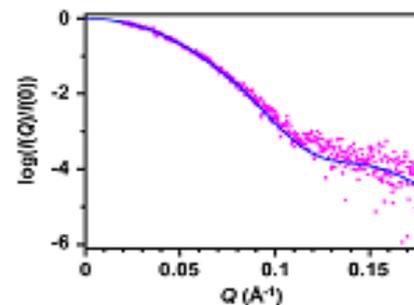
(JACS, 2010)

X線溶液散乱実験での例



制限酵素EcoO109I

構造ゆらぎ方向(赤)と
構造変化方向(青)の一致



散乱プロファイルの検証
(青: 計算、ピンク: 実験)

(Biophys J, 2009)

- 実験データを再現
- ダイナミクスに関する情報が得られる

MARBLEを用いた研究例

多剤排出トランスポーターAcrBの分子動力学シミュレーション

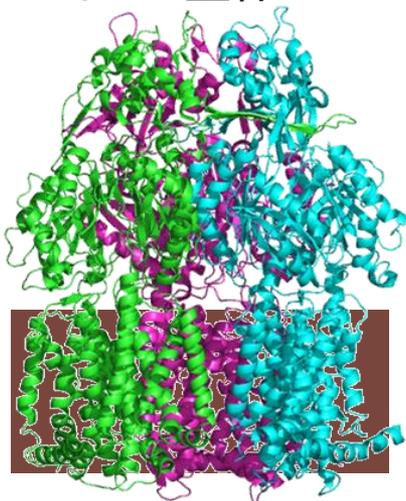
大腸菌などのグラム陰性細菌に存在

●大腸菌のもつ薬剤抵抗性の主要因

排出するもの...抗生物質

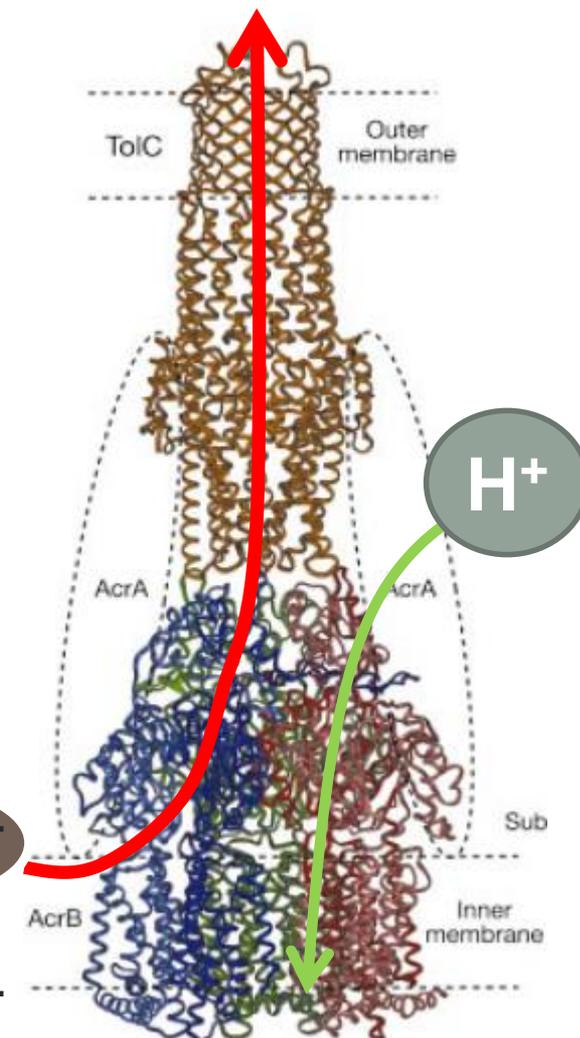
消毒剤、抗がん剤、色素性毒素、界面活性剤
など

全長1049残基のモノマーのホモ3量体



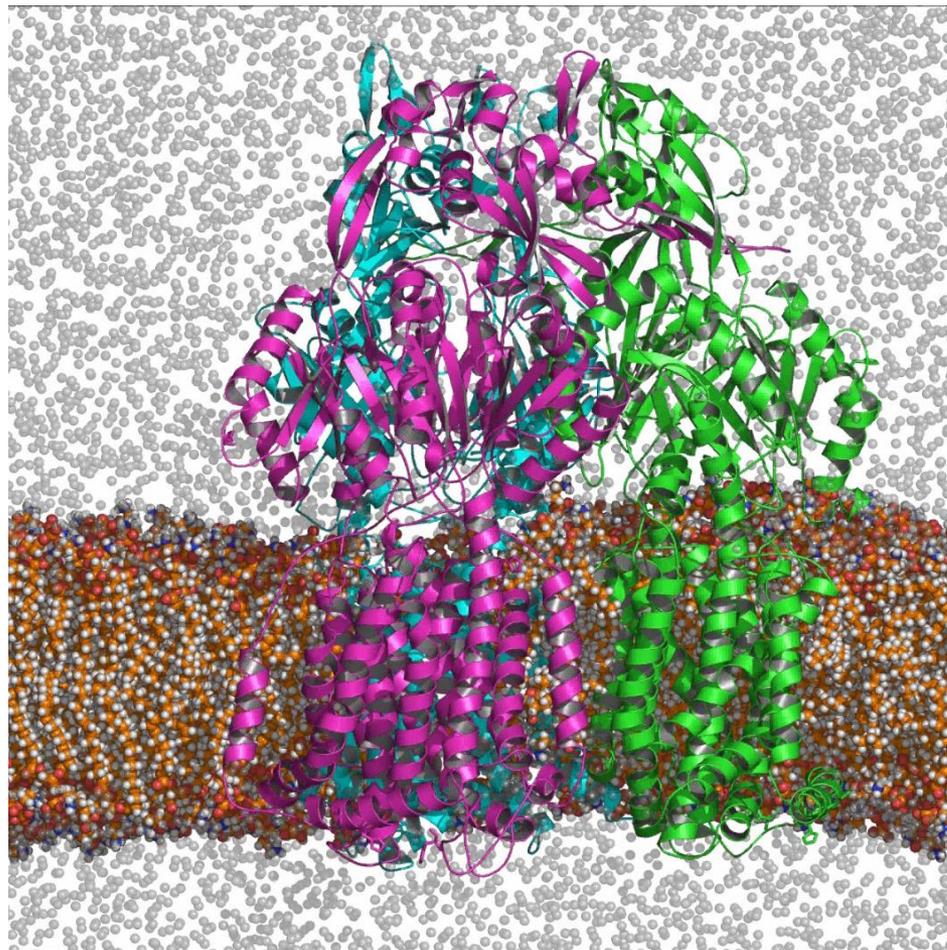
Drug
脂質二重膜

AcrA/AcrB/TolC



MARBLEを用いた研究例

多剤排出トランスポーターAcrBの分子動力学シミュレーション



大腸菌などのグラム陰性細菌に存在

●大腸菌のもつ薬剤抵抗性の主要因

排出するもの...抗生物質、消毒剤、抗がん剤、
色素性毒素、界面活性剤など

プログラム: MARBLE (Ikeguchi)

力場: CHARMM 27

長距離相互作用: (Particle-mesh Ewald)

アンサンブル: NPT

シミュレーション温度:300K,

時間刻み:2fs

System

Lipid: POPE 809 molecules (101,125 atoms)

water: TIP3P model 108,385 molecules
(325,155 atoms)

protein: (PDB ID: 2DHH)
(47,724 atoms)

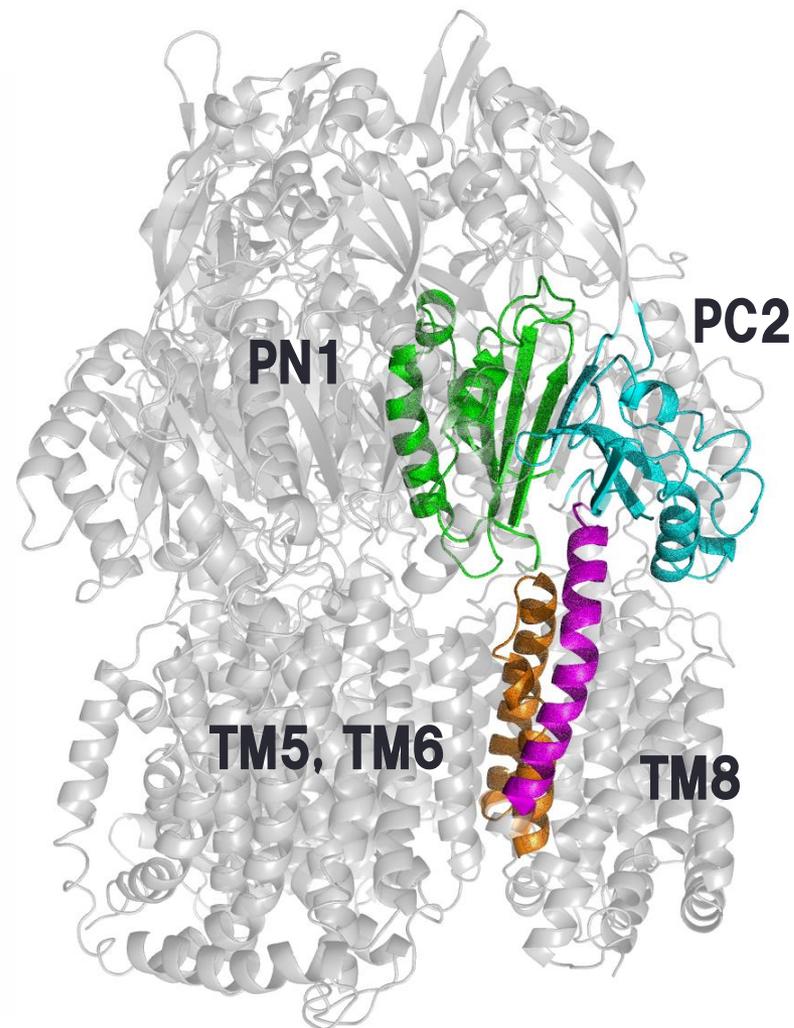
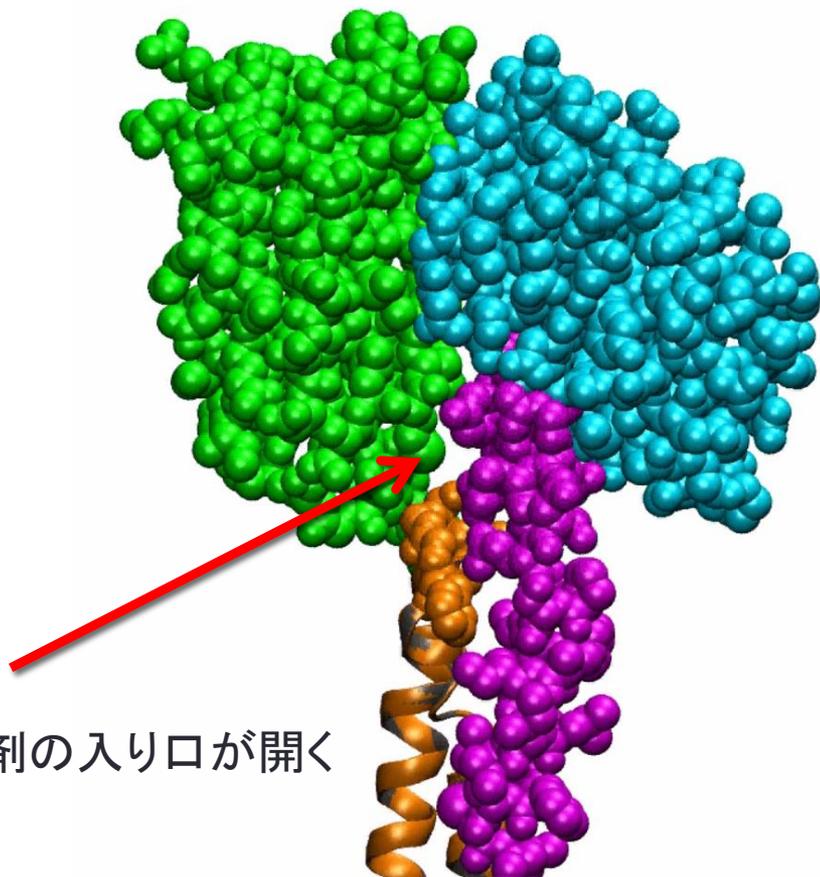
Ion: Na⁺ (36 atoms)

Total: 474,040 atoms

Box size: 160Å X 160Å X 180Å

MARBLEを用いた研究例

多剤排出トランスポーターAcrBの分子動力学シミュレーション



MARBLE-K講習会

(MARBLEを用いた分子動力学計算の実習)

ノイラミニダーゼ・オセルタミビル(タミフル)複合体の分子動力学計算

実習の流れ

(1) MARBLEによる分子動力学計算の実行

(2) 計算結果の観察(VMDを用いて)

MARBLEでの計算の流れ

今回の実習では....

初期構造
(PDB file)



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

初期構造
(PDB file)

インプットファイル: 初期構造のPDBファイル

➤ 初期構造(PDBファイル)をもとに以下の操作をする。

(1) 力場の指定(基本的にCHARMMフォーマットの力場を用いる)

(2) モデルビルディング: 初期構造について以下の操作をする。

- ✓ 部分的に欠損している原子を補う(水素や重原子)
- ✓ ジスルフィド結合などの化学修飾を定義する

(3) システムビルディング: 蛋白質分子周辺の環境を構築

- ✓ 周期境界のボックスの生成
- ✓ 水分子およびイオンを発生させる

アウトプットファイル

pdbファイル: 構築された系の座標情報

crdファイル: 構築された系の情報を含むファイル。以降のMARBLEでのエネルギー最小化計算は、このファイルの情報で始める。

mdatファイル: 構築された系の力場、ボックスなどのパラメータ情報を含む。以降のMARBLEでの全ての計算で用いる。

molx

crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化

crdファイル

平衡化

crdファイル

本計算

初期構造
(PDB file)



crdファイル
mdatファイル



エネルギー最小化計算

- ✓ 最急降下法 or/and 共役勾配法が用意されている。
(それぞれ独立にあるいは、組み合わせて利用)

分子動力学計算(平衡化・本計算)

アンサンブル

- ✓ NVE, NVT, NPT
- ✓ NPAT, NPT_xyz, NPT_isoxy, NPT_flexible (膜蛋白など用)

温度コントロールの方法

- ✓ スケーリング(昇温過程で使う)
- ✓ 拡張アンサンブル

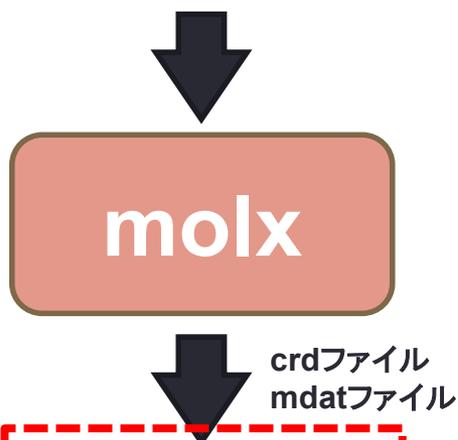
拘束条件

- ✓ position_harmonic: 参照座標の位置で拘束をかける
- ✓ rmsd: 参照構造との間のrmsdで拘束

-
- ✓ 指定した2つの領域の重心間距離で拘束
 - ✓ 二面角拘束
 - ✓ 距離拘束
 - ✓ 角度拘束
 - ✓ Nmr:nmrの構造決定用の拘束(原子間距離、二面角拘束)
etc.....

MARBLEで出力されるファイル

初期構造
(PDB file)



pdbファイル

- MARBLE実行時の系の最終構造の座標

crdファイル (molxでも生成される)

- MARBLE実行時の系の最終構造の座標
- 最終構造の速度
- 周期境界の箱の情報
- アンサンブルの情報 (温度・圧力)

trjファイル

- 系の経時変化情報。
(座標・速度・周期境界の箱の情報)

propファイル

- 計算途中のさまざまな変化量

outファイル (標準出力)

- 実行した計算内容
- エネルギー・圧力・温度・実行速度の情報

MARBLE

エネルギー
極小化

↓ crdファイル

平衡化

↓ crdファイル

本計算

CHARMM力場について

CHARMM 力場は以下のアドレスからダウンロード

http://mackerell.umaryland.edu/CHARMM_ff_params.html

CHARMM FF Parameters

CADD Center PSC Department

LINKS
Empirical force field parametrization efforts are coordinated with the program CHARMM, which is maintained in the laboratory of Professor Martin Karplus, Department of Chemistry, Harvard University.

HOME

Research
Below is a zipped tar file containing the topology and parameter files available in version C31B1 of CHARMM. Note that this release includes a change in the organization of the toppar directory. The standard topology and parameter files for the biological molecules (e.g. proteins, nucleic acids etc.) have not changed except for a number of the model compounds being moved to toppar stream files. These files are in the stream subdirectory and are used by first reading the parent topology and parameter files and then streaming the appropriate toppar stream file to add the additional residues, patches and parameters of interest. This change was motivated by the ever increasing complexity of the topology and parameter files due to the inclusion of additional model compounds.

Publications

Group Members

Lab Wiki
Topology and parameter files for the AMBER, OPLS and BMS force fields are now included, allowing for modeling studies with CHARMM using these force fields. See the non_charmm subdirectory.

Contact Information
An overview of the parameter optimization approaches to extend the CHARMM force fields may be found in the following references or in MacKerell, A.D., Jr. "Atomistic Models and Force Fields" in Computational Biochemistry and Biophysics, O.M. Becker, A.D. MacKerell, Jr., B. Roux and M. Watanabe, Eds., Marcel Dekker, Inc. New York, 2001, p. 7-38.
*See the following link: <http://www.dekker.com/servlet/product/productid/0455-X>. Note that the publisher is now Taylor & Francis and the book is available via [Amazon.com](http://www.amazon.com).

CHARMM LINKS

CHARMM Force Fields
* Please reference the parameters as indicated in the individual topology and parameter files.

Force Field Development Resources

Topology Files:
Toppar files with the C37 release of CHARMM. These include the C36 additive protein, nucleic acid, lipid, and carbohydrate releases as well as the CGenFF files as of July 2012. Note that the toppar files are now in a new format that allows them to be read individually such that different parts of the force field (eg. proteins and nucleic acids) can be accessed without creating toppar files that contain both the protein and nucleic acid parameters. Note that this includes a toppar stream file for water and ions that must be explicitly read as water and the ions are no longer included in the biomolecular or CGenFF toppar files. See 00toppar_file_format.txt, included in the .tgz file, for details including an example on how to read the files into CHARMM.

Note that the replacement of toppar_c36_jul12.tgz with toppar_c36_aug12.tgz only involved a change in the ordering of atoms in selected lipids.

[toppar_c36_aug12.tgz](#)

Toppar files with c35b2, c36a2 release of CHARMM.
[toppar_c35b2_c36a2.tgz](#)

Toppar files for CHARMM36 all-atom carbohydrate force field.
[toppar_carb_apr12.tgz](#)

CHARMM力場

CHARMM22, 27, 36など

この辺からダウンロードできます

CHARMM力場

Top(トポロジー) ファイルとpar(パラメータ)ファイルからなる

- topファイル: 分子のトポロジーに関する情報
 - 各残基や分子の情報(構造と部分電荷の情報)
 - 化学修飾を行うパッチ(末端の処理、ジスルフィド結合、プロトン化など)
- parファイル: 計算に用いるパラメータに関する情報
(原子名の定義、力の定数、結合長、結合角、LJパラメータなど)
- topparファイル: 分子の種類によっては、topparファイルとして、
topファイルとparファイルの内容が合わせて書いてある。

Topファイルを見て計算したい分子の情報がないければ、新たにtopとparファイルの情報を作る必要があります。

今回の計算の中で用いているタミフルは、CHARMM36のパラメータセットであるcgen_ffを用いて構築しました。(あとで説明します)

CHARMM力場の例 (topファイル:各残基や分子の情報)

残基のトポロジー情報の例(アラニン) (top_all36_prot.rtfより)

残基名

RESI ALA CHARMM力場での原子名 部分電荷

```

RESI ALA
GROUP
ATOM N NH1 -0.47 !
ATOM HN H 0.31 ! HN-N
ATOM CA CT1 0.07 ! HB1
ATOM HA HB1 0.09 ! /
GROUP HA-CA--CB-HB2
ATOM CB CT3 -0.27 ! ¥
ATOM HB1 HA3 0.09 ! HB3
ATOM HB2 HA3 0.09 ! O=C
ATOM HB3 HA3 0.09 !
GROUP
ATOM C C 0.51
ATOM O O -0.51
BOND CB CA N HN N CA
BOND C CA C +N CA HA CB HB1 CB HB2 CB HB3
DOUBLE O C
IMPR N -C CA HN C CA +N O
CMAP -C N CA C N CA C +N
DONOR HN N
ACCEPTOR O C
IC -C CA *N HN 1.3551 126.4900 180.0000 115.4200 0.9996
IC -C N CA C 1.3551 126.4900 180.0000 114.4400 1.5390
IC N CA C +N 1.4592 114.4400 180.0000 116.8400 1.3558
IC +N CA *C O 1.3558 116.8400 180.0000 122.5200 1.2297
IC CA C +N +CA 1.5390 116.8400 180.0000 126.7700 1.4613
IC N C *CA CB 1.4592 114.4400 123.2300 111.0900 1.5461
IC N C *CA HA 1.4592 114.4400 -120.4500 106.3900 1.0840
IC C CA CB HB1 1.5390 111.0900 177.2500 109.6000 1.1109
IC HB1 CA *CB HB2 1.1109 109.6000 119.1300 111.0500 1.1119
IC HB1 CA *CB HB3 1.1109 109.6000 -119.5800 111.6100 1.1114

```

構成する原子の情報

内部座標形式で指定された残基の標準的な構造情報。

Molxでの水素原子およびそのほかの欠損原子の補完に用いられる

CHARMM力場の例 (topファイル:パッチ)

パッチの例:ジスルフィド結合(top_all36_prot.rtfより)

```

PRES DISU      -0.36 ! patch for disulfides. Patch must be 1-CYS and 2-CYS.
                  ! use in a patch statement
                  ! follow with AUTOgenerate ANGLES DIHEdrals command

GROUP
ATOM 1CB  CT2  -0.10 !
ATOM 1SG  SM   -0.08 !           2SG--2CB--
GROUP          !           /
ATOM 2SG  SM   -0.08 ! -1CB--1SG
ATOM 2CB  CT2  -0.10 !
DELETE ATOM 1HG1
DELETE ATOM 2HG1
BOND 1SG 2SG
IC 1CA  1CB  1SG  2SG  0.0000  0.0000  180.0000  0.0000  0.0000
IC 1CB  1SG  2SG  2CB  0.0000  0.0000  90.0000  0.0000  0.0000
IC 1SG  2SG  2CB  2CA  0.0000  0.0000  180.0000  0.0000  0.0000

```

Molxはパッチで定義されている化学修飾の生成ルールに従って処理を行っている。

パッチの例:標準的なC末端(top_all36_prot.rtfより)

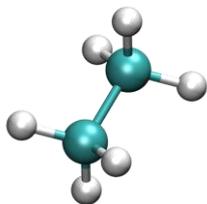
```

PRES CTER      -1.00 ! standard C-terminus
GROUP          ! use in generate statement
ATOM C        CC   0.34 !   OT2(-)
ATOM OT1     OC   -0.67 !   /
ATOM OT2     OC   -0.67 ! -C
DELETE ATOM O  ! ¥¥
BOND C OT2    !   OT1
DOUBLE C OT1
IMPR C CA OT2 OT1
ACCEPTOR OT1 C
ACCEPTOR OT2 C
IC N        CA  C   OT2  0.0000  0.0000  180.0000  0.0000  0.0000
IC OT2     CA  *C  OT1  0.0000  0.0000  180.0000  0.0000  0.0000

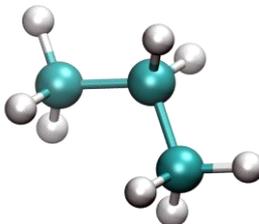
```

力場について

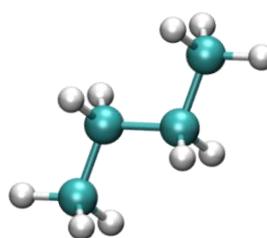
Bond



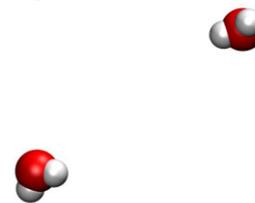
Angle



Torsion



**Nonbond
(Elec, vdW)**



$$V(\mathbf{r}) = E_{bond} + E_{angle} + E_{torsion} + E_{nonbond}$$

CHARMM力場の例(parファイル)

- 分子中に含まれるさまざまなパラメータを含んでいるparファイルの例(par_all36_prot.prmより)

原子の質量の情報(MASS)

topファイルで記されているCHARMM力場での原子名の定義

ATOMS			
MASS	31 H	1.00800	! polar H
MASS	32 HC	1.00800	! N-ter H
MASS	33 HA	1.00800	! nonpolar H
MASS	34 HP	1.00800	! aromatic H
MASS	35 HB1	1.00800	! backbone H
MASS	36 HB2	1.00800	! aliphatic backbone H, to CT2
MASS	37 HR1	1.00800	! his he1, (+) his HG,HD2
MASS	38 HR2	1.00800	! (+) his HE1
MASS	39 HR3	1.00800	! neutral his HG, HD2
MASS	40 HS	1.00800	! thiol hydrogen
MASS	41 HE1	1.00800	! for alkene; RHC=CR
MASS	42 HE2	1.00800	! for alkene; H2C=CR

同じ種類の元素でも、
複数種類ある

CHARMM力場の例(parファイル) 一つづき

- 分子中に含まれるさまざまなパラメータを含んでいるparファイルの例(par_all36_prot.prmより)

BONDS

$$V(\text{bond}) = K_b (b - b_0)^{**2}$$

!Kb: kcal/mole/A**2

!b0: A

!

!atom type Kb b0

!

NH2 CT1 240.000 1.4550 ! From LSN NH2-CT2

!

!Indole/Tryptophan

CA CAI 305.000 1.3750 ! from CA CA

CAI CAI 305.000 1.3750 ! atm, methylindole, fit CCDSS

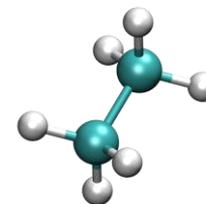
CPT CA 300.000 1.3600 ! atm, methylindole, fit CCDSS

CPT CAI 300.000 1.3600 ! atm, methylindole, fit CCDSS

CPT CPT 360.000 1.3850 ! atm, methylindole, fit CCDSS

.....

Bond



E_{bond}

CHARMM力場の例 (parファイル) —つづき—

- 分子中に含まれるさまざまなパラメータを含んでいる parファイルの例 (par_all36_prot.prmより)

ANGLES

```
V(angle) = Ktheta(Theta - Theta0)**2
```

```
!V(Urey-Bradley) = Kub(S - S0)**2
```

```
!Ktheta: kcal/mole/rad**2
```

```
!Theta0: degrees
```

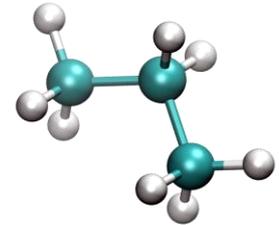
```
!Kub: kcal/mole/A**2 (Urey-Bradley)
```

```
!S0: A
```

```
!atom types      Ktheta      Theta0      Kub      S0
```

```
!
H      NH2      CT1      50.000      111.00      ! From LSN HC-NH2-CT2
NH2    CT1      CT2      67.700      110.00      ! From LSN NH2-CT2-CT2
NH2    CT1      CT3      67.700      110.00      ! From LSN NH2-CT2-CT2
CT1    CD      OH1      55.000      110.50      ! From ASPP CT2-CD-OH1
CT3    CT1      CD      52.000      108.00      ! Ala cter
```

Angle



E_{angle}

CHARMM力場の例(parファイル) 一つづき

- 分子中に含まれるさまざまなパラメータを含んでいる
parファイルの例(par_all36_prot.prmより)

DIHEDRALS

$V(\text{dihedral}) = K_{\text{chi}}(1 + \cos(n(\text{chi}) - \text{delta}))$

!Kchi: kcal/mole

!n: multiplicity

!delta: degrees

!

!atom types Kchi n delta

!

!Neutral N terminus

NH2 CT1 C O 0.0000 1 0.00

NH2 CT1 C NH1 0.0000 1 0.00

H NH2 CT1 CT1 0.0000 1 0.00

H NH2 CT1 C 0.0000 1 0.00

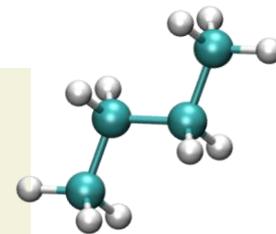
H NH2 CT1 HB1 0.1100 3 0.00 ! From LSN HC-NH2-CT2-HA

H NH2 CT1 CT2 0.1100 3 0.00 ! From LSN HC-NH2-CT2-CT2

H NH2 CT1 CT3 0.1100 3 0.00 ! From LSN HC-NH2-CT2-CT2

.....

Torsion



E_{torsion}

CHARMM力場の例(parファイル) 一つづき

- 分子中に含まれるさまざまなパラメータを含んでいる
parファイルの例(par_all36_prot.prmより)

Nonbond (vdW)



```
NONBONDED nbxmod 5 atom cdie1 fshift vatom vdistance vswitch -
cutnb 14.0 ctofnb 12.0 ctonnb 10.0 eps 1.0 e14fac 1.0 wmin 1.5
!adm jr., 2013 correction
```

```
!V(Lennard-Jones) = Eps,i,j[(Rmin,i,j/ri,j)**12 - 2(Rmin,i,j/ri,j)**6]
```

```
!epsilon: kcal/mole, Eps,i,j = sqrt(eps,i * eps,j)
```

```
!Rmin/2: A, Rmin,i,j = Rmin/2,i + Rmin/2,j
```

```
!
```

```
!atom ignored epsilon Rmin/2 ignored eps,1-4 Rmin/2,1-4
```

```
!
```

```
!carbons
```

```
C 0.000000 -0.110000 2.000000 ! ALLOW PEP POL ARO
```

```
! NMA pure solvent, adm jr., 3/3/93
```

```
CA 0.000000 -0.070000 1.992400 ! ALLOW ARO
```

```
! benzene (JES)
```

```
CC 0.000000 -0.070000 2.000000 ! ALLOW PEP POL ARO
```

```
! adm jr. 3/3/92, acetic acid heat of solvation
```

```
CD 0.000000 -0.070000 2.000000 ! ALLOW POL
```

```
! adm jr. 3/19/92, acetate a.i. and dH of solvation
```

```
CE1 0.000000 -0.068000 2.090000 !
```

```
! for propene, yin/adm jr., 12/95
```

```
CE2 0.000000 -0.064000 2.080000 !
```

```
! for ethene, yin/adm jr., 12/95
```

```
.....
```

$$E_{nonbond}$$

本日の実習の流れ

初期構造
(PDB file)



molx



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

本日の講習では、

- molx
- MARBLE

エネルギー最小化
平衡化(1)を行います。

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

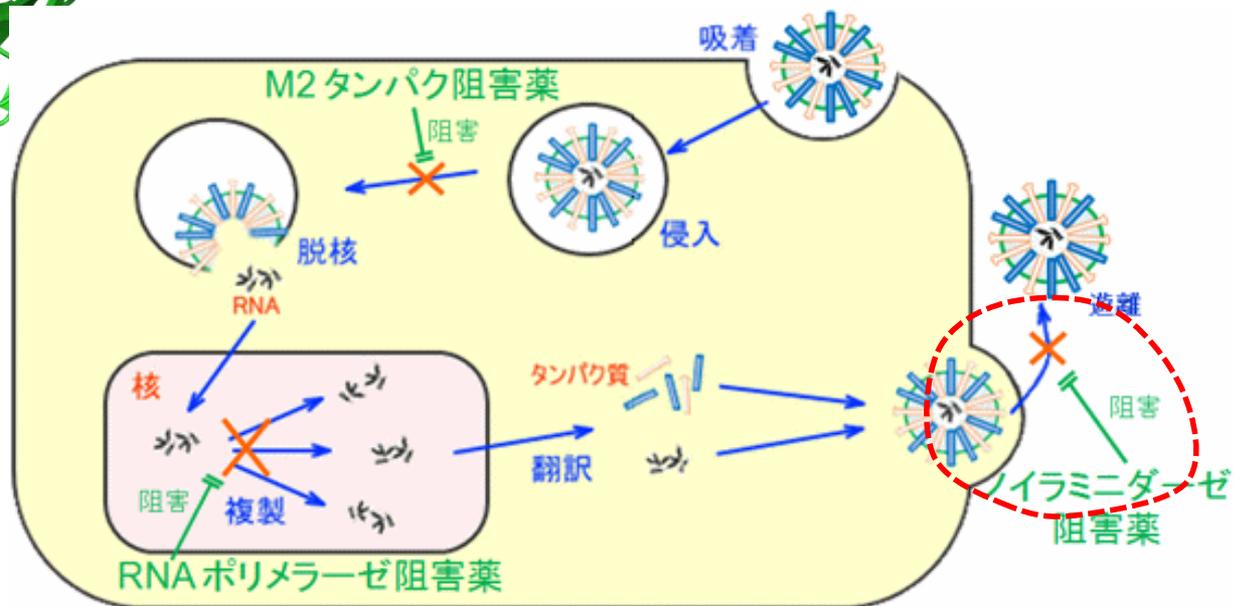
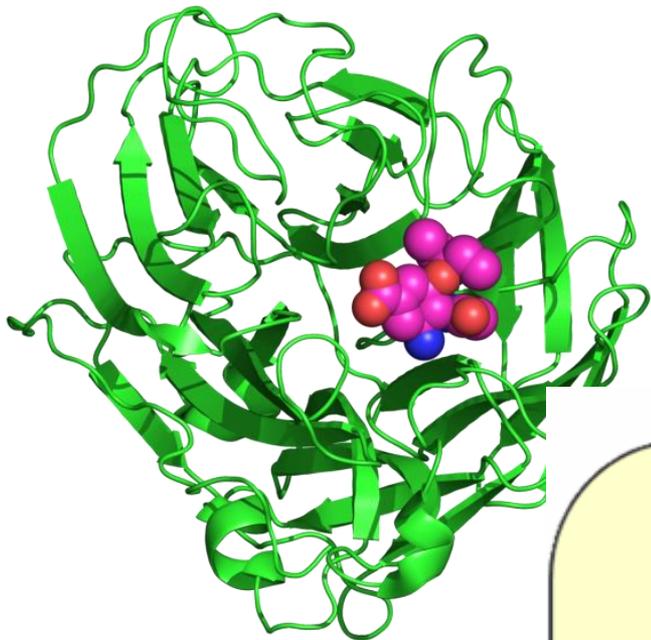
平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

計算例：ノイラミニダーゼ+タミフル

(オセルタミビル)

使用する構造(PDB_ID:2hu4 A chain)



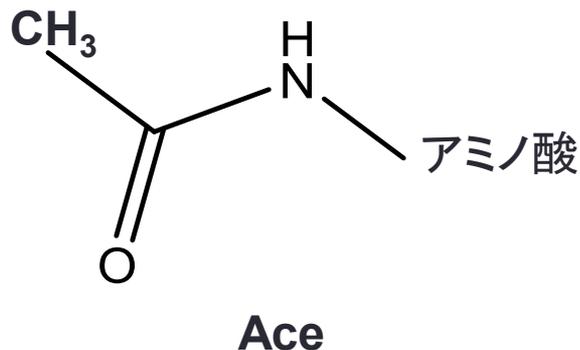
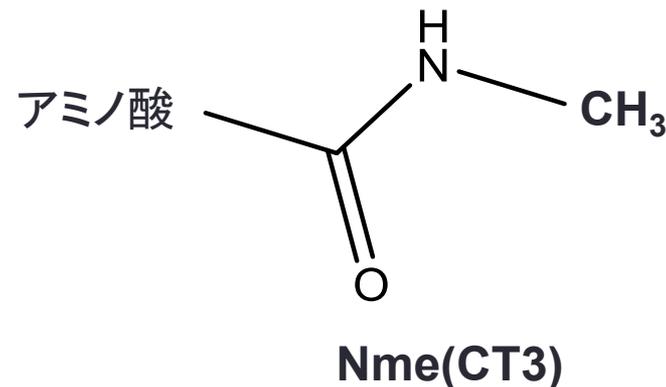
MDの準備 (molxの実行)

Molxを実行する前にチェックすること

✓ 構造に欠損がないか？

使用する構造 (PDB_ID: 2hu4 A chain) は.....

両末端領域が欠損 → 各末端をそれぞれ Ace, Nme(CT3) にする。

(デフォルトでは、-NH₃⁺、-COO⁻となります)

水素原子がない → molxで自動的に発生させる

MDの準備 (molxの実行)

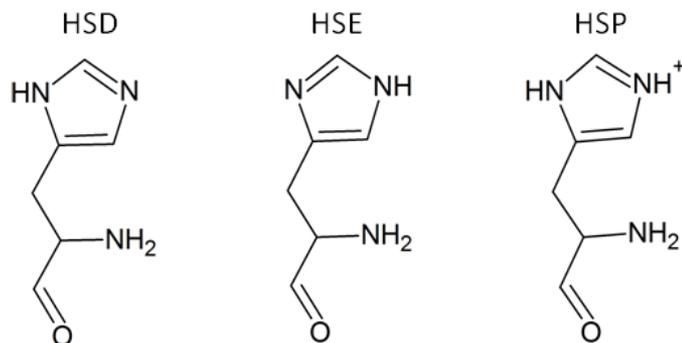
Molxを実行する前にチェックすること

✓ アミノ酸のプロトン化状態の決定 (特にヒスチジン)

使用する構造 (PDB_ID: 2hu4 A chain) は..... 7つのヒスチジン残基が存在

→ pKaを予測するプログラム等を利用する (例: H++)

H++のホームページ (<http://biophysics.cs.vt.edu>)

CHARMMで用いられている
ヒスチジンのタイプ

PDBファイルから
プロトン化にかかわるアミノ酸の
pKaを計算してくれる

Screenshot of the H++ website homepage. The page displays the H++ logo, Virginia Tech branding, a navigation menu (HOME, PROCESS A STRUCTURE, VIEW SUBMISSIONS, CONTACT US, FAQ, EXAMPLES, CREDITS), a WELCOME message, and a NEWS section with updates from 2012 and 2013.

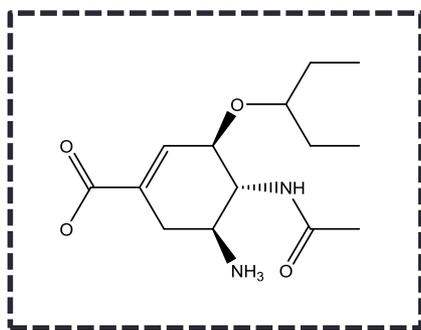
4. MDの準備 (molxの実行)

Molxを実行する前にチェックすること

✓ **パラメータが準備されていない分子、残基を含んでいるか？**

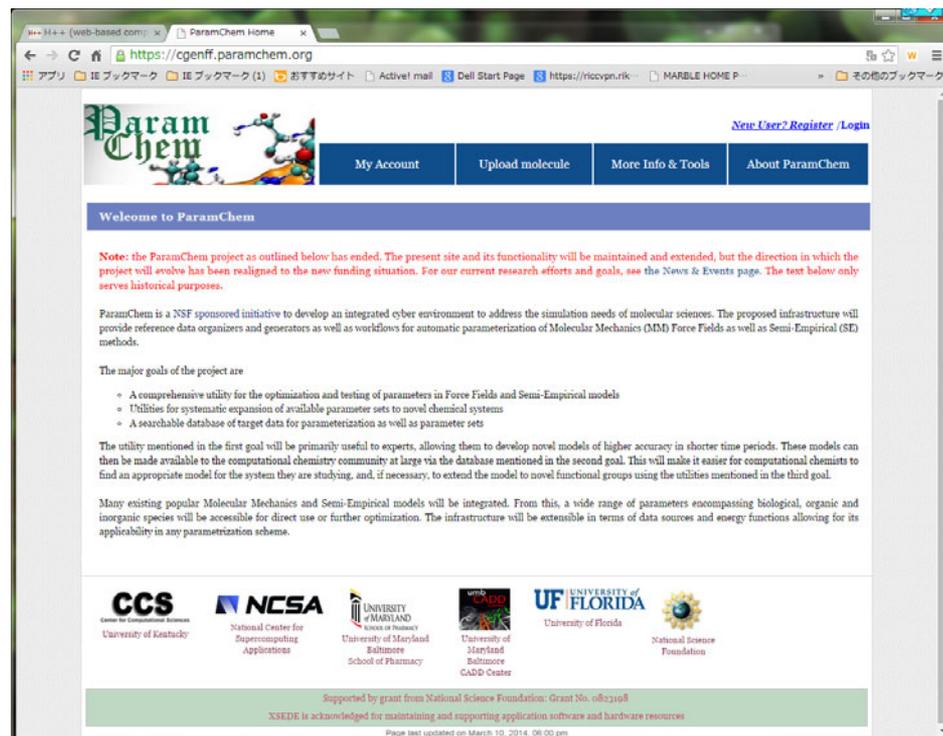
使用する構造 (PDB_ID: 2hu4 A chain) は.....

オセルタミビルが存在



→ (CHARMM36では) cgen_ffパラメータセットから、topparファイルを作成するサイト (ParamChem) を利用

* cgen_ffの詳細は、各種のチュートリアルページなどを検索して参考にしてください。
(例えば、<http://www.cecarn.org/workshop-5-805.html>)



ParamChemのホームページ
(<https://cgenff.paramchem.org/>)

【1: MARBLEによる分子動力学計算の実行】

横浜市大の鶴見キャンパスのスパコンCray XE6にログインして、MARBLE-KによりMD計算を行います。

- まず、Linuxを立ち上げ、ログインし、端末ウィンドウを開きます。
(端末は、デスクトップ上で右ボタンをクリックして“端末を開く”を選びます)

- 端末ウィンドウから、下記のコマンドでスパコンにログインします。

```
[ike@pc101 ~]$ ssh -X guest??@192.168.1.4
```

パスワードは、guest??です。
??: 指示された数字が入ります。

- koushuディレクトリに入ります。

```
guest01@bits1:~> cd koushu
```

4. MDの準備 (molxの実行)

- molxディレクトリに入ります

```
guest01@bits1:~/koushu> cd molx
```

- molx.inの中を開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/molx> less molx.in
```

```
charmm_top_file ../toppar/top_all36_prot.rtf
charmm_top_file ../toppar/top_all36_cgenff.rtf
charmm_par_file ../toppar/par_all36_prot.prm
charmm_par_file ../toppar/par_all36_cgenff.prm
charmm_toppar_file ../toppar/toppar_water_ions.str
charmm_toppar_file G39.str
```

力場の指定 (CHARMM36)

```
input_pdb_file 2hu4_mod.pdb
```

初期構造のPDBファイルを指定
(A chain のみ、残基番号を変更)

```
output_mdat_file 2hu4-molx.mdat
```

```
output_crd_file 2hu4-molx.crd
```

```
output_pdb_file 2hu4-molx.pdb
```

出力ファイル名を指定

```
alias CD1 CD
```

```
alias OXT O
```

PDBファイル中での原子名を変更
(CHARMM力場での名前に変更)
* 該当箇所のみ適用される

```
rename_residue 44A HSE
```

```
rename_residue 62A HSP
```

```
rename_residue 73A HSE
```

```
rename_residue 103A HSE
```

```
rename_residue 193A HSP
```

```
rename_residue 215A HSP
```

```
rename_residue 327A HSE
```

PDBファイル中での残基名を変更
(ヒスチジンのプロトン化状態を指定)

残基番号+chain ID 変更する残基名

4. MDの準備 (molxの実行)

molx.in 続き

```

.....
patch_ter ACE 1A
patch_ter CT3 385A
patch DISU 10A 335A
patch DISU 42A 47A
patch DISU 102A 149A
patch DISU 151A 156A
patch DISU 197A 210A
patch DISU 199A 208A
patch DISU 236A 253A
patch DISU 339A 364A

align_axis diagonal
solvent_cube on
solvent_pdb_file watbox216.pdb
ion SOD CLA
ion_placement random
ion_density 150 #mmol

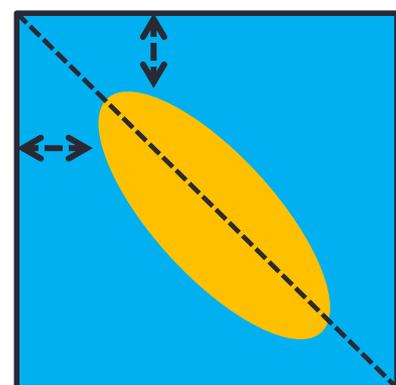
```

N末端
C末端

ジスルフィド結合

パッチの指定

周期境界の箱の決め方



溶媒、イオンに関わる設定

- 周期境界の箱の設定
- 水を発生
- イオン強度、イオンの配置方法の設定

- molxコマンドを実行します。

molx インットファイル > アウトットファイル

```

guest01@bits1:~/koushu/molx> ../bin/molx.0.6.3-cray molx.in > molx.out

```

molxを実行すると、以下の

- 2hu4-molx.crd: MD計算に利用する座標ファイル
- 2hu4-molx.mdat: MD計算に用いるパラメータファイル
- 2hu4-molx.pdb: molxを実行後の座標の確認用PDBファイル

MARBLEでの計算に利用

の3ファイルができます。

- molx.logの中身を開きます。

```
guest01@bits1:~/koushu/molx> less molx.out
```



```
*****  
Molx (Version 0.6.3)  
Host: bits1  
Date: Wed Oct 15 20:34:48 2014  
Control File: molx.in  
*****
```

```
CHARMM TOP FILE: ../toppar/top_all36_prot.rtf  
Version 36.1  
Number of types of atomic mass : 53  
Number of residues : 23  
Number of residues for patching : 23
```

エラーや警告に注意して眺めるべし！

```
.....  
Molecular Data (mdat) Information:  
Number of atoms: 40368  
Number of atom types: 63  
Number of residues: 11949  
Number of molecules: 11565  
Number of bonds: 40396  
Number of bond types: 105  
Number of angles: 22093  
Number of angle types: 226  
Number of dihedrals: 15618 (term: 18495)  
Number of dihedral types: 478  
Number of impropers: 1023  
Number of improper types: 19  
Number of cmap terms: 385  
Number of cmap types: 5  
Number of solute molecules: 2  
Total charge: -0.000000  
Periodic Boundary Box:  
74.81 0.00 0.00  
0.00 74.81 0.00  
0.00 0.00 74.81
```

ファイルの最後に出力される系のサマリーもチェックする。

本日の実習の流れ

初期構造
(PDB file)



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

本日の講習では、

- molx
- MARBLE

エネルギー極小化
平衡化(1)を行います。

➤ Molxで作成された構造中の原子間のクラッシュなどを取り除き安定な状態にする

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

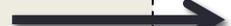
- minimディレクトリに入ります

```
guest01@bits1:~/koushu/molx> cd ../minim
```

- min.inの中を開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> less min.in
```

```
[input]
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat
crd_file   = ../molx/2hu4-molx.crd
```



パラメータセット(mdatファイル)
初期座標(crdファイル)
(molxで出力されたもの)

```
[nonbond]
cutoff = 10.0
```



非結合相互作用のカットオフ(Å)

```
[ewald]
d_grid = 1.1
```



Particle Mesh Ewaldの逆格子項の計算で用いるメッシュの設定
(アウトプットファイルで言及します)

```
[restraint]
method = position_harmonic
group = atom non_hydrogen 1A 385A
group = atom non_hydrogen 800A 800A
crd_file = ../molx/2hu4-molx.crd
k = 1.0 #kcal/mol/ang2
```



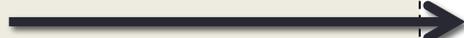
拘束の設定(Position harmonic)
蛋白質とタミフルの重原子のみを拘束

```
[min]
step = 1500
```



エネルギー極小化のステップ数
(再急降下法)

```
[output]
crd_file = 2hu4-min.crd
pdb_file = 2hu4-min.pdb
```



最終構造のcrdファイル、
pdbファイルを指定

● min.shの中を開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> less min.sh
```

プロセス数16で1プロセスあたり8スレッドで計算(全部で128コア使用)

```
#!/bin/bash
#PBS -N marble
#PBS -S /bin/bash
#PBS -j oe
#PBS -V
#PBS -l mppwidth=16
#PBS -l mppnppn=4
#PBS -l mppdepth=8
#PBS -q p128a
unset DISPLAY

cd $PBS_O_WORKDIR

export OMP_NUM_THREADS=8
aprun -d 8 -n 16 -N 4 -cc numa_node -S 1 ../bin/marble.0.6.3-cray min.in min.out
```

marble インットファイル アウトットファイル

★ ● スパコンにジョブを投入します。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> qsub min.sh
```

● 自分のジョブが実行されているかを確認します。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> qinfo
```

● ラックの中のどこで自分のジョブが実行されているかを確認します。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> xtnodestat
```

- 自分のジョブが終了したら、ジョブのアウトプットをみて下さい。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> less min.out
```



```
*****  
MARBLE (Version 0.6.3)  
Program: ../bin/marble.0.6.3-cray  
Host: nid00076  
PE: 16  
Threads: 8  
Date: Thu Oct 16 07:38:16 2014  
Control File: min.in  
Log File: min.out  
*****
```

```
** STEP 1. Read Control File
```

```
[input]
```

```
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat  
crd_file = ../molx/2hu4-molx.crd
```

```
[nonbond]
```

```
cutoff = 10.0
```

```
[ewald]
```

```
d_grid = 1.1
```

```
[restraint]
```

```
method = position_harmonic  
group = atom non_hydrogen 1A 385A  
group = atom non_hydrogen 800A 800A  
crd_file = ../molx/2hu4-molx.crd  
k = 1.0 #kcal/mol/ang2
```

```
[min]
```

```
step = 1500
```

```
[output]
```

```
crd_file = 2hu4-min.crd  
pdb_file = 2hu4-min.pdb
```

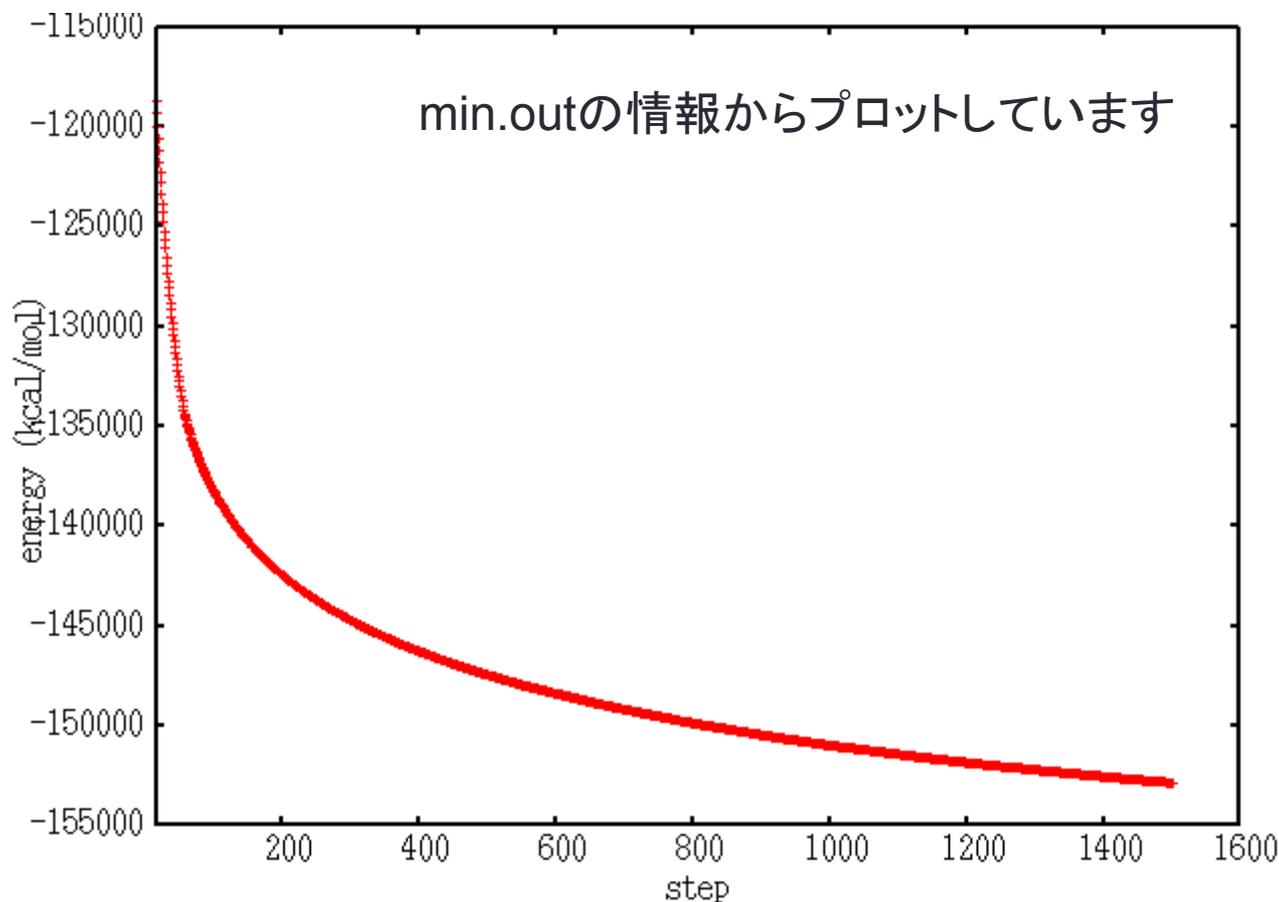
インプットファイルに書かれている以外の計算の設定の詳細は”STEP 2. Setup”に書かれています

- 生成されたファイル2hu4-min.pdb, 2hu4-min.crdがあることを確認してください。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> ls
```

- エネルギーの履歴をグラフにしてみます。

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> ./plot-min.sh
```



本日の実習の流れ

初期構造
(PDB file)



molx



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

本日の講習では、

- molx
- MARBLE

エネルギー極小化
平衡化(1)を行います。

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

ここでは、練習のために、短い計算を行います。(約30分くらい)

- equilディレクトリに移動し、eq01.inを開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/minim> cd ../equil
```

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> less eq01.in
```

```
[input]
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat
crd_file = ../minim/2hu4-min.crd
```

```
[init]
temperature = 10.0
```

```
[nonbond]
cutoff = 10.0
```

```
[ewald]
d_grid = 1.1
```

```
[PT_control]
ensemble = NVT
method = rescaling
temperature = 10
gradual_change_T = 25000 300
```

```
[constraint]
rigid_body = hydrogen
```

```
[restraint]
method = position_harmonic
group = atom non_hydrogen 1A 385A
group = atom non_hydrogen 800A 800A
crd_file = ../minim/2hu4-min.crd
k = 1.0 #kcal/mol/ang2
```

アンサンブルの設定(NVT)
温度コントロール(rescaling)
昇温の設定(25,000 stepで10K→300K)

水素を剛体として扱う
(水素の結合に関わる振動を固定)

拘束の設定(Position harmonic)

```
[md]
time_step = 2.0
step = 125000
print_step = 100
trj_file = 2hu4-eq01.trj
trj_output = X
trj_step = 500
trj_wrap_molecules = on
prop_file = 2hu4-eq01.prop
prop_step = 100
```

```
[output]
crd_file = 2hu4-eq01.crd
pdb_file = 2hu4-eq01.pdb
```

MDの設定

- 時間刻み、
- シミュレーションステップ数、
- 出力ファイルの設定
(ファイル名、出力頻度)

- MDを実行するために、スパコンにジョブを投入します。
guest01@bits1:~/koushu/equil> **qsub equil.sh**
- 自分のジョブが実行されているのを確認します。
guest01@bits1:~/koushu/equil> **qinfo**
- ラックの中のどこで自分のジョブが実行されているのかを確認します。
guest01@bits1:~/koushu/equil> **xtnodestat**
- 休憩(15分くらい)

本日の実習の流れ

初期構造
(PDB file)



molx



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

本日の講習では、

- molx
- MARBLE

エネルギー極小化
平衡化(1)を行います。

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

- equilディレクトリの、eq02.inを開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> less eq02.in
```

```
[input]
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat
crd_file = 2hu4-eq01.crd
```

```
[nonbond]
cutoff = 10.0
```

```
[ewald]
d_grid = 1.1
```

```
[PT_control]
ensemble = NPT
method = extended_system
temperature = 300
initialize = on
```

```
[constraint]
rigid_body = hydrogen
```

```
[restraint]
method = position_harmonic
group = atom non_hydrogen 1A 385A
group = atom non_hydrogen 800A 800A
crd_file = ../minim/2hu4-min.crd
k = 1.0 #kcal/mol/ang2
gradual_change_k = 50000 0
```

NVTからNPTに変更

rescaling から extended_system に変更

*** アンサンブルが変更するときのみ
initialize = onを指定する！**

拘束の設定 (Position harmonic)

ばね定数を50,000 stepで徐々に0にする
(gradual_change_k)

```
[md]
time_step = 2.0
step = 500000
print_step = 100
trj_file = 2hu4-eq02.trj
trj_output = X
trj_step = 100
trj_wrap_molecules = on
prop_file = 2hu4-eq02.prop
prop_step = 100
```

```
[output]
crd_file = 2hu4-eq02.crd
pdb_file = 2hu4-eq02.pdb
```

MDの設定

- 時間刻み、
- シミュレーションステップ数、
- 出力ファイルの設定
(ファイル名、出力頻度)

本日の実習の流れ

初期構造
(PDB file)



molx



crdファイル
mdatファイル

MARBLE

エネルギー
極小化



平衡化



本計算

初期構造のチェック(前準備)

力場の指定
モデルビルディング
システムビルディング

本日の講習では、

- molx

- MARBLE

エネルギー最小化

平衡化(1)を行います。

平衡化(1) 昇温過程(NVT, リスケーリング, 拘束入り)

平衡化(2) (NPT, extended_system, 拘束を外す)

NPT, extended_system

- prunディレクトリに移動し、prun01.inを開きます

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> cd ../prun
```

```
guest01@bits1:~/koushu/prun> less prun01.in
```

```
[input]
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat
crd_file = ../equil/2hu4-eq02.crd
restart = on
```

```
[nonbond]
cutoff = 10.0
```

```
[ewald]
d_grid = 1.1
```

```
[PT_control]
ensemble = NPT
temperature = 300
method = extended_system
```

```
[constraint]
rigid_body = hydrogen
```

```
[md]
time_step = 2.0
step = 500000
print_step = 100
trj_file = 2hu4-prun01.trj
trj_output = X
trj_step = 500
trj_wrap_molecules = on
prop_file = 2hu4-prun01.prop
prop_step = 100
```

```
[output]
crd_file = 2hu4-prun01.crd
pdb_file = 2hy4-prun01.pdb
```

前の計算で生成した
crdファイルの情報を
引き継ぐ

- そろそろ計算が終了していると思うので、計算が終了していることを確認してください。

```
guest01@bits1:~/koushu/prun> qinfo
```

- equilディレクトリに戻り、アウトプットファイルを開いてみて下さい。

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> cd ../equil
```

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> less eq01.out
```



```
*****  
MARBLE (Version 0.6.3)  
Program: marble.0.6.3-cray  
Host: nid00047  
PE: 64  
Threads: 8  
Date: Wed Oct 15 11:42:30 2014  
Control File: eq00.in  
Log File: eq01.out  
*****
```

途中、シミュレーションの速度のベンチ
マークが出力されます ("Benchmark
Time"を検索すると出てきます)

```
** STEP 1. Read Control File  
  
[input]  
mdat_file = ../molx/2hu4-molx.mdat  
crd_file = ../minim/2hu4-min.crd  
  
[nonbond]  
cutoff = 10.0  
  
[ewald]  
d_grid = 1.1  
  
[PT_control]  
ensemble = NVT  
method = rescaling  
temperature = 10  
gradual_change_T = 50000 300  
  
[constraint]  
rigid_body = hydrogen  
  
[restraint]
```

最後に、エネルギーの収束性(ドリフト)
などの情報が出力されます。

- トrajジェクトリ(履歴)ファイルを開いてみて下さい。

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> less 2hu4-eq01.trj
```



```
# TRAJECTORY BY MARBLE n_atom: 40368, output: X
```

```
47.682 38.747 14.057  
48.664 38.525 13.586  
47.783 38.615 15.155  
47.427 39.809 13.853  
46.629 37.858 13.520  
45.668 38.303 12.893  
46.791 36.552 13.766  
47.564 36.239 14.312  
45.817 35.538 13.395  
45.249 35.894 12.549  
46.456 34.211 12.988  
47.019 33.786 13.846  
45.377 33.199 12.543  
45.861 32.268 12.179  
44.761 33.620 11.720  
44.703 32.938 13.387  
47.438 34.458 11.825  
47.868 33.490 11.490  
48.272 35.125 12.132  
46.914 34.926 10.964  
44.849 35.363 14.557  
45.229 35.303 15.724  
43.541 35.359 14.259  
43.233 35.337 13.311  
42.493 35.358 15.255  
42.768 36.091 15.999  
41.127 35.824 14.674  
40.899 35.203 13.782  
40.339 35.662 15.440  
41.054 37.318 14.283  
40.024 37.507 13.913  
41.234 37.939 15.187  
42.048 37.741 13.187  
43.069 37.763 13.627  
42.015 36.969 12.389  
41.766 39.114 12.575  
40.782 39.119 12.059  
41.776 39.919 13.341  
42.815 39.410 11.571  
42.493 40.188 10.961  
42.050 38.555 10.006
```

トラジェクトリーの書式

```
Atom 1の(XYZ)  
Atom 2の(XYZ)  
Atom 3の(XYZ)  
...
```

Flame 1

```
Atom 1の(XYZ)  
Atom 2の(XYZ)  
Atom 3の(XYZ)  
...
```

Flame 2



- プロパティファイルを確認してみてください。

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> less 2hu4-eq01.prop
```



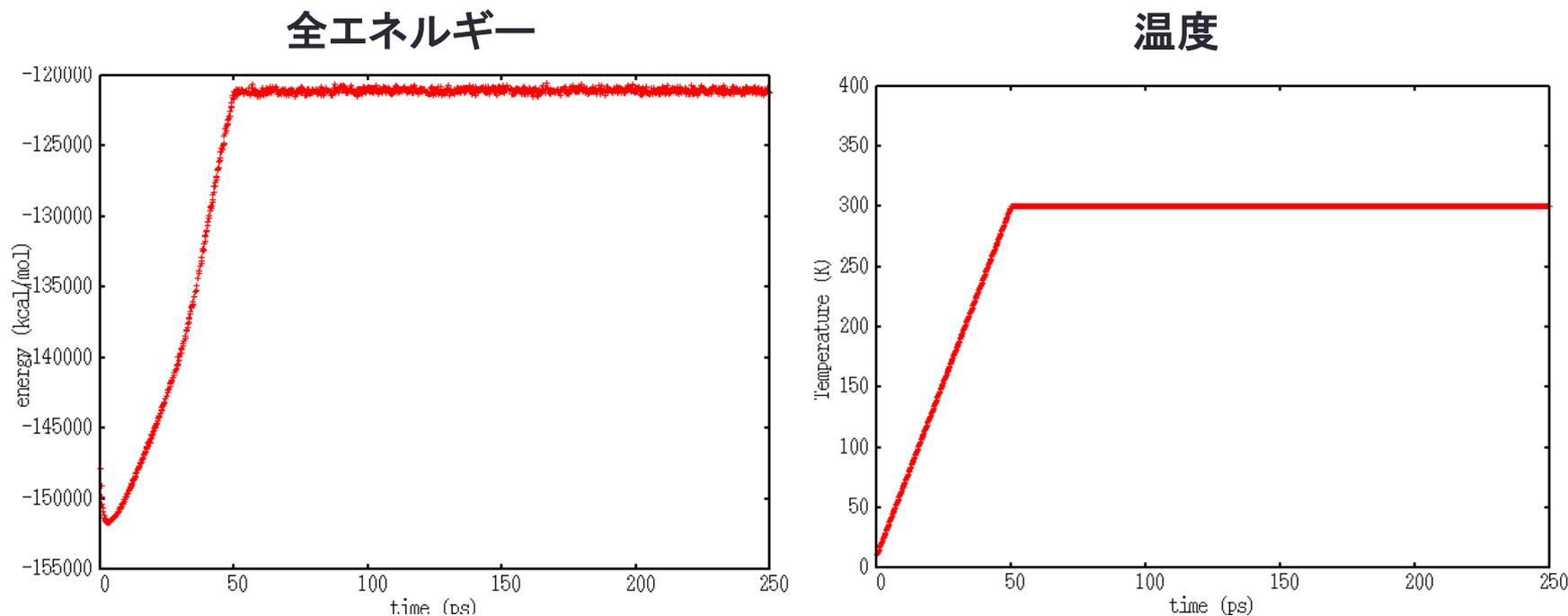
#1TIME	2TEMPERATURE	3TOTAL_ENE	4POTENTIAL
2.000000e-01	1.114840e+01	-1.469050e+05	-1.478205e+05
4.000000e-01	1.230840e+01	-1.480747e+05	-1.490856e+05
6.000000e-01	1.346840e+01	-1.487270e+05	-1.498331e+05
8.000000e-01	1.462840e+01	-1.491296e+05	-1.503310e+05
1.000000e+00	1.578840e+01	-1.493340e+05	-1.506306e+05
1.200000e+00	1.694840e+01	-1.495255e+05	-1.509174e+05
1.400000e+00	1.810840e+01	-1.496453e+05	-1.511325e+05
1.600000e+00	1.926840e+01	-1.497425e+05	-1.513249e+05
1.800000e+00	2.042840e+01	-1.497443e+05	-1.514220e+05
2.000000e+00	2.158840e+01	-1.497464e+05	-1.515193e+05
2.200000e+00	2.274840e+01	-1.496928e+05	-1.515611e+05
2.400000e+00	2.390840e+01	-1.496507e+05	-1.516142e+05
2.600000e+00	2.506840e+01	-1.496001e+05	-1.516588e+05
2.800000e+00	2.622840e+01	-1.494769e+05	-1.516309e+05
3.000000e+00	2.738840e+01	-1.493925e+05	-1.516418e+05
3.200000e+00	2.854840e+01	-1.492322e+05	-1.515767e+05
3.400000e+00	2.970840e+01	-1.492030e+05	-1.516428e+05
3.600000e+00	3.086840e+01	-1.489998e+05	-1.515349e+05
3.800000e+00	3.202840e+01	-1.489048e+05	-1.515352e+05
4.000000e+00	3.318840e+01	-1.487561e+05	-1.514817e+05
4.200000e+00	3.434840e+01	-1.486335e+05	-1.514544e+05
4.400000e+00	3.550840e+01	-1.485228e+05	-1.514389e+05
4.600000e+00	3.666840e+01	-1.483610e+05	-1.513723e+05
4.800000e+00	3.782840e+01	-1.482278e+05	-1.513344e+05
5.000000e+00	3.898840e+01	-1.481203e+05	-1.513222e+05
5.200000e+00	4.014840e+01	-1.479849e+05	-1.512821e+05
5.400000e+00	4.130840e+01	-1.478119e+05	-1.512044e+05
5.600000e+00	4.246840e+01	-1.477315e+05	-1.512192e+05
5.800000e+00	4.362840e+01	-1.476004e+05	-1.511834e+05
6.000000e+00	4.478840e+01	-1.473928e+05	-1.510710e+05
6.200000e+00	4.594840e+01	-1.472416e+05	-1.510151e+05
6.400000e+00	4.710840e+01	-1.471847e+05	-1.510535e+05
6.600000e+00	4.826840e+01	-1.469816e+05	-1.509457e+05
6.800000e+00	4.942840e+01	-1.468513e+05	-1.509106e+05
7.000000e+00	5.058840e+01	-1.467106e+05	-1.508652e+05
7.200000e+00	5.174840e+01	-1.464950e+05	-1.507449e+05
7.400000e+00	5.290840e+01	-1.463592e+05	-1.507043e+05
7.600000e+00	5.406840e+01	-1.462053e+05	-1.506457e+05
7.800000e+00	5.522840e+01	-1.460149e+05	-1.505506e+05
8.000000e+00	5.638840e+01	-1.458751e+05	-1.504884e+05

出力される値

100ステップ(200 fs)ごとに出カ
→インプットファイルで指定可

- エネルギーや温度の履歴を確認してみます。

```
guest01@bits1:~/koushu/equil> ./plot-equil.sh
```



(propファイルあるいはoutファイルの情報からグラフを作成できます)

- ここまででスパコンの作業は終了です。スパコンをログアウトします。

```
guest01@bits1:~/enshu/equil> exit
```

MARBLEによるノイラミニダーゼ・オセルタミビル(タミフル)複合体の 分子動力学シミュレーション

実習の流れ

(1) MARBLEによる分子動力学計算の実行

(2) 計算結果の観察(VMDを用いて)

(2)ノイラミニダーゼ・オセルタミビル複合体の構造を眺める(VMDの使い方の練習)

【2:ノイラミニダーゼ・オセルタミビル複合体の構造を眺める(VMDの使い方の練習)】
まず、分子構造のViewerであるVMD (Visual Molecular Dynamics)を利用して、今回の講習のターゲットであるノイラミニダーゼ・オセルタミビル(タミフル)複合体の構造を眺めます。

- スパコンからデータを持ってくる。

```
[ike@pc101 ~]$ scp -r guest??@192.168.1.4:koushu ./
```

2. VMDでの観察

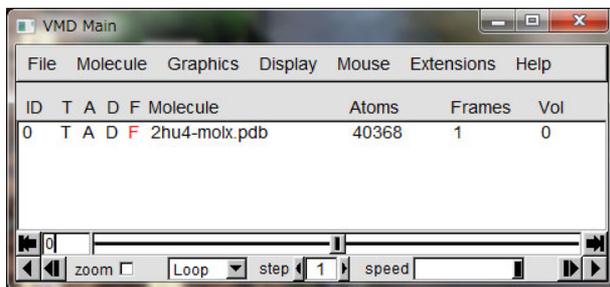
- VMDの設定をコピーします。

```
[ike@pc101 ~]$ cp /home/share/data/bioinfo/enshu/.vmdrc ~/
```

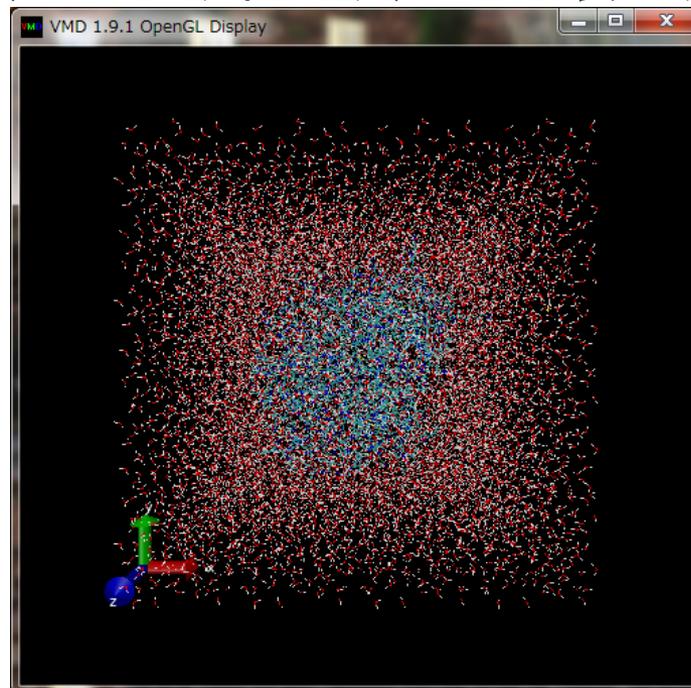
- VMDを起動します。

```
[ike@pc101 ~]$ vmd koushu/minim/2hu4-min.pdb
```

次のような2つのウィンドウが開きます。(下図、左Mainウィンドウ、右VMD表示ウィンドウ。)



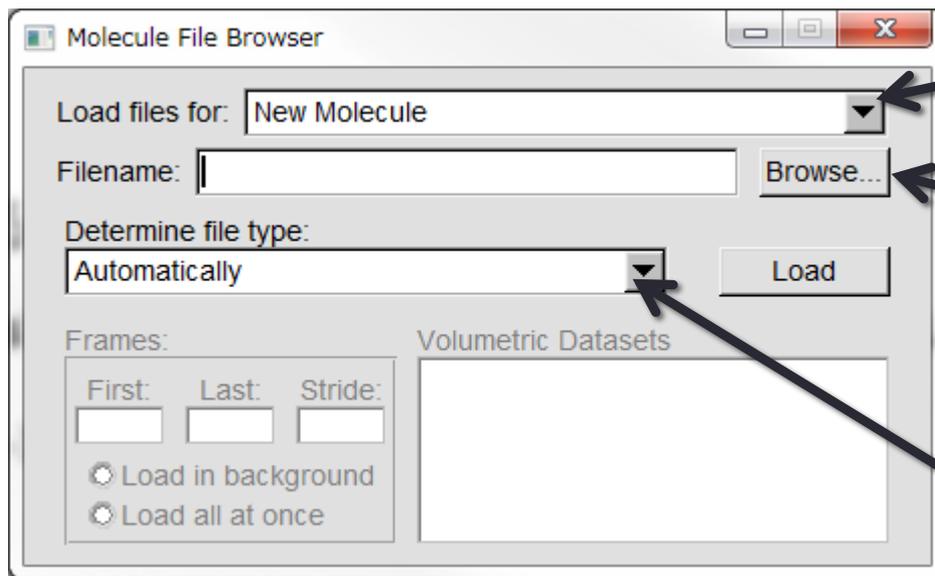
VMD Mainウィンドウ:
全体のコントロールを行う



VMD表示ウィンドウ:
分子構造を表示させます。

先ほど計算したMDのトラジェクトリーを読み込みます。

- VMD MainウィンドウのFileからNew Molecule を選ぶと、
下のようなウィンドウが現れる。



(1)ここをクリックして、
0: 2hu4-min.pdbを選ぶ。

(2)ここをクリックして、
Koushu/equil/2hu4-eq01.trj
を選ぶ。

(3)ここをクリックして、
AMBER Coordinates
を選ぶ。

(4)最後にLoadをクリックすると、MD計算のトラジェクトリーが取り込まれる。

(2) ノイラミニダーゼ・オセルタミビル複合体の構造を眺める (VMDの使い方の練習)

VMD表示ウィンドウでは、分子の回転、平行移動、拡大縮小などができます。以下に示すようなモードの変更時には、マウスマーカーの形状が変わります。

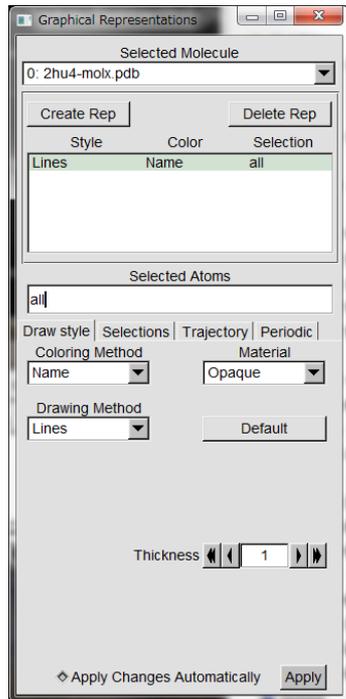
キー	説明
R	回転モード。クリックすると回転する。右クリックで画面に垂直な軸回りに回転。
T	平行移動モード。ドラッグすると平行移動する。右クリックで、画面に垂直な軸に沿って移動する。
S	サイズ変更モード。ドラッグして左右に動かすと、分子のサイズが変更される。ホイールを使ってもサイズ変更できる(ホイールは他のモードでも使える)
=	最初の表示の向き、サイズにリセットする。分子の一部を選択したときに、そこを画面の中心にもってこることができる。
C	原子をクリックして、回転の中心を設定する。
1	原子をクリックして、原子のラベルを表示する。
2	原子を2個クリックして、原子間の距離を表示する。
3	原子を3個クリックして、原子間の角度を表示する。
4	原子を4個クリックして、原子間のねじれ角を表示する。

表示されたラベルは、B を押すと、ラベルは全部消えます。(これは標準のVMDの機能ではなく、~/vmdrcという設定ファイルで追加した機能です。)

(2) ノイラミダーゼ・オセルタミビル複合体の構造を眺める (VMDの使い方の練習)

● タンパク質の表示の変更 (Cartoon表示など)

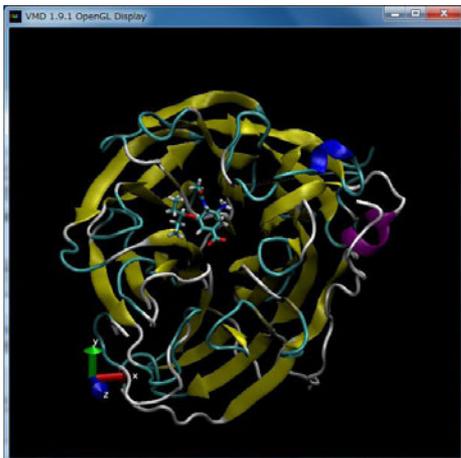
VMD Mainウィンドウで、メニューのGraphics→Representations...を選択します。



中段のDrawing Methodから、表示方法を選びます。
NewCartoonがリボン表示。

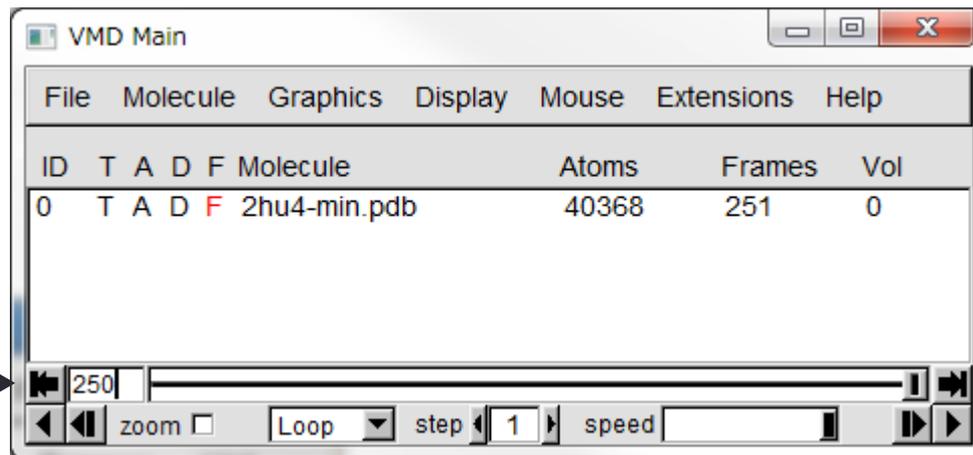
Coloring Methodから、表示色を選びます。
Secondary structure とすれば、二次構造ごとに異なる色の表示となります。

別の表示を追加するには、Create Repボタンを押します。そうすると、表示が追加されます。表示を消去したいときは、選択してDelete Repボタンを押します。



それぞれの表示では、原子を選択することができます。
Selected Atomsの欄に「rename G39」、
Drawing Methodを「Licorice」
Coloring Methodを「Name」(原子別色の意味)とすると、
左図のように、Cartoon表示のノイラミダーゼの中に、オセルタミビル(タミフル)が結合している様子が分かります。

巻き戻しボタンをクリックする。

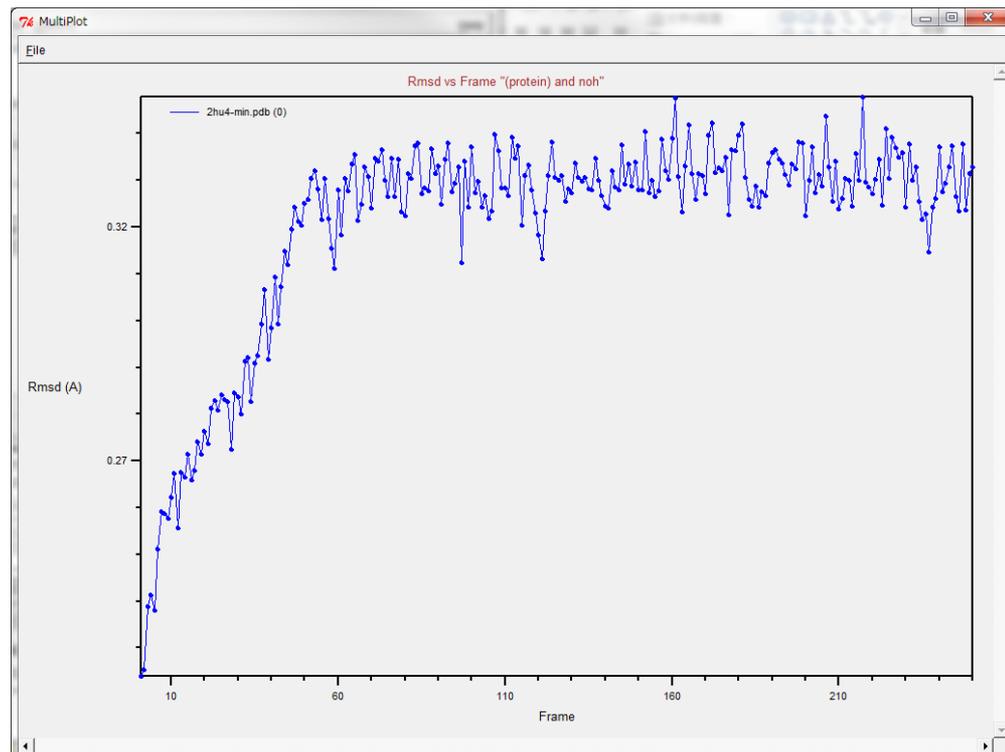
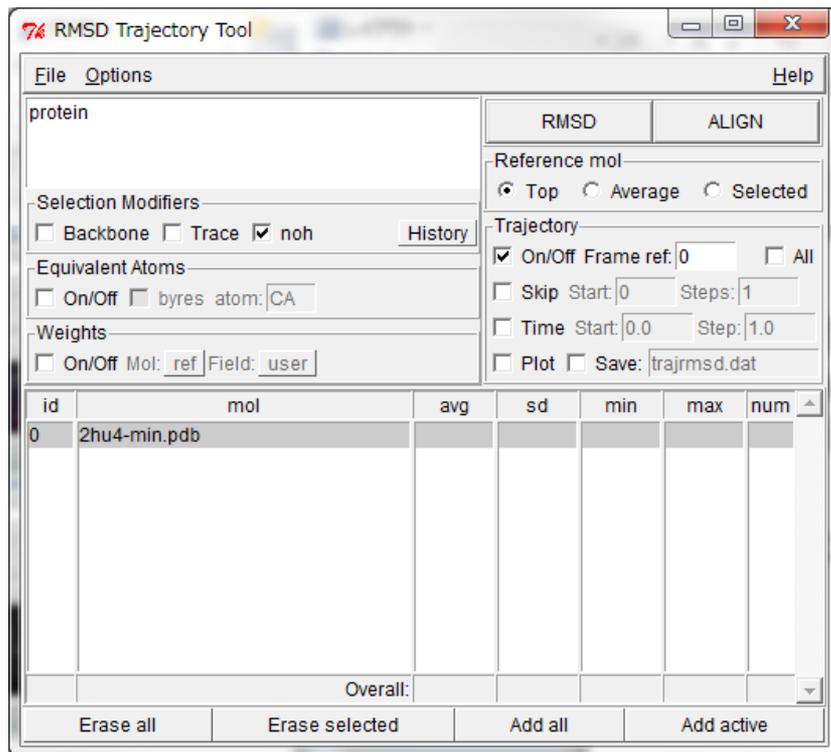


巻き戻しボタン →

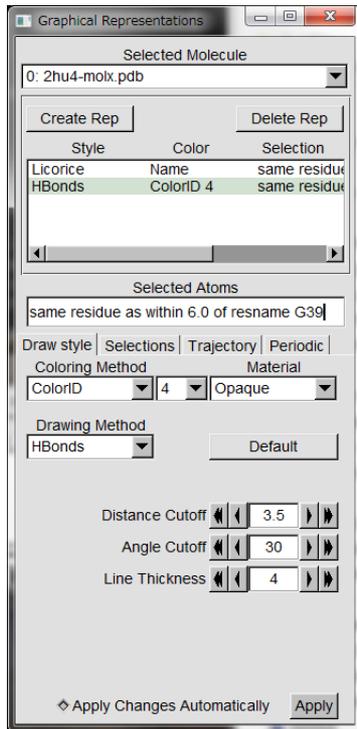
← 再生ボタン

- 次に、再生ボタンで再生します。

1. 蛋白質のRMSDをプロットしてみる。
 - Extensions→Analysis→RMSD Trajectory Tool(左図)を出しRMSDボタンをクリックします。初期構造からのRMSDの平均値、最大値などが表示されます。
 - Fileメニューから、Plot dataを選ぶと、グラフが表示されます(右図)。



(2) ノイラミニダーゼ・オセルタミビル複合体の構造を眺める (VMDの使い方の練習)

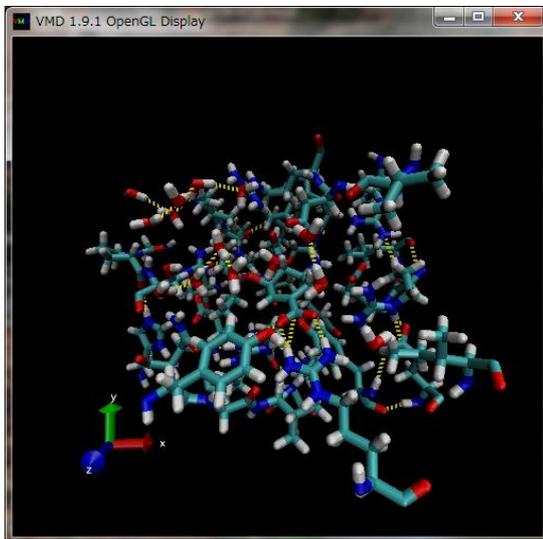


次は、オセルタミビル(タミフル)の周囲をクローズアップします。NewCartoonをDelete Repして消します。

LicoriceのSelected Atomsを「within 6.0 of resname G39」と変更すると、タミフルの周囲6.0 Å以内の原子も表示されます。

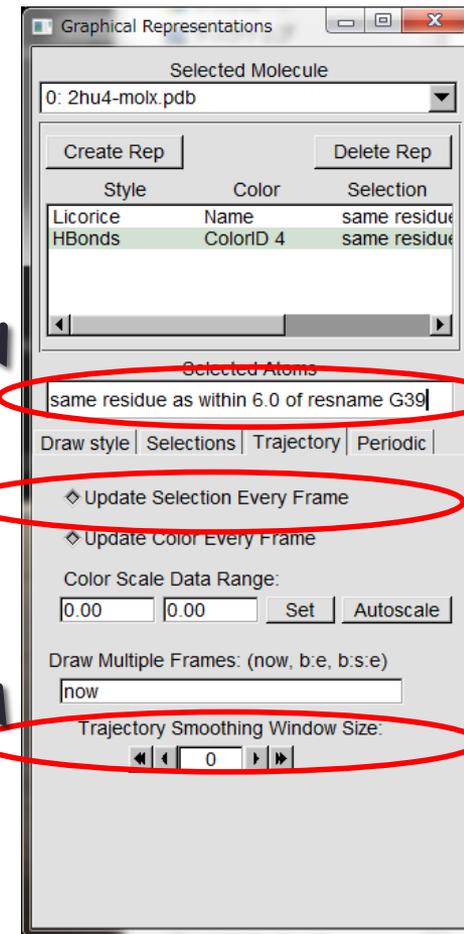
=キーで、画面の中心に持ってくることができます。

Create Repして、Drawing Methodを「HBonds」とすると、水素結合(塩橋も含む)が表示されます。デフォルトの閾値では厳しいので、距離3.5 Å, 角度30度に変更します。色をColorIDからYellowにすると見やすくなります。これらの機能を使って、タミフル周辺の原子の相互作用の様子を眺めることができます。

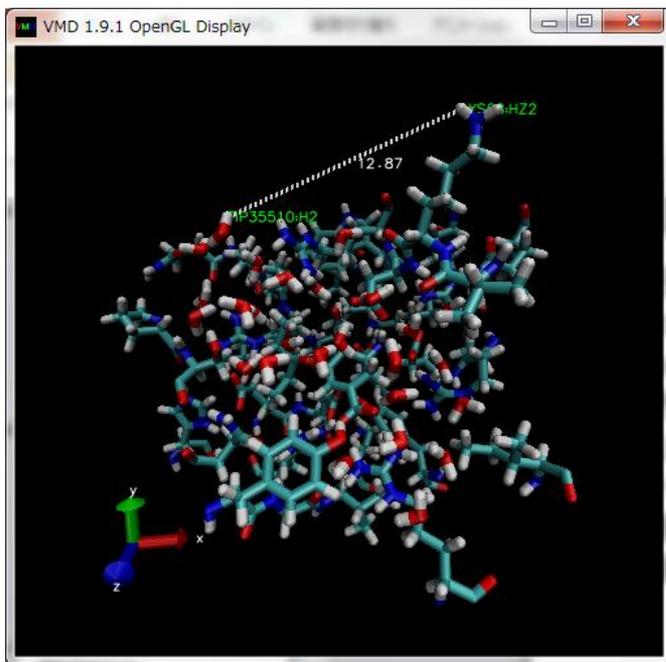


結合サイトの周辺をクローズアップしてみます。

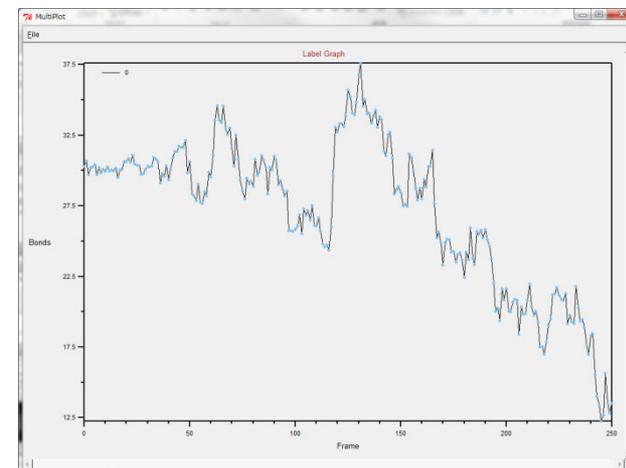
- Graphics→Representations...で、NewCartoonをDelete Repで消します。
- Licoriceの選択原子を
“same residue as within 6.0 of resname G39” とします(下図)。
(残基内のどれかの原子が6 Å以内の残基を表示)
- 「=」キーを押し、クローズアップにして、再生してみてください。
- Update Selection Every Frameのボタンを選択すると、
各フレームごとに上の条件の原子を表示します
- LicoriceのTrajectoryタブで、Trajectory Smoothing Window Sizeを
増やして再生するとよりスムーズなムービーになります。



3. 結合原子の距離を測ってみる。
 - LicoriceのTrajectoryタブのTrajectory Smoothing Window Sizeを0に戻す。
 - 巻き戻しをする。
 - 「2」キーを押して、2原子をピックすると2原子間の距離が表示されます(左図)。
 - VMD Main ウィンドウのバーを動かすと、距離が刻々と変わります。
 - 距離のグラフを出力してみます。
 - VMD Main ウィンドウのGraphics→Labelsを選ぶ(真ん中の図)。
 - プルダウンメニューからBondsを選びます。
 - さきほどピックした原子ペアを選びます。
 - Graphタブから、Graph...ボタンをクリックすると、その距離のグラフが出力されます(右図)。
 - 距離と同様に、角度、二面角なども同じように表示したり経時変化を示すことができます。



Picked Atom		Graph	Properties	Global Properties
Molecule:	0: 2hu4-min.pdb			
XYZ:	36.028	58.359	48.958	
ResName:	LYS	Chain:	A	
ResID:	68	SegName:		
Name:	HZ2	Index:	1046	
Type:	HZ2	Value:	0.000	



VMDを終了します

- Main ウィンドウの→File...で、Quitを選択します。
- ターミナルを終了します。
[ike@pc101 ~]\$ **exit**
- データの持ち帰りたい人は、お知らせください。

以上で終了です
お疲れ様でした。

