

構造最適化と分子動力学計算（気相中）

ここでは、sander の使い方を示し、作成した DNA モデルの構造最適化と分子動力学計算の行い方を説明します。まずは、気相での計算を行い結果の解析を行います。使用する prmtop と inpcrd ファイルは、polyAT_vac.prmtop と polyAT_vac.inpcrd です。

手順は、以下の3ステップから成ります。

- 1：MD 前に行う系の緩和
- 2：定温条件での分子動力学計算
- 3：結果の解析

MD 前に行う系の緩和

前のセクションで PDB ファイルを xleap で開いた時、nucgen が追加していなかった水素原子が自動的に追加されています。これらは、残基データベース（例えば \$AMBERHOME/dat/leap/lib/all_nucleic94.lib などに定義されているオリジナルのトポロジー）に定義されている構造に従って追加されます。ですからその構造は、使用する力場の最適化構造に対応していません。さらに、他の残基との衝突や立体的な重なりも考慮されていません。分子動力学計算を始める前に、これらの原子の位置を最適化する必要があります。これらの原子の最適化を行わないと、分子動力学計算が不安定になる可能性があります。

水素原子の位置を修正するため、作成した prmtop (polyAT_vac.prmtop) と inpcrd (polyAT_vac.inpcrd) ファイルを使用し、sander プログラムで最適化を行います。ここでは、分子動力学計算が不安定にならないように、原子位置を調整し不都合な接触を除くだけです。短い (500 ステップ) 最適化のみ行います。これにより、局所構造に「近い」データが得られます。ここでの最適化では、sander は一番近い局所構造を見つけるだけで、より低いエネルギーの局所構造へ到達することはできません。しかし、ここでは系の大きなひずみをとればいいので、それで十分です。

基本的な sander の使い方は、次のようになります。

```
sander [-O] -i mdin -o mdout -p prmtop -c inpcrd -r restrt  
[-ref refc] [-x mdcrd] [-v mdvel] [-e mden] [-inf mdinfo]
```

- []内の引数はオプションで、指定しなければデフォルトの名称が使われる
- -O 出力ファイルを全て上書き
- -i sander のオプションを記述した入力ファイル名を指定。デフォルトは、"mdin"
- -o 出力ファイル名を指定。デフォルトは、"mdout"
- -p パラメーター／トポロジーファイル名を指定。デフォルトは、"prmtop"
- -c 計算に使用する出発座標ファイル名の指定。デフォルトは、"inpcrd"
- -r 構造最適化あるいは MD 計算の最終座標ファイル名を指定。デフォルトは、"restrt"
- -ref 座標の拘束オプションが入力ファイル中で指定されている場合の、参照座標ファイル名を指定。デフォルトは、"refc"
- -x 分子動力学計算を行った場合の、トラジェクトリーファイル名を指定。デフォルトは、"mdcrd"
- -v 分子動力学計算を行った場合の、ベロシティファイル名を指定。デフォルトは、"mdvel"
- -e 分子動力学計算を行った場合の、エネルギーの要約ファイル名を指定。デフォルトは、"mden"
- -inf 構造最適化あるいは MD 計算の各ステップが出力ファイルに書き込まれる毎に、要約が出力されるファイル名を指定。シミュレーションの進行状況をチェックするのに使用。デフォルトは、"mdinfo"

入力ファイル mdin の作成

これまでのステップで、xleap を使用し prmtop と inpcrd ファイルを作成しました。ここでは、sander の実行に必要な mdin ファイルを作成します。ファイル中では、様々なオプションを指定します。

ファイル mdin 中では、名前リストで sander 実行時の制御を指定します。例えば、以下のようになります。

```
Test run 1
&cntrl
      IMIN = 1, NCYC = 250, MAXCYC = 500,
/
```

入力ファイル中で指定されていない変数は、デフォルトの値をとります。指定した値の後には、必ずカンマをつけてください。マニュアルに、使用できる名前リストごとに、全ての説明が書かれてあります。名前リストは、「&cntrl」や「&ewald」のように指定して使用します。最低限「&cntrl」は設定しないとけません。また、名前リストの指定の前に、行頭にスペースを入れるのを忘れないようにしてください。名前リストの最後に、終了を表す「/」を入れるのも忘れないようにしてください。他の名前リスト（「&ewald」など）は、オプションです。名前リストの後に、いくつか他の情報も記入する場合があります。例えば、原子の拘束条件を入れる "GROUP" などです。これら入力変数や名前リストは以前のバージョンの AMBER と違っている場合がありますので、マニュアルをよく参照してください。

では、DNA の構造最適化を実行するための最小限のインプットファイルを作成します。理論上は、2 段階の最適化を行った方がいいかもしれませんが、つまり最初の段階では重原子を固定し、xleap で自動追加された水素原子のみを最適化します。その後、系の全ての原子を最適化します。ただしここで扱う系は小さく単純ですので、最初の段階を飛ばして全体を最適化するだけでかまいません。

では、実際のファイルを作成します。最適化を行うには、「IMIN = 1」を指定します。ここでは最安定まで到達する必要は無く、ひずみが取れる程度の短い最適化でかまわないので、実行サイクルの最大値を 500 ステップとします「MAXCYC = 500」。最適化において sander は、2 つの違ったアルゴリズムである最急降下法と共役勾配法を使用します。最急降下法では、系の大きなひずみを速やかに取るのには適しますが、極小点の近くでの収束が遅くなります。その近辺では、共役勾配法の方が効果的です。これらの 2 つのアルゴリズムの使い分けには、「NCYC」フラグを使用します。もしも NCYC が MAXCYC よりも小さく設定 (NCYC < MAXCYC) されていれば、sander は最初のステップで最大勾配法のアルゴリズムを用い、残りの MAXCYC - NCYC ステップを共役勾配法に変更します。ここではそ

それぞれ同じステップ数で実行させますので、NCYC = 250 とします。デフォルトで sander は系に周期境界条件が設定されている事を前提としますので、ここでは明示的にオフにします「NTB = 0」。このシミュレーションでは定誘電の無溶媒モデルですので、「IGB = 0」をセットします（一般化ボルンモデルを使用しないということ）。これはデフォルトですので厳密に言えば設定する必要は無いのですが、後で仮想溶媒条件に変更した際に入力ファイルの違いを分かりやすくするために入れます。また、非結合相互作用のカットオフ距離も設定する必要があります。これを大きくすれば非結合相互作用を計算する際の誤差が少なくなりますが、計算が複雑になり実行時間も長くなります。妥協点としては 12 Å がいいですので、「CUT = 12」を使用します。以下に、入力ファイルを示します。

```
polyA-polyT 10-mer: initial minimisation prior to MD

&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 500,
  ncyc   = 250,
  ntb    = 0,
  igb    = 0,
  cut    = 12
/
```

これで、sander での構造最適化ができます。

最初の sander の実行

パスの設定が終わっていれば、sander は以下のように起動できます（コマンドは 1 行で入力）。

```
sander -O -i polyAT_vac_init_min.in -o polyAT_vac_init_min.out -c polyAT_vac.inpcrd
      -p polyAT_vac.prmtop -r polyAT_vac_init_min.rst
```

入力ファイル：polyAT_vac_init_min.in, polyAT_vac.inpcrd,
polyAT_vac.prmtop

出力ファイル：polyAT_vac_init_min.out, polyAT_vac_init_min.rst

この計算は、すぐに終わると思います。ちなみに、3 GHz Pentium 4 のマシンで、およそ 4.3 秒の計算でした。

構造最適化中に出力されたファイルを見てみます。最初と最後のステップを比べると、エネルギーがかなり落ちているのが分かります。

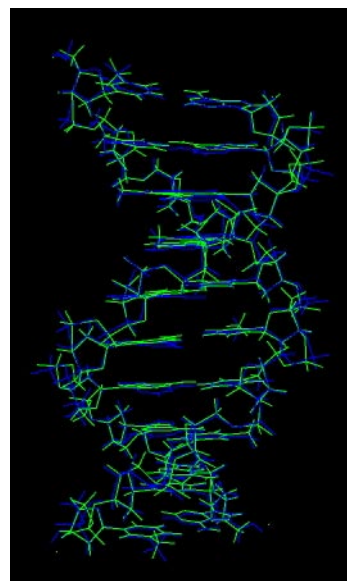
NSTEP	ENERGY	RMS	GMAX	NAME	NUMBER
1	9.2064E+01	4.9542E+01	6.8763E+02	O5'	321

NSTEP	ENERGY	RMS	GMAX	NAME	NUMBER
500	-2.2929E+03	5.7810E-01	3.4109E+00	N1	362

しかしこの事にも関わらず、構造はほとんど変化していません。前にも述べたように、構造最適化によって一番近い局所構造に落ち着いただけです。出発構造「polyAT_vac.inpcrd」と最適化構造「polyAT_vac_init_min.rst」のPDBファイルを作成しRMSd (root-mean-squared deviations) を比較しても、全原子でほんの0.5 Åの差しかありません。

座標ファイルから PDB ファイルの作成

最適化座標「polyAT_vac_init_min.rst」を使用して新しく PDB ファイルを作成すれば、最適化して修正された構造を見ることができます。プログラム ambpdb を使用して、パラメーター/トポロジーファイルと座標ファイル (inpcrd あるいは restrt) から PDB ファイルを作成できます。

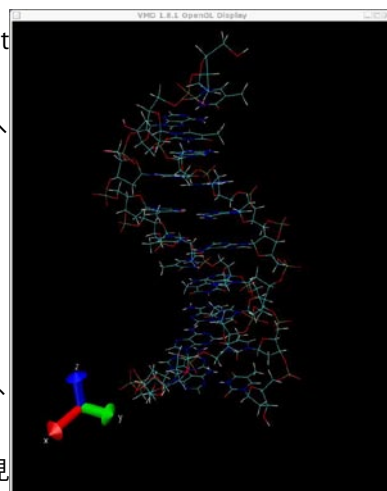


初期構造と最適化構造の重ね合わせ

```
ambpdb -p polyAT_vac.prmtop < polyAT_vac_init_min.rst > polyAT_vac_init_min.pdb
```

これにより、指定した prmtop と inpcrd ファイル(ここでは .rst ファイル) から、標準出力へ PDB ファイルが出力されます。上の例では、標準出力をファイル「polyAT_vac_init_min.pdb」へリダイレクトしています。

必ず初期構造を注意深く確認してください。特に、付加させた水素原子などがあるべき位置にきているか、ヒスチジンなどの場合プロトンの付き方が考えている状態となっているか、末端残基が正しい形で終わっているか、立体化学は正しいかなどを、確認してください。原子(H1' など)の位置が間違っていたり、DNA の糖環部アノマー位の不斉がおかしいまま、溶媒を含めたナノ秒オーダーの動力学計算の実行後にそれらが見つかる(見つければまだ良いのですが) 非常に時間の無駄です。



気相中での MD の実行

以上で、sander による構造最適化が終わり、xleap が付加した水素原子の位置の修正ができました。これにより、「polyAT_vac_init_min.rst」という座標ファイルができています。次にこのファイルを出発構造として使用し、気相での MD シミュレーションを行います。以下のシミュレーションは、MD シミュレーションをどのように行うのか、雰囲気を感じてもらうためにデザインしてあります。通常は、系が元々気相の物でもない限り、このようなシミュレーションは行わないと思います。液相の系では通常、ここでの DNA のように、溶媒を仮想的あるいは実際の分子として含んでいます。そのような系の計算は、後で述べます。ここでは差し当たり、簡単に速く実行できるので、気相でのシミュレーションを行います。

このチュートリアルでは計算を扱いやすくするため、100 ps オーダーの短いシミュレーションだけ行います。これらのシミュレーションは実際の研究での計算に比べて「短い」物ですが、使用するマシンによっては時間のかかる物だという事が分かると思います。しかし、関連する問題と DNA のシミュレーションで使用する様々なモデルで可能性のある不自然な結果をよりよく理解するには、以下の例を通して実行するか同梱されている出力ファイルやトラジェクトリーファイルを見るかするだけでも役に立つと思います。また、以下の 2 例の設定を変え、距離依存の誘電率にしたり、誘電率を 80.0 に変えたりしたらどうなるか見てもいいと思います。

このチュートリアルでは、2 つの気相シミュレーションを行い、結果を比較します。内容は、以下の 2 つです。

- 1) polyAT_vac_md1_12Acut.in : 12.0 Å カットオフ、dielectric = 1
- 2) polyAT_vac_md1_nocut.in : カットオフ無し、dielectric = 1

分子動力学計算を sander で行うには、最適化フラグをオフにします (IMIN = 0)。気相計算ですので、周期境界条件もオフ (NTB = 0)、仮想溶媒を使用しないので IGB = 0 も指定します。この例では、出力を 100 ステップごとに行い (NTPR = 100)、トラジェクトリー座標も 100 ステップごとに出力します (NTWX = 100)。非結合相互作用のカットオフ距離を CUT で指定します。ここでは 2 つの違った設定で計算します。一つ目は、カットオフを 12 Å にし (CUT = 12.0)、もう一つはカットオフ無しにします。カットオフ無しで計算を行うには、系の最大の大きさよりも長い値を CUT に設定します (例えば CUT = 999)。温度制御は AMBER 8 から新しく導入されている Langevin 法 (NTT = 3) を使用し、温度を 300 K に保

ちます。この温度制御法では、GAMMA_LN で与えられる衝突頻度により Langevin 動力学計算を行います。この温度制御法は、古いバージョンの AMBER で推奨されていた Berendsen 温度カップリング (NTT = 1) よりも、系の温度を平衡化するのに著しく効果的です。古い Berendsen 法での最大の問題は、運動エネルギーが単純に目的の温度に適合しているとしているアルゴリズムでした。このアルゴリズムでは、分子の全体で温度が超えていても、何もしません。これにより、溶媒の温度が高く溶質が冷たくなっているという現象の原因になったりします。これを避けるため、シミュレーションの全体を通して分子をゆっくりと暖めるという手の込んだ温度スケールリング法が推奨されていました。新しい Langevin 法は温度の平衡化に関してかなり効果的で、AMBER 8 以降では温度平衡化の推奨される手法になっています。しかし、Langevin 温度制御法は注意深く使用してください。効率よく系の温度が平衡に達しますので、系の動力学が速くなります。特に実際に溶媒を置いた動力学計算では、一旦 ntt=3 を使用して系を平衡化させ、ntt=1 に切り替えるかあるいは純粋なニュートン動力学計算 (ntt = 0) を行った方がいいでしょう。しかしチュートリアル例では、シミュレーション全体を ntt=3 にしたままにします。この Langevin 温度制御法は効果的で、今回のようにかなり良い構造の場合、系をゆっくりと (0 K から室温までおよそ 20 ps かけて) 上げる必要はなく、300 K から実際に始めることができます。ですからこのシミュレーションでは、NTT = 3 と GAMMA_LN = 1 をセットします。そして、初期温度と最終温度を 300 K にセットします (TEMPI = 300.0, TEMPO = 300.0)。これは、系の温度が 300 K 近傍にとどまる事を意味します。またこの 2 例ではそれぞれ、時間間隔 1 fs (DT = 0.001) で 100,000 ステップ (NSTLIM = 100000) 走らせ、100 ps (100,000 x 1 fs) の長さのシミュレーションにします。入力ファイルの 2 例を以下に示します。

• polyAT_vac_md1_12Acut.in

```
10-mer DNA MD in-vacuo, 12 angstrom cut off
&cntrl
  imin = 0, ntb = 0,
  igb = 0, ntp = 100, ntwx = 100,
  ntt = 3, gamma_ln = 1.0,
  tempi = 300.0, temp0 = 300.0,
  nstlim = 100000, dt = 0.001,
  cut = 12.0
/
```

注意：もしも AMBER 8 以前のバージョンを使用する場合、Langevin 温度制御法は利用できません。その場合は単に、NTT=1 (Berendsen 温度制御法) を設定してください。その場合、ここで示す結果とは若干違った物になると思いますが、内容の理解はできると思います。

• polyAT_vac_md1_nocut.in

```
10-mer DNA MD in-vacuo, infinite cut off

&cntrl

  imin = 0, ntb = 0,

  igb = 0, ntpr = 100, ntwx = 100,

  ntt = 3, gamma_ln = 1.0,

  tempi = 300.0, temp0 = 300.0,

  nstlim = 100000, dt = 0.001,

  cut = 999

/
```

では、以下の2つのコマンドで、それぞれのジョブを実行します（コマンドは1行で入れてください）。

```
sander -O -i polyAT_vac_md1_12Acut.in -o polyAT_vac_md1_12Acut.out -c polyAT_vac_init_min.rst -p polyAT_vac.prmtop -r polyAT_vac_md1_12Acut.rst -x polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd
```

```
sander -O -i polyAT_vac_md1_nocut.in -o polyAT_vac_md1_nocut.out -c polyAT_vac_init_min.rst -p polyAT_vac.prmtop -r polyAT_vac_md1_nocut.rst -x polyAT_vac_md1_nocut.mdcrd
```

注意：もしもデュアル（あるいはそれ以上）プロセッサマシンをお持ちでしたらジョブを同時に走らせることもできますが、前の計算を次の計算に使用するような場合（構造最適化のリスタートファイルを動力学計算の出発構造とするような場合は順番に実行しなくてはなりません。

これらの計算は、最適化の場合に比べてかなり長い時間がかかります。最初の 12 Å カットオフの計算は、3GHz P4 マシンでおおよそ 900 秒（15 分）かかります。使用しているマシンが遅く時間がかかりすぎる場合は、NSTLIM を 10,000（10 ps）程度にして、シミュレーション時間を短縮してもいいでしょう。以下のコマンドで出力ファイルを追っていき、ジョブの進行状況をモニターすることができます。

```
tail -f polyAT_vac_md1_12Acut.out
```

入力ファイル：polyAT_vac_md1_12Acut.in, polyAT_vac_md1_nocut.in, polyAT_vac_init_min.rst, polyAT_vac.prmtop

出力ファイル：polyAT_vac_md1_12Acut.out, polyAT_vac_md1_nocut.out, polyAT_vac_md1_12Acut.rst, polyAT_vac_md1_nocut.rst, polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd, polyAT_vac_md1_nocut.mdcrd

今までに無いオプション `-x` が入っていますが、MD トラジェクトリーを出力するファイル名を指定しています。このファイルには、各 NTWX (100) ステップでデカルト座標のスナップショットがおさめられます。

カットオフ無しのシミュレーションは、だいたい 22,900 ステップで終了してしまいます。これはプログラムのバグではなく、DNA を気相でシミュレーションしたときの問題です。詳しくは、後でトラジェクトリーファイルを可視化した時に明らかになります。

結果の解析

計算が終わったらまず `mdout` ファイル「`polyAT_vac_md1_12Acut.out`、`polyAT_vac_md1_nocut.out`」を確認します。様々なエネルギーを時間に対する関数として抜き出し、運動・ポテンシャル・全エネルギーなどをプロットしてみてもいいでしょう。また、RMSd と時間の関係を計算したりもできます。動画を見るためには、`vmd` のような可視化プログラムでパラメーターと座標 (`prmtop` と MD トラジェクトリー) を読みこみます。動画を表示させるには、アニメーションコントロールを使います。詳しくは、後で説明します。

出力ファイルからのエネルギー情報等の抽出

エネルギーの値等を抽出するには、`awk` や `sed` でスクリプトを作っておくと良いでしょう。ここでは行いませんが、エネルギー情報を `mden` ファイルに出力させていれば、そこから引き出せます。または、`mdout` ファイルから直接抽出することもできます。ここでは、Thomas Cheatham から無償提供された `perl` スクリプト (`process_mdout.perl`) を使ってみます。出力ファイル `mdout` を処理し、その中の様々な要素を一連のファイルに書き出します。プログラムはデフォルトの出力ファイル名を使用しますので、サブ・ディレクトリーをそれぞれのファイル用に作成し、その中にファイルを移動してからスクリプトを実行した方がいいです。例えば、以下のような手順です。

```
mkdir polyAT_vac_md1_12Acut
cd polyAT_vac_md1_12Acut
```

スクリプトファイル (`process_mdout.perl`) をこのフォルダーに保存した後、以下のコマンドで実行形式にします。

```
chmod +x process_mdout.perl
```

そして、以下のように実行します。

```
process_mdout.perl ../polyAT_vac_md1_12Acut.out
```

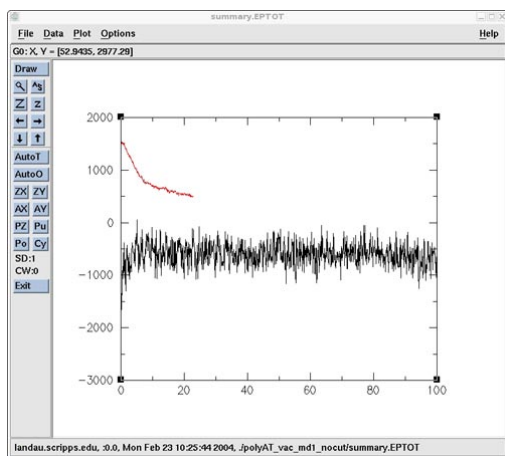
ここで「perl」コマンドが存在しないとか見つけれないと言ったエラーが出たら、このスクリプトファイルの1行目を「perl」が存在しているパスに修正してください。

うまく行ったら、シミュレーションは最終の 100,000 ステップまで進んでいないと思いますが、nocut の出力ファイルに対しても、同じ以下の処理を実行してください。

```
mkdir polyAT_vac_md1_nocut
cd polyAT_vac_md1_nocut
process_mdout.perl ../polyAT_vac_md1_nocut.out
```

このスクリプトは、mdout ファイルを読み込み、「summary」で始まる名前の一連のファイル (summary.EPTOT など) を作成します。それらのファイルには、時間とそれに対するそれぞれのエネルギー要素のカラムだけが含まれています。グラフ作成プログラムで読み込めば、これらをプロットすることができます。ここでは、簡単にグラフを作成できるプログラム xmgr の例を示します。大変シンプルなプログラムですが、ここでの目的には十分かっています。両方の計算の時間に対する全ポテンシャルエネルギーをプロットするには、元の計算を行ったディレクトリーで以下のように入力します。

```
xmgr ../polyAT_vac_md1_12Acut/summary.EPTOT ../polyAT_vac_md1_nocut/summary.EPTOT
```



図のようなプロットが得られると思います。

このうち、-3,000 から上がってきて -1,000 と間で上下している線は、12 Å カットオフシミュレーションの時間に対するポテンシャルエネルギープロットです。一方、1,500 から下がってきている線は、カットオフ無しシミュレーションのプロットです。見れば分かる通り、12 Å カットオフシミュレーションは適正に安定しているように見え、ポテンシャルエネルギーは一定の平均値の周りを変動しています。しかし、カットオフ無しのシミュレーションの場合、かなり違ってきます。出発のポテンシャルエ

エネルギーは、12 Åカットオフに比べ、およそ 3,000 kcal/mol ほど高くなっています。このエネルギーはかなり大きく、かつ正の値を持っています。そして、シミュレーションの始めの 10 ps ほどでエネルギーが急激に下がり、大きな構造変化が起こっている事を示唆しています。さらに、シミュレーションは以下のエラーメッセージで 21.9 ps 後に突然に終了していません。

```
Frac coord min, max: -5.132892457340335E-005 0.962793346753183
The system has extended beyond
    the extent of the virtual box.
Restarting sander will recalculate
    a new virtual box with 30 Angstroms
    extra on each side, if there is a
    restart file for this configuration.
SANDER BOMB in subroutine Routine: map_coords (ew_force.f)
Atom out of bounds. If a restart has been written,
restarting should resolve the error
```

このポテンシャルエネルギー差の原因を調べるため2つの出力ファイルを見てみると、静電エネルギーに違いがある事を見つけ出せます。最初のステップで、それぞれ以下のように出力されています。

12Åカットオフ：

```
NSTEP =      0  TIME(PS) =      0.000  TEMP(K) =   298.54  PRESS =      0.0
Etot   =  -1726.9350  EKtot   =      565.9592  EPtot   =  -2292.8942
BOND   =    16.0918  ANGLE   =      93.9850  DIHED   =    392.9956
1-4 NB =    162.1781  1-4 EEL =   -345.0298  VDWAALS =  -346.6892
EELEC  =  -2266.4257  EHBOND  =      0.0000  RESTRAINT =      0.0000
```

カットオフ無し：

```
NSTEP =      0  TIME(PS) =      0.000  TEMP(K) =   298.54  PRESS =      0.0
Etot   =   1885.9795  EKtot   =      565.9592  EPtot   =   1320.0203
BOND   =    16.0918  ANGLE   =      93.9850  DIHED   =    392.9956
1-4 NB =    162.1781  1-4 EEL =   -345.0298  VDWAALS =  -349.3700
EELEC  =   1349.1697  EHBOND  =      0.0000  RESTRAINT =      0.0000
```

カットオフシミュレーションにおいて、EELEC の値が大きくなっているのが分かると思います。

ここで何が起きているのか、次で別の解析を行います。次の MD トラジェクトリーの解析から、何が起っていたのか理解できるでしょう。

時間に対する RMSd の計算

次のステップとして、ptraj プログラムを使用して時間に対する RMSd を計算します。この例で計算する的確なパラメーターは、トラジェクトリー中の最初の構造と次ぎに続くそれぞれの構造との、質量を加重した RMSd フィットです。これは、以下のようなインプットファイルで ptraj に指示する事で可能です。

```
trajin polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd
rms first mass out polyAT_vac_md1_12Acut.rms time 0.1
```

最初の「trajin」は、処理するトラジェクトリーファイルの名称を指示します。「rms first mass」は、最初の構造 (first) に対する質量加重した (mass) RMS フィッティング (rms) を行うという意味です。「out」は、結果を出力するファイルの名称を指示します。そして「time 0.1」で、座標ファイルの各フレームが 0.1 ps を表している事を、指示します。シミュレーションは 2 つ行ったので、それぞれ別のトラジェクトリーファイルと出力ファイルを指定したインプットファイル「polyAT_vac_md1_12Acut.clac_rms」と「polyAT_vac_md1_nocut.clac_rms」を用意します。

以下の 2 つのコマンドで、それぞれの ptraj ジョブを実行します。

```
ptraj polyAT_vac.prmtop < polyAT_vac_md1_12Acut.calc_rms
ptraj polyAT_vac.prmtop < polyAT_vac_md1_nocut.calc_rms
```

プログラムからの出力は、以下のようになります。

prmtopファイルの読み込み部分

```
Read in control variables
Read in atom names...
Read in charges...
Read in masses...
Read in IAC (atoms involved in L-J)...
Read in NUMEX (index to excl atom list)...
Read in NNO (index for nonbond of @type)...
Read in residue labels...
Read in the residue to atom pointer list...
```

```
Read in bond parameters RK and REQ...
Read in angle parameters TK and TEQ...
Read in dihedral parameters PK, PN and PHASE...
Read in SOLTY...
Read in L-J parameters CN1 and CN2...
Read in info for bonds w/ hydrogen...
Read in info for bonds w/out hydrogen...
Read in info for angles w/ hydrogen...
Read in info for angles w/out hydrogen...
Read in info for dihedrals w/ hydrogen...
Read in info for dihedrals w/out hydrogen...
Read in excluded atom list...
Read in h-bond parameters: AG, BG, and HBCUT...
Read in atomic symbols (types)...
Read in tree information...
Read in the JOIN info...
Read in the IROTAT info...
Checking coordinates: polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd
```

ここに、残基の要約が出力されます。

```
Amber9 Module: ptraj

  DA5  DA  DA  DA  DA  DA  DA  DA  DA  DA3
  DT5  DT  DT  DT  DT  DT  DT  DT  DT  DT3
Successfully completed readParm.
```

入力ファイルの処理を行い、結果が出力されます。

```
PTRAJ: Processing input file...
      Input is from standard input

PTRAJ: trajin polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd

PTRAJ: rms first mass out polyAT_vac_md1_12Acut.rms time 0.1
Mask [*] represents 638 atoms
FYI: No output trajectory specified (trajout), none will be saved.
```

```
PTRAJ: Successfully read the input file.
      Coordinate processing will occur on 1000 frames.
      Summary of I/O and actions follows:
```

入力と出力ファイルの要約が出力され、全ての座標セットに対して行われた処理の要約が出力されます。この場合、入力座標は1つで、rms処理1つの結果です。

INPUT COORDINATE FILES

```
File (polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd) is an AMBER trajectory with 1000 sets
```

OUTPUT COORDINATE FILE

```
NULL entry
```

ACTIONS

```
1> RMS to first frame using mass weighting
```

```
Dumping RMSd vs. time (with time interval 0.10) to a file named polyAT_vac_md1_12Acut.rms
Atom selection follows * (All atoms are selected)
```

プログラムが進んでいく様子が、ドットで示されます。各ドットは、処理されたトラジェクトリーファイルのフレームを表します。

```
Processing AMBER trajectory file polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd
Set      1 .....
~中略~
Set    1000
ERROR in readAmberTrajectory(): Set #1001 is corrupted (
```

エラーメッセージが最後の段階で出力されていますが、実際のエラーではありません。

```
PTRAJ: Successfully read in 1000 sets and processed 1000 sets.
      Dumping accumulated results (if any)
```

```
PTRAJ RMS: dumping RMSd vs time data
```

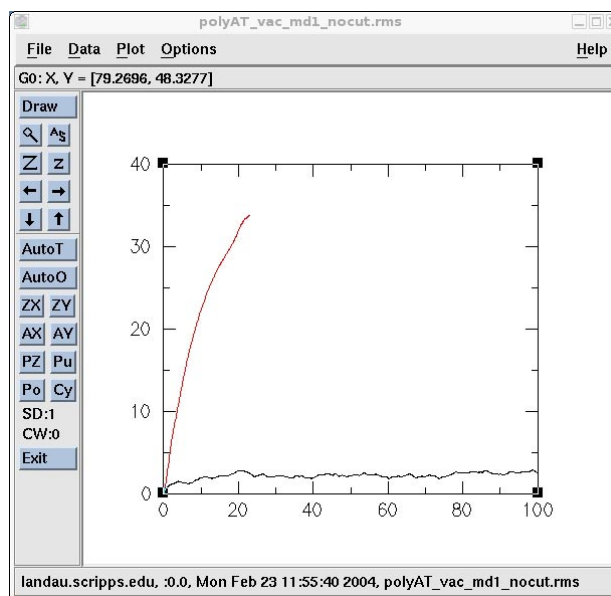
各2出力ファイルの処理で、それぞれ「polyAT_vac_md1_12Acut.rms」と「polyAT_vac_md1_nocut.rms」というファイルが作成されます。

それでは、時間に対する RMSd をプロットして見てみます。ここで RMSd は Å 単位で時間は ps です。以下のように実行します。

```
xmgr polyAT_vac_md1_12Acut.rms polyAT_vac_md1_nocut.rms
```

図のような表示になると思います。

このグラフを見て分かる問題点は、12 Å カットオフのシミュレーションでは大体一定した 2.2 Å 近辺の RMSd になっていますが、カットオフ無しのシミュレーションでは RMSd が増加し続け 20 ps 後には 30 Å を越えてしまっています。この事は、系が基本的に膨張してしまい、間違った方向へシミュレーションが進んでしまった事を示しています。

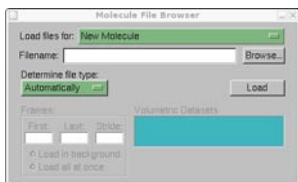


VMD を用いたトラジェクトリーの表示

この結果を、もう少し注意深く見てみましょう。この DNA 分子は水素結合で互いに保持された 2 本鎖から成っています。それぞれの鎖は -9 の電荷を持っているため、カットオフ無しのシミュレーションでの EELEC の値 (EELEC = 1349.1697) に見られるように、大きな静電反発があります。系の安定化には、この大きな静電反発に対抗できるだけの、水素結合の大きな寄与が必要です。一方、12 Å カットオフのシミュレーションでは、12 Å 以上離れた電荷に関してはエネルギーがゼロに見積もられます。リン酸基に存在する DNA 主鎖の負電荷間の平均距離は、15 Å です。そのため相手の鎖のリン酸基との反発は、12 Å のカットオフが設定されている場合には無視されます。水素結合による対の塩基との静電引力は、もっと近い 2 Å 程度の相互作用になります。そのため 12 Å のカットオフを使用した場合には主な静電反発相互作用は除外され、2 本鎖間の引力だけが考慮されます。その結果、シミュレーション中に鎖が互いに保持され、安定したトラジェクトリーが得られています。

では、vmd で分子を見てみましょう。

起動は、Mac OS X と Windows の場合は、アイコンをダブルクリックします。また Linux 等の場合は、ターミナルで以下のコマンドを入力します。なお、ここでの記述は vmd 1.8.1 を元にしてあります。



vmd

トラジェクトリーファイルを開く手順を示します。まずはメニューを

File -> New Molecule

と選びます。

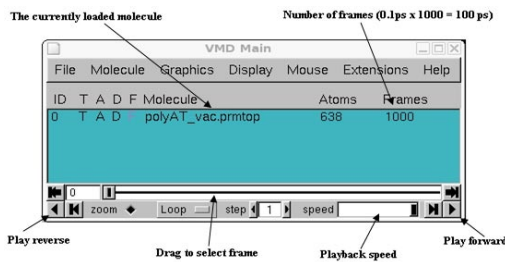
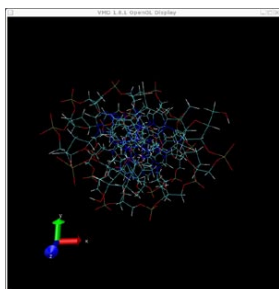
前のバージョンの VMD とは、分子の開き方や扱い方が変わっています。一つの分子に対して、複数のトラジェクトリーファイルを読み込む事に対応しました。分子は、関連する prmtop ファイルを読み込む事により定義されます。まずは、Browse ボタンをクリックしてファイル polyAT_vac.prmtop を探してください。それから、Determine file type: の下のポップアップから parm7 を選びます。この prmtop に対しては 2 つの定義 parm と parm7 があります。始めの parm は AMBER バージョン 6 以前の prmtop ファイル用です。一方 AMBER6 から AMBER7 に変わる際に、より大きな分子を扱うためのフォーマットの変更がありましたので、AMBER7 以降の prmtop ファイルでは parm7 オプションを選択してください。そして、Load ボタンをクリックします。

注意：周期境界条件を含む系でしたら、トラジェクトリーファイルにボックスのサイズ情報が含まれていますので、Determine file type: は crdbox にします。しかし今回のシミュレーションでは気相で周期境界条件の無い系ですので、ボックスの情報はありません。

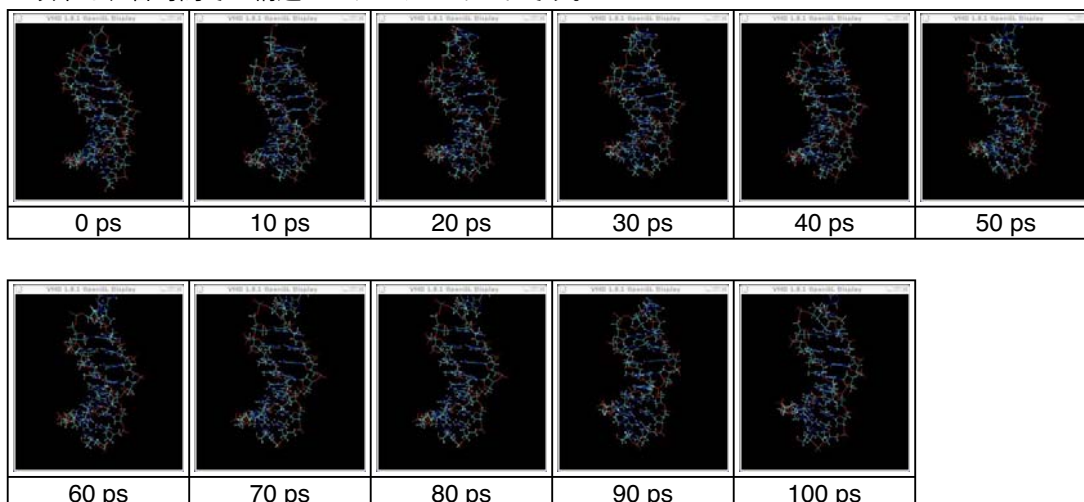
次に、読み込むトラジェクトリーファイルを指定します。ここでは、12 Å カットオフのトラジェクトリーファイル polyAT_vac_md1_12Acut.mdcrd を読み込みます。もう一度 Browse ボタンをクリックし、このファイルを選択します。そして Determine file type: で crd を選びます。

もう一度 Load ボタンをクリックすれば、メインの分子ウィンドウに全フレーム (1,000 フレーム) が読み込まれます。

動画を再生するには、VMD main パネルの再生ツールが利用できます。トラジェクトリーの動きを再生していくと、DNA の 2 次構造が保持されているのが分かると思います。末端の構造はかなり動いていますが、全体の構造は保たれています。



以下は、各時間での構造のスナップショットです。



ここで、トラジェクトリーが安定しているからと言って、正しい結果であるとは言えません。実際、気相中で帯電した DNA のストランドが安定でしょうか？ 溶媒中では、静電反発は溶媒により遮蔽されます。気相では、そのような遮蔽効果は無く、鎖を互いにつなぎ止めておく外部の力は有りません。

では、カットオフ無しのシミュレーションから得られた結果を見てみましょう。

もしも VMD が起動しているようでしたら、終了するか開いている分子を閉じてください。

終了したのでしたら、もう一度起動します。

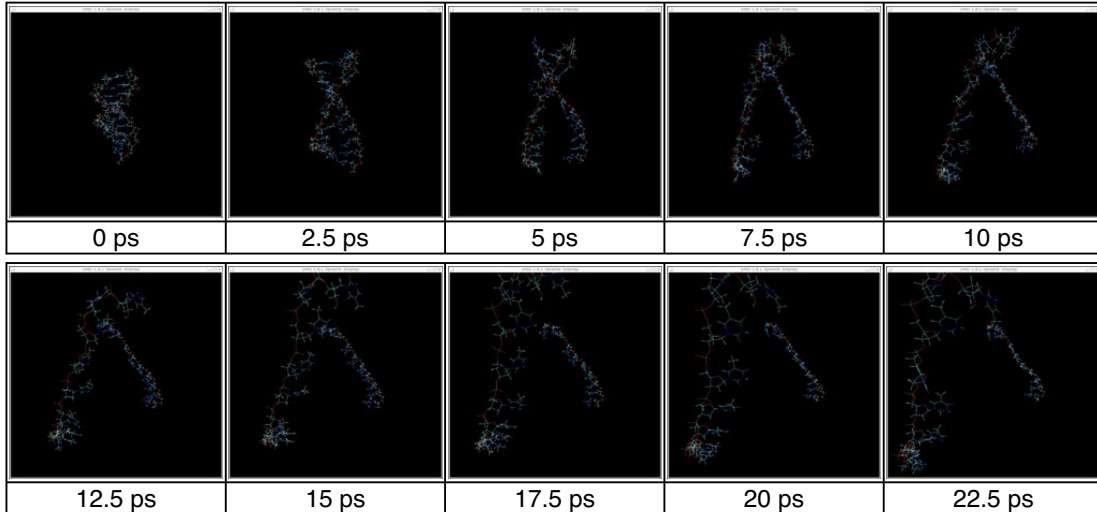
```
vmd
```

カットオフ無しのファイルを開きます。以下のメニューを選んでください。

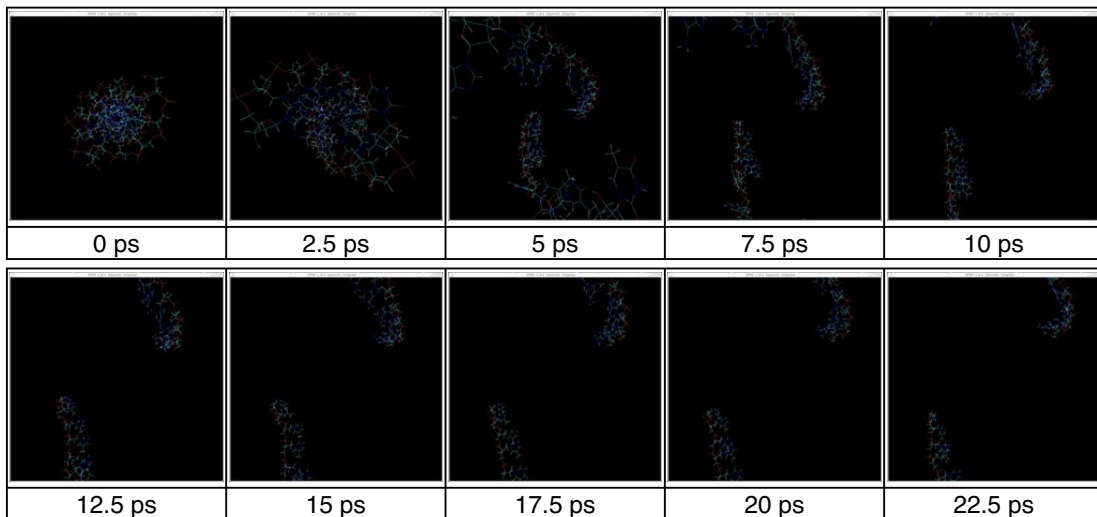
```
File -> New Molecule
```

前の手順と同様にして、ファイルを開いてください。トポロジーファイルは同じファイル polyAT_vac.prmtop ですが、トラジェクトリーファイルは polyAT_vac_md1_nocut.mdcrd を開きます。今回は、Load をクリックすると、シミュレーションが強制終了した位置（0.1 ps ステップの 229 フレームまで、22.9 ps）まで読み込まれます。トラジェクトリーを実際

に見ると、前の結果との違いは明らかだと思います。この計算での DNA 二量体の不安定さが、はっきりします。



ここで DNA 二量体の MD トラジェクトリーの動画を上から見てみると、何が起きているのかが分かりやすいかもしれません。それぞれの鎖の大きな電荷反発が自身のらせんをほどき、互いに離れて行ってます。



ここでは、大きな静電反発力のために、2本鎖が互いに急速に離れてしまいました。シミュレーションは、2つのストランドがプログラムに規定されていたパラメーターよりも離れてしまったため、強制終了したわけです。

このシミュレーションでは、中和するイオンも溶媒も無く、本当の実験室での条件ではありません。

現実世界で実際にクラスター水もイオンも無いと言う「厳しい」環境になったとすると、DNA 10-mer は不安定になり、カットオフ無しのシミュレーションで示されたような結果が最も現実に近いと思われます。

以上のように、何をシミュレーションしているのか、本当に妥当な条件で計算をしているのか、選択したパラメーターは結果にどのような傾向を与えるのか、シミュレーションの速度を上げるのにカットオフは良い方法なのか、などきちんと考えなくてはなりません。しかしそれらは、シミュレーションに多大な副作用を及ぼしかねないと言う事も頭に入れておく必要があります。ですから注意深く考え、しっかりとした結論を導きだすまでに、いくつかのシナリオを試してみてください。

気相でのシミュレーションを大幅に改良する一つの方法は、DNA のモデルをより現実近づける事です。それには、中和するためのイオンをあらわに入れたり、溶媒効果を仮想的あるいは実際の溶媒分子により入れたりします。これらを、以降のチュートリアルで説明します。