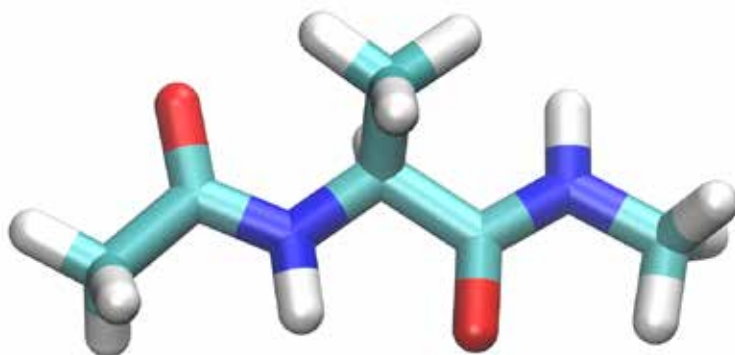


0

AMBER 分子動力学計算入門



はじめに
 Linux 入門
 トポロジーおよび座標ファイルの作成
 タンパク質の力場の読み込み
 アラニン・ジペプチドの構築
 アラニン・ジペプチドの溶媒和
 Amber の parm7 と rst7 入力ファイルの保存
 Amber 分子動力学計算設定ファイルの作成
 構造最適化の設定入力
 昇温の設定入力
 本番の計算の入力
 Amber 分子動力学計算プログラム PMEMD の実行
 構造最適化の実行
 昇温 MD 計算の実行
 本番 MD 計算の実行
 結果のグラフィック表示
 動力学計算の結果解析
 MD 計算における系の特性
 「cpptraj」プログラムを使用した RMSD 解析
 まとめ

はじめに

このチュートリアルは、分子動力学（MD）プログラム AMBER の入門を目的として作成されています。以前に Linux や Amber を使用していない方が、初めて Amber および AmberTools を使用して分子動力学シミュレーションを実行する方法の学習を想定しています。ただし前提条件として、Amber、AmberTools、グラフィックプログラムの VMD およびグラフ描画プログラム xmgrace は、正しくインストールされているものとします。

「AMBER」とは、Assisted Model Building and Energy Refinement の略です。「AMBER」という用語は、分子動力学計算プログラムだけではなく、生体分子のポテンシャル・エネルギー関数や相互作用パラメーターで構成される力場セットの事を指し示すことがあります。

「Amber」を利用して分子動力学シミュレーションを行うには、各分子の相互作用を、分子力場によって規定します。

パッケージ中の「sander」が基本的な MD エンジンで、「pmemd」は sander の機能の一部を含む高効率 MD エンジンの実装です。「pmemd」では、GPU (Graphics Processing Units) を利用した高速化計算も可能です。

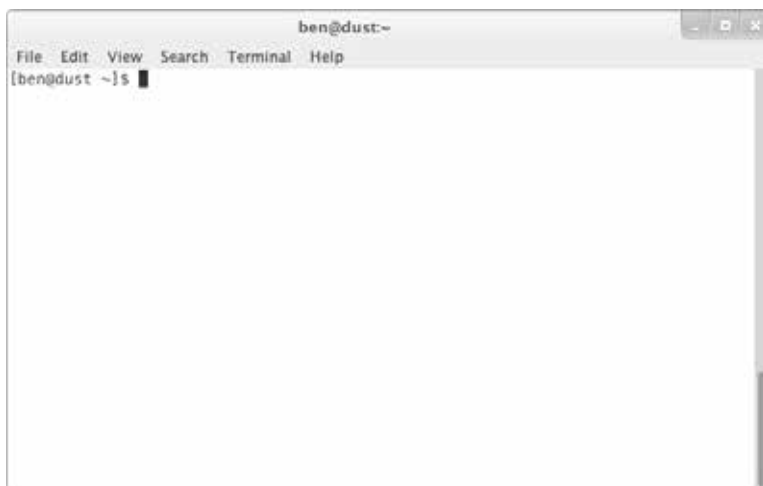
出発構造を作成する方法を示します。そして、AMBER パッケージの中心となる分子動力学計算プログラム sander を実行するための入力ファイル以下が、「sander」あるいは「pmemd」で分子動力学計算を実行させる際に必要な基本的なファイルです：

- parm7：系内の分子のトポロジーと必要な力場パラメーターが記述されています。
- rst7：座標と、状況に応じ速度と周期ボックスの大きさが記述されています。
- mdin：Amber 分子動力学計算の設定が記述されています。

Linux 入門

「Amber」分子動力学計算ソフトウェアは、ほぼ全てコマンドライン・インターフェイスを基本として、macOS, Linux など UNIX 系のオペレーティングシステムで動作しているマシン上で利用します。Windows の場合は、WSL を利用します。「Amber」を使用するにはまず、ターミナルを起動します。ターミナルを起動

起動すると、図のようなターミナルウィンドウが開きます：



このチュートリアルでのほとんどの作業は、このターミナルで行います。

ファイルのリスト表示&ディレクトリーの作成

最初にログイン後ターミナルを開くと、作業ディレクトリー（フォルダー）は自分のホーム・ディレクトリーになっています。フォルダー名は自分のユーザー名と同じになっており、自分のファイルを保存したりディレクトリーを作成したりできます。ほとんどの場合「/home/ユーザー名」や「Users/ユーザー名」のパスとなっています。

ls (list)

1. 現在のディレクトリーの内容をリストするには「ls」コマンドを使用します。

サンプルファイル

ここで表示している「\$」はターミナル内のコマンド・ライン・プロンプトですので、「\$」は入力しないでください。

```
$ ls
```

このコマンドで、以前ホーム・ディレクトリーに作成されたファイルやフォルダーが幾つか表示されるかもしれません。

mkdir (make directory)

このチュートリアルでの作業用に、新しくディレクトリーを作成します。

2. 「mkdir」コマンドで「Tutorial」というディレクトリーを作成します。

```
$ mkdir Tutorial
```

ここで、「ls」コマンドを実行すると、今作成した「Tutorial」ディレクトリーがリストされます。

```
$ ls  
Tutorial
```

cd (change directory)

次に、作業中に保存する全ての項目をこの「Tutorial」ディレクトリーに保存するため、現在位置を移動します。

3. 「cd」コマンドで別のディレクトリーへ移動します。

```
$ cd Tutorial  
$ ls
```

ここで、特殊なディレクトリー指定方法「.. (ピリオド2つ)」があり、これで現在のディレクトリーの親ディレクトリーを表します。つまり現在の「Tutorial」ディレクトリーから元の親ディレクトリーへ戻るには「cd ..」とします。

```
$ cd ..  
$ ls  
Tutorial
```

また、ホームディレクトリーへ戻りたい場合は、引数なしで「cd」コ

マンドを打ち込んでください。あるいは「~」がホームディレクトリーのショートカットになっていますので、これも使用できます。

以下の2つのコマンドは、どちらもホーム・ディレクトリーへの移動を表します。

```
$ cd
$ cd ~
```

pwd (print working directory)

コンピューターのファイルシステムの中で、現在どこのディレクトリーにいるのかを示すものを「パス名」と呼びます。

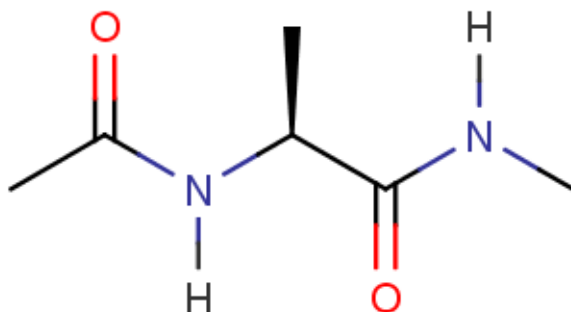
- 「pwd」コマンドでホームディレクトリーのパス名を表示

```
$ cd
$ pwd
/home/username
```

この「pwd」コマンドは現在の作業ディレクトリーを表示します。この例では、ホームディレクトリーのパス名を表示しています。「/home/username」とは、ディレクトリー「username」が「home」ディレクトリーにあり、「home」はルート・ディレクトリー「/」にあることを示しています。

トポロジーと座標ファイルの作成

このチュートリアルでは、下図のアラニンジペプチド分子を AMBER シミュレーション用に「xLEaP」というプログラムを用いて作成します。なお、テキストベースの「tLEaP」を用いても同様に作成可能です。



サンプルファイル

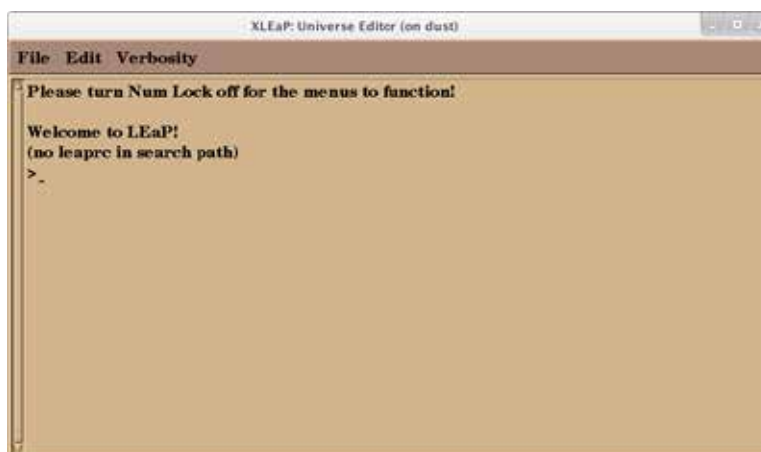
「xLEaP」を使用して、この分子を構築後に溶媒和させます。端末に X-Window のグラフィック機能が無い場合、「tLEaP」を利用します。「LEaP」を起動すると、これまでのターミナルとは「別のコマンド群」を用いて作業を行うこととなります。そして、系のトポロジーを構築し、分子のパラメーターを割り振ります。

5. 「xleap」コマンドで「xLEaP」を起動する。

```
$ xleap
-I: Adding /usr/local/amber22/dat/leap/prep to search path.
-I: Adding /usr/local/amber22/dat/leap/lib to search path.
-I: Adding /usr/local/amber22/dat/leap/parm to search path.
-I: Adding /usr/local/amber22/dat/leap/cmd to search path.
```

(グラフィック環境が無くテキストベースの場合、「tleap」と入力します)

下図のようなウィンドウが表示されます。「tleap」の場合、同様のメッセージがターミナルに出力されます。



注意)

xLEaP のウィンドウバーにある「X」をウィンドウを閉じる目的でクリックしないでください。プログラム全てが落ちてしまいます。

キーボードの「Num Lock」がオンになっているとメニューが動作しませんので、OFF にしてください。

タンパク質の力場の読み込み

分子動力学計算の力場は、ハミルトニアン（ポテンシャルエネルギー関数）とそれに関連したパラメーターからなります。それらにより、分子内および系内の分子間相互作用が評価されます。分子動力学計算では、ハミルトニアンは分子にかかる力と速度の計算にも使用されます。

Amber ハミルトニアンの基本形は以下のようになります：

$$\begin{aligned}
 V_{\text{AMBER}} = & \sum_i^{n_{\text{bonds}}} b_i (r_i - r_{i,\text{eq}})^2 + \sum_i^{n_{\text{angles}}} a_i (\theta_i - \theta_{i,\text{eq}})^2 + \sum_i^{n_{\text{dihedrals}}} \sum_n^{n_{i,\text{max}}} (V_{i,n}/2) [1 + \cos(n\phi_i - \gamma_{i,n})] \\
 & + \sum_{i<j}^{n_{\text{atoms}}} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \sum_{i<j}^{n_{\text{atoms}}} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}},
 \end{aligned}$$

アラニンジペプチドの分子動力学シミュレーションを行うには、ポテンシャル・エネルギーを記述するための力場を読み込む必要があります。ここでは、タンパク質と核酸用の AMBER 力場 FF19SB を使用します。

6. FF19SB 力場の読み込み

「LEaP」内で下記「source」コマンドを入力します。ここでの「>」は LEaP 内のコマンドプロンプトを表しますので、「>」は入力しないでください。

```

> source leaprc.protein.ff19SB
Loading parameters:
/usr/local/amber22/dat/leap/parm/frcmod.ff19SB
Reading force field modification type file (frcmod)
Reading title:

```

アラニンジペプチドの構築

アミノ酸のアラニンの N 末端をアセチル基で C 末端を n-メチルアミド基でキャップしてアラニンジペプチドを構築します。LEaP に ff19SB をロードしたら、これらのユニットは読み込み済みとなり分子を構築できるようになっています。利用できるユニットをつなぎ合わせて新しいユニットを作成するには「sequence」コマンドを使用します。

7. 「sequence」コマンドで ACE, ALA, NME ユニットをつなぎ合わせて新しいユニット「diala」を作成する。

```
> diala = sequence { ACE ALA NME }
```

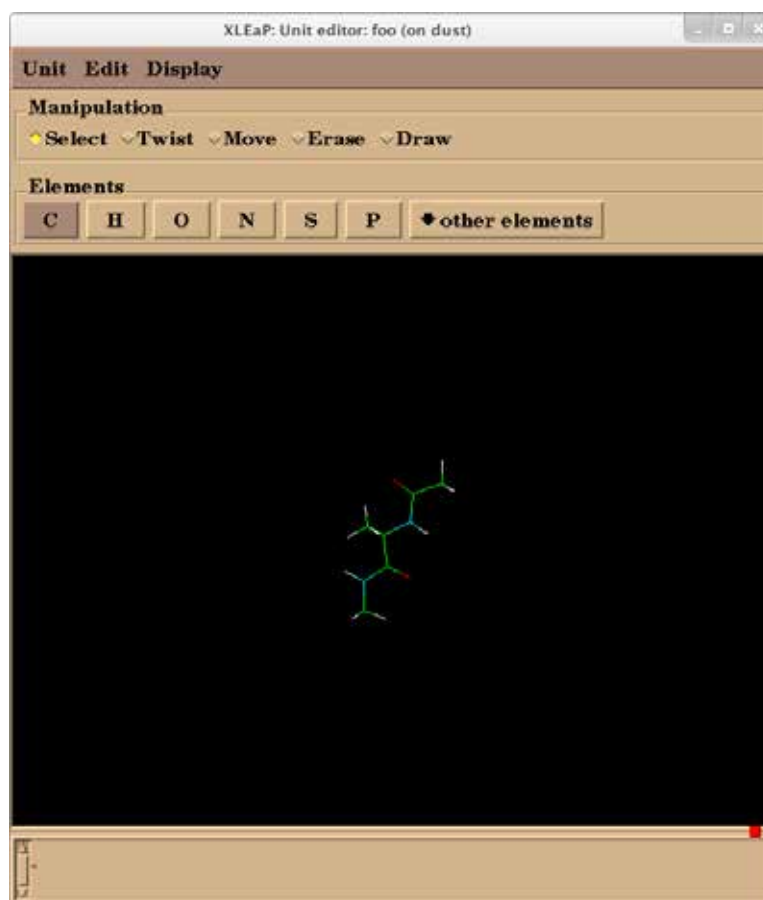
このコマンドにより、ユニット「diala」にアラニンジペプチド分子が構築されました。「xLEaP」には、分子を検査したり修正する基本的な編集機能も備えています。

8. アラニンジペプチド分子の構造の検証

「edit」コマンドを使用して構造を表示させます（xLEaPのみ）。

```
> edit diala
```

下図のようなウィンドウが表示されます：



このウィンドウでは、分子のトポロジー、構造、原子名、原子タイプ、部分電荷のチェックが行えます。最低限の分子編集も可能です。

注意：

このウィンドウを閉じる際に「X」はクリックしないでください。「xLEaP」全体が落ちてしまいます。閉じるには、メニューバーから Unit -> Close と選択してください。

アラニンジペプチドの溶媒和

このステップでは、このアラニンジペプチドを水分子で溶媒和させます。今回のシミュレーションには「OPC」水モデルを使用します。

ここでのシミュレーションでは、系に周期境界条件を持たせ、分子が系から出て行ったら系の反対側から分子を戻します。周期境界ボックスは十分な大きさであることが重要です。アラニンジペプチドの周りを十分な量の水が覆っていれば、アラニンジペプチド分子が自分自身の周期イメージと相互作用してしまう心配がありません。

分子動力学計算では、今回使用する OPC 以外にも多数の水モデルを利用できます。

9. 水のモデルを読み込み、「solvateBox」コマンドにより、系を溶媒和させます。

```
> source leaprc.water.opc  
> solvatebox diala OPCBOX 10.0
```

「OPCBOX」は溶媒和させる水のタイプです。「10.0」はアラニンジペプチドと周期境界ボックス間の水分子層の厚みが最低 10.0 Å になるよう指示しています。

Amber の parm7 と rst7 ファイルの保存

現在の作業ディレクトリーへ、parm7 と rst7 ファイルを保存します。ユニット「diala」にはアラニンジペプチド分子、水分子、シミュレーションに必要な周期境界情報が含まれています。パラメーターは、ff19SB 力場から割り当てられています。

10. 「saveAmberParm」コマンドで parm7 と rst7 ファイルを保存します。

```
> saveamberparm diala parm7 rst7
Checking Unit.
Building topology.
Building atom parameters.
Building bond parameters.
Building angle parameters.
Building proper torsion parameters.
Building improper torsion parameters.
~~~中略~~~
(Residues lacking connect0/connect1 -
these don't have chain types marked:
      res      total affected
      WAT      630
)
(no restraints)
```

注意：このコマンドの出力は注意深く読んでください。何らかの warning やエラーが出ていると、ファイルが正常に保存されていません。

上記コマンドにより、アラニンジペプチド分子のパラメーター・トポロジーファイル：parm7 と座標ファイル：rst7 が作業ディレクトリーへ保存されました。

xLEaP の終了

11. 「quit」コマンドで「LEaP」を終了させます。

```
> quit
```

Amber 分子動力学設定ファイルの作成

分子動力学計算を行うために最後に必要となるファイルは、各計算の設定が定義された入力ファイルです。今回の系では以下の順番で、エネルギー最小化、ゆっくりとした昇温、目的の温度と圧力における本番の MD 計算を行います。

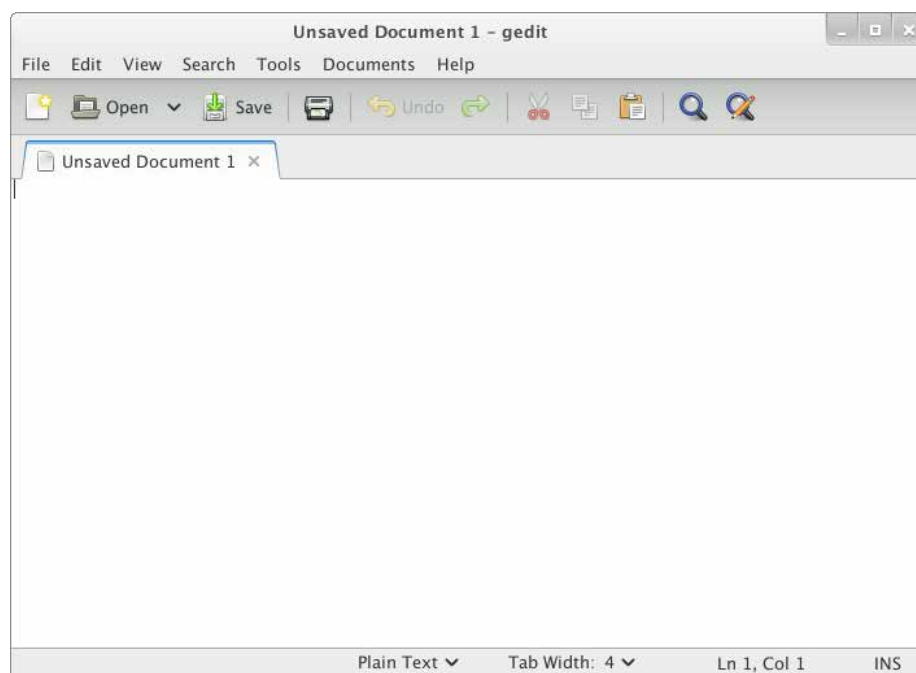
1. 構造最適化
2. 定積・定温条件 (NVT) 下で、0K ~ 300K まで 20 ps かけて昇温
3. 定圧・定温条件 (NPT) 下で、1 気圧 300 K において 60 ps の本番の MD 計算

トラジェクトリーと計算ログの出力は 0.2 ps ごとに行います。温度制御には Langevin 法を用います。乱数は、乱数種を元にして初期化します。詳しくは、後述します。

これらの設定を行うため、テキストエディターを用いて入力ファイルを作成します。Linux では多くのテキストエディターを利用できますが、ここでは Linux コンピューターにインストールされている「gedit」というテキストエディターを利用します。ご自身で「vim」や「emacs」など、普段使い慣れているプログラムがある場合、そちらを利用しても構いません。ファイルの保存方法など、そちらのエディターの使用方法に従ってください。

13. テキストエディター「gedit」を起動する。

メニューバーの「Applications」から「Accessories」→「gedit Text Editor」と選択すると起動します。「gedit」のインターフェイスは以下の画面のようになります：



起動時は、名称未設定の書類画面が開きますので、そこにテキストを書き込みます。

最適化の設定入力

14. 下記の最適化設定の内容を入力して、「01_Min.in」というファイル名で保存してください：

```
Minimize
&cntrl
  imin=1,
  ntx=1,
  irect=0,
  maxcyc=2000,
  ncyc=1000,
  ntp=100,
  ntwx=0,
  cut=8.0,
/
```

各行の設定は以下の内容です：

imin=1	最適化の実行
ntx=1	ASCII フォーマットの rst7 座標ファイルから座標のみ読み込んで速度情報は読み込まない
irect=0	シミュレーションの再実行は行わない（最適化計算では適用不可）
maxcyc=2000	最適化サイクルの最大値
ncyc=1000	最急降下法アルゴリズムを初めの 0 ~ ncyc サイクル行い、共役勾配法アルゴリズムに切り替えて ncyc ~ maxcyc サイクルまで行う
ntp=100	Amber mdout 出力ファイルへ ntp サイクル毎に出力を行う
ntwx=0	Amber mdcrd ファイルの出力は行わない（最適化計算では適用不可）
cut=8.0	非結合相互作用のカットオフ距離を Å 単位で指定（PME では実空間の和の限度。この数値を 8.0 より小さくしないでください。大きな値にすると精度が若干上がりますが、計算機コストが大幅に増大します）

昇温の設定入力

15. 下記の昇温設定の内容を入力して、「02_Heat.in」というファイル名で保存してください：

```
Heat
&cctrl
  imin=0,
  ntx=1,
  irect=0,
  nstlim=10000,
  dt=0.002,
  ntf=2,
  ntc=2,
  tempi=0.0,
  temp0=300.0,
  ntp=100,
  ntwx=100,
  cut=8.0,
  ntb=1,
  ntp=0,
  ntt=3,
  gamma_ln=2.0,
  nmropt=1,
  ig=-1,
/
&wt type='TEMP0', istep1=0, istep2=9000, value1=0.0, value2=300.0 /
&wt type='TEMP0', istep1=9001, istep2=10000, value1=300.0, value2=300.0 /
&wt type='END' /
```

各行の設定は以下の内容です（構造最適化とは違う項目のみ）：

imin=0	分子動力学計算を実行（最適化ではない）
nstlim=10000	動力学計算の実行ステップ数（nstlim * dt = 動力学計算ののピコ秒での長さ）
dt=0.002	ステップ間のピコ秒（ps）での長さ
ntf=2	SHAKE 法で拘束した結合の力を計算しない
ntc=2	水素原子に関連する全ての結合を SHAKE 法で拘束する
tempi=0.0	熱浴の初期温度。単位は K（NMROPT セクション参照）
temp0=300.0	熱浴の最終温度。単位は K（NMROPT セクション参照）
ntwx=1000	Amber トラジェクトリーファイル：mdcrd に ntwx ステップ毎に出力する
ntb=1	定積での周期境界条件を用いる
ntp=0	圧力制御は行わない
ntt=3	Langevin 熱浴法で温度制御を行う
gamma_ln=2.0	Langevin 法における衝突頻度
nmropt=1	NMR 拘束と重み付けの読み込みを行う（NMROPT セクション参照）
ig=-1	擬似乱数生成ルーチンのシードをランダムにする（シミュレーションの不具合の対処を行うのであれば、常にこの設定を使用した法がいいでしょう）

NMROPT による熱浴温度の設定

最後の3行は、シミュレーション中で熱浴の目標温度を変化させる設定です。ここでの設定では、最初の9,000ステップで温度を0 Kから300 Kまで上げます。続いて9,001から10,000ステップでは温度を300 Kに保つようにします。

本番の計算の設定入力

注意：通常のMDシミュレーションでここでの設定を流用しないでください。

ここでの短いシミュレーションを解析するために、「NTPR」および「NTWX」の値をととも小さくしています。これらを長いMDシミュレーションで使用すると、出力やトラジェクトリーファイルのサイズが大きくなってしまいます。それにより、MDの実行速度も遅くなってしまいます。実際には、「NTPR」と「NTWX」の値は大きくしてください。

ここでのシミュレーション時間は、ほんの60 psです。理想的には、もっと長いシミュレーションの方がいいのですが、チュートリアルという目的から、この程度に留めています。

16. 下記の本番計算の設定内容を入力して、「03_Prod.in」というファイル名で保存してください：

```
Production
&cntrl
  imin=0,
  ntx=5,
  irest=1,
  nstlim=30000,
  dt=0.002,
  ntf=2,
  ntc=2,
  temp0=300.0,
  ntp=100,
  ntwx=100,
  cut=8.0,
  ntb=2,
```

```
ntp=1,
ntt=3,
gamma_ln=2.0,
ig=-1,
/
```

各行の設定は以下の内容です（昇温設定から変わった項目）：

ntx=5	書式無しの rst7 座標ファイルから、座標と速度を読み出す
irest=1	前回の MD 計算を再実行（これは、rst7 ファイルの速度情報を使用して初期原子速度とすることを意味します）
temp0=300.0	熱浴温度を 300 K として実行
ntb=2	定圧の周期境界条件を使用する
ntp=1	定圧シミュレーションを Berendsen 圧力調整法で行う

以上で、以下の 3 入力ファイルを作成しました：

[01_Min.in](#)

[02_Heat.in](#)

[03_Prod.in](#)

分子動力学計算の実行

以上で、必要なパラメーター・トポロジーファイル parm7、座標ファイル rst7 および 3 つの計算設定ファイル「01_Min.in」「02_Heat.in」「03_Prod.in」が揃いました。それでは実際に、シミュレーションを開始してみましよう。

計算には、「pmemd」を使用します。実行には、コマンドラインを使用します。どのファイルを入力とするのか指定するため、引数として幾つかの追加オプションを指定します。

17. まず、ターミナル内で、ファイルが保存されている「Tutorial」ディレクトリへ作業ディレクトリを移動する

先ほど「Tutorial」ディレクトリを作成したホーム・ディレクトリは「~」をショートカットとして利用できます。コマンドは以下のようになります：

```
$ cd ~/Tutorial
```

最適化の実行

18. アラニンジペプチドの最適化の実行

```
pmemd -O -i 01_Min.in -o 01_Min.out -p parm7 -c rst7  
-r 01_Min.ncrst -inf 01_Min.mdinfo
```

動力学シミュレーションの各ステップで「pmemd」は一貫した構文を使用します。以下に、コマンドライン・オプションをまとめます：

-O	出力ファイルが既に存在していた場合、上書き保存する
-i 01_Min.in	設定入力ファイルの指定（デフォルトは mdin）
-o 01_Min.out	ログ出力ファイルの指定（デフォルトは mdout）
-p parm7	パラメーター・トポロジーファイルの指定
-c rst7	座標ファイルの指定
-r 01_Min.ncrst	リスタートファイルの指定（デフォルトは restrt）座標と速度が保存される
-inf 01_Min.mdinfo	シミュレーションの状況を保存する info ファイルの指定（デフォルトは mdinfo）

最適化計算は、使用するコンピューターにもよりますが、そう長くかからず終了します。

計算が終了すると、出力ログファイル「01_Min.out」、リスタートファイル「01_Min.ncrst」、情報ファイル「01_Min.mdinfo」が得られます。ここで、リスタートファイル「01_Min.ncrst」は、次の昇温計算の初期構造として使用します。

最適化出力ファイル

ここで得られたファイルを見てみましょう：

19. 「gedit」や「less」を使用して「01_Min.out」を開いてください

ファイルの中には、構造最適化の詳細が保存されているのがわかります。系のエネルギー ENERGY が最適化を通して減少しているのがわかると思います。

昇温 MD 計算の実行

では、前段階の最適化計算のリスタートファイルを出発構造として、系の昇温計算を行います。

20. アラニンジペプチドの昇温の実行

```
pmemd -O -i 02_Heat.in -o 02_Heat.out -p parm7 -c 01_Min.ncrst \
      -r 02_Heat.ncrst -x 02_Heat.nc -inf 02_Heat.mdinfo
```

以下に、新しいコマンドライン・オプションをまとめます：

-c 01_Min.ncrst 出発座標を、前段階の最適化計算のリスタートファイルとする

-x 02_Heat.nc 動力学シミュレーションのトラジェクトリーファイルの指定（デフォルトは mdcrd）

計算は、使用環境にもよりますが、数分で終了するでしょう。

昇温の出力ファイル

昇温段階では、以下のファイルが得られます：

[02_Heat.out](#)

[02_Heat.ncrst](#)

[02_Heat.nc](#)

21. 出力ログファイル「02_Heat.out」の検証

ログファイル「02_Heat.out」に、昇温の動力学計算の出力が保存されています。その中には、各時間ステップでのエネルギーや温度などの情報が含まれています。例えば 1,000 ステップには、以下のように出力されていました（内容は各人違っているはずですが）：

```
NSTEP =      1000    TIME (PS) =          2.000    TEMP (K) =          29.48    PRESS =          0.0
Etot   =    -6944.9552    EKtot   =          112.3015    EPtot   =    -7057.2567
BOND   =          1.0442    ANGLE  =          1.7653    DIHED   =          9.4906
1-4 NB =          2.6284    1-4 EEL =          46.3073    VDWAALS =    1448.7074
EELEC  =    -8567.1999    EHBOND =          0.0000    RESTRAINT =          0.0000
Ewald error estimate:  0.4641E-03
```

```
-----
NMR restraints: Bond =          0.000    Angle =          0.000    Torsion =          0.000
=====
```

いくつか重要な項を以下に示します：

NSTEP	MD シミュレーションの時間ステップ数
TIME	リスタートも含めた、シミュレーションの総合時間
TEMP	系の温度
PRESS	系の圧力
Etot	系の全エネルギー
EKtot	系の全運動エネルギー
EPtot	系の全ポテンシャルエネルギー

系の圧力が 0.0 になっているのが分かると思います。これは、昇温段階では圧力制御を行っていないため 0.0 になっています。

本番の MD 計算の実行

系の最適化と昇温が終了しましたので、本番の動力学計算を行います。

22. アラニンジペプチドの本番の MD 計算の実行

```
$ pmemd -O -i 03_Prod.in -o 03_Prod.out -p parm7 -c 02_Heat.ncrst \  
-r 03_Prod.ncrst -x 03_Prod.nc -inf 03_Prod.mdinfo &
```

注意：コマンドの最後に「&」が付いています。これにより、コマンド実行がバックグラウンドで行われ、次のコマンド入力が可能となります。

この計算には少々時間がかかりますので、ここで計算のモニタリングを試してみましょう。それには、ログの出力ファイルを見ます。「tail」コマンドを使用すると、ファイルの末尾を表示させることができます。

23. 「tail」コマンドを使用して出力ファイルの末尾を順次表示させる

```
tail -f 03_Prod.out
```

このコマンドにより、実行中の計算の出力ファイルを観察できるので、ジョブを監視するのに便利です。

24. 「tail」コマンドを終了させるには、キーボードの「CTRL」キーと「C」を押します。

あるいは、「mdinfo」ファイルを出力させてモニターすることも可能です。

```
$ cat 03_Prod.info
```

このファイルを見ると、実行のパフォーマンスの詳細がわかりますので、おおよその終了時間を見積もることができます。

MD シミュレーションの完了

計算は、コンピューター環境にもよりますが、10分程度で終了するでしょう。

以下が、得られる出力ファイルです：

[03_Prod.out](#)

[03_Prod.ncrst](#)

[03_Prod.nc](#)

計算が終了したら、出力ファイルを開いて観察し、計算が正常に終了しているか確認してください。

25. 出力ファイル「03_Prod.out」を「gedit」で開いて観察してください。

結果のグラフィック描画

シミュレーションが終了したら、結果をグラフィック描画するために「VMD」というフリーソフトを利用します。このプログラムを利用すると、分子構造を3Dで表示できます。「VMD」ではPDB構造ファイルを読むだけでなくAmberの分子動力学トラジェクトリーファイルなど多種のファイルを開くことができます。

「VMD」の詳しい使用方法は、別途チュートリアルを要していますので、そちらを参照してください。

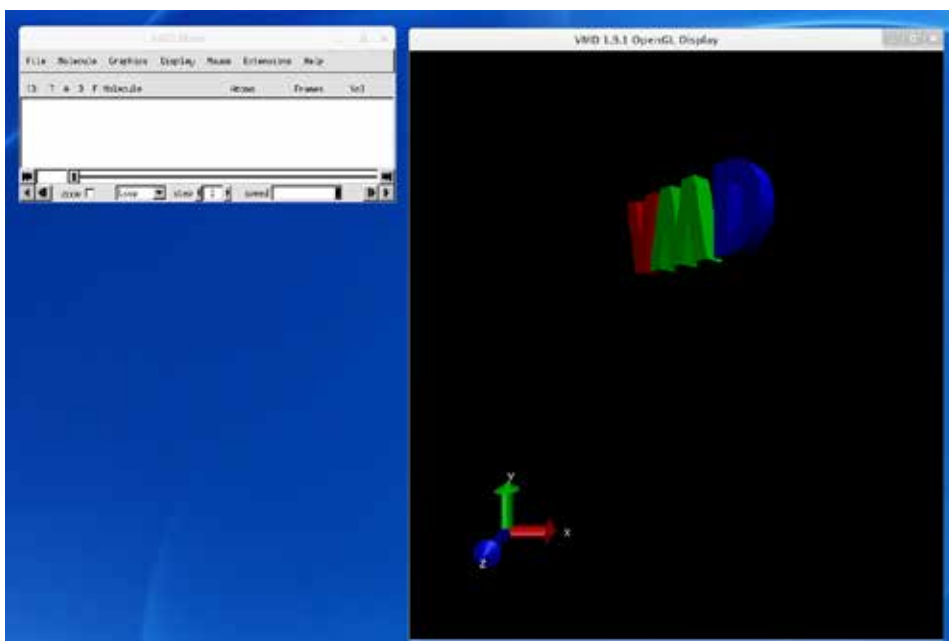
サンプルファイル

26. 「VMD」を起動するため、ターミナルでコマンドを実行します。

チュートリアルファイルが保存されているディレクトリーへ移動後、「vmd」コマンドで起動します：

```
$ cd ~/Tutorial
$ vmd
```

VMDを起動すると、下図のように表示されます：



「VMD」を使用すると、タンパク質・核酸・他の生体分子の構造を表示できます。よく使われているファイル・フォーマットは、「PDB」生体分子構造フォーマットです。例えばこの PDB ファイルを開くにはまず、メニューから

File -> New Molecule...

と選択してください。表示されるダイアログで目的の PDB ファイルを指定し、ファイル・タイプを PDB にしてください。通常ファイル・タイプは、自動選択されます。

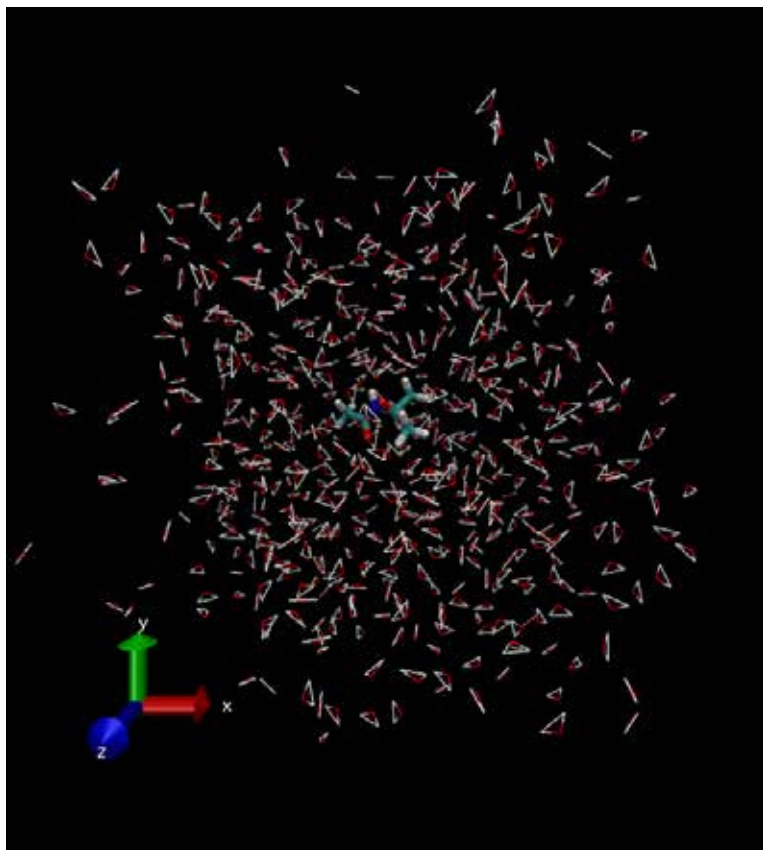
ここでは、アラニンジペプチド分子のトラジェクトリー構造を表示させます。

27. メニューから「File -> New Molecule...」と選択して新しい分子を作成

28. ファイル「parm7」を指定し、ファイル・タイプは「AMBER7 Parm」としてから「Load」をクリックして読み込み

29. ファイルは「0: parm7」として読み込まれます。さらに、トラジェクトリー・ファイル「03_Prod.nc」をファイル・タイプ「NetCDF (AMBER, MMTK)」として読み込みます。

以上で、「VMD」にトラジェクトリーが読み込まれ、グラフィック描画されます。メインのウィンドウで、アラニンジペプチド分子と多数の水分子が表示されていると思います。ここで、マウスを使って回転・拡大縮小などができます。



サンプルファイル

分子の表示形式は、メニューの「Graphics -> Representations」を選択して表示されるウィンドウで変更可能です。

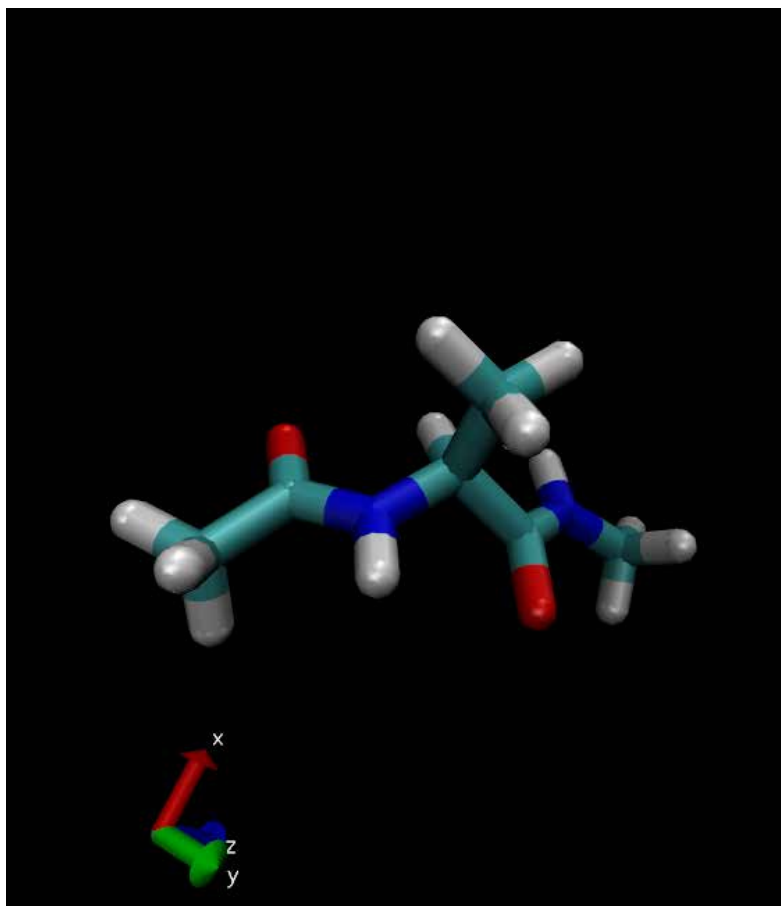
表示をアラニンジペプチド分子のみにすることも可能です。

30. 「Selections」タブで「Selected Atoms」を「all not water」へ修正します。

分子の描画形式も好みのものに変更できます。

31. 「Drawing Method」を「Licorice」に変更してください。

以上で、アラニンジペプチド分子の構造が以下のように表示されます：



「VMD」には、MD トラジェクトリーを解析するためのオプションが多数用意されています。ただしそれらの内容は、このチュートリアルを範囲を超えてしまうため、他のチュートリアルなどを参考にしてください。

動力学計算の結果解析

「Amber」パッケージには、MD トラジェクトリーを解析するためのツールが含まれています。このチュートリアルでは、幾つかの「Amber」プログラムを用いて簡単な解析を行います。また、結果のグラフ・プロットも行います。解析は、主にターミナルのコマンドラインから行います。

32. ターミナルを開いて「Tutorial」ディレクトリーへ移動します。

```
$ cd ~/Tutorial
```

33. 解析用の「Analysis」ディレクトリーを作成して移動します。

```
$ mkdir Analysis
```

```
$ cd Analysis
```

ここで、出力解析スクリプト「process_mdout.perl」を使用して、MD 出力ログファイルを解析します。このスクリプトにより、エネルギー・温度・圧力・密度・体積などの情報を MD の出力ログファイルから抽出できます。結果は、個別のファイルへ保存されます。

34. 「process_mdout.perl」の実行を下記コマンドで行います：

```
$ process_mdout.perl ../02_Heat.out ../03_Prod.out
```

このコマンドにより、複数のファイルにデータが保存されます。

ここでは、プロットプログラム「xmgrace」を用い、シミュレーション中のデータをプロットします。使い慣れたプロットプログラムがあれば、そちらを使用しても何の問題もありません。

ここでは、以下のデータをプロットしてみます。

1. MD シミュレーション中の温度
2. MD シミュレーション中の密度
3. MD シミュレーション中の全エネルギー・ポテンシャルエネルギー・運動エネルギー

ただしここで、シミュレーションの昇温段階では密度の出力はありません。そのため「summary.DENSITY」ファイルを編集して、空のデータポイントが「xmgrace」の実行時に不具合を起こすので削除する必要があります。

35. 「gedit」用いて「summary.DENSITY」を開き、20 ps までの空のデータポイントを削除してください。

36. 以下のコマンドで、シミュレーション中の各データをプロットします：

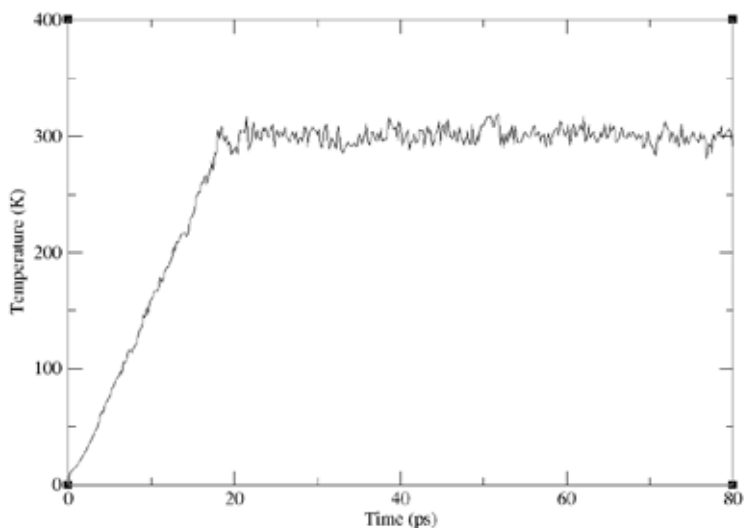
```
$ xmgrace summary.TEMP
$ xmgrace summary.DENSITY
$ xmgrace summary.ETOT summary.EPTOT summary.EKTOT
```

MD 計算における系の特性

注意：通常は、密度が平衡化しシミュレーションが収束するまでもっと長く計算を実行しなくてははいけません。しかし、ここでの「入門」という意味合いから、本番の計算の長さを短く設定して解析にすぐに移れるようにしています。

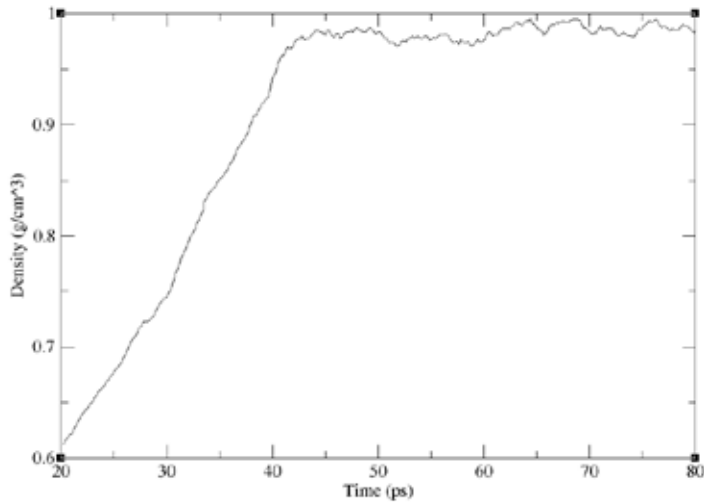
得られるプロットは、以下のような表示となります：

アラニンジペプチドの MD 温度



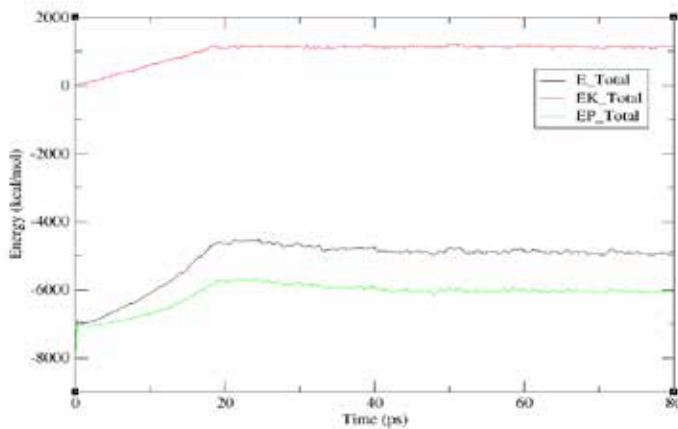
プロットを見ると、昇温過程（0～20 ps）で直線状に温度が上がっているのがわかります。続いて本番の計算中は、比較的安定に約 300 K 近辺で温度が上下しています。

アラニンジペプチドの MD 密度



プロットを見ると、密度はおよそ 1 g/cm³ で平衡化しているのがわかります。系の密度が収束するに従い、それに対応して周期境界ボックスの大きさも変化していることを表しています。

アラニンジペプチド MD の各エネルギー



系の全エネルギーは、全ポテンシャルエネルギーと全運動エネルギーに分解できます。

「cpptraj」プログラムを使用した RMSD 解析

平均二乗偏差（Root Mean Squared Deviation : RMSD）値から、ある基準とした分子座標に対して、構造の内部原子座標がどれだけ近いかがわかります。ここではその一例として、最適化直後の構造に対して、どれだけ内部座標が変化して行ったのかを計算してみます。特にここでは、アラニンの原子群（残基：2）に注目します。

解析には「cpptraj」プログラムを利用します。このプログラムを使用すると、MD トrajジェクトリーを処理して包括的な解析を行うことができます。このプログラムは、簡単なスクリプトにより実行します。スクリプトには、読み込むトラジェクトリー・ファイル名、実行する解析内容、保存する処理後のトラジェクトリーあるいは構造ファイル名を記述します。

まずは、「cpptraj スクリプト」を作成する必要があります。

37. 「gedit」を使用して以下のスクリプトを記述し「rmsd.cpptraj」というファイル名で保存してください。

```
trajin 02_Heat.nc
trajin 03_Prod.nc
reference 01_Min.ncrst
autoimage
rms reference mass out 02_03.rms time 0.2 :2
```

以下に、このスクリプトの内容を簡単に説明します：

trajin 02_Heat.mdcrd	トラジェクトリー・ファイル「02_Heat.nc」を読み込む
trajin 03_Prod.mdcrd	トラジェクトリー・ファイル「03_Prod.nc」を読み込む
reference 01_Min.ncrst	構造ファイル「01_Min.ncrst」を解析の参照構造とする
autoimage	自動的に最初の分子を中心にして、トラジェクトリーを再イメージ
rms reference mass out 02_03.rms time 0.2 :2	原子量で重み付けした RMSD を計算する。「reference」で指定した構造を参照構造とする。出力は「02_03.rms」というファイルへ行く。ファイル中の時間刻みは「0.2」。RMSD の計算は 2 番目の残基 (:2) に対して行う。

「cpptraj」コマンドは、ターミナルで行います。実行は、対象となるパラメーター・トポロジーファイル、トラジェクトリーファイル、参照構造ファイルが保存されたディレクトリーで行います。

38. ターミナルで、「Tutorial」ディレクトリーへ移動し、「cpptraj」コマンドを実行します。引数としてパラメーター・トポロジーファイルとスクリプトファイルを指定します。

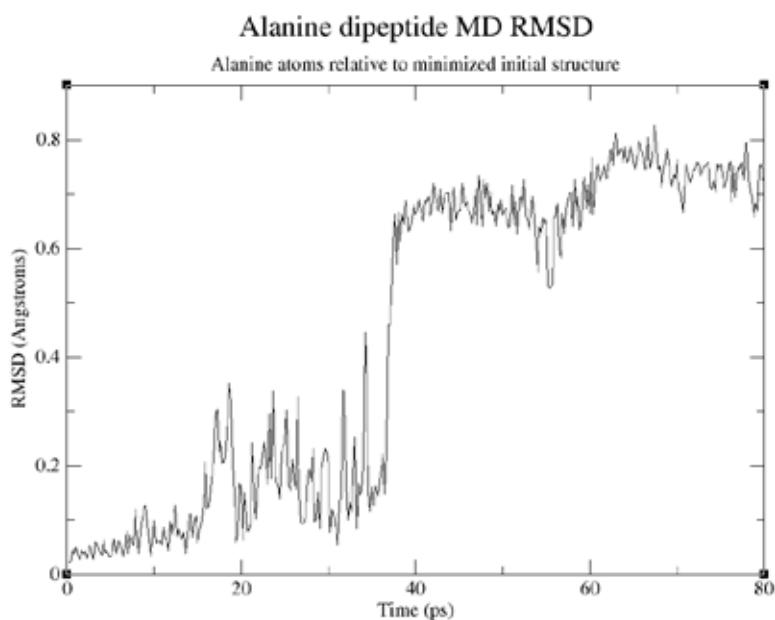
```
$ cd ~/Tutorial  
$ cpptraj -p parm7 -i rmsd.cpptraj &> cpptraj.log
```

これにより、RMSD データがファイル「02_03.rms」に保存されます。これを「xmgrace」でプロットしてみましょう。

39. 「xmgrace」で RMSD をプロットする

```
$ xmgrace 02_03.rms
```

最適化構造に対する MD の RMSD プロット



この例では、40 ps 近辺にコンフォメーション変化が見受けられます。これは主にアラニンジペプチドの Phi/Psi ねじれ角の変化によります。

なお、シミュレーションの初期条件をランダムに設定していますので (ig=-1)、各人でこのグラフは違っていることが予想されます。

まとめ

以上で、最初の基本的な MD シミュレーションの実行と解析が終了です。ここで行った設定・実行・解析の内容はかなり単純なものなので、ここから先に他のチュートリアルも行って見て、より理解を深めていってください。

Copyright Ross Walker & Ben Madej, 2015

Updated for Amber 15 by Aditi Munshi and Ross Walker

Updated for Amber 18 by Sifath Mannan, Michael Barton and Tyler Luchko

Last updated for Amber 20 and tLEaP by Jan Ziembicki and Maria Nagan