

# Winmostar- Gromacs Tutorial 2

タンパク系 (pdb2gmxを使用)

V5.014

株式会社クロスアビリティ

[question@winmostar.com](mailto:question@winmostar.com)

2015/7/16

## 修正履歴

2015/7/16版

- (スライド2) 修正履歴を追加
- (スライド7) 部分削除の操作修正
- (スライド9) MDP Run parameters画面の差し替え(refcoord-scaling の追加)
- (スライド9) 「Ignore H atomのチェックを残す」記述を追加

# 水中のタンパクのシミュレーション

本チュートリアルは、Justin (Virginia Tech.)によるGROMACS Tutorial (Tutorial 1: Lysozyme in water)を参考に作成しています。<http://www.bevanlab.biochem.vt.edu/Pages/Personal/justin/gmx-tutorials/>

## 手順概要

- ① PDBからタンパクの分子構造をダウンロードする
- ② Winmostarを使って、計算可能な構造へ修正する  
～結晶水(酸素原子)を取り除く～
- ③ Gromacsを起動し、エネルギー極小化を実行する
- ④ 得られた構造を用いて二段階の熱平衡計算(温度一定、温度圧力一定)を実行する
- ⑤ 本計算(1 ナノ秒)を実行する。
- ⑥ 計算結果を確認する(エネルギー変化、トラジェクトリ)。
- ⑦ バックボーンのRMSD及び回転半径を計算する。

# PDBからタンパクの分子構造をダウンロードする

- ① <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> にアクセスする。あるいは検索エンジンで「pdb」で検索
- ② 1AKIと入力してリターン

The screenshot shows the RCSB Protein Data Bank website. The browser address bar displays the URL <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>. The page header includes the PDB logo and the text "An Information Portal to Biological Macromolecular Structures". The search bar is active, with "1AKI" entered and a search icon to the right. A blue arrow points from the search bar to the search icon. Below the search bar, there are navigation tabs for "Everything", "Structure", "Macromolecule", "Sequence", and "Ligand". The main content area features a "Biological Macromolecular Resource" section with a "Full Description" for "Molecule of the Month Actinomycin". The sidebar on the left contains links for "Customize This Page", "Available on the App Store", and "PDB-101". The sidebar on the right contains "RCSB PDB News" and "Upcoming Meeting: Experimental Biology and ASBMB".

# PDBからタンパクの分子構造をダウンロードする

The screenshot shows the RCSB Protein Data Bank (PDB) website interface. The main content area displays the entry for 1AKI, titled "THE STRUCTURE OF THE ORTHORHOMBIC FORM OF HEN EGG-WHITE LYSOZYME AT 1.5 ANGSTROMS RESOLUTION". A dropdown menu is open under the "Download Files" button, listing various file formats for download. A 3D ribbon diagram of the protein structure is visible in the background.

**1AKI** Display Files  
Download Files

- FASTA Sequence
- PDB File (Text)
- PDB File (gz)
- mmCIF File
- mmCIF File (gz)
- PDBML/XML File
- PDBML/XML File (gz)
- Structure Factor (Text)
- Structure Factor (gz)
- Biological Assembly (gz) (A)

**Molecular Description**

Classification: Hydrolase  
Structure Weight: 14331.20

Molecule: LYSOZYME  
Polymer: 1 Type: protein Length: 129  
Chains: A  
EC#: 3.2.1.17  
Organism: Gallus gallus  
Gene Name: LYZ  
UniProtKB: Protein Feature View | Search PDB | P00698

**Source**

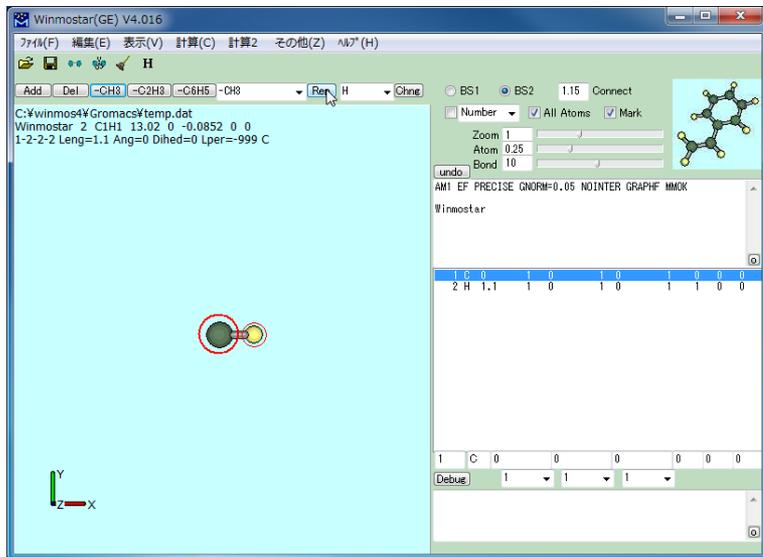
Polymer: 1

③ 「Download Files」をクリック

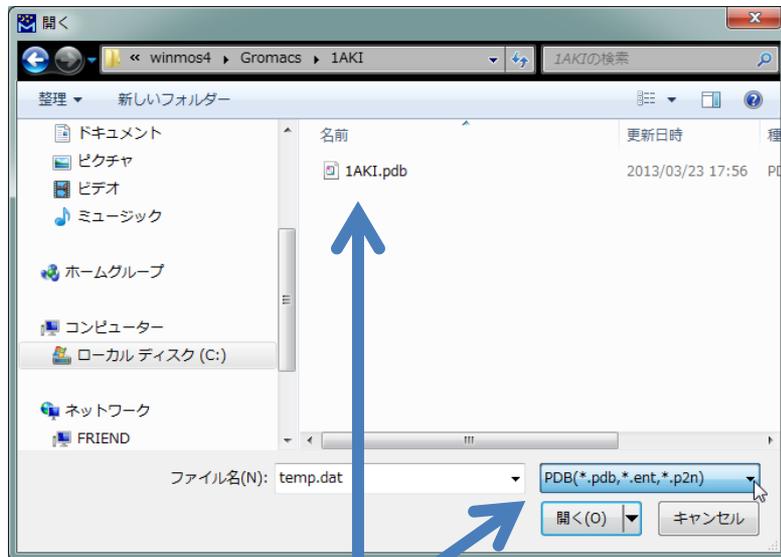
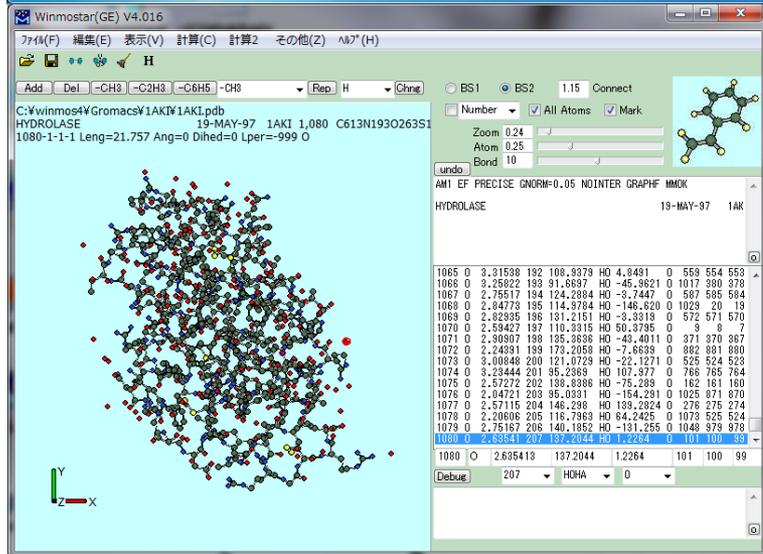
④ 「PDB file (Text)」を選択

⑤ ダウンロードして保存する。  
(ここでは1AKI.pdbとして保存)

# Winmostarを使って、計算可能な構造へ修正する



[File] → [開く]



- ① [pdb]を選択
- ② 「1AKI.pdb」を選択

# 結晶水の酸素原子を取り除く

pdbのデータを用いてMD計算を実行する際は、元々のpdbに含まれている水の座標は用いず、新規に水分子を配置することが望ましいとされている。

① 水の酸素原子をクリックする(どの酸素原子でもよい)

② タンパク分子のどれか一つの原子をクリックする(どの原子でもよい)

※ 必ず①、②の順でクリックすること

The screenshot shows the WinMos (MD/NB) V5.012 interface. The main window displays a 3D ball-and-stick model of a protein (HYDROLASE) with several water molecules (red and white spheres) nearby. A context menu is open over one of the protein atoms, listing various editing options. A callout box points to the '部分削除(X)' (Partial Delete) option in the menu. In the foreground, a 'Selection' dialog box is open, asking 'Delete or Leave?'. The 'Leave' button is highlighted with a mouse cursor.

③ [編集]→[部分削除]を選択

④ 下記ポップアップウィンドウで[Leave]をクリック。

⑤ 削除が終了したら別名で拡張子pdb (tutorial2.pdb)として保存する。

# Gromacsを起動し、エネルギー極小化を実行する(1)

「キーワード設定」 を選択し、計算条件を設定する

Winmostar(MD) V5.001

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) 計算1(C) 計算2 その他(Z) ヘルプ(H)

リモートジョブ投入

NWChemキーワード

NWChem実行

outファイル編集

インポート

PIO

Gromacs

LAMMPS

Amber

キーワード設定

Gromacs実行

GROファイル読み込み

トラジェクトリ読み込み

エネルギー変化

溶媒として保存

BS1 BS2 1.15 Connect

Number All Atoms Mark

Zoom 0.16

Atom 0.25

Bond 10

EF PRECISE GNORM=0.05 NOINTER GRAPHF MMOK

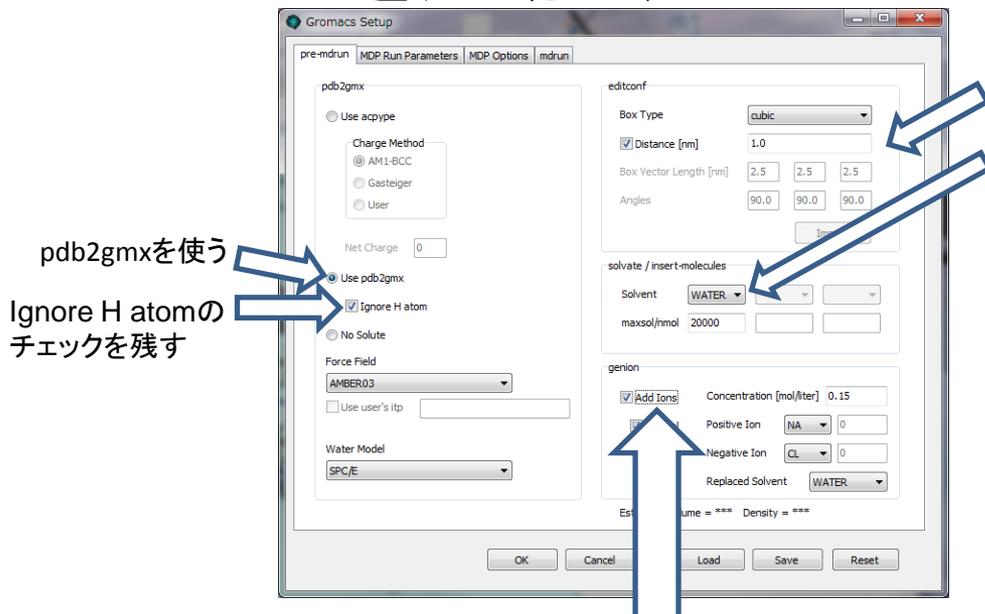
19-MAY-97 1AK

991	N	1.34173	128	123.3472	AR	4.6241				
992	N	1.34181	128	119.372	AR	-169.290	NH	990	989	988
993	N	1.33489	129	113.6672	LE	95.5448	N	984	983	982
994	C	1.47111	129	123.4216	LE	-173.428	CA	993	984	983
995	C	1.53063	129	109.6927	LE	-106.937	C	994	993	984
996	O	1.25549	129	117.053	LE	-99.0853	O	995	994	993
997	C	1.52669	129	111.287	LE	129.8018	CB	994	993	984
998	C	1.51205	129	119.6958	LE	-92.1046	CG	997	994	993
999	C	1.51280	129	113.57	LE	24.528	CD	998	997	994
1000	C	1.52409	129	107.3461	LE	147.0465	CD	998	997	994
1001	O	1.24130	129	112.2046	LE	79.7994	OX	995	994	993
1001	O	1.241307		112.2046		79.7994		995	994	993

Debug 129 LEUA OXT

“1001原子”  
なっている確認

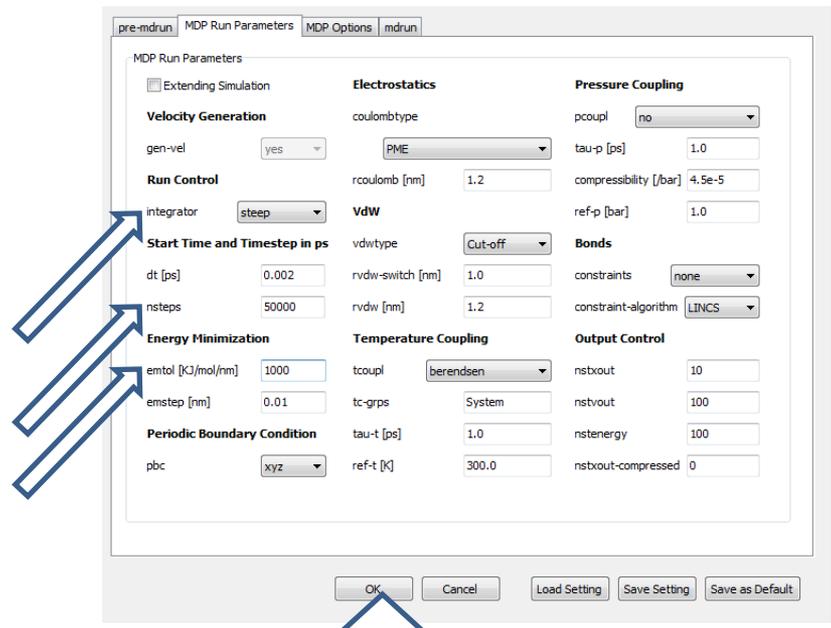
# Gromacsを起動し、エネルギー極小化を実行する(2)



pdb2gmxを使う  
Ignore H atomの  
チェックを残す

1.0に変更する  
水を配置する。maxsol20000分子に設定する  
(配置処理後、10747分子になる)。

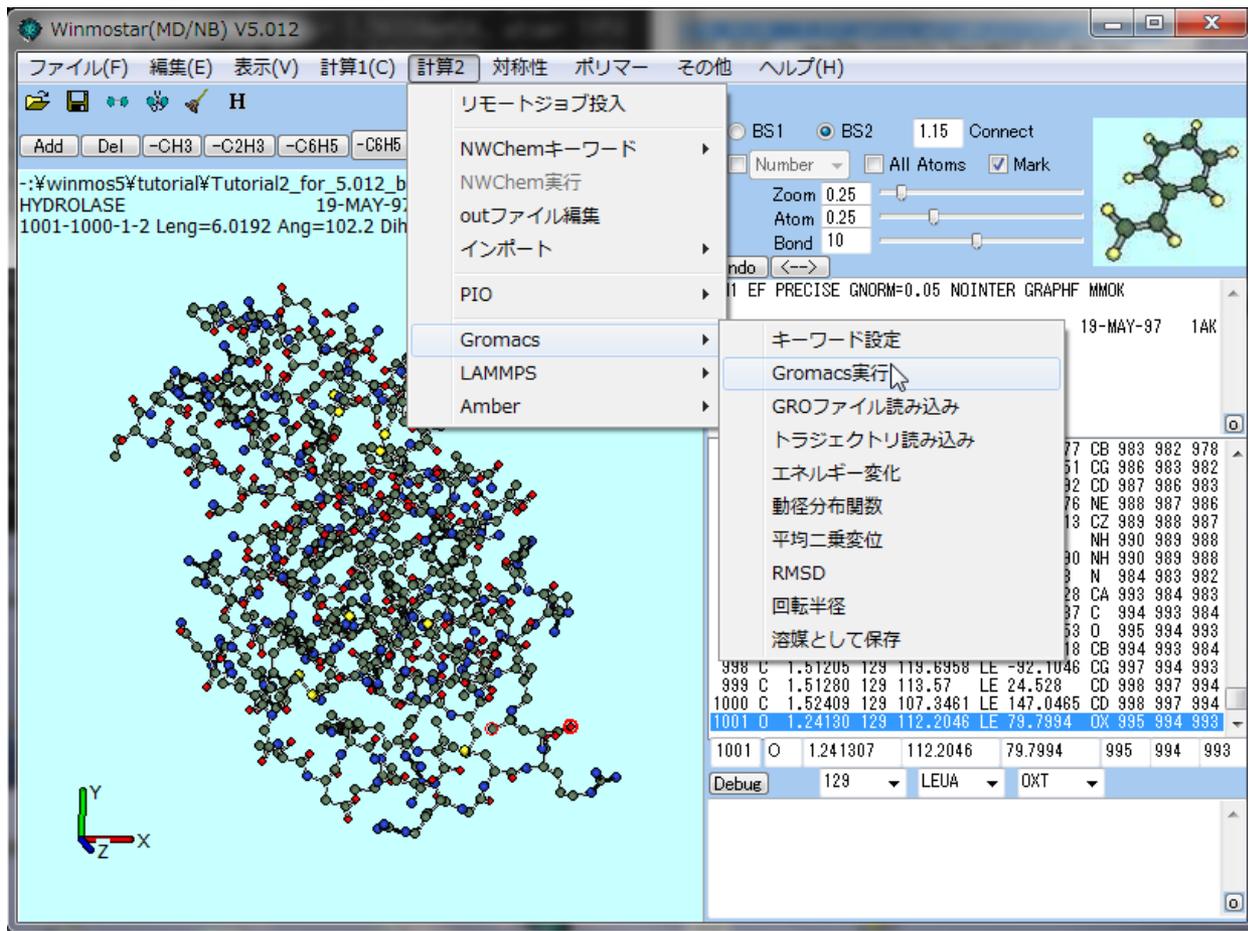
系全体が中性となるようにイオンを付加する  
steep (最急降下法) を選択  
50,000 stepに設定  
1000KJ/mol/nmに設定



最後に[OK]をクリックし、[File]メニューから名前を付けて  
保存する(1AKI\_waterとする)

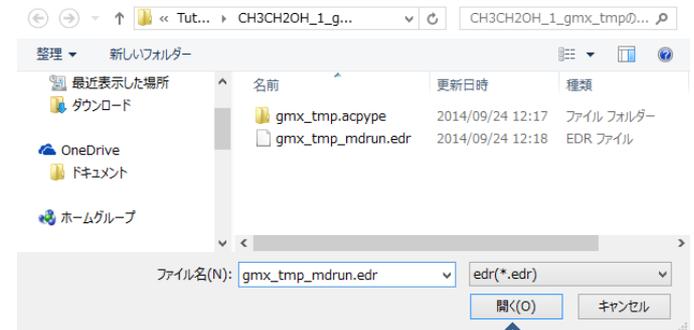
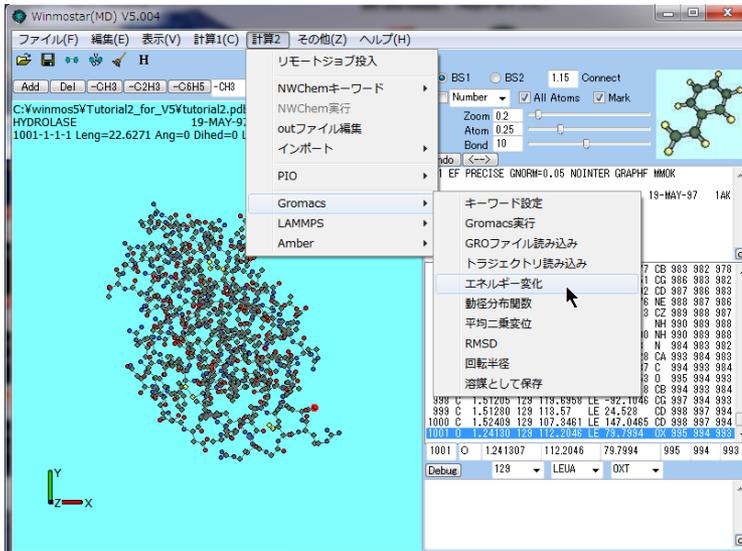
# Gromacsを起動し、エネルギー極小化を実行する(3)

[計算2] → [Gromacs] → [Gromacs実行]を選択する



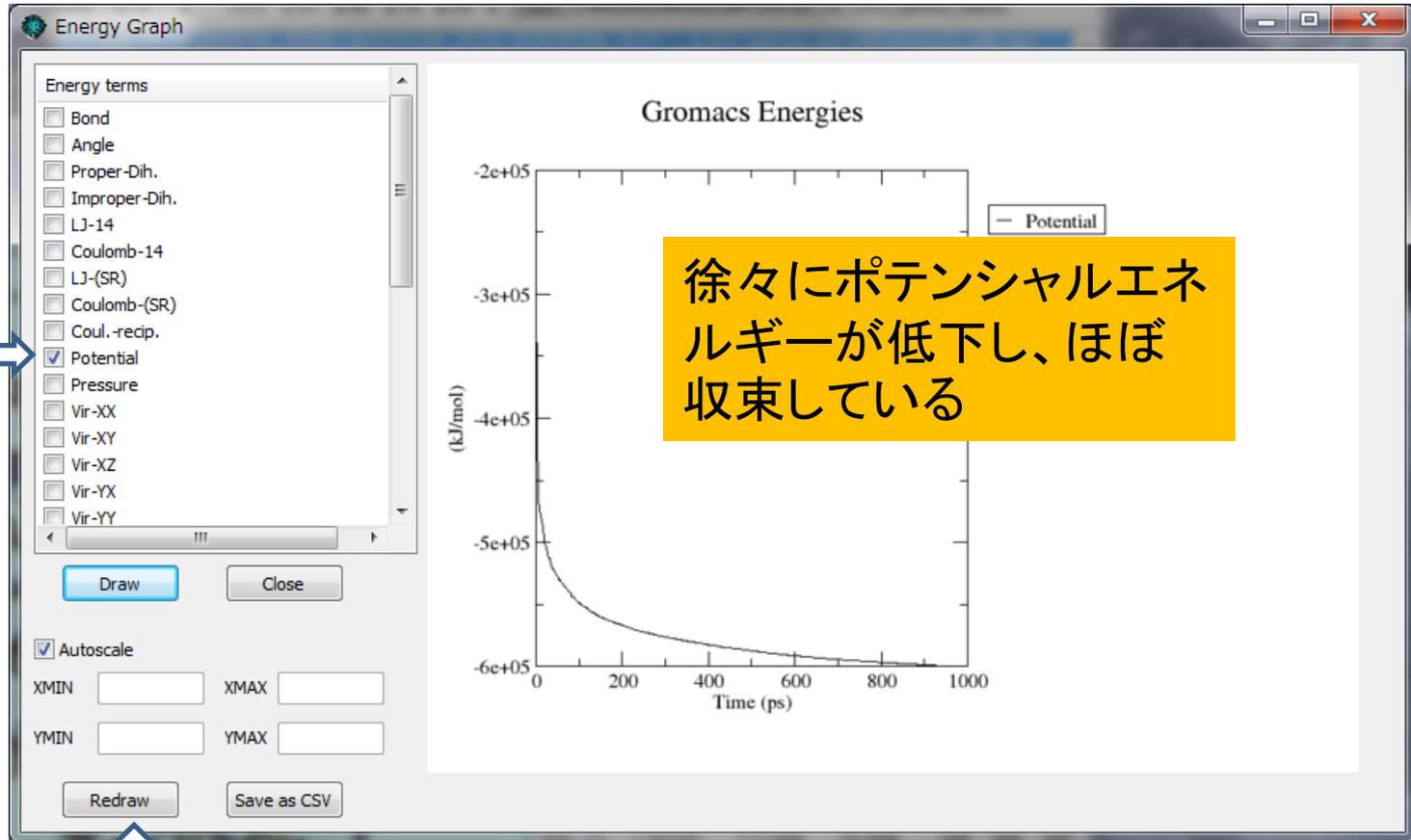
# エネルギー極小化の結果を確認する(1)

[計算2] → [Gromacs] → [エネルギー変化]を選択する



[開く]をクリック

# エネルギー極小化の結果を確認する(2)



①Potentialに  
トグルを立てる

②Drawをクリック

# 得られた構造を用いて熱平衡計算(温度一定)を行う(1)

最初に[MDP Run Parameters]タブをクリック

Extending Simulationに  
チェックを入れる

integratorをmdに変更

100ピコ秒 (2 fs \* 50,000  
step) のMD計算を行う。

all bondsに変更  
(すべての結合を  
拘束する。)

500step毎にファ  
イル出力させる

V-rescale法で温度制御を行う。

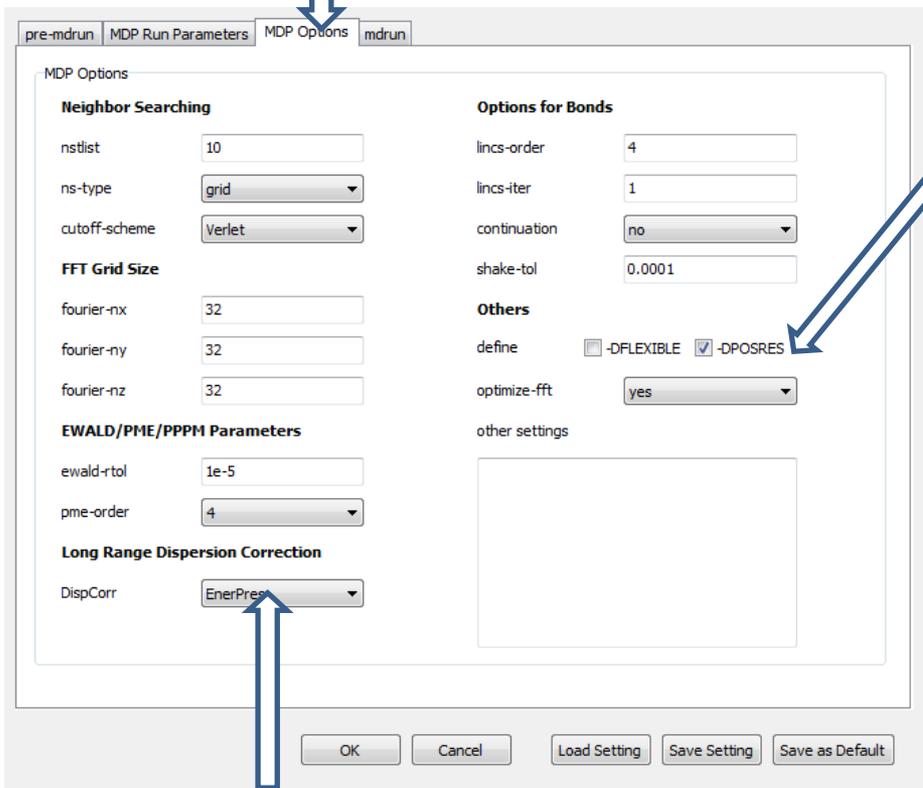
Protein Non-protein と入力する。

どちらも300 K (約25°C) に設定する。

どちらも0.1 0.1 に設定する。

# 得られた構造を用いて熱平衡計算(温度一定)を行う(2)

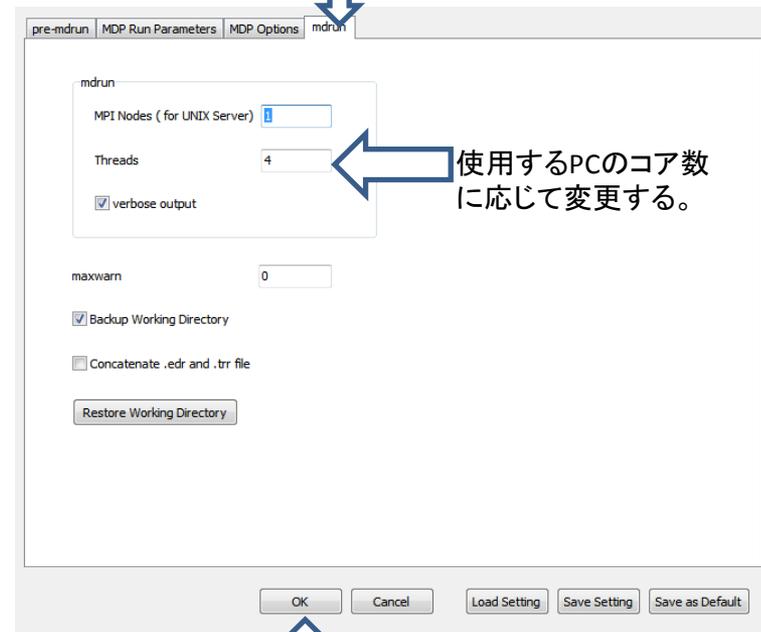
[MDP Options]タブをクリック



エネルギーと圧力の  
長距離補正を行う

タンパクの骨格原子を固定する。

[mdrun]タブをクリック



使用するPCのコア数  
に応じて変更する。

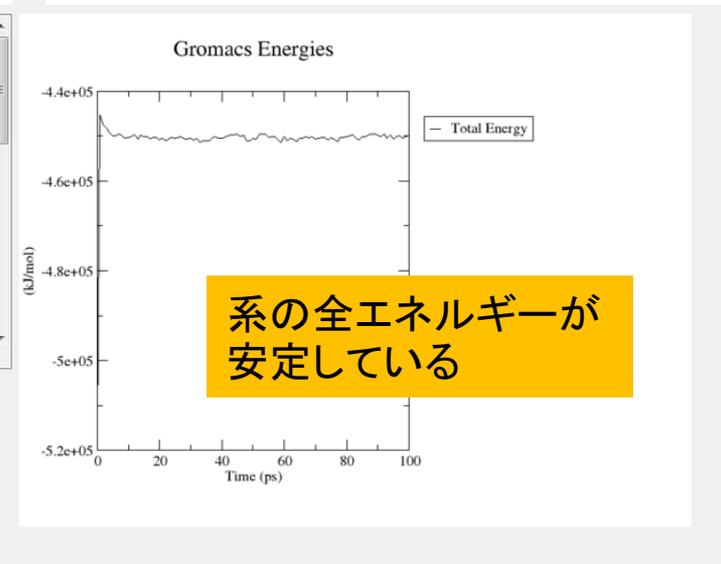
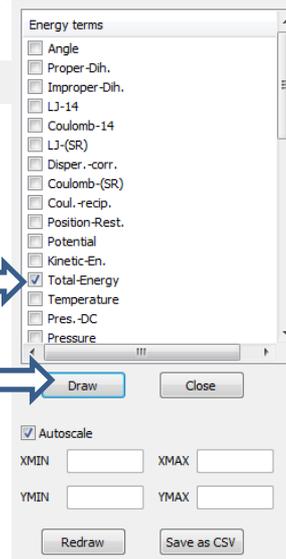
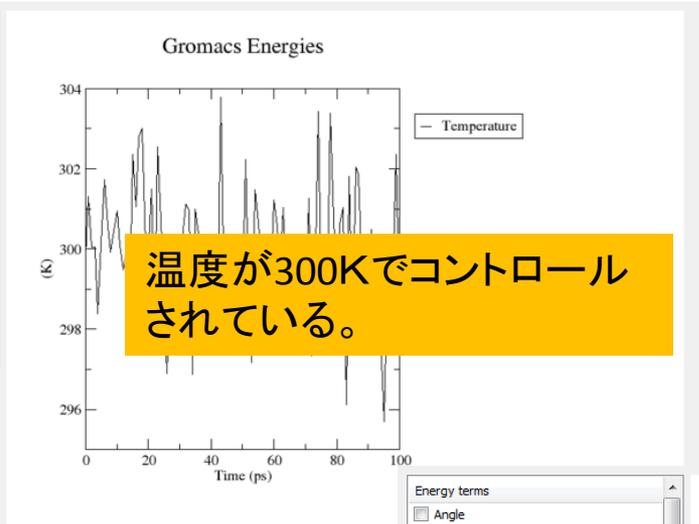
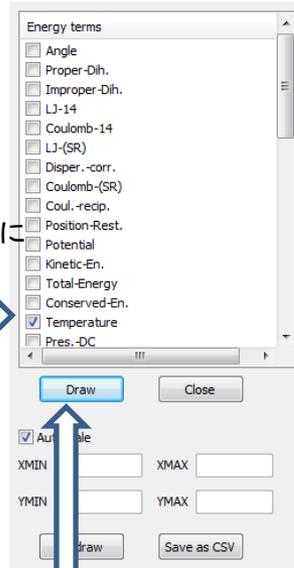
[OK]をクリック

→ Gromacsを起動 → 計算終了

⇒ 1h32:26

プロセッサ:	Intel(R) Core(TM) i5-2520M CPU @ 2.50GHz 2.50 GHz
実装メモリ (RAM):	8.00 GB (7.89 GB 使用可能)
システムの種類:	64 ビット オペレーティング システム

# 系の温度、エネルギー変化を確認する



# 得られた構造を用いて熱平衡計算(温度・圧力一定)を行う(1)

最初に[MDP Run Parameters]タブをクリック

Extending Simulationに  
チェックを入れる

integratorをmdに変更

100 ピコ秒 (2 fs \* 50,000  
step) のMD計算を行う。

Parinello-Rahman法  
で圧力制御を行う。

2.0に設定する。

all bondsに変更  
(すべての結合を  
拘束する。)

500step毎にファ  
イル出力させる

V-rescale法で温度制御を行う。

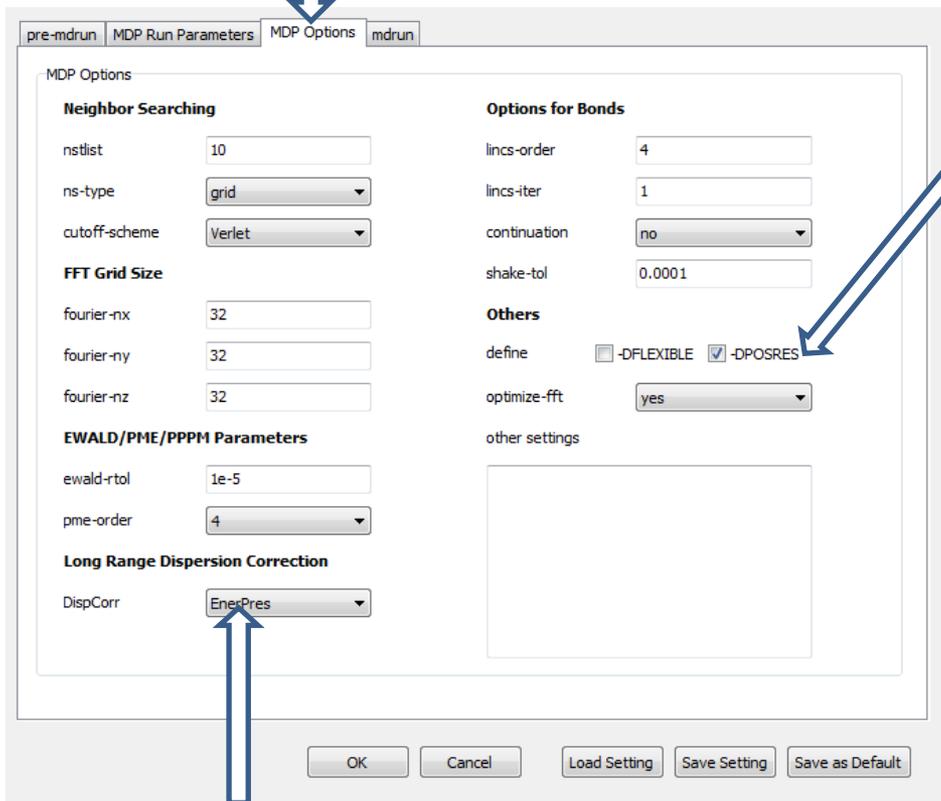
どちらも0.1 0.1 に設定する。

どちらも300 K (約25°C)に設定する。

「Protein non-protein」と入力する

# 得られた構造を用いて熱平衡計算(温度・圧力一定)を行う(2)

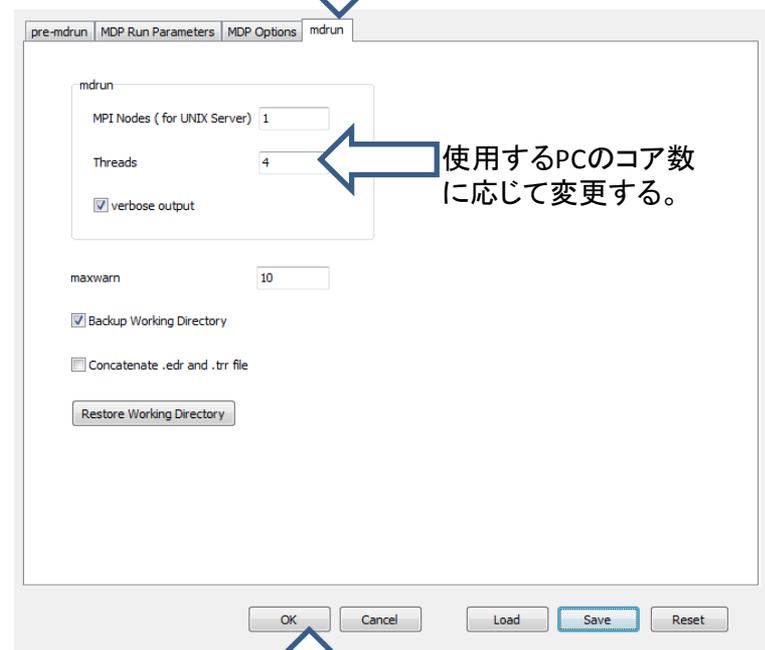
[MDP Options]タブをクリック



エネルギーと圧力の  
長距離補正を行う

タンパクの骨格原子を固定する。

[mdrun]タブをクリック



使用するPCのコア数  
に応じて変更する。

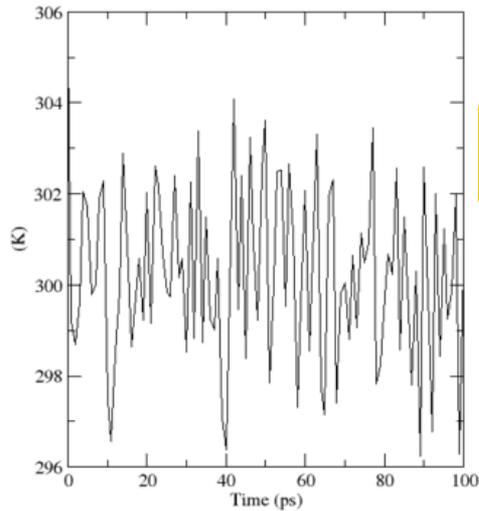
[OK]をクリック



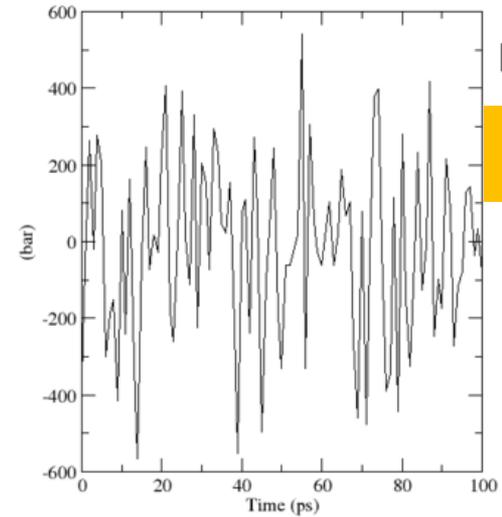
→ Gromacsを起動 → 計算終了

⇒ 1h27:14

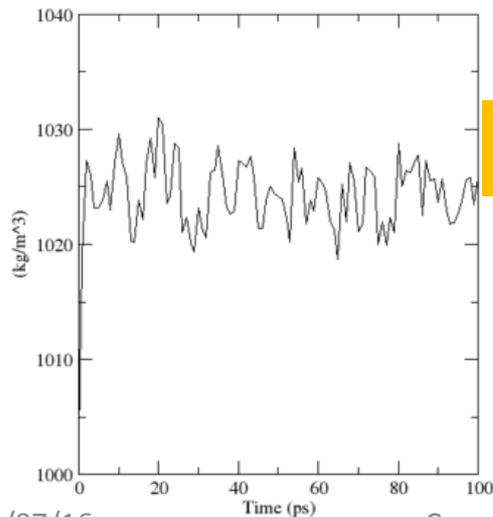
# 系の温度、エネルギー、密度変化などを確認する



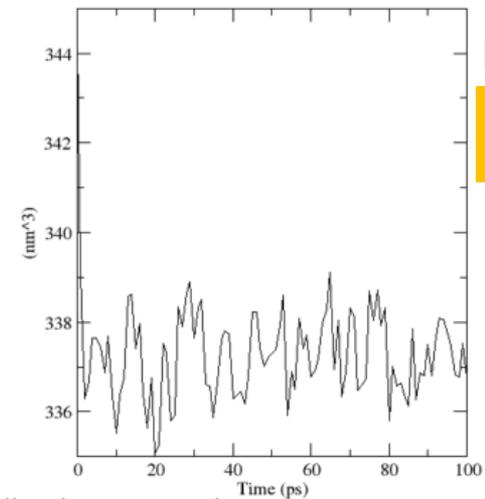
温度が300Kに制御されている。



圧力も制御されている。



密度が、ほぼ 1 g/cm<sup>3</sup> となっている。



体積変化も安定している。

# 得られた構造を初期構造として本計算(1ナノ秒)を実行する(1)

最初に[MDP Run Parameters]タブをクリック

Extending Simulationに  
チェックを入れる

integratorをmdに変更

1ナノ秒 (2 fs \* 500,000  
step) のMD計算を行う。

Parinello-Rahman法で  
圧力を行う。  
2.0に設定する。

all bondsに変更  
(すべての結合を  
拘束する。)

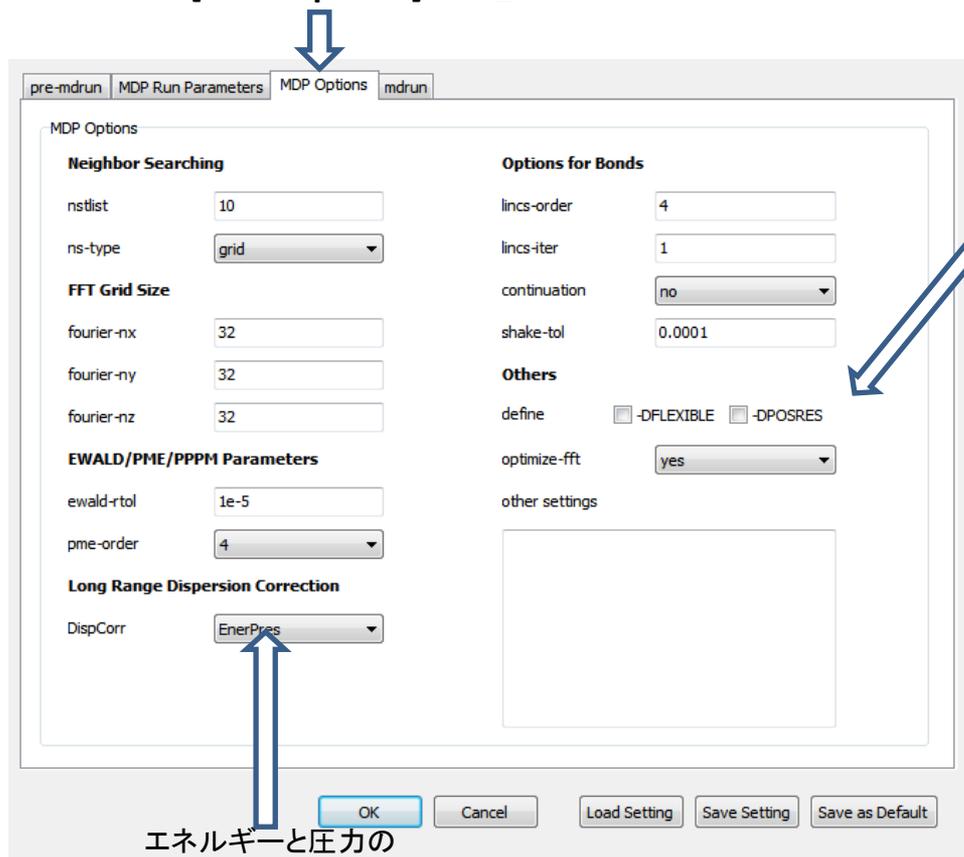
1000step毎にファイ  
ル出力させる

V-rescale法で温度制御を行う。 どちらも300 K (約25°C)に設定する。

どちらも0.1 0.1に設定する。

## 得られた構造を初期構造として本計算(1ナノ秒)を実行する(2)

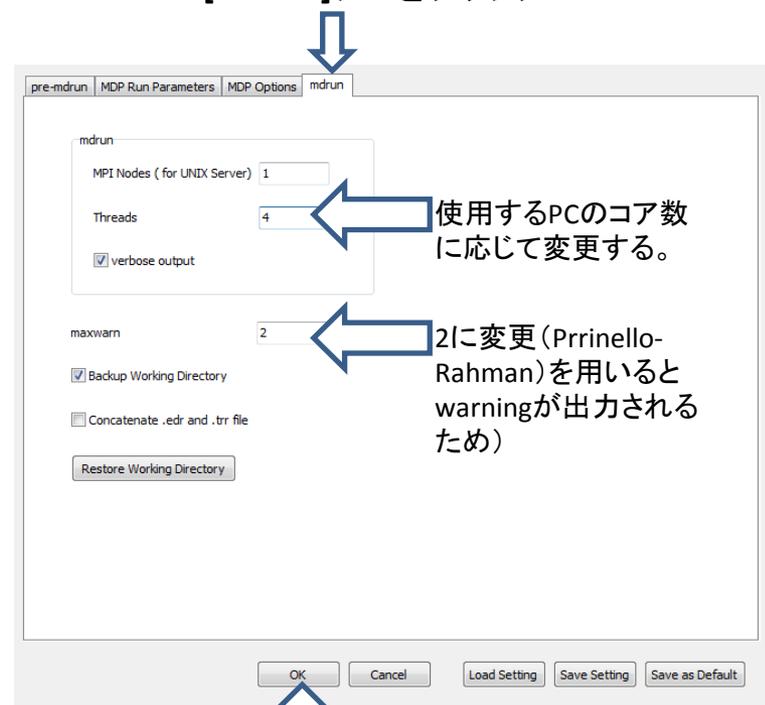
[MDP Options]タブをクリック



エネルギーと圧力の  
長距離補正を行う

チェックを外す。

[mdrun]タブをクリック



使用するPCのコア数  
に応じて変更する。

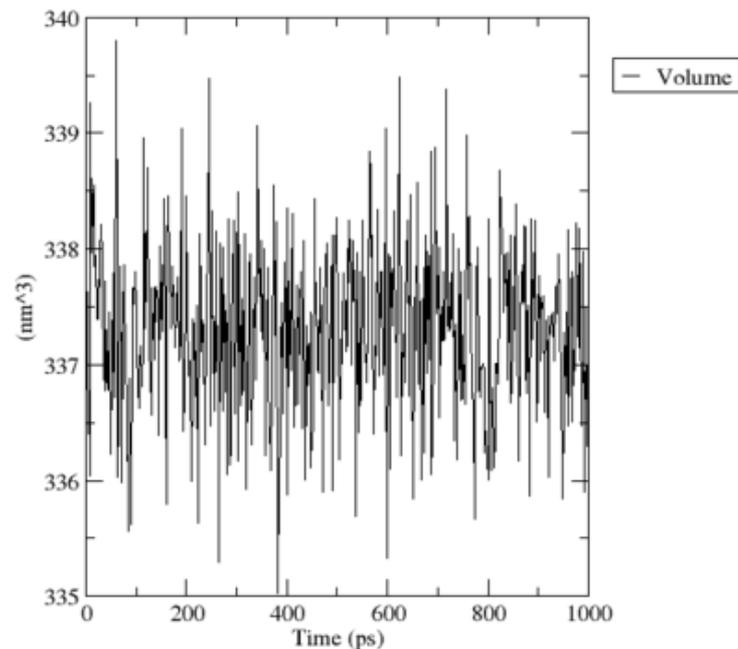
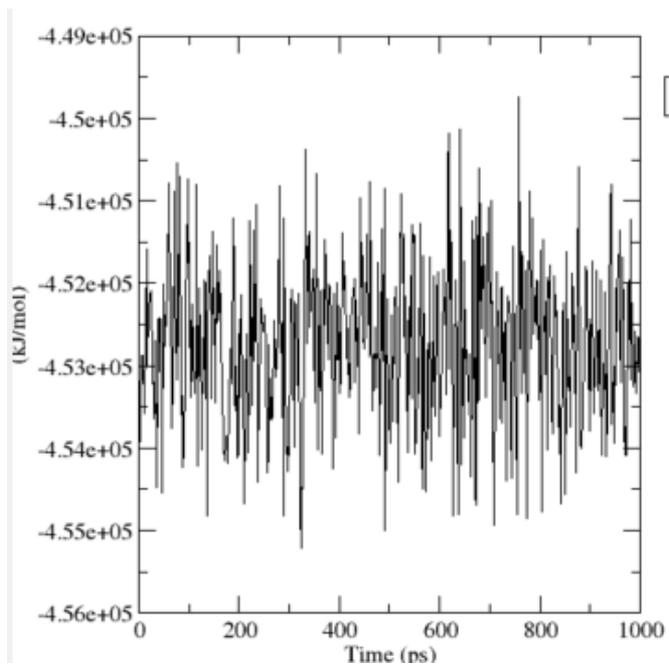
2に変更(Prrinello-  
Rahman)を用いると  
warningが出力される  
ため)

[OK]をクリック

→ Gromacsを起動 → 計算終了

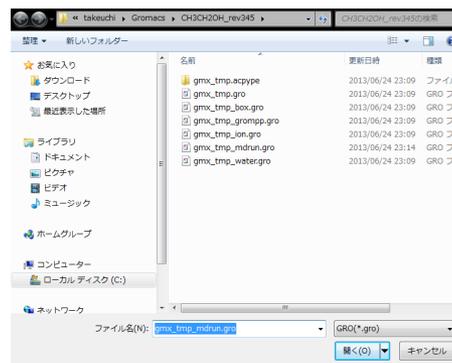
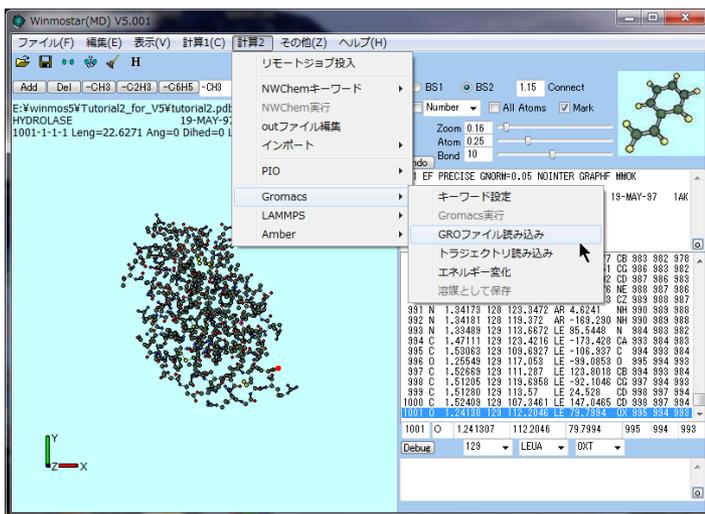
⇒ 2h48:29

# 系のエネルギー、体積変化などを確認する



# トラジェクトリーを確認する(1)

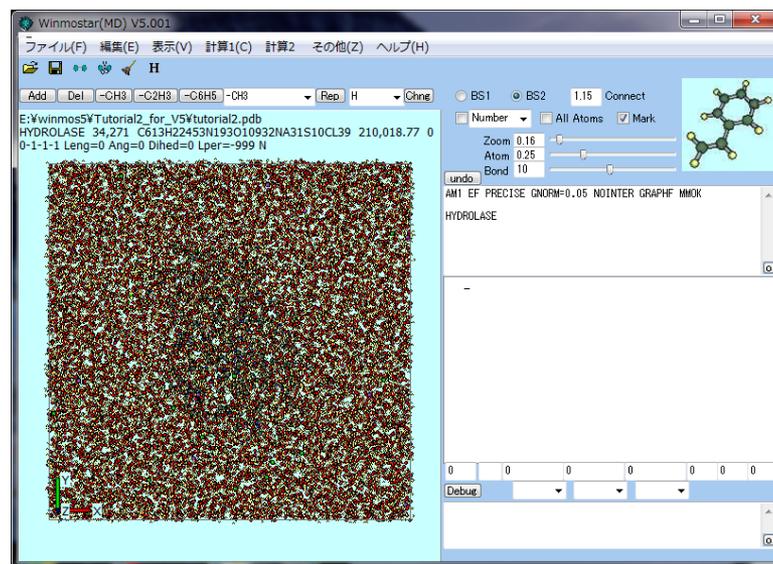
計算2 → Gromacs → GMOファイル読み込み を起動



gmx\_tmp\_mdrun.groを指定

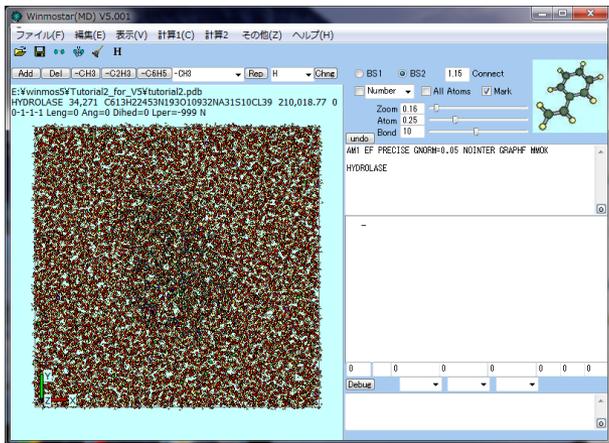


MDの最終ステップ(500,000ステップ  
= 1000 ps)の3D構造が表示される

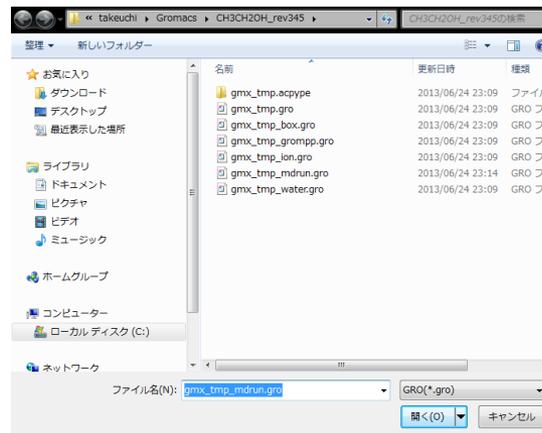


# トラジェクトリーを確認する(2)

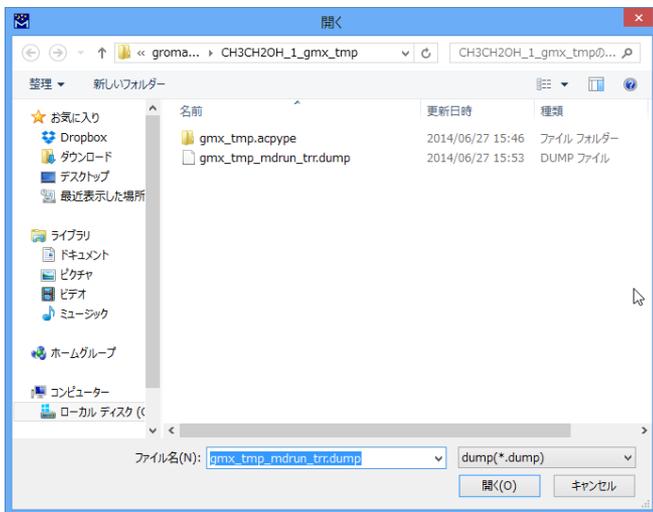
計算2→Gromacs→トラジェクトリ読み込みを起動



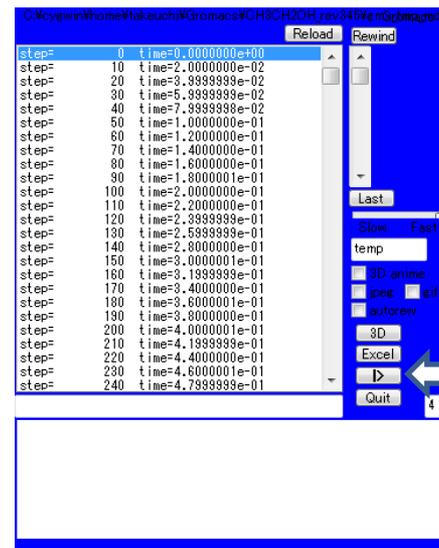
gmx\_tmp\_mdrun.groを指定



gmx\_tmp\_mdrun\_trrを指定



(開くのにかかる時間がある)



再生ボタンをクリック

# トラジェクトリーを確認する(3)

アニメーションが始まる。

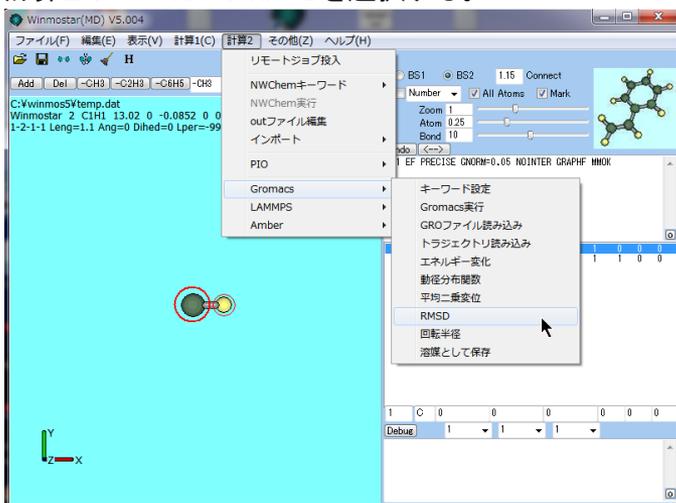
The screenshot displays the Winmostar(MD) V5.001 software interface. The main window shows a 3D visualization of a protein structure (HYDROLASE) in a simulation box. The interface includes a menu bar (File, Edit, View, Calculation, etc.), a toolbar, and a control panel with options for atom selection (BS1, BS2), zoom, and atom/bond visibility. The animation control panel on the right shows a list of frames and times, with frame 183 highlighted. A white arrow points to the '3D' button in the animation panel, with the text '3Dボタンをクリック' (Click the 3D button) next to it.

frame	time
166	332.000000
167	334.000000
168	336.000000
169	338.000000
170	340.000000
171	342.000000
172	344.000000
173	346.000000
174	348.000000
175	350.000000
176	352.000000
177	354.000000
178	356.000000
179	358.000000
180	360.000000
181	362.000000
182	364.000000
183	368.000000
184	368.000000
185	370.000000
186	372.000000
187	374.000000
188	376.000000
189	378.000000
190	380.000000

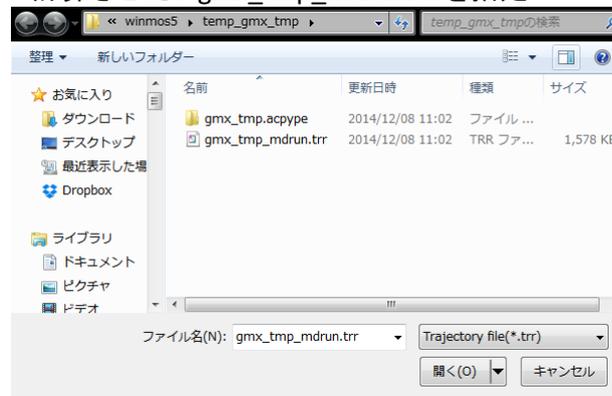
# RMSDを計算する(1)

タンパクのバックボーンの初期構造とMD計算途中の構造の差異をRMSDで比較し、タンパクの構造が崩れることなくMD計算が正常に進行したかを確認する。

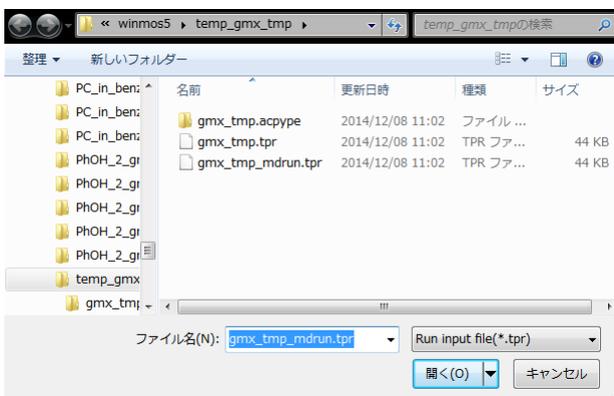
計算2→Gromacs→RMSDを選択する。



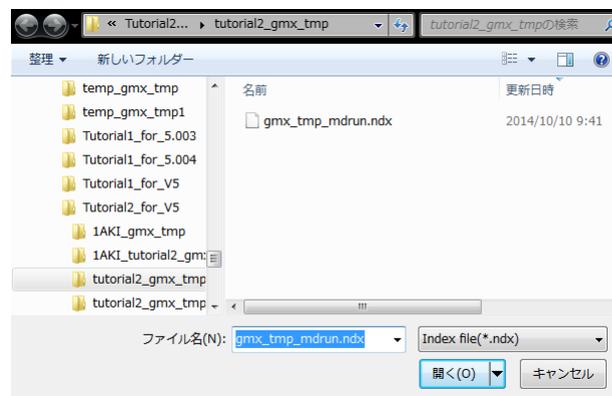
計算させたいgmx\_tmp\_mdrun.trrを指定



比較対象となるgmx\_tmp\_mdrun.tprを指定



インデックスファイルgmx\_tmp\_mdrun.ndxを選択



# RMSDを計算する(2)

Group  
4 : Backbone

Create Group

First Frame (ps)  
1.0

Draw Close

Autoscale

XMIN XMAX  
YMIN YMAX

Redraw Save as CSV

**①** (通常は) [Backbone]を選択する。

**②** Drawをクリックする。

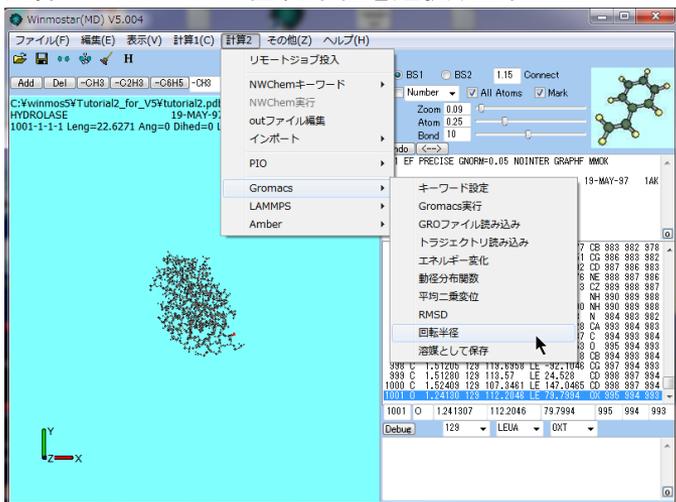
**③** グラフが表示される。

The figure is a line graph titled "RMSD" with the subtitle "Backbone after lsq fit to Backbone". The y-axis is labeled "RMSD (nm)" and ranges from 0.05 to 0.2. The x-axis is labeled "Time (ps)" and ranges from 0 to 1000. The graph shows a fluctuating line representing the RMSD over time, starting around 0.05 nm at 0 ps and ending around 0.07 nm at 1000 ps. The line has several peaks, with the highest peak reaching approximately 0.11 nm around 300 ps. The graph is enclosed in a dashed box with the annotation "③ グラフが表示される。".

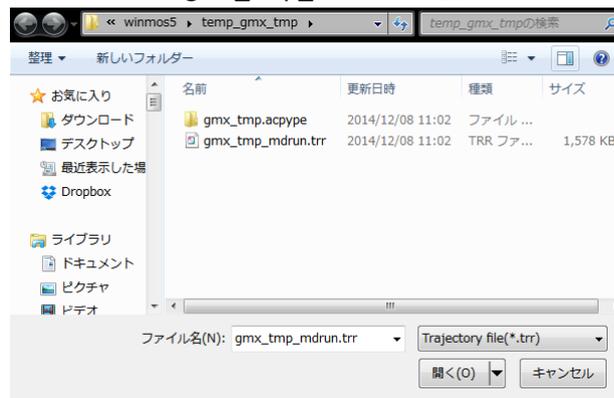
# 回転半径( $R_g$ )を計算する(1)

タンパクのバックボーンの回転半径( $R_g$ )の時間変化を確認し、タンパクの構造が崩れることなくMD計算が正常に進行したかを確認する。

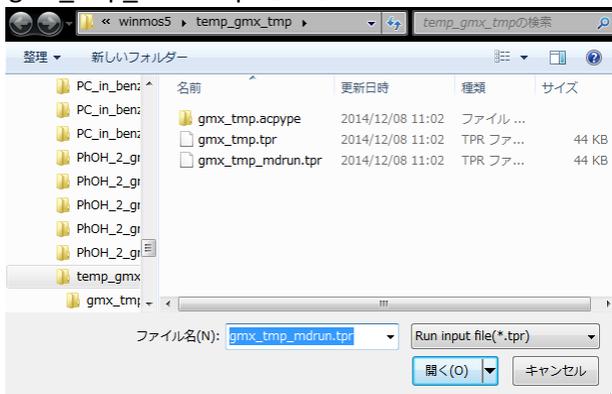
計算2→Gromacs→ 回転半径を選択する。



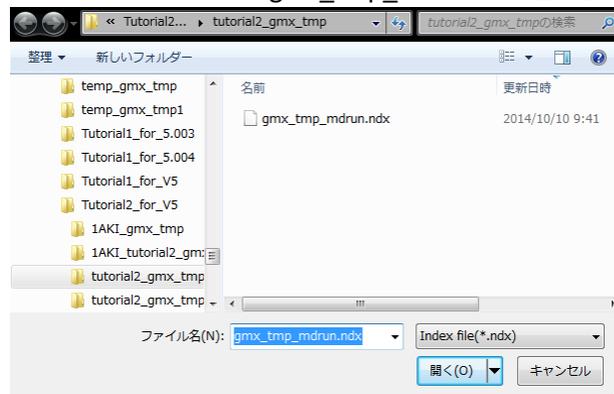
計算させたいgmx\_tmp\_mdrun.trrを指定



gmx\_tmp\_mdrun.tprを選択



インデックスファイルgmx\_tmp\_mdrun.ndxを選択



# 回転半径( $R_g$ )を計算する (2)

Group  
4 : Backbone

Create Group

First Frame (ps)  
1.0

Draw

Close

Autoscale

XMIN  XMAX

YMIN  YMAX

Redraw Save as CSV

### Radius of gyration

① (通常は) [Backbone]を選択する。

② Drawをクリックする。

③ グラフが表示される。(RgX, RgY, RgZは、それぞれの慣性主軸周りの回転半径)

