

AICS公開ソフト講習会 第16回 「GENESIS」実習

理研、計算科学研究機構(AICS)

粒子系生物物理研究チーム

2017/01/13

今日の内容

- 13:00 – 17:00 実習
 - GENESISのコンパイル
 - 実行例(1) 分子動力学法計算
 - GENESISのトラブルシューティング
 - 実行例(2) レプリカ交換分子動力学法計算と自由エネルギー計算

実習の材料

今回の実習の材料は以下のディレクトリにあります
最初にこのファイルを自分のホームディレクトリで展開してください
/data/acourse/Lecture_0113/tutorial_data.tar

```
% tar xvf /data/acourse/Lecture_0113/tutorial_data.tar
```

Compile: (GENESISのコンパイル)
genesis-1.1.1 (最新のGENESIS code)
tests-1.1.1 (コンパイルテスト)

env: (今回のチュートリアル用の設定ファイル)

Tutorial_1: (Tutorial 1 : タンパク質MD)

- 1_setup
- 2_minimization
- 3_heating
- 4_equilibration

- 5_production
- 6_analysis

Tutorial_2: (Tutorial 3: タンパク質のレプリカ交換MD)

- 1_setup
- 2_minimize_pre-equi
- 3_equilibrate
- 4_production
- 5_analysis

今日のチュートリアルの内容は以下からもダウンロードできます

Tutorial_1

http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/tutorial/basic_md_tutorials/tutorial-1-1/

Tutorial_2

<http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/tutorial/remd-tutorials/tutorial-2-2/>

GENESISのコンパイル (1)

GENESISのsrcディレクトリに移動してください

```
% cd Compile/genesis-1.1.1/src
```

GENESISのソースツリー

```
.:
COPYING
README      簡単な説明
src/        ソースコード
bin/        バイナリ(コンパイル後)
depcomp
install-sh
lib/        共通コード
Missing
spdyn/      spdynのコード

./src:
GENESIS_VERSION
Makefile.am
Makefile.in
aclocal.m4
analysis/   解析ツールのコード
atdyn/      atdynのコード
bootstrap
cleanup
config.h.in
configure
configure.ac
depcomp
install-sh
libana/     analysis共通コード
pcaana/     PCA解析
rpath_generator/ rpath生成コード
rstcnv/     rst_convertのコード
trjana/     trj_analysisのコード
trjcnv/     crd/pcrd/remd_convertの
            コード
```

GENESISのコンパイル (2)

推奨されるコンパイラ

Intel , Fujitsu compiler
gfortran 4.4.7より新しいもの

GENESISのコンパイルにはlapack, blasが必要

1. コンパイルはautoconfとmakeを使います

```
% ./configure --host=fx10  
% make  
% make install
```

2. 出来上がったバイナリはgenesis-1.1.1/binに作成されます

GENESISはMD, トラジェクトリ変換プログラム、解析プログラム合わせて9つのアプリケーションを作成します

今回は、時間の都合で、すでにコンパイル済みのアプリケーションを使います

GENESISのコンパイル (3)

その他の環境でのコンパイルの仕方

0. configureはヘルプで使用可能なオプション一覧を表示できます

```
% ./configure --help
```

1. (クロスコンパイルではない)通常のコパイル

```
% ./configure  
% make install
```

2. Mixed precision(混合精度)での計算の仕方

```
% ./configure --enable-single  
% make install
```

3. GPU&混合精度での計算の仕方

```
% ./configure --enable-gpu --enable-single  
% make install
```

4. デバッグモードでのコンパイル

```
% ./configure --enable-debug=3  
% make install
```

GENESISのテスト

GENESISが正しくコンパイルされている事を確認するために、開発者が提供する入出力ファイルによるテストを行うことを推奨します
こちら、ソースコードと同様にGENESISのウェブサイトからダウンロードが可能です

```
% cd Compile/tests-1.1.1/regression_test
```

GENESIS-1.1.0テストセットのツリー

./regression_test:		test_remd.py	
build/	計算用の初期ファイル	test_rpath.py	
charmm.py		test_rpath_atdyn/	rpath(atdyn)のテスト
genesis.py		test_rpath_spdyn/	rpath(spdyn)のテスト
param/	パラメータファイル	test_spdyn/	spdynのテスト
run.sh	バッチジョブ用のスクリプト		
test.py			
test_atdyn/	atdynのテスト		
test_common/	共通テスト		
test_nonstrict.py			
test_parallel_IO/	パラレルIOのテスト		
test_remd/	レプリカ交換のテスト		
test_remd.csh			

GENESISのテスト (2)

コンパイルテストの方法

FX10環境では、今回こちらで用意したrun.shというスクリプトを使います(省略)
通常のワークステーションでのやり方は以下です

```
% cd regression_tests
% export OMP_NUM_THREADS=1
% ./test.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/atdyn"
% ./test.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/spdyn"
```

プロセス数は必ず8にしてください。スレッド数はプロセス数以下が速度上、推奨です

GPUを用いた際(--enable-gpu)のテスト方法

```
% export OMP_NUM_THREADS=1
% ./test.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/spdyn" gpu
```

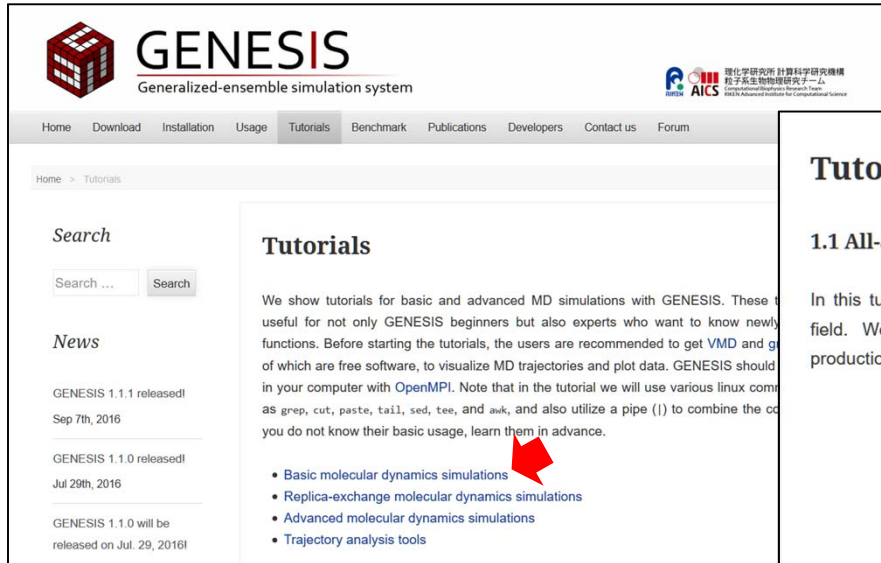
REMD, R-PATHのテスト方法

```
% export OMP_NUM_THREADS=1
% ./test_remd.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/spdyn"
% ./test_remd.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/atdyn"
% ./test_rpath.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/spdyn"
% ./test_rpath.py "mpirun -np 8 ${PATH_GENESIS}/atdyn"
```

注意: 倍精度・混合精度は自動で判別されます

Tutorial 1: タンパク質のMD

GENESIS マニュアルのTutorial 1 Tutorial_1/



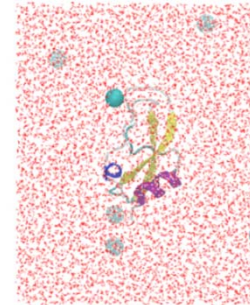
The screenshot shows the GENESIS website interface. The header includes the GENESIS logo and navigation links. The main content area is titled 'Tutorials' and contains a search bar, a news section, and a list of tutorial topics. A red arrow points to the 'Basic molecular dynamics simulations' link in the list.

水中のBPTI(牛腓臓トリプシン阻害酵素)のMD計算

Tutorials of basic MD simulations

1.1 All-atom MD simulation of BPTI in NaCl solution

In this tutorial, we introduce MD simulations of a small protein BPTI in NaCl solution with the CHARMM force field. We explain how to build the initial structure and how to carry out energy minimization, equilibration, and production run by using GENESIS.



http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/tutorial/basic_md_tutorials/tutorial-1-1/

1. Simulation systemの作成 (1_setup/)

GENESISは、現在入力用の分子ファイルを作成する部分は存在せず、CHARMMやVMDで作成された分子ファイル(top/par)を読み込むことができます

今回は時間の都合により、予め作成した分子ファイルを用います
(分子ファイルの作成方法に関しては、詳しくはTutorialをご覧ください)

Tutorial 1: 構造最適化(2_minimization/)

初期構造では、原子間の距離が近すぎたり、不自然な原子結合を持つようなことがあります。不安定なシミュレーションを避けるため、本計算を行う前に“平衡化”と呼ばれる予備計算を十分に行います。

構造最適化は、その第1段階でエネルギー値が下がる方向に粒子を動かします

GENESISでは現在、最急降下法(Steepest Decent)を使うことができます

Tutorial_1/2_minimization/

run.inp : GENESIS入力ファイル

run.sh : fx10用のジョブサブミットスクリプト

output/ : 計算結果

構造最適化の入力ファイル

```
[INPUT]
topfile = ../1_setup/top_all27_prot_lipid.rtf # topology file
parfile = ../1_setup/par_all27_prot_lipid.prm # parameter file
psffile = ../1_setup/ionize.psf # protein structure file
pdbfile = ../1_setup/ionize.pdb # PDB file
reffile = ../1_setup/ionize.pdb # reference for restraints

[OUTPUT]
dcdfile = run.dcd # DCD trajectory file
rstfile = run.rst # restart file

[ENERGY]
electrostatic = PME # [CUTOFF,PME]
switchdist = 10.0 # switch distance
cutoffdist = 12.0 # cutoff distance
pairlistdist = 13.5 # pair-list distance
contact_check = YES
pme_ngrid_x = 72 # grid size_x in [PME]
pme_ngrid_y = 80 # grid size_y in [PME]
pme_ngrid_z = 72 # grid size_z in [PME]

[MINIMIZE]
nsteps = 1000 # number of steps
eneout_period = 100 # energy output period
crdout_period = 100 # coordinates output period

rstout_period = 1000 # restart output period

[BOUNDARY]
type = PBC # [PBC,NOBC]
box_size_x = 70.8250 # box size (x) in [PBC]
box_size_y = 83.2579 # box size (y) in [PBC]
box_size_z = 69.0930 # box size (z) in [PBC]

[SELECTION]
group1 = an:CA | an:C | an:O | an:N # index of restraint group 1

[RESTRAINTS]
nfunctions = 1 # number of functions
function1 = POSI # restraint function 1
constant1 = 10.0 # force constant
select_index1 = 1 # restrained group
```

Coulomb相互作用でPMEを用いる

位置拘束
どの粒子に拘束をかけるのかは
[SELECTION]で選ぶ
([SELECTION]に関してはManual 11、または巻末を参照)

原子間距離を確認し「Bad contact」や不自然な距離をレポートし、さらに力の値に制限をかける
(最適化・平衡化のみで使用してください)

長距離相互作用で用いるFFTのグリッド数
(2,3,5の倍数かつ、並列数によって最適値が変わる、一般的にはグリッドサイズが1 Å程度になるようにする。詳しくはマニュアルの5.3.1を参照)

ステップ数

構造最適化の実行

計算の実行

```
% cd ~/Lecture_0113/Tutorial_1/2_minimization  
% psub run.sh
```

Jobの状況を調べるには

```
% pstat
```

Jobが終わったら以下のファイルが出力されているはずです

run.dcd : dcd形式のトラジェクトリファイル (binary)
err.o : スクリプトのエラーファイル
run.out : GENESIS出力ファイル (ascii)
run.rst : GENESISリスタートファイル (binary)

出力ファイル(run.out)

```
*****  
*                               *  
*      GENESIS SPDYN           *  
*                               *  
*  A Molecular Dynamics Simulator with  
*  Spatial Decomposition Scheme  *  
*                               *  
*    Developed by RIKEN AICS    *  
*                               *  
*****
```

出力ファイルの見方

GENESISの出力ファイルは7段階([STEP 0]-[STEP 6])に分かれている

[STEP 0] : 計算環境の確認

[STEP 1] : 入力パラメータの確認

[STEP 2] : 並列数(プロセス数、スレッド数)の確認

[STEP 3] : 分子・エネルギー関数情報の確認

[STEP 4] : 初期座標のエネルギー計算結果

[STEP 5] : シミュレーション計算結果

INFO:	STEP	POTENTIAL_ENE	RMSG	BOND	ANGLE	UREY-BRADLEY	DIHEDRAL	IMPROPER	CMAP	VDWAALS	ELECT RESTRAINT_TOTAL	
INFO:	0	-101597.1585	30.2479	11247.1385	2939.9532	74.9561	260.8373	62.6065	-72.0093	11798.1692	-127908.8099	0.0000
INFO:	100	-114456.2091	5.4597	3977.1511	2353.8183	51.5709	256.4578	22.6346	-74.3462	9730.9841	-130775.5114	1.0317

[STEP 6] : 終端処理と計測時間

Output_Time> Averaged timer profile (Min, Max)	nonbond	=	109.986 (109.658,	110.141)				
total time	=	137.159	pme real	=	83.219 (81.500,	84.919)		
setup	=	5.843	pme recip	=	26.077 (24.516,	27.847)		
dynamics	=	131.316	restraint	=	0.221 (0.178,	0.251)		
energy	=	122.896	integrator						
integrator	=	0.838	constraint	=	0.000 (0.000,	0.000)		
pairlist	=	5.774 (5.629,	5.963)	update	=	0.000 (0.000,	0.000)
energy					comm_coord	=	0.000 (0.000,	0.000)
bond	=	0.657 (0.587,	0.708)	comm_force	=	0.000 (0.000,	0.000)
angle	=	0.717 (0.696,	0.751)	comm_migrate	=	0.000 (0.000,	0.000)
dihedral	=	1.275 (1.236,	1.295)					

Tutorial 1:温度上昇シミュレーション (3_heating/)

構造最適化で、ある程度の安定構造にした後、システムの温度をゆっくり変化させ、本計算で用いる温度まで上昇させる。

GENESISでは'Annealing' オプションを使ってゆっくり温度を変化させるようなシミュレーションができます

Tutorial_1/3_heating/

run.inp : GENESIS入力ファイル

run.sh : fx10用のジョブサブミットスクリプト

output/ : 計算結果

入力ファイル抜粋

[INPUT]

```
topfile = ../1_setup/top_all27_prot_lipid.rtf # topology file  
(skip)  
rstfile = ../2_minimization/run.rst # restart file
```

[DYNAMICS]

```
integrator = LEAP <# [LEAP,VVER]  
nsteps = 5000 # number of MD steps  
timestep = 0.002 # timestep (ps)  
(skip)  
annealing = YES # simulated annealing  
anneal_period = 50 # annealing period  
dtemperature = 3 # temperature change at annealing (K)
```

LEAP: Leapfrog
VVER: Velocity Verlet

50 stepに1回、3Kずつ
温度を上げる

[CONSTRAINTS]

```
rigid_bond = YES # constraints all bonds  
# involving hydrogen
```

[ENSEMBLE]

```
ensemble = NVT # [NVE,NVT,NPT]  
tpcontrol = LANGEVIN # thermostat  
temperature = 0.1 # initial temperature (K)
```

チュートリアルでは時間の関係でこのステップ数にしていますが、実際はもっと長い計算を行います

温度上昇シミュレーションの実行

計算の実行

```
% cd ~/Tutorial_1/3_heating  
% psub run.sh
```

計算が終わったら以下のファイルが出力されているはずです

run.dcd : dcd形式のトラジェクトリファイル (binary)
run.err : スクリプトのエラーファイル
run.out : GENESIS出力ファイル (ascii)
run.rst : GENESISリスタートファイル (binary)

出力ファイル抜粋

[STEP 5]

```
INFO:  STEP      TIME    TOTAL_ENE  POTENTIAL_ENE  KINETIC_ENE      RMSG      BOND      ANGLE  UREY-  
BRADLEY  DIHEDRAL  IMPROPER    CMAP    VDWAALS      ELECT  RESTRAINT_TOTAL  TEMPERATURE  
VOLUME  
-----  
(..skip..)  
Simulated_Annealing_Leapfrog> Anneal temperature from 213.100 to 216.100  
INFO:  3650      7.3000  -121015.8486  -134668.2442  13652.3956      14.8398      129.1861      316.5600  
34.9546      301.9510      20.3742      -76.0000      17444.0571  -152886.2023      46.8752      184.8766      407423.5098  
  
Simulated_Annealing_Leapfrog> Anneal temperature from 216.100 to 219.100  
INFO:  3700      7.4000  -120524.6696  -134365.7978  13841.1281      14.8065      135.7281      319.1936  
42.6740      291.7295      14.9113      -82.0820      17460.5756  -152587.8837      39.3559      187.4323      407423.5098
```

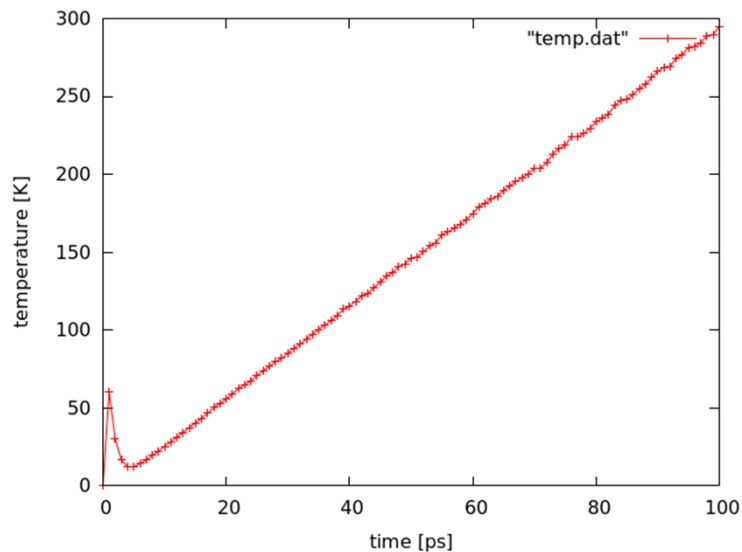
計算結果の確認

■ 温度の変化を確認します

- GENESIS出力ファイルから各ステップでの温度を抽出し、gnuplotでプロットします (今回は省略)

```
% sh temp.sh  
% gnuplot  
gnuplot> plot "temp.dat" w lp
```

実行結果



```
$ cat temp.sh  
#!/bin/bash  
  
grep "^INFO" output/run.out | tail -n  
+2 | awk '{print $3, $17}' >temp.dat
```


Tutorial 1:平衡化(4_equilibration/)

システムを計算させたい温度に上げた後、本計算と同じ条件の計算を行い、システムを平衡化させる (研究を行う上では、非常に重要なステップ)

Tutorial_1/4_equilibration/

run.inp : GENESIS入力ファイル

run.sh : fx10用のジョブサブミットスクリプト

output/ : 計算結果

入力ファイル抜粋

[OUTPUT]

dcdfile = run.dcd # DCD trajectory file

トラジェクトリ書き出しを行い、温度・エネルギーだけでなく、中の分子も平衡に達していることも確認する

(3)と同様にrun.shを実行してください

[ENERGY]

[CONSTRAINTS]

[RESTRAINS (今回はない)]

[ENSEMBLE]

これらのパラメータは基本的に本計算と同じものを使う

[ENSEMBLE]

ensemble = NPT # [NVE,NVT,NPT]

tpcontrol = LANGEVIN # thermostat and barostat

temperature = 300.0 # initial temperature (K)

pressure = 1.0 # target pressure (atm)

チュートリアルでは時間の関係でこのステップ数にしていますが、実際はもっと長い計算を行います (温度・エネルギーの安定性だけでなく、分子の観測したい性質が安定することも確認します)

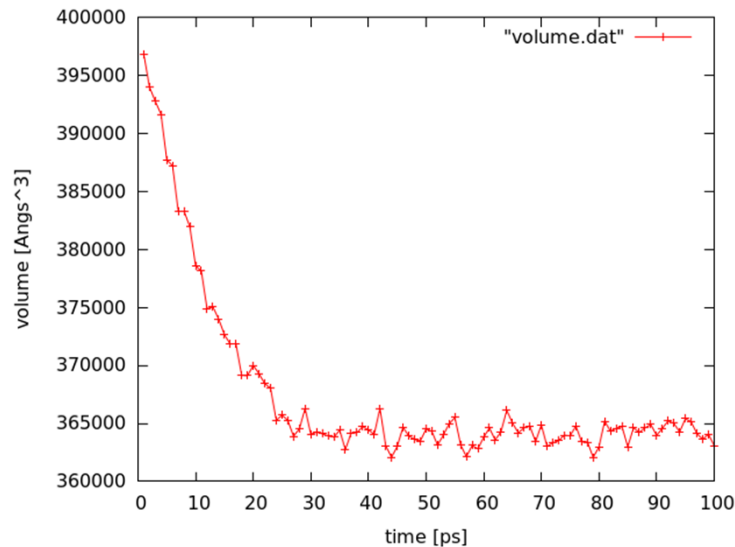
計算結果の確認

■ 体積の変化を確認します

- GENESIS出力ファイルから各ステップでの体積を抽出し、gnuplotでプロットします(今回は省略)

```
$ sh vol.sh  
$ gnuplot  
gnuplot> plot "vol.dat" w lp
```

実行結果



```
$ cat vol.sh  
#!/bin/bash  
  
grep "^INFO" output/run.out | tail -n  
+2 | awk '{print $3, $17}' > vol.dat
```

Tutorial 1:本計算(5_production/)

実際にデータを取るための計算

Tutorial_1/5_production/

run.inp : GENESIS入力ファイル

run.sh : fx10用のジョブサブミットスクリプト

output/ : 計算結果

(3)と同様にrun.shを
実行してください

入力ファイル抜粋

トラジェクトリ書き出しを行うことで、研究に
用いる様々な性質を計算する

[OUTPUT]
dcdfile = run.dcd # DCD trajectory file

チュートリアルでは時間の関係でこのステップ数にしていますが、
実際はもっと長い計算を行います。(講義の資料の4P参照)

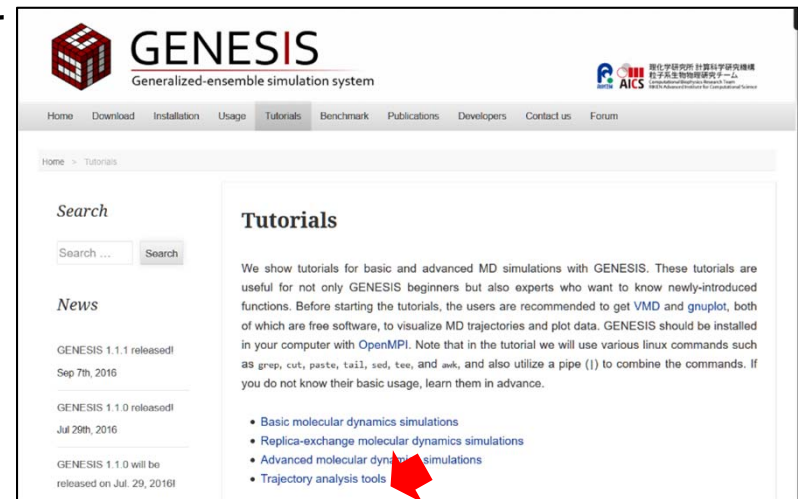
Tutorial 1:解析(6_analysis/)

■ 求めたトラジェクトリから様々な解析を行います

- GENESISは、得られたトジェクトリーを必要に応じて加工し、基本的な解析を行う独自のツールを提供します

(例)

```
./6_analysis:  
1_RMSD          # RMSDの計算  
2_DIST          # 距離の計算  
3_RMSF          # RMSFの計算  
4_PCA           # PCA解析
```



- 今回は一例として、「trjana/rmsd_analysis」ツールを用いて、システムの中からCa原子のみ抜き出しそのRMSD(根二乗平均変位:基準の座標からどれだけずれたかを見る)を計算します

```
./1_RMSD:  
run.inp        # GENESISの入力ファイル  
run.sh         # バッチスクリプト
```

解析の入力ファイル

■ Trajectory、selection、fittingで解析対象と内容を指定します

```
[INPUT]
reffile = ../../1_setup/ionize.pdb # PDB file

[OUTPUT]
rmsfile = run.rms # RMSD file

[TRAJECTORY]
trjfile1 = ../../5_production/output/run.dcd # trajectory
file
md_step1 = 500000 # number of MD steps
mdout_period1 = 500 # MD output period
ana_period1 = 500 # analysis period
repeat1 = 1
trj_format = DCD # (PDB/DCD)
trj_type = COOR # (COOR/COOR+BOX)

trj_natom = 0 # (0:uses reference PDB atom count)

[SELECTION]
group1 = an:CA # selection group 1

[FITTING]
fitting_method = TR+ROT # method
fitting_atom = 1 # atom group
mass_weight = YES # mass-weight is applied

[OPTION]
check_only = NO # (YES/NO)
analysis_atom = 1 # atom group
```

Caのみ選択

基準構造に対する重ね合わせを行う (TR+ROT: 並進と回転で重ね合わせする)

YES: 本計算しない

複数trjfileを扱う場合に指定簡略化

■ run.shの内容は基本的にanalysisツールを実行するものです

```
rmsd_analysis run.inp > run.out
```

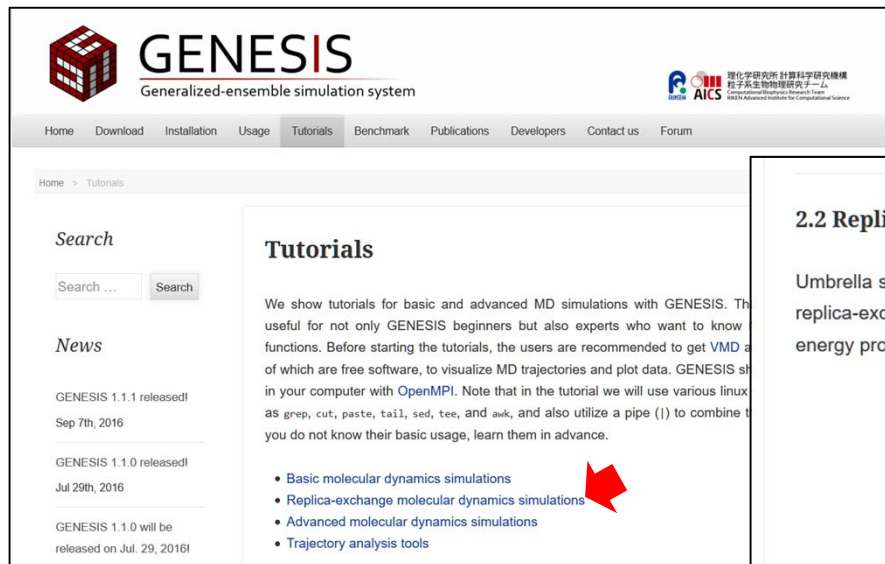
'trj_analysis'を用いる事で、距離・角度・二面角などを計算することも可能

GENESISのトラブルシューティング

- GENESISが異常終了する
 1. “contact_check” optionをYES, nstep=20で計算
MDステップに入る前の段階で構造のチェックを行います
ログに”too short distance”などのメッセージが表示された場合は、構造が不安定ですので構造最適化・平衡化を行ってください
近日中にcontact_check機能を高めたversionの公開予定
 2. ./configure --enable-debug=3を用いて再コンパイル
セル内のアトム数などを確認しながら計算を行います
配列外アクセスが起きた際にはエラーを返しますので、セル数の最大値を変更するなどしてください
 3. GENESISのForumに投稿してください

Tutorial 2: タンパク質のレプリカ交換MD

Tutorial_2/



GENESIS
Generalized-ensemble simulation system

Home Download Installation Usage **Tutorials** Benchmark Publications Developers Contact us Forum

Home > Tutorials

Tutorials

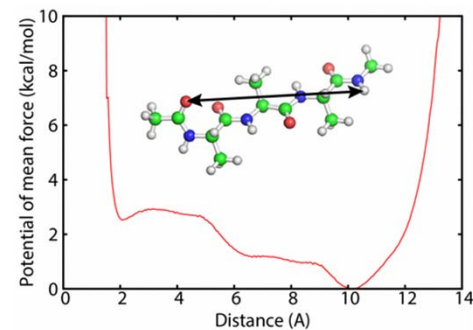
We show tutorials for basic and advanced MD simulations with GENESIS. They are useful for not only GENESIS beginners but also experts who want to know advanced functions. Before starting the tutorials, the users are recommended to get VMD and GROMACS, which are free software, to visualize MD trajectories and plot data. GENESIS ships with OpenMPI in your computer with OpenMPI. Note that in the tutorial we will use various linux commands as grep, cut, paste, tail, sed, tee, and awk, and also utilize a pipe (|) to combine them. If you do not know their basic usage, learn them in advance.

- Basic molecular dynamics simulations
- **Replica-exchange molecular dynamics simulations**
- Advanced molecular dynamics simulations
- Trajectory analysis tools

アンブレラサンプリング
レプリカ交換MD計算

2.2 Replica-exchange umbrella sampling

Umbrella sampling method has been widely used to calculate free energy profile. In this tutorial, we demonstrate a replica-exchange umbrella sampling simulation (REUS) of the alanine tripeptide in water. We analyze the free energy profile of the end-to-end distance of the peptide.



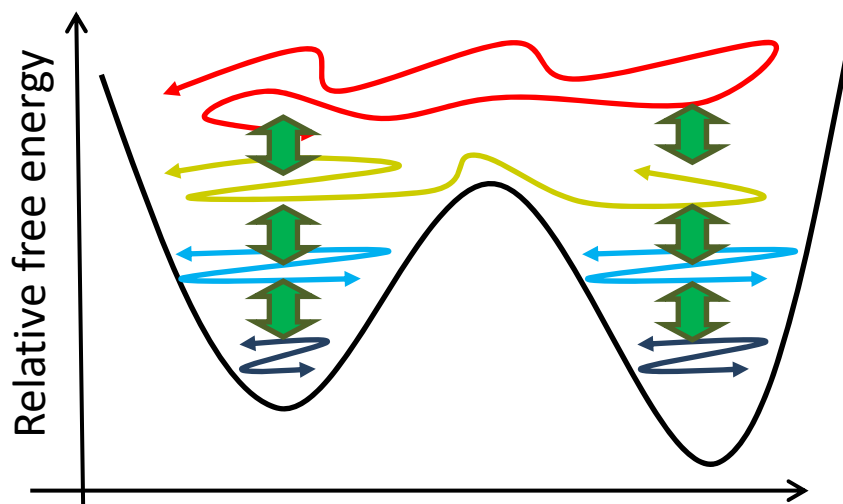
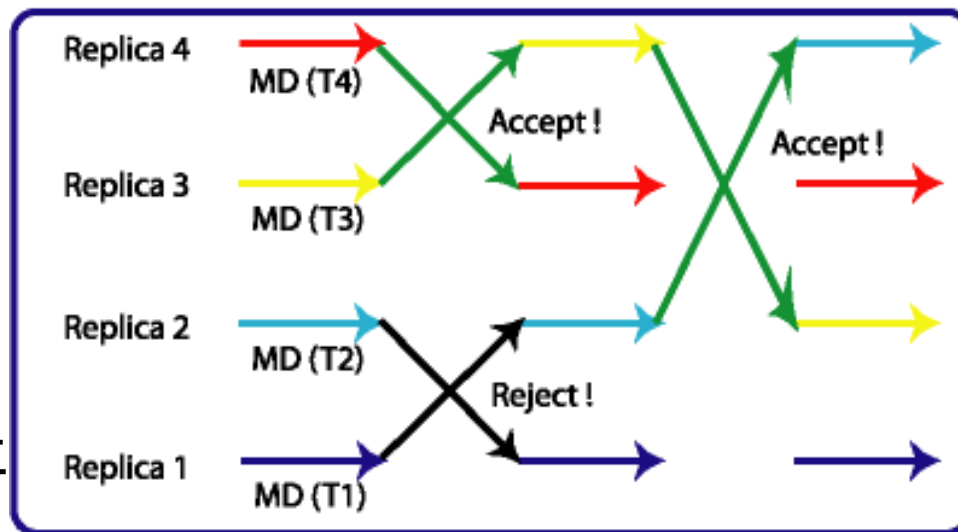
<http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/tutorial/remd-tutorials/tutorial-2-2/>

レプリカ交換MD

Sugita and Okamoto, *Chem. Phys. Lett.*, **314**:141-151 (1999)

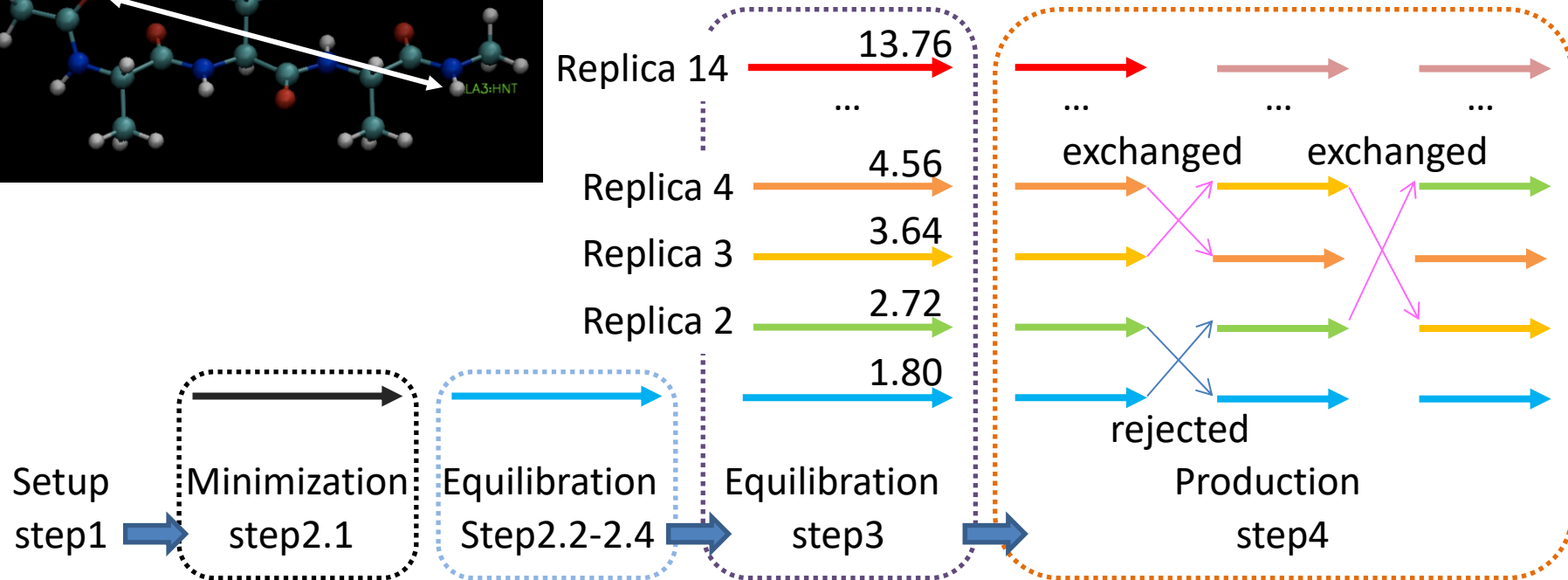
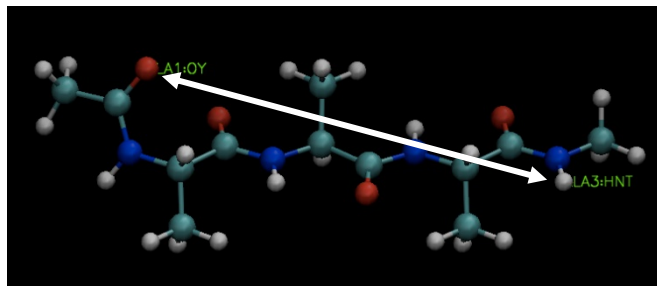
Sugita et al., *J. Chem. Phys.*, **113**:6042-6051 (2000)

- オリジナルのコピー(=レプリカ)を多数作成し、温度、ハミルトニアン等の物理条件を変え、お互いを相互作用させることなくサンプリング
- 特定のタイミングで隣接レプリカの物理条件を詳細釣り合わせに従い交換
- 物理条件の交換により、より効率の良いサンプリングを可能
- 交換のタイミング以外では他のレプリカと相互作用しないため、超並列計算において高効率を達成



レプリカ交換MDの手順

実際の研究においてレプリカ数と温度の幅はシステムの原子数、システム自体の性質によって変わります



今回は時間と使用可能なノード数の都合により、8レプリカ、かつ、ステップ数を短くして行います。

チュートリアルの内容

1. Simulation systemの作成 (1_setup/)

2. 構造最適化と平衡化 (2_minimize_pre-equil/)

こちらはレプリカではなく単独MDとして走らせます

この手順はチュートリアル1と同様です

今回は時間の都合により、
予め作成したデータを使
います

3. 各レプリカの平衡化 (3_equilibrate/)

各レプリカ上のシステムを計算させたい距離に変化させ平衡化(レプリカの交換なし)

4. 本計算(4_production/)

レプリカ交換を行う

5. 解析(5_analysis/)

レプリカ交換を行う

Tutorial 2: 平衡化 (3_equilibrate/)

```
[INPUT]
topfile = ../1_setup/top_all36_prot.rtf # topology file
parfile = ../1_setup/par_all36_prot.prm # parameter file
strfile = ../1_setup/toppar_water_ions.str # stream file
psffile = ../1_setup/wbox.psf # protein structure file
pdbfile = ../1_setup/wbox.pdb # PDB file
rstfile = ../2_minimize_pre-equi/step2.4.rst # restart file

[OUTPUT]
logfile = step3_rep{}.log # log file of each replica
dcdfile = step3_rep{}.dcd # DCD trajectory file
rstfile = step3_rep{}.rst # restart file

[REMD]
dimension = 1 ← レプリカ交換MDの指定セクション
exchange_period = 0 ← レプリカの更新頻度 (交換をしない)
iseed = 3141592
type1 = RESTRAINT
#nreplica1 = 14
nreplica1 = 8 ← 交換されるrestraint関数の指定 (今日は時間と利用ノード数の関係で8に変えています)
cyclic_params1 = NO
rest_function1 = 1

[ENERGY]
forcefield = CHARMM # CHARMM
electrostatic = PME # Particle Mesh Ewald
switchdist = 10.0 # switch distance
cutoffdist = 12.0 # cutoff distance
pairlistdist = 13.5 # pair-list distance
vdw_force_switch = YES # force switch option for van der Waals
pme_nspline = 4 # order of B-spline in [PME]
pme_max_spacing = 1.0 # max grid spacing

[DYNAMICS]
integrator = LEAP # [LEAP,VVER]
#nsteps = 50000 # number of MD steps in REMD

[BOUNDARY]
type = PBC # Periodic boundary condition

[SELECTION]
group1 = an:OY and resno:1 # restraint group 1
group2 = an:HNT and resno:3 # restraint group 2

[RESTRANTS]
nfunctions = 1
function1 = DIST
#constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
#reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24 9.16 10.08 11.00 11.92 12.84 13.76
constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24
select_index1 = 1 2

[CON]
rigid

[ENSE]
enser
tpcon
temp
gamm

[BOUND]
type = PBC # Periodic boundary condition

[SELECTION]
group1 = an:OY and resno:1 # restraint group 1
group2 = an:HNT and resno:3 # restraint group 2

[RESTRANTS]
nfunctions = 1
function1 = DIST
#constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
#reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24 9.16 10.08 11.00 11.92 12.84 13.76
constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24
select_index1 = 1 2
```

単独のリスタートファイルからスタート
レプリカ毎に出力ファイルを生成
(※){}内はレプリカを示す数字で展開される
(e.g. step3_rep1.dcd)

Tutorial 2: 本計算 (4_production/)

[INPUT]

```
topfile = ../1_setup/top_all36_prot.rtf # topology file
parfile = ../1_setup/par_all36_prot.prm # parameter file
strfile = ../1_setup/toppar_water_ions.str # stream file
psffile = ../1_setup/wbox.psf # protein structure file
pdbfile = ../1_setup/wbox.pdb # PDB file
rstfile = ../3_equilibrate/step3_rep{}.rst # restart file
```

[OUTPUT]

```
logfile = step4_rep{}.log # log file of each replica
dcdfile = step4_rep{}.dcd # DCD trajectory file
rstfile = step4_rep{}.rst # restart file
remfile = step4_rep{}.rem # parameter index file
```

[REMD]

```
dimension = 1
exchange_period = 1000
type1 = RESTRAINT
#nreplica1 = 14
nreplica1 = 8
cyclic_params1 = NO
rest_function1 = 1
```

レプリカ交換MDの指定セクション

レプリカの更新頻度

交換されるrestraint関数の指定

[ENERGY]

```
forcefield = CHARMM # CHARMM force field
electrostatic = PME # Particle Mesh Ewald method
switchdist = 10.0 # switch distance
cutoffdist = 12.0 # cutoff distance
pairlistdist = 13.5 # pair-list distance
vdw_force_switch = YES # force switch option for van der Waals
pme_nspline = 4 # order of B-spline in [PME]
pme_max_spacing = 1.0 # max grid spacing
```

[DYNAMICS]

```
integrator = LEAP # [LEAP,VVER]
#nsteps = 2000000 # number of MD steps in REMD
nsteps = 5000 # number of MD steps in REMD
```

```
timestep = 0.002 # timestep (ps)
#eneout_period = 50 # energy output period
#crdout_period = 50 # coordinates output period
eneout_period = 500 # energy output period
crdout_period = 500 # coordinates output period
#rstout_period = 2000000 # restart output period
rstout_period = 5000 # restart output period
nupdate_period = 10 # nonbond update period
```

レプリカ毎のリスタートファイルからスタート
レプリカの数だけ出力ファイルを生成

[ENSEMBLE]

```
ensemble = NVT # NVT ensemble
tcpcntrol = LANGEVIN # Langevin thermostat
temperature = 300.0 # target temperature (K)
gamma_t = 1.0 # thermostat friction (ps-1) in [LANGEVIN]
```

[BOUNDARY]

```
type = PBC # Periodic boundary condition
```

[RESTRAINT]

```
group1 = an:OY and resno:1 # restraint group 1
group2 = an:HNT and resno:3 # restraint group 2
```

[RESTRAINTS]

```
nfunctions = 1
function1 = DIST
#constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
#reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24 9.16 10.08 11.00 11.92
12.84 13.76
constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24
select_index1 = 1 2
```

レプリカ交換MDの実行

計算が終わったら以下のファイルが出力されているはずですが

- remd_run[1-8].dcd :各レプリカのdcd形式のトラジェクトリファイル (binary)
- remd_run.out : 全体のアウトプットファイル
- remd_run[1-8].log : 各レプリカのエネルギーファイル
- remd_run[1-8].dcd : レプリカ交換出力ファイル (ascii)
- remd_run[1-8].rst : GENESISリスタートファイル (binary)
- remd_run[1-8].rem : レプリカ情報ファイル**

各レプリカがどの距離(パラメータ)を計算しているのかを出力
トラジェクトリの解析に重要!

レプリカ交換出力ファイル

```
REMD> Step: 13000 Dimension: 1 ExchangePattern: 2
```

Replica	ExchangeTrial	AcceptanceRatio	Before	After
1	1 > 0 N	0 / 0	1	1
2	3 > 2 A	2 / 7	3	2
3	2 > 3 A	2 / 7	2	3
4	7 > 6 A	3 / 7	7	6
5	6 > 7 A	3 / 7	6	7
6	4 > 5 R	3 / 7	4	4
7	5 > 4 R	3 / 7	5	5
8	8 > 0 N	0 / 0	8	8

Parameter :	1	2	3	6	7	4	5	8
ReplIDtoParmID:	1	2	3	6	7	4	5	8
ParmIDtoReplID:	1	2	3	6	7	4	5	8

A: 交換成功(Accepted)
R: 交換失敗(Rejected)

レプリカ情報ファイル

0	1
1000	1
2000	2
3000	3

Step数

距離(パラメータ)の
番号

Tutorial 2: 解析 (5_analysis/)

5_analysisではいくつかの解析のための例がありますが、今日はremd_convertを用いて、求めた各レプリカのトラジェクトリからパラメータ毎のトラジェクトリファイルへと変換し、距離を求めた後にWHAMを用いて自由エネルギー面を求めます

```
1_convert_dcd  
2_sort_dcd  
3_calc_ratio  
4_plot_index  
5_calc_dist  
6_calc_wham
```

今回は時間の都合により、予め作成したデータを使い、流れを説明します。
詳しくはチュートリアル of ページをご覧ください

<http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/tutorial/remd-tutorials/tutorial-2-2/>

解析 (5_analysis/)

1. Coordinateファイルの変換 (1_convert_dcd) : *crd_convert*

```
[INPUT]
reffile = ../../1_setup/wbox.pdb
psffile = ../../1_setup/wbox.psf

[OUTPUT]
pdbfile = step4_rep1.pdb
trjfile = step4_rep1.dcd

[TRAJECTORY]
#trjfile1 = ../../4_production/step4_rep1.dcd
#md_step1 = 2000000 # number of MD steps
#mdout_period1 = 50 # MD output period
#ana_period1 = 50 # analysis period
trjfile1 = ../../4_production/saved_data/step4_rep1.dcd
md_step1 = 40000 # number of MD steps
mdout_period1 = 500 # MD output period
ana_period1 = 500 # analysis period
repeat1 = 1
trj_format = DCD # (PDB/DCD)

trj_type = COOR+BOX # (COOR/COOR+BOX)
trj_natom = 0 # (0:uses reference PDB atom count)

[SELECTION]
group1 = an:N or an:CA or an:C or an:O
group2 = sid:PROA

[FITTING]
fitting_method = TR+ROT # method
fitting_atom = 2 # atom group
mass_weight = YES # mass-weight is applied

[OPTION]
check_only = NO # (YES/NO)
trjout_format = DCD # (PDB/DCD)
trjout_type = COOR+BOX # (COOR/COOR+BOX)
trjout_atom = 2 # atom group ←
pbc_correct = NO # (NO/MOLECULE)
```

座標のfitting指定
セクション

出力させる原子を
選ぶ

2. Coordinateファイルを各パラメータ毎に配置し直す (2_sort_dcd) : *remd_convert*

```
[INPUT]
reffile = ../1_convert_dcd/step4_rep1.pdb # PDB file
dcdfile = ../1_convert_dcd/step4_rep{}.dcd # DCD file
#remfile = ../../4_production/step4_rep{}.rem # REMD parameter ID file
remfile = ../../4_production/saved_data/step4_rep{}.rem # REMD parameter ID file

[OUTPUT]
pdbfile = step4_par.pdb # PDB file
trjfile = step4_par{}.dcd # trajectory file

[SELECTION]
group1 = all # selection group 1

[FITTING]
fitting_method = NO # method

[OPTION]
check_only = NO # (YES/NO)
convert_type = PARAMETER # (REPLICA/PARAMETER)
convert_ids = # (empty = all)(example: 1 2 5-10)
#dcd_md_period = 50 # input dcdfile MD period
dcd_md_period = 500 # input dcdfile MD period
trjout_format = DCD # (PDB/DCD)
trjout_type = COOR+BOX # (COOR/COOR+BOX)
trjout_atom = 1
pbc_correct = NO # (NO/MOLECULE)
```

dcd/remファイルが必須

配置の仕方を指定

解析 (5_analysis/)

5. Distanceの計算 (5_calc_dist) : *trj_analysis*

```
[INPUT]
reffile = ../2_sort_dcd/step4_par.pdb # PDB file

[OUTPUT]
disfile = parameter1.dis # distance file

[TRAJECTORY]
trjfile1 = ../2_sort_dcd/step4_par1.dcd # trajectory file
#md_step1 = 2000000 # number of MD steps
#mdout_period1 = 50 # MD output period
#ana_period1 = 50 # analysis period
md_step1 = 40000 # number of MD steps
mdout_period1 = 500 # MD output period

ana_period1 = 500 # analysis period
repeat1 = 1
trj_format = DCD # (PDB/DCD)
trj_type = COOR+BOX # (COOR/COOR+BOX)
trj_natom = 0 # (0:uses reference PDB atom count)

[OPTION]
check_only = NO
distance1 = PROA:1:ALA:OY PROA:3:ALA:HNT
```

それぞれのパラメータ毎に計算を行う

6. 自由エネルギーの計算 (6_calc_wham) : *wham_analysis*

```
[INPUT]
cvfile = ../5_calc_dist/parameter/parameter{}.dis

[OUTPUT]
pmffile = output.pmf # potential of mean force file

[WHAM]
dimension = 1
nblocks = 1
temperature = 300.0
rest_function1 = 1
tolerance = 1E-08
#grids1 = 0.0 15.0 301

grids1 = 0.0 8.0 201

[RESTRAINTS]
function1 = DIST
#constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 ¥
# 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
#reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 ¥
# 8.24 9.16 10.08 11.00 11.92 12.84 13.76
select_index1 = 1 2
constant1 = 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2 1.2
reference1 = 1.80 2.72 3.64 4.56 5.48 6.40 7.32 8.24
is_periodic1 = NO
```


Appendix

GENESISの原子・分子選択”selection”

Table. Available keywords and operators in group.

expression	meaning	example	other available expression
<i>an:name</i>	atom name	an:CA	atomname, atom_name
<i>ai:number[-[number]]</i>	atom index ^{*1}	ai:1-5	atomindex, atomidx
<i>atno:number[-[number]]</i>	atom number ^{*1}	atno:6	atomno
<i>rnam:name</i>	residue name	rnam:GLY	residuenam, resname
<i>rno:number[-[number]]</i>	residue number	rno:1-5	residueno, resno
<i>mname:name</i>	molecule name	mname:molA	moleculenam, molname
<i>segid:ID</i>	segment index	segid:PROA	segmentid, sid
hydrogen	hydrogen atoms		hydrogenatom
heavy	heavy atoms		heavyatom
all	all atoms		*
and	conjunction		&
or	logical add		
not	negation		!
()	assemble		

(GENESIS User Guide 1.1.0)