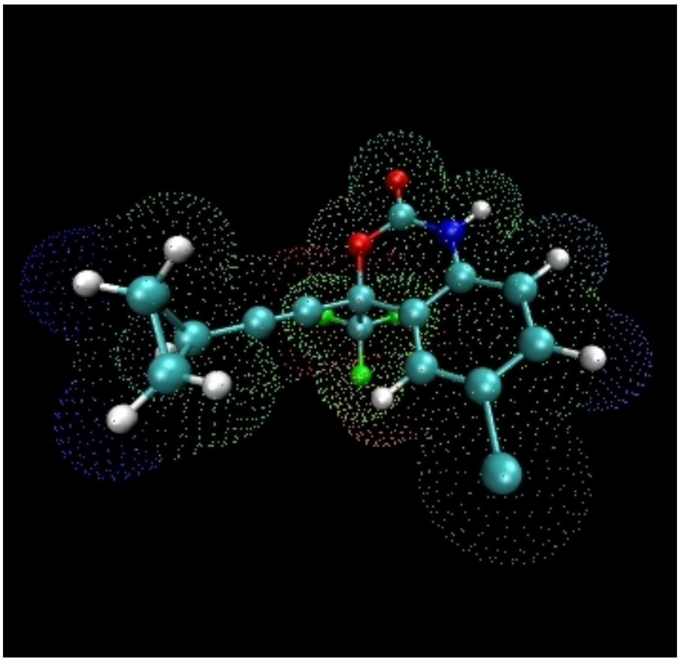
TUTORIAL B4

Using Antechamber to Create Leap Input Files for Simulating Sustiva using the General Amber Force Field



By Ross Walker

訳
大阪府立大学・生命環境科学研究科
応用生命科学専攻・生体情報化学研究室
和田野　晃

このチュートリアルでは、Leap で使用できる有機化合物に対する prmtop と inpcrd ファイルを作成し AMBER 8 でシミュレーションが出来るようにすることを目的とする。そのために、同梱されている Antechamber tools のマニュアルを記述する。
Antechamber は"general AMBER force field (GAFF)"とともに使用する。この force field は特にほとんどの pharmaceutical molecules をカバーする様に作成され、traditional AMBER force fields と互換性があり、シミュレーションでは一緒に用いることが可能である。traditional AMBER force fields と同様に, GAFF は結合と結合角にたいして a simple harmonic function form を用いるが、一般のタンパク質と DNA に対応した AMBER force fields とは異なり GAFF で使用されている原子種はより一般的で、ほとんどの有機化合物に含まれる原子をカバーしている。現在、GAFF force field は 33 basic atom types と 22 special atom types を含んでいる。charge methods としては HF/6-31G* RESP or AM1-BCC2 が使用可能である。

目的的に, GAFF は完全な force field で、パラメータが存在しない場合はまれであり、有機化学で現れる C, N, O, S, P, H, F, Cl, Br および I をカバーしている。さらに、wince GAFF は、AMBER macromolecular force fields と完全に互換性があり、合理的ドラッグデザインに対する分子動力学的ツールになるであろう。特に、結合自由エネルギーの計算や分子ドッキング研究では重要になると思われる。

Antechamber tool set は、AMBER simulation programs に使用する topology files を短時間で作れるように設計されている。以前の tutorial では、マニュアルで原子タイプをアサインしていたが、antechamber は GAFF により自動的にアサインすることを可能にしている。Antechamber は以下の問題を解決する。

1. Automatically identify bond and atom types
2. Judge atomic equivalence
3. Generate residue topology files
4. Find missing force field parameters and supply reasonable suggestions

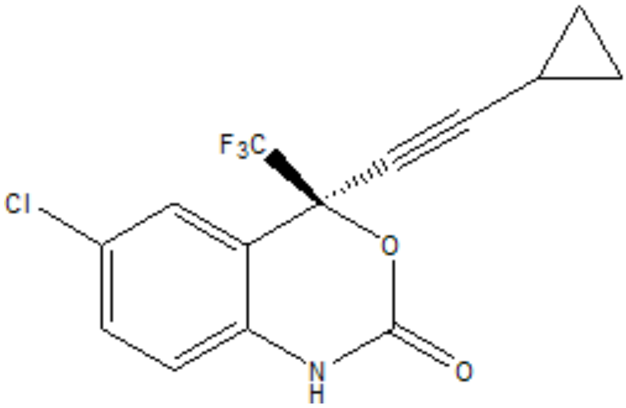
しかし、Antechamber は必ずしも完全に上記の問題を解決するわけではない。従って、常に Antechamber がアサインした原子タイプを自分で注意深くチェックす

る必要がある。Scientific software を内容がわからないまま、"Black Box" として使用しないようにしましょう!

TUTORIAL B4 - SECTION 2

Creating topology and coordinate files for Sustiva

このチュートリアルでは、Antechamber tools を Leap と共に用い、医薬品 Sustiva (efavirenz)の topology と coordinate files を作成します。 Sustiva (http://www.sustiva.com) は HIV-1specific, non-nucleoside, reverse transcriptase inhibitor で Bristol Myers Squibb により販売されており、人間に感染した HIV の進行をコントロールするために使われている。正式名は (S)-6-chloro-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one で構造式は C14H9ClF3NO2 、2D 構造は下記に示す。



sustiva.pdb

なにか、PDB ファイルを表示できるソフトでこの構造を、確認してみてください。

Antechamber でこの分子の原子タイプをアサインし、a set of point charges を計算します。Antechamber は Antechamber tools セットのなかで一番重要なソフトである。　このソフトは、多くのファイルの変換と原子のチャージとタイプをアサインする。Antechamber は必要につれ、以下のプログラムを実行するがそれら全て amber8 に含まれている。: *divcon*, *atomtype*, *am1bcc*, *bondtype*, *espgen*, *respgen* と *prepgen* である。 さらに大文字で表記される中間ファイルを多く作成する。

早速、antechamber を sustiva pdb file に適応してみる。 "prepin" file を作成するために、まず下記の command を使う。

```
>antechamber -i sustiva.pdb -fi pdb -o sustiva.prepin -fo prepi -c bcc -s 2
```

ここで「-i sustiva.pdb」は 3D structure file を指定し、「-fi pdb」は入力ファイルが pdb ファイルであることを示しています。 (これ以外にも、Gaussian Z-Matrix [gzmat], Gaussian Output [gout], MDL [mdl], amber Restart [rst], Sybyl Mol2 [mol2]が使えます). 「-o sustiva.prepin」は出力ファイル名を指定し、「-fo prepi」はそのタイプが amber PREP format で有ることを指定しています。 (このフォーマットは Leap で使えるものです). 「-c bcc」オプションは antechamber が BCC charge model を使用して atomic point charges 計算し、「-s 2」オプションは antechamber により作られる status information が verbosity（冗長性）であることを意味しています（ちょっと内容を理解不能？）。今回のケースでは２を選択している。以上を踏まえて上記コマンドを実行すると、画面の表示は表１のようになる。

表１　antechamber の実行

```
Running: /usr/local/amber8/exe/bondtype -i ANTECHAMBER_BOND_TYPE.AC0 -o
ANTECHAMBER_BOND_TYPE.AC -f ac -j full

Running: /usr/local/amber8/exe/atomtype -i ANTECHAMBER_AC.AC0 -o ANTECHAMBER_AC.AC -p gaff
Total number of electrons: 160; net charge: 0
Running: /usr/local/amber8/exe/divcon

Running: /usr/local/amber8/exe/am1bcc -i ANTECHAMBER_AM1BCC_PRE.AC -o
ANTECHAMBER_AM1BCC.AC -f ac -p /usr/local/amber8/dat/antechamber/BCCPARM.DAT -s 2 -j 1

Running: /usr/local/amber8/exe/atomtype -f ac -p bcc -o ANTECHAMBER_AM1BCC.AC -i
ANTECHAMBER_AM1BCC_PRE.AC

Running: /usr/local/amber8/exe/atomtype -i ANTECHAMBER_PREP.AC0 -o ANTECHAMBER_PREP.AC -p gaff

Running: /usr/local/amber8/exe/prepgen -i ANTECHAMBER_PREP.AC -f int -o sustiva.prepin -rn "SUS " -rf
molecule.res
```

最後には表２のファイルが作業ディレクトリに作られる。

表２

```
ANTECHAMBER_AC.AC         ANTECHAMBER_PREP.AC   divcon.rst
ANTECHAMBER_AC.AC0        ANTECHAMBER_PREP.AC0  NEWPDB.PDB
ANTECHAMBER_AM1BCC.AC     ATOMTYPE.INF          PREP.INF
ANTECHAMBER_AM1BCC_PRE.AC divcon.dmx            sustiva.prepin
ANTECHAMBER_BOND_TYPE.AC  divcon.in
ANTECHAMBER_BOND_TYPE.AC0 divcon.out
```

.

大文字で示すファイルは antechamber が使う中間ファイルであり、以降では必要がないので削除してもよい。うまくいかない場合、チェックすることが出来るので初期設定では削除しない divcon.xxx files は Antechamber が atomic point charges を計算するために用いる divcon quantum mechanics code の input と output ファイルで ある。ここでは、divcon calculation が完全に実行されたかどうかをチェックする以外には用いない。

表３　divcon.out

```
*******************************************************************************
*                                                                             *
*                   DIVCON 99a                                                *
*                                                                             *
 CYCLE =   431       TIME =     0.400  ENERGY =    -120.030094
 GNORM =      0.537  GRDMAX =    0.1988   GRDAVR =    0.0429
DELTAE =   -0.000057 DELTAX = 0.000029
ENERGY TEST PASSED
COORDINATE TEST PASSED
GRADIENT NORM TEST PASSED
GRADIENT COMPONENT TEST PASSED

-- GEOMETRY OPTIMIZED --

FINAL QUANTITIES:
-----------------
```

ここで興味あるファイルは、susutiva.prepin で、Antechamber の実行はこのファイルを作成するためである。

表４　**sustiva.prepin**

```
  0   0   2

This is a remark line
molecule.res
SUS    INT  0
CORRECT     OMIT DU   BEG
 0.0000
  1  DUMM  DU    M    0  -1  -2     0.000      .0        .0      .00000
  2  DUMM  DU    M    1   0  -1     1.449      .0        .0      .00000
  3  DUMM  DU    M    2   1   0     1.522   111.1        .0      .00000
  4  C2    ca    M    3   2   1     1.540   111.208   180.000  -0.17826
  5  C1    ca    M    4   3   2     1.386    86.897  -162.979  -0.04968
  6  H1    ha    E    5   4   3     1.072   120.119    25.599   0.16937
  7  C14   ca    M    5   4   3     1.379   119.724  -154.668  -0.01913
  8  Cl1   cl    E    7   5   4     1.742   119.676  -179.857  -0.07512
  9  C13   ca    M    7   5   4     1.385   120.634     0.368  -0.06683
 10  H9    ha    E    9   7   5     1.073   120.065   179.750   0.15651
 11  C12   ca    M    9   7   5     1.380   119.705     0.192  -0.17242
 12  H8    ha    E   11   9   7     1.076   120.047   179.373   0.14949
 13  C11   ca    M   11   9   7     1.388   119.964    -0.551   0.10869
 14  N1    n     M   13  11   9     1.388   121.155   179.940  -0.47390
 15  H7    hn    E   14  13  11     0.995   120.171     3.766   0.35663
 16  C10   c     M   14  13  11     1.362   124.462  -166.513   0.84152
 17  O2    o     E   16  14  13     1.183   123.299   172.521  -0.58069
 18  O1    os    M   16  14  13     1.338   115.711    -5.631  -0.37631
 19  C3    c3    M   18  16  14     1.416   124.597   -18.703   0.31502
 20  C9    c3    3   19  18  16     1.543   105.801   -88.841   0.61999
 21  F1    f     E   20  19  18     1.321   110.093    61.264  -0.22897
 22  F2    f     E   20  19  18     1.319   110.789  -179.348  -0.23078
 23  F3    f     E   20  19  18     1.311   111.555   -58.566  -0.21487
 24  C4    c1    M   19  18  16     1.470   107.200   154.846  -0.19720
 25  C5    c1    M   24  19  18     1.186   179.487   175.816   0.01368
 26  C6    cx    M   25  24  19     1.449   179.653  -134.955  -0.07873
 27  H2    hc    E   26  25  24     1.075   114.014    53.214   0.10860
 28  C7    cx    M   26  25  24     1.507   119.531   -91.769  -0.10741
 29  H3    hc    E   28  26  25     1.075   116.902   141.614   0.08023
 30  H4    hc    E   28  26  25     1.074   117.386    -0.494   0.08282
 31  C8    cx    M   28  26  25     1.489    60.373  -109.125  -0.11247
 32  H5    hc    E   31  28  26     1.075   118.643  -106.493   0.07951
 33  H6    hc    E   31  28  26     1.075   118.172   107.331   0.08074

LOOP
 C11   C2
  C3   C2
  C8   C6

IMPROPER
  C3  C11   C2   C1
  C2  C14   C1   H1
  C1  C13  C14  Cl1
 C12  C14  C13   H9
 C11  C13  C12   H8
 C12   C2  C11   N1
 C10  C11   N1   H7
  N1   O2  C10   O1

DONE
STOP
```

このファイルには、sustiva 残基の全てのチャージ、原子タイプ、が含まれ、それらにより、Leap を使って prmtop と inpcrd ファイルを作ることになる。
このファイルには、sustiva 分子の 3D 構造、それぞれの原子上のチャージ、原子の番号(column 1)、名前 (column 2) アトムのタイプ (column 3) が含まれている。
loop と不適当な torsion も示されている。しかし、このファイルにはパラメータは含まれていない。
GAFF parameters は全て $AMBERHOME/dat/leap/parm/gaff.dat に書かれている.。またここで示されている GAFF atom types は、全て小文字で表されている。これは、

GAFF force field が macromolecular AMBER force fields と独立して扱われるためである。普通、 AMBER force fields は大文字の原子タイプで示され、GAFF と traditional force fields が同じ計算のなかで混同されないようになっている。

ほとんどの bond, angle と dihedral parameters パラメータは、このファイル中で定義されてはいるが、まだ定義されずに残っているものがある可能性もある。その場合、定義されていないパラメータを prmtop と inpcrd ファイルを Leap で作成する前に調べておく必要がある。そのために、parmchk ユーティリティを用いる。

```
>parmchk -i sustiva.prepin -f prepi -o sustiva.frcmod
```

このコマンドを実行し、sustiva.frcmod ファイルを作成する。このパラメータファイルは、 Leap を実行する際に定義されてないパラメータを加えるために使用する。antechamber は、missing parameters を 同様のパラメータに対する analogy で可能な限り作成する。. しかし、シミュレーションの前に、これらのパラメータを少し注意深くチェックする必要がある。Antechamber が経験的にそれらの値を計算することが不可能であったり、アナロジーが無理な場合は、最もリーゾナブルだと思われる初期値を記入するか、ゼロを入れ"ATTN: needs revision"というコメントを書き加えるからである。その場合は自分でそれらのパラメータを加えなければならない。 GAFF が出来るだけパラメータを増やしてくれることを希望したい。表５は作成された frcmod である。

表５　sustiva.frcmod

```
remark goes here
MASS

BOND

ANGLE
ca-c3-c1   64.784    110.735   Calculated with empirical approach
c1-c1-cx   56.400    177.990   same as c1-c1-c3
c1-cx-hc   48.300    109.750   same as c1-c3-hc
c1-cx-cx   64.200    111.590   same as c1-c3-c3

DIHE

IMPROPER

NONBON
```

４つの missing angle parameters が書かれている。Xleap で後ほどどの原子がこれらに相当するかを検討する。このチュートリアルでは Antechamber が示したパラメータは正しいと仮定する。本来は例えば

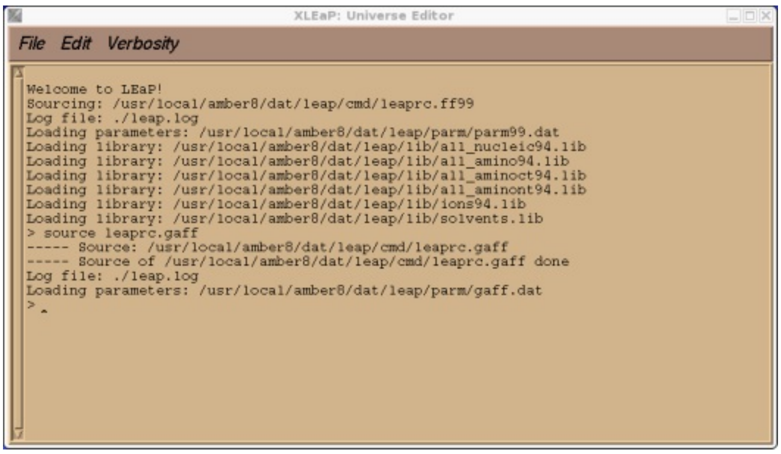
ab initio calculations などでこれらのパラメータを検討するのが望ましい。これまでの作業で Leap で sustiva 関係した必要なすべての情報をそろえた。Leap を実行し、GAFF force field が使用可能かどうかを検討する。traditional AMBER force fields と GAFF を一緒に使えることが可能なので、ここで a fragment of the HIV virus を入力し FF99 force field で扱い、sustiva 分子を GAFF force field で扱う。このチュートリアルでは、GAFF sustiva を読み込み、truncated octahedral box of TIP3P water に埋め込む。TIP3P water parameters は FF99 Leap script の一部として読み込まれるので、Xleap は以下のようにして実行できる（生命環境のコンピュータは、単に xleap enter のみで下記の実行と同じ条件で実行可能）。

```
>xleap -s -f $AMBERHOME/dat/leap/cmd/leaprc.ff99
```

Xleap が開始したら、GAFF force field が使えるかどうかを確認する。$AMBERHOME/dat/leap/cmd/ にスクリプトがあるので、以下のようにしてそれが確認可能である。

```
>source leaprc.gaff
```

OurXLeap window に以下のように表示される。



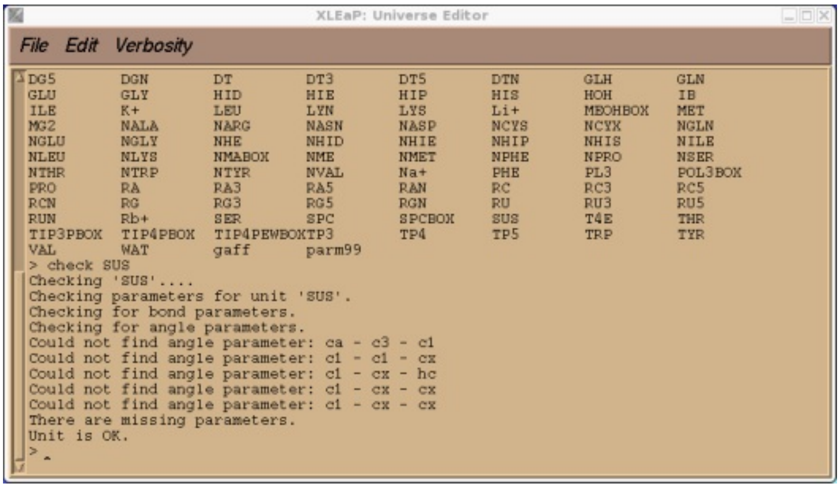
そこで sustiva.prepin を入力する

```
>loadamberprep sustiva.prepin
```

list と入力すると、SUS という新しい unit を確認することが出来る。この unit は prepin ファイルの 5 行目にある名前と同じ名前である。

Pramchk で作成した fremod ファイルを入力してないので SUS をチェックすると以下のように表示され、４つの 4 missing angle type parameters が有ることを確認できる。

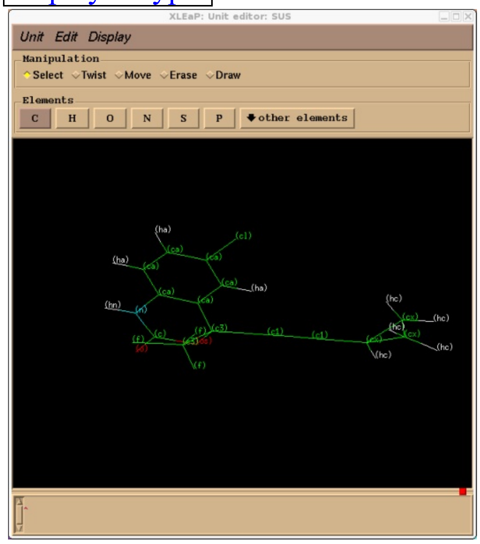
check SUS



Sustiva unit のどの原子にそれらが相当するかを見るために、以下のコマンドを入力する。

>edit SUS

Display->Types



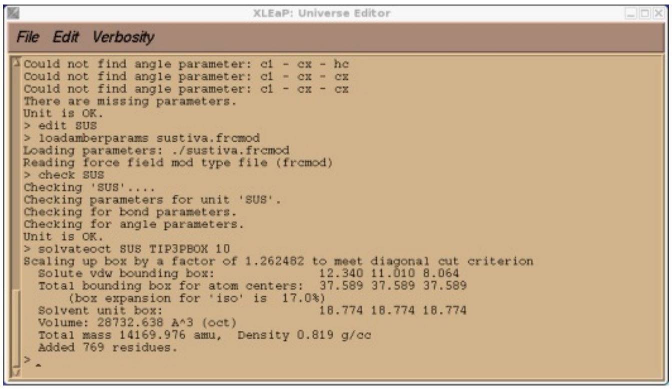
missing angle type parameters が ca-c3-c1, c1-c1-cx, c1-cx-hc and c1-cx-cx に相当することが分かる。 これらは propyl ring と c-c triple bond である。これらは有機化合物であまり無いことからも予測されることである。このウィンドを閉じ、frcmod ファイルを入力し Xleap に missing angle types のデータを与える。

.

>loadamberparams sustiva.frcmod

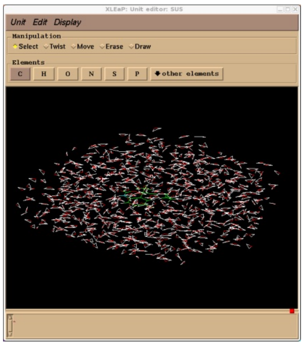
SUS unit をチェックすると、missing parameters が無いことを確認できる。そこで、水を加え prmtop と inpcrd file を作成する。

>solvateoct SUS TIP3PBOX 10



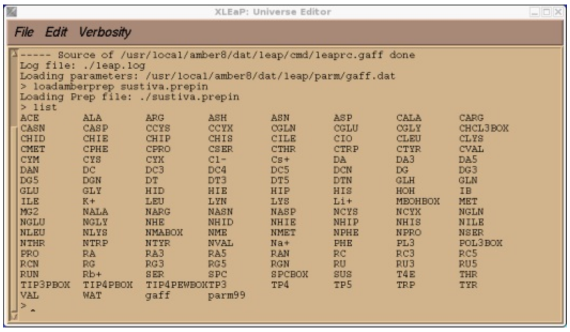
これで１０オングストロームのエッジをもつ sustiva molecule の全ての原子から最少距離にある pre-equilibrated TIP3P water の truncated octahedral box を作成することが出来る。Edit SUS と入力し確認する。

>edit SUS



これで topology と coordinate files ファイルを以下の様に入力し作成する。

>saveamberparm SUS sustiva.prmtop sustiva.inpcrd



これで必要なファイルが作成され、シミュレーションを開始することが可能である

1 Wang, J., Wolf, R.M., Caldwell, J.W., Kollman, P.A., Case, D.A. "Development and Testing of a General Amber Force Field", J. Comp. Chem., 2004, **25**, 1157 - 1173.

2 Jakalian, A., Bush, B.L., Jack, B.D., Bayly, C.I., "Fast, Efficient Generation of High-Quality Atomic Charges. AM1-BCC Model: I. Method.", J. Comp. Chem., 2000, **21**, 132-146.