

شبیه سازی دینامیک مولکولی با نرم افزار GROMACS

DO NOT C

فهرست مطالب

- ۱- چکیده ۴
- ۲- شبیه سازی های رایانه ای ۵
- ۳- شبیه سازی دینامیک مولکولی ۶
- ۴- پس زمینه پژوهش ۷
- ۵- امکانات و کاربردهای گرومکس ۹
- ۶- ویژگی های نرم افزار گرومکس ۱۱
- ۷- خلاصه ای از شبیه سازی دینامیک مولکولی با نرم افزار گرومکس ۱۱
- ۸- نصب و راه اندازی گرومکس و برنامه های جانبی دیگر ۱۱
- ۹- ساختار PDB ۱۲
- ۱۰- ایجاد یک توپولوژی گرومکس از فایل PDB ۱۳
- ۱۱- اضافه کردن آب حلال در اطراف پروتئین ۱۴
- ۱۲- اجرا کردن کمینه سازی انرژی ۱۶
- ۱۳- متعادل کردن دقیق آب در پروتئین ۱۷
- ۱۴- اجرای شبیه سازی فرآیند تولید ۱۸
- ۱۵- آنالیز شبیه سازی با گرومکس ۲۰
- ۱-۱۵- انحراف از ساختار اشعه X ۲۰
- ۲-۱۵- مقایسه کردن انحرافات با فاکتورهای دمایی ۲۰
- ۳-۱۵- فاصله و زنجیره های هیدروژن ۲۱
- ۱۶- نصب گرومکس ۲۱

- ۱۷- آشنایی با ساختار فایل PDB ۲۳
- ۱-۱۷- کلیات ساختار فایل PDB ۲۳
- ۲-۱۷- اتم ها و هترو اتها ۲۴
- ۳-۱۷- حضور چند مولکول در یک فایل ۲۵
- ۴-۱۷- ضرایب دمایی ۲۵
- ۵-۱۷- میزان حضور/اشغال ۲۶
- ۱۸- شبیه سازی دینامیک مولکولی لیزوزیم در آب ۲۷
- ۱-۱۸- تعریف و عملکرد لیزوزیم ۲۸
- ۲-۱۸- اجرای شبیه سازی دینامیک مولکولی لیزوزیم در آب ۲۸

DO NOT COPY (novin-eng.ir)

۱- چکیده

یکی از اهداف بسیار مهم شبیه سازهای کامپیوتری، شبیه سازی شرایط آزمایش به منظور آشکار ساختن مکانیزم مولکولی در ابعاد میکروسکوپی می باشد. شبیه سازی می تواند جزئی ترین اطلاعات را پیرامون جنبش ذرات به عنوان تابعی از زمان فراهم کند. به همین جهت بعنوان ابزاری توانمند در بسیاری از رشته های علوم، زیست شناسی، شیمی، فیزیک، مهندسی، علوم فضایی، پزشکی، داروسازی و ... کاربردهای فراوانی دارد. به عنوان مثال با استفاده از روش های شبیه سازی دینامیک مولکولی می توان خواص پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک را بررسی کرد، مکانیسم عمل آنزیم ها را شناسایی کرد و در طراحی داروها از این روش ها بهره برد

در یک تعریف کلی شاید بتوان گفت شبیه سازی تقلیدی از عملکرد سیستم واقعی با گذشت زمان است. بنابراین می توان از آن برای پاسخ دادن به سوالاتی راجع به یک سیستم مدل استفاده کرد و این کار بسیار آسانتر از انجام آزمایش بر روی یک سیستم حقیقی است

شبیه سازی مولکولی یک جعبه ابزار بسیار قدرتمند در مدل سازی مولکولی مدرن است، و ما را قادر می سازد که تا دینامیک و ساختار را با جزئیات بالا، در ابعادی که حرکت یک اتم تنها بتواند دنبال شود، درک کنیم و از آن پیروی کنیم. این کار بر روی متدهایی که به طور معمول مورد استفاده قرار میگیرد به نام مینیموم سازی انرژی و دینامیک مولکولی تمرکز خواهد کرد. ما در ابتدا قصد داریم که محیط گرومکس را تنظیم کنیم، نگاهی به ساختار این نرم افزار بیندازیم، فایل های مورد نیاز برای شبیه سازی را آماده کنیم، ساختار را در آب حل کنیم، آن را مینیموم سازی و متعادل سازی کنیم، و سرانجام شبیه سازی تولید را انجام دهیم.

حرکات مولکولی در رنج وسیعی از ابعاد در هردو بعد زمان و مکان اتفاق می افتد. شبیه سازی مولکولی از تنها متد موجود خیلی دور است و زمانی که هدف، مثلا پیش بینی ساختار پروتئین است، خیلی بهتر و بهینه تر است که از بیواینفورماتیک در عوض خرج کردن میلیون ها سی پی یو-ساعت استفاده کنیم. به طور ایده آل، معادله شرودینگر وابسته به زمان باید قادر باشد که همه ویژگی های هر مولکول را با دقت دلخواه پیش بینی کند. برای اغلب سیستم های بیومولکولی ما پارامتریزه کردن تجربی مدلها را انتخاب میکنیم. اولین شبیه سازی دینامیک مولکولی در سال ۱۹۵۷ انجام گرفت، هرچند که تا سال ۱۹۷۰ ممکن نبود که آب و بیومولکول ها را شبیه سازی کنیم.

گرومکس مخفف عبارت Groningen Machine for Chemical Simulations یک بسته نرم افزاری متن باز (Open Source) یا به عبارت دیگر یک موتور (Engine) بر پایه فیزیک کلاسیک و تحت لینوکس است که با هدف انجام شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی و کمینه‌سازی انرژی بر پایه محاسبات موازی توسعه یافته است. این مجموعه‌ی نرم افزاری در شیمی محاسباتی و مدل سازی مولکولی نقش مهمی ایفا می‌کند.

در راستای شبیه سازی مولکولی نرم‌افزارهای شبیه‌سازی بسیاری با کاربردهای گوناگون ارائه شده است. از آن جمله می‌توان به نرم‌افزارهای امبر، چارم، نمد، گرومکس و ... اشاره کرد. که در بین آنها استفاده از نرم افزار گرومکس به علت سادگی، در دسترس بودن و پیشرفت روز افزون آن از گستردگی بیشتری برخوردار است.

۲- شبیه سازی‌های رایانه‌ای

یکی از بهترین روش‌های موجود برای بررسی ساختار و رفتار مواد، شبیه‌سازی رایانه‌ای است. امروزه با پیشرفت فن‌آوری رایانه‌ها، به شبیه‌سازی‌هایی که برای محاسبه خواص مواد با استفاده از ساختار ذرات تشکیل دهنده آنها انجام می‌گیرد توجه ویژه‌ای می‌شود. از جمله مزایای روش‌های شبیه‌سازی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- کاهش تعداد آزمایش‌های لازم
- صرفه جویی در زمان و هزینه‌های تحقیقاتی
- درک بهتر مسائل شیمی و فیزیک
- آزمایش سریعتر فرضیه‌ها و نظریه‌های جدید
- آزمایش‌های ایمن و بدون مواد زائد و پسماند

تکنیک‌های تجربی فقط برای ترکیباتی که در شرایط موجود پایدار هستند به کار می‌روند. درحالی‌که روش‌های محاسباتی برای ترکیبات ناپایدار و حتی برای ترکیب‌هایی که هنوز ناشناخته‌اند نیز قابل استفاده می‌باشند. اولین شبیه‌سازی رایانه‌ای در سال ۱۹۴۹ توسط متروپلیس و همکارانش بر روی سیالات انجام گرفت. این مطالعه منجر به پیدایش روش شبیه‌سازی مونت کارلو شد. در اواخر دهه ۱۹۵۰ آلدو و وینرایت اولین شبیه‌سازی دینامیک مولکولی را با مطالعه یک مدل

کره-سخت انجام دادند. اولین شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به روی پروتئین‌ها در سال ۱۹۷۷ توسط مک کامن و کارپلوس در دانشگاه هاروارد انجام گرفت. تفاوت آشکار میان روش‌های شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و مونت کارلو که دو روش عمده شبیه‌سازی‌های رایانه‌ای به‌شمار می‌آیند در آن است که دینامیک مولکولی اطلاعاتی درباره وابستگی زمانی خواص سیستم در اختیار می‌گذارد، در حالی که بین پیکربندی‌های متوالی مونت کارلو ارتباط زمانی وجود ندارد. در روش‌های دینامیک مولکولی، که جزء روش‌های تعینی هستند، پیکربندی‌های پی‌درپی سیستم با هم ارتباط زمانی دارند، اما در روش‌های مونت کارلو، که جزء روش‌های کاتوره‌ای هستند، هر پیکربندی فقط به پیکربندی قبل از خود وابسته است.

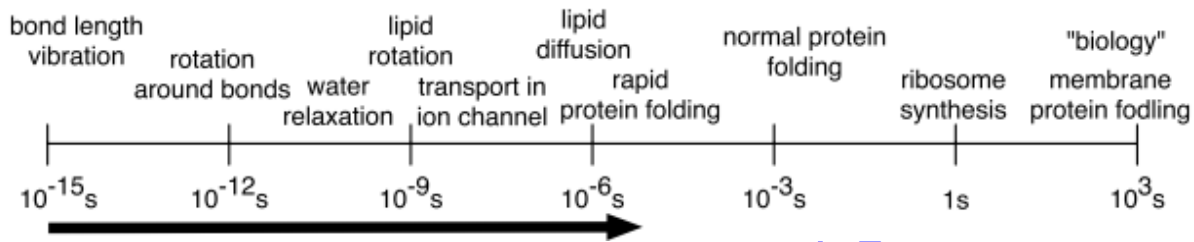
بر خلاف روش‌های مکانیک کوانتومی (که در آن اثرات الکترون‌ها در نظر گرفته می‌شوند) می‌توان از روش‌های دینامیک مولکولی (که فقط هسته‌ها در نظر گرفته می‌شوند) برای بررسی رفتار دینامیکی ماکرومولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک (DNA, RNA) و ... استفاده کرد. از کاربردهای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در سیستم‌های زیستی می‌توان به بررسی برهمکنش‌های میان ماکرومولکول‌ها، طراحی دارو و دارورسانی اشاره کرد. در اکثر مطالعاتی که بر روی سیستم‌های زیستی انجام می‌شوند، جزئیات حرکات ذرات سازنده سیستم اهمیت بسیاری دارند.

۳- شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی اطلاعاتی در سطح میکروسکوپی (موقعیت و سرعت اتم‌ها) تولید می‌کنند. تبدیل این داده‌ها به مقادیر ماکروسکوپی (فشار، انرژی ...) به کمک مکانیک آماری انجام می‌شود. در حقیقت، دینامیک مولکولی و مکانیک آماری مفاهیم میکروسکوپی و کمیت‌های مشاهده پذیر ماکروسکوپی را به هم مرتبط می‌سازند. در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی از قانون دوم نیوتن برای بررسی تحول زمانی سیستم‌ها استفاده می‌شود. در حقیقت، در روش‌های شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با داشتن موقعیت‌ها و سرعت‌های اولیه، می‌توان تحول زمانی سیستم را بررسی کرد. با انتگرالگیری از معادلات حرکت نیوتن یک مسیر به‌دست می‌آید که چگونگی تغییر موقعیت، سرعت و شتاب ذرات را با زمان نشان می‌دهد. در دینامیک مولکولی برای اندازه‌گیری یک کمیت فیزیکی باید میانگین زمانی آن کمیت در مسیر سیستم محاسبه شود. هر کمیتی که بتوان آن را به موقعیت و سرعت اتم‌ها مرتبط کرد را می‌توان با استفاده از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی بدست آورد.

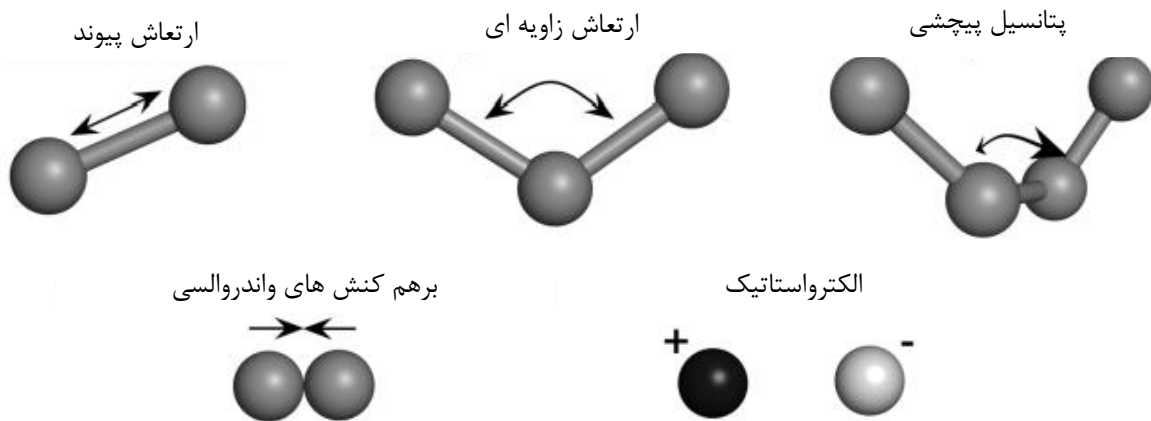
۴- پس زمینه پژوهش

همه متدهای شبیه سازی کلاسیک و قدیمی به یک سری تقریب های تجربی به نام "میدانهای نیرو" برای محاسبه برهمکنش ها و ارزیابی انرژی پتانسیل سیستم وابسته اند. یک میدان نیرو شامل دو سری از معادلات میشود که برای محاسبه انرژی پتانسیل و نیروهای وارده از مختصات ذره استفاده میشود.



شکل ۱: مقیاس های زمانی فرآیند شیمیایی/ بیولوژیکی و قابلیت های شبیه سازی در زمان حاضر

برای اکثر هدف ها این تقریب به خوبی کار میکند، اما این تقریب ها نمیتواند اثرات کوانتومی را نظیر تشکیل یا شکستن باند را به خوبی مدل کند. همه میدان های نیروی مشترک توابع پتانسیل را به دو کلاس تقسیم میکنند. تعاملات پیوندی (بر همکنش های بین پیوندها) شامل کشش پیوند کوالانسی، خم شدگی زاویه پیوند، پتانسیل های پیچشی در هنگام چرخش در اطراف پیوندها و پتانسیل های "چرخش نامناسب" خارج از صفحه، همه اینها به صورت نرمال در سرتاسر شبیه سازی ثابت هستند (شکل ۲ را ببینید).



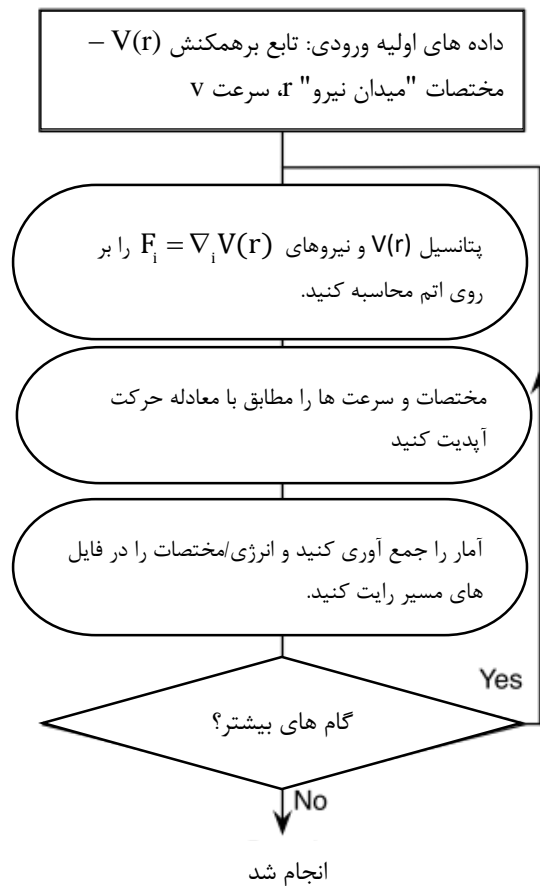
شکل ۱: تعاملات دینامیک مولکولی که به طور معمول در گرومکس استفاده میشود.

با معین بودن نیرو و پتانسیل برای همه اتم ها (گرادیان منفی پتانسیل)، مختصات برای گام بعدی آپدیت شده است. برای مینیموم سازی انرژی، الگوریتم حداقل کاهش، به سادگی هر اتم را در جهت کاهش دادن انرژی حرکت میدهد، در حالی که دینامیک مولکولی با انتگرال گیری از معادلات حرکت نیوتون عمل میکند:

$$F_i = -\frac{\partial V(r_1, \dots, r_n)}{\partial r_i} \quad (1)$$

$$m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = F_i \quad (2)$$

مختصات آپدیت شده در مرحله بعدی برای ارزیابی انرژی پتانسیل دوباره مورد ارزیابی قرار میگیرد، همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است.



برای میلیون ها گام این مراحل را تکرار کنید

شکل ۳: فلوجارت ساده شده از یک شبیه سازی دینامیک مولکولی استاندارد شبیه آنچه در نرم افزار گرومکس اعمال شده است

۵- امکانات و کاربردهای گرومکس

- شبیه سازی سیستم های پروتئین-لیگاند
- طراحی دارو
- کمپلکس های آنزیم-دارو
- محاسبه انرژی

- تعریف کردن حلال جدید
- محاسبه و آنالیز تغییرات ساختاری
- بررسی میزان نوسان تک تک اتم ها داخل ساختار
- شبیه سازی غشاء و سیستم های فسفولیپیدی داخل سلولی
- شبیه سازی کانالهای غشایی
- بررسی و شبیه سازی عبور یونها از درون غشا
- شبیه سازی DNA
- شبیه سازی میانکنش DNA با آنزیم مورد نظر
- محاسبات QM/MM
- شبیه سازی تاخوردگی (folding) پروتئین ها
- محاسبه ثابت های سرعت مسیرهای رفت و برگشت در تاخوردگی پروتئین
- بررسی میزان انحراف تک تک اتم ها از جایگاه اصلی قبل و بعد از ایجاد تغییر
- اندازه گیری خصوصیات ترمودینامیکی سیستم
- بررسی تغییر زوایای اتمها درون ساختار
- محاسبه میزان چگالی سیستم

۶- ویژگی‌های نرم افزار گرومکس

(۱) شبیه‌سازی‌ها بر پایه‌ی دینامیک کلاسیک‌اند.

(۲) الکترون‌ها در حالت پایه‌ی خود قرار دارند.

(۳) میدان‌های نیرو تقریبی‌اند.

(۴) در برهم کنش‌های بلندبرد از بُرش (cut off) استفاده می‌شود.

(۵) از شرایط مرزی دوره‌ای PBC استفاده می‌شود.

۷- خلاصه‌ای از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با نرم افزار گرومکس

در شبیه‌سازی با گرومکس ابتدا یک پی دی بی فایل (pdb) را که بیانگر موقعیت اولیه‌ی اتم‌های مولکول مورد نظر است فراهم کرده (از pdb data bank دانلود می‌کنیم، و یا با استفاده از برخی ابزارها، همچون ++C در صورت آشنایی کافی، آن فایل را می‌سازیم)، سپس با استفاده از دستوراتی در گرومکس می‌توانیم مولکول مورد نظر را در صورت نیاز در حلال دلخواه خود حل نموده و یا حتی یونهایی را نیز به آن اضافه یا از آن کم کنیم. تمام پارامترهای فیزیکی نظیر دما و فشار و ... را نیز می‌توان در حین فرایند کنترل کرد. پس از طی این مراحل اولیه می‌توان با انتخاب آنسامبل مورد نظر کار شبیه‌سازی را به انجام رسانده و آنالیزهای مورد نیاز از بابت نوع توزیع یون‌ها در محلول و نوع رفتار هر یک از یون‌ها، شعاع میانگین، انرژی و سایر پارامترهای فیزیکی مورد نیاز را بدست آورد. شبیه‌سازی‌ها در گرومکس در ابعاد بسیار کوچک (nm) و برای بازه‌های زمانی بسیار کوتاه (ps) می‌باشد.



۸- نصب و راه اندازی gromacs و برنامه‌های جانبی دیگر:

قبل از شروع کردن کار اصلی، ما به یک سری از جفت برنامه‌ها نیاز داریم که ممکن است هم اکنون بر روی سیستم شما نصب شده باشد. چون نصب برنامه‌ها به سیستم شما بستگی دارد، این کار را به صورت تعاملی در این آموزش انجام خواهیم داد، هرچند که شما می‌توانید جزئیات بیشتری را در www.gromacs.org پیدا کنید.

۱. شما به یک سیستم نوع Unix با یک محیط ویندوزی X11 نیاز خواهید داشت. شما میتوانید از CygWin تحت ویندوز استفاده کنید، هر چند که این روش یک مقدار سنگین است و شما نیاز خواهید داشت که یک سرور مجزای X11 را نصب کنید.

۲. Gromacs برای برخی از برهمکنش ها از FFTs (تبدیل های فوریه سریع) استفاده میکند، یا به طور خاص PME. چون Gromacs با کتابخانه های کم سرعت FFTPACK عرضه میشود، ایده ی خوبی است که یک سری از کتابخانه FFT سریعتر که اتفاقا در سایت www.fftw.com به صورت رایگان در دسترس هستند نصب شوند. اگر شما یک سیستم IntelMac دارید واقعا شانس خوبی آورده اید، چون پکیج گروماکس به صورت فرمت این سیستم عرضه میشود.

۳. Gromacs را از طریق یک پکیج یا کامپایل کردن به همان شیوه FFTW نصب کنید.

۴. از طریق وبسایت www.pymol.org، نرم افزار PyMol را نصب کنید.

۵. یک برنامه رسم تصاویر دوبعدی را مانند Grace یا xmgrace نصب کنید.

۶. برای ایجاد کردن ترسیمه های آنالیز ساختار ثانویه زیبا و جذاب، شما میتوانید از نرم افزار "DSSP" از سایت www.swift.cmbi.ru.nl استفاده کنید. این نرم افزار برای کاربردهای آکادمیکی و آموزشی به صورت رایگان در دسترس عموم قرار گرفته است اما برای کاربردهای گسترده تر به licence احتیاج دارد.

۹- ساختار PDB

اولین چیزی که شما نیاز خواهید داشت یک ساختار پروتئینی است که شما میخواهید شبیه سازی کنید. به بانک داده های پروتئین در www.pdb.org مراجعه کنید و "Lysozyme" را جستجو کنید. شما با تعداد زیادی از نتایج روبرو میشوید، خیلی از آنها با استفاده از لیگاندها (یون ها یا مولکول های محدود که به یک اتم فلزی چسبیده است)، جهش و ... تعیین شده اند. یکی از گزینه های ممکن ورودی PDB از نوع 1LYD است، اما تست کردن گزینه های دیگر هم آزاد است.

یک ایده خوب این است که قبل از شروع هرگونه شبیه سازی، به دقت به ساختار نگاه انداخته و توجه شود. آیا تفکیک پذیری به قدر کافی بالا هست؟ آیا هیچگونه ته نشینی یا باقی مانده وجود دارد؟ آیا لیگاندهای عجیب و غری وجود دارد؟ هر دو مورد سایت PDB و هدرهای فایل خود را چک کنید. سرانجام، سعی کنید که آن را در یک نمایش دهنده یا ابزار پس پردازش نظیر VMD،PyMol یا RasMol باز کنید و نگاه کنید که چه شکلی است. در PyMol شما چند منو در سمت راست دارید که شما میتونید نمایش دهید ("S") یا به عبارتی ترسیم یا نمایش کارتونی شکل شبیه سازی شده شمایست.

۱۰- ایجاد یک توپولوژی گرومکس از فایل PDB

زمانی که شما اعتقاد دارید یک ساختار آغازین خوب دارید، مرحله بعدی آماده سازی آن برای شبیه سازی است. ما چه چیزی را باید آماده کنیم؟ به عنوان مثال انتخاب میدان های نیرو، مدل آب، حالت های بار باقی مانده های تیتراسیون، اضافه کردن در اتم هیدروژن از دست رفتن و غیره. شما تقریباً به سرعت متوجه خواهید شد که بسیاری از این مسائل استاتیک و مستقل از مختصات پروتئین است، بنابراین این قضیه این احساس را میدهد که آن را در یک فایل جداگانه به نام "topology" برای سیستم قرار دهیم. خبر خوب این است که Gromacs میتواند توپولوژی ها را به صورت اتوماتیک با ابزار pdb2gmx ایجاد کند.

چندین مکان وجود دارد که شما میتوانید مستندات را برای دستورات گرومکس پیدا کنید. شما باید همیشه کمک هایی را از "pdb2gmx -h" بگیرید، که ابتدا شامل یک توصیف خلاصه از کاری که نرم افزار انجام میدهد، است. سپس یک لیست از (لیست انتخابی) فایل های ورودی/خروجی و در نهایت یک لیست از را شامل میشود. برای وارد کردن اولین دستور باید به صورت زیر عمل کنید:

Pdb2gmx باید ورودی خود را از فایل مختصات بخواند، و ما برای آشنایی اولیه یک مدل خاصی از مدل آب و میدان نیرو را انتخاب میکنیم. عبارت زیر را تایپ میکنیم:

```
pdb2gmx -f 1LYD.pdb -water tip3p
```

برنامه از شما یک میدان نیرو را خواهد خواست. مورد مهمی که باید آن را پیدا کنید خطاها و هشدارهای احتمالی است. متن کمکی (help) (-h) pdb2gmx را بخوانید و تلاش کنید تا بفهمید که فایل های مختلفی که نرم افزار ایجاد میکند دقیقا چه کاری انجام میدهند؟ و چه آپشن هایی برای pdb2gmx در دسترس هستند؟

فایل های خروجی مهم به صورت زیر هستند(باید درک کنید که چه کاری انجام می دهند):

```
conf.gro topol.top posre.itp
```

اگر شما این دستور را چندین بار اجرا کنید، گروماکس از فایل های قدیمی پشتیبان گیری خواهد کرد و نام آنها با یک علامت هش(#) شروع میشود و شما میتوانید این فایل ها را نادیده بگیرید یا پاک کنید.

۱۱- اضافه کردن آب حلال در اطراف پروتئین

قبل از اضافه کردن حلالما باید تعیین کنیم که جعبه شبیه سازی چه مقدار بزرگ باشد، و چه شکلی باید برای آن استفاده شود. حداقل یک نیمه بریده شده و منقطع باید بین مولکول و اطراف جعبه باید، ترجیحا اگر این فاصله بیشتر باشد بهتر است. با توجه به زمان محدود ما باید در اینجا صرفه جویی کنیم و فقط از حاشیه 0.5 nm بین پروتئین و جعبه استفاده کنیم. برای کاهش هر چه بیشتر حجم جعبه شما میتوانید انواع مختلف جعبه را بررسی کنید و به عنوان مثال از یک "لوزی دوازده وجهی" به جای جعبه مکعبی استفاده کنید. برنامه ای که شما برای تغییر دادن جعبه باید استفاده کنید "editconf" است.

آخرین گام قبل از شبیه سازی اضافه کردن آب به جعبه برای حل کردن پروتئین است. این کار با استفاده از یک سیستم کوچک از پیش متعادل شده از مختصات آب انجام شده است که بر روی جعبه تکرار شده است، و مولکول های آبی که با هم تداخل دارند، حذف شده اند. سیستم لیزوزیم (Lysozyme) تقریبا به ۶۰۰۰ مولکول آب نیاز خواهد داشت به

مراه فاصله 0.5nm از دیواره های جعبه، که تعداد اتم ها را به طور قابل توجهی افزایش میدهد (از ۲۹۰۰ به بیش از ۲۰۰۰۰). GROMACS از یک سیستم پیش متعادل شده مخصوص برای آب TIP3P استفاده نمیکند چون مختصات آب به وسیله هر مدلی میتواند مورد استفاده قرار گیرد. به همین دلیل برنامه فقط مختصات پیش متعادل شده را برای یک سیستم آب-۲۱۶ با استفاده کردن از مدلی به نام "SPC" مهیا میکند. بهترین برنامه برای اضافه کردن آب حلال "genbox" است، به عبارت دیگر شما یک جعبه از حلال ایجاد خواهید کرد.

شما میتوانید مختصات آب SPC را انتخاب کنید تا با علامت(کد) "**csspc216.gro**" اضافه کنید، به یاد داشته باشید که توپولوژی شما با مولکول های جدید آب نیاز به آپدیت شدن دارد راحت ترین راه برای انجام این کار، این است که توپولوژی را با دستور genbox ایجاد کنید.

قبل از اینکه به کار خود ادامه دهید یک ایده ی خوب این است که سیستم را در PyMol نگاه کنید. هرچند که PyMol و اغلب برنامه ها نمیتوانند فایل gromacs gro را به طور مستقیم بخوانند دو راه ساده برای ایجاد فایل PDB برای PyMOL وجود دارد.

۱. از قابلیت که همه ی برنامه های گروماکس برای نوشتن خروجی در فرمت های مختلف دارند استفاده کنید:

```
genbox -cp box.gro -cs spc216.gro -p topol.top -o solvated.pdb
```

۲. از نرم افزار editconf نرم افزار Gromacs اسفاده کنید تا خروجی را به فرمت های دیگر تبدیل کنید (برای کمک گرفتن دستور h- را وارد کنید):

```
editconf -f solvated.gro -o solvated.pdb
```

اگر شما فقط از چنین دستوراتی استفاده کنید، با قرار دادن آب در یک جعبه مسطیلی حتی اگر سیستم چهار وجهی، هشت وجهی یا دوازده وجهی باشد، ساختار منتج شده ممکن است یک مقدار عجیب به نظر برسد. این حقیقتا یک چیز خوب است، و بستگی به الگوریتم استفاده شده برای اضافه کردن آب به همراه شرایط مرزی پرپودیک دارد. هرچند که برای گرفتن یک سلول واحد زیبا شما میتوانید از کامنت ها یا دستورات زیر استفاده کنید:

```
trjconv -s solvated.gro -f solvated.gro -o  
solv_triclinic.pdb \  
-pbc inbox -ur tric  
trjconv -s solvated.gro -f solvated.gro -o solv_compact.pdb  
\  
-pbc inbox -ur compact
```

۱۲- اجرا کردن کمینه سازی انرژی

هیدروژن های اضافه شده و باندهای هیدروژنی شکسته شده در آب، اگر دینامیک مولکولی بلافاصله آغاز شده باشد، به نیروهای نسبتا بزرگ و اعوجاج در ساختار منجر خواهند شد. برای حذف این نیروها ضروری است که ابتدا یک کمینه سازی انرژی کوتاه را اجرا کنیم. هدف رسیدن به مینیموم انرژی محلی نیست، بنابراین، ۲۰۰ تا ۵۰۰ گام از شدیدترین نزول به عنوان یک مینیموم سازی پایدار نسبت به مینیموم سازی با حداکثر بازدهی خیلی خوب کار میکند. تعاملات غیر بانندی و تنظیمات دیگر در فایل پارامترها (em.mdp) مشخص شده اند. فقط ضروری است که پارامترهایی را مشخص کنیم که ما آن را از مقادیر از پیش تعیین شده خیلی منحرف میکنیم، برای مثال:

```
-----em.mdp-----  
integrator = steep  
nsteps = 200  
nstlist = 10  
rlist = 1.0  
coulombtype = pme  
rcoulomb = 1.0  
vdw-type = cut-off  
rvdw = 1.0  
nstenergy = 10  
-----
```