Bioinformatyka: UNRES - symulacje struktury i dynamiki białek przy użyciu podejścia scalonych reszt (UNited RESidue) opartego na fizyce oddziaływań

Krótki opis usługi

Usługa UNRES jest przyjazną dla użytkownika realizacją pakietu modelowania gruboziarnistego białek, opartego na polu siłowym UNRES opracowanym w wyniku współpracy grupy prof. Adama Liwo z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz grupy prof. Harolda A. Scheragi z Cornell University, USA. Dzięki znacznemu uproszczeniu reprezentacji łańcucha polipeptydowego przy jednoczesnym ścisłym związku wyprowadzonego pola siłowego z fizyką oddziaływać symulacje są przyspieszone 1000 - 10000 razy w stosunku do obliczeń w reprezentacji pełnoatomowej. Adresatami usługi są biofizycy, biologowie molekularni i bioinformatycy, zainteresowani symulowaniem zmian strukturalnych, dynamiki i termodynamiki dużych układów białkowych w czasie rzeczywistym. W szczególności usługa będzie przydatna dla badaczy, którzy chcą wykonać wspomniane wielkoskalowe symulacje białek, natomiast brak czasu nie pozwala im na zapoznanie się z uruchamianiem zadań bezpośrednio na serwerach przy użyciu systemu kolejkowania.

W usłudze dostępne są dwie wersje pola siłowego. Wersja pierwsza, ogólna, oznaczana dalej jako E0LL2Y, umożliwia obliczenia dla białek o wszystkich typach struktury drugorzędowej, jednak wymaga użycia metod przewidywania struktury drugorzędowej i nałożenia słabych więzów na tę strukturę (He et al., J. Comput. Chem., 2009, 30, 2127-2135). Wersja druga, oznaczana dalej jako GAB, umożliwia obliczenia dla białek o strukturze helikalnej (Liwo et al., J. Phys. Chem. B, 2007, 111, 260-285).

Usługa składa się z następujących elementów:

- UNRES: właściwe symulacje,
- WHAM : przetwarzanie wyników dynamiki molekularnej z wymianą replik metodą analizy ważonych histogramów,
- CLUSTER: analiza skupień wyników symulacji; analiza wyników dynamiki molekularnej z wymianą replik wymaga wstępnego przetworzenia metodą analizy ważonych histogramów.

Usługa UNRES umożliwia realizację następujących typów obliczeń:

- Obliczanie i lokalna minimalizacja energii cząsteczki białka.
- Kanoniczne symulacje gruboziarniste dynamiki białek.
- Symulacje białek przy użyciu metody wymiany replik lub zwielokrotnionej wymiany replik i konstrukcja na tej podstawie profili zależności wielkości geometrycznych, mechanicznych i termodynamicznych od temperatury, badanie krajobrazów energii swobodnej białek, termodynamiki zwijania, itp. W tym przypadku konieczne jest użycie programu WHAM.
- Przewidywanie struktury białek oparte o fizykę oddziaływań. W przypadku przewidywania struktury metodą znajdowania najbardziej prawdopodobnych zespołów statystycznych (patrz rozdział **Zaawansowane użycie**), konieczne jest przetworzenie wyników symulacji dynamiki z wymianą replik programami WHAM i CLUSTER.

Z usługi można korzystać na dwa sposoby: za pośrednictwem interaktywnego portalu UNRES oraz przy pomocy systemy wsadowego QosCosGrid.

Aktywowanie usługi

Aby skorzystać z usługi UNRES należy posiadać konto w portalu PLGRID oraz posiadać aktywny grant właściwy PLGrid. Należy również złożyć wniosek o usługę UNRES w Katalogu Aplikacji i Usług. Spowoduje to dodanie użytkownika do zespołu *plggunresng* (zespół użytkowników usługi UNRES).

Ograniczenia w korzystaniu

Obecnie aplikacje składające się na usługę są zainstalowane w ramach infrastruktury PLGrid na klastrach:

- Inula w Poznańskim Centrum Superkomputerowo-Sieciowym
- Prometheus w Cyfronecie.

Portal QCG umożliwiający interaktywne uruchamianie zadań kieruje zadania tylko na klaster inula. Za pośrednictwem portalu można uruchomić tylko główny moduł obliczeniowy UNRES, natomiast moduły analizy wyników dynamiki molekularnej z wymianą replik można uruchomić jedynie bezpośrednio w trybie wsadowym. Rozszerzenie funkcjonalności portalu QCG na ten moduły jest w toku.

Ponieważ w chwili obecnej system QosCosGrid nie obejmuje kierowania zadań na klaster Prometheus, w przypadku uruchamiania zadań na tym komputerze należy używać systemu slurm, podobnie jak w przypadku uruchamiania innych zadań na tym komputerze. Szczegółowy opis znajduje się w podręczniku Prometheus:Podstawy.

Pierwsze kroki

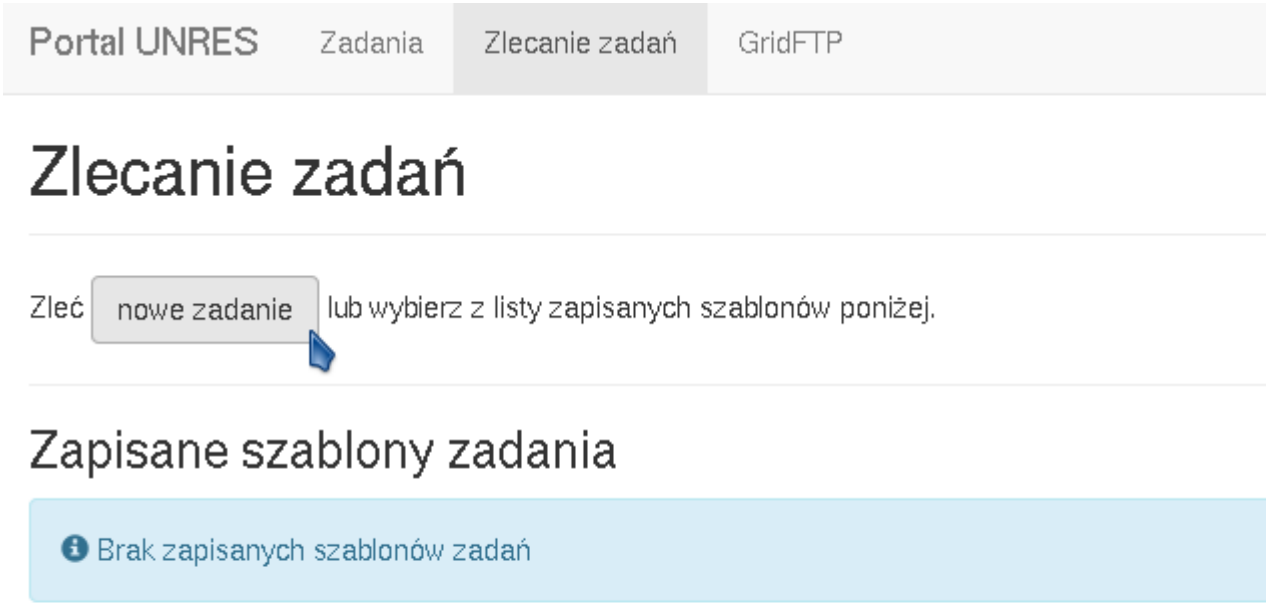
Zalecane jest zapoznanie się z dokumentacją części składowych pakietu UNRES dostępną na stronie pakietu (dokumentacja w języku angielskim).

Uruchamianie przez portal UNRES

Zlecanie zadań przez portal UNRES możliwe jest tylko na klaster inula w PCSS.

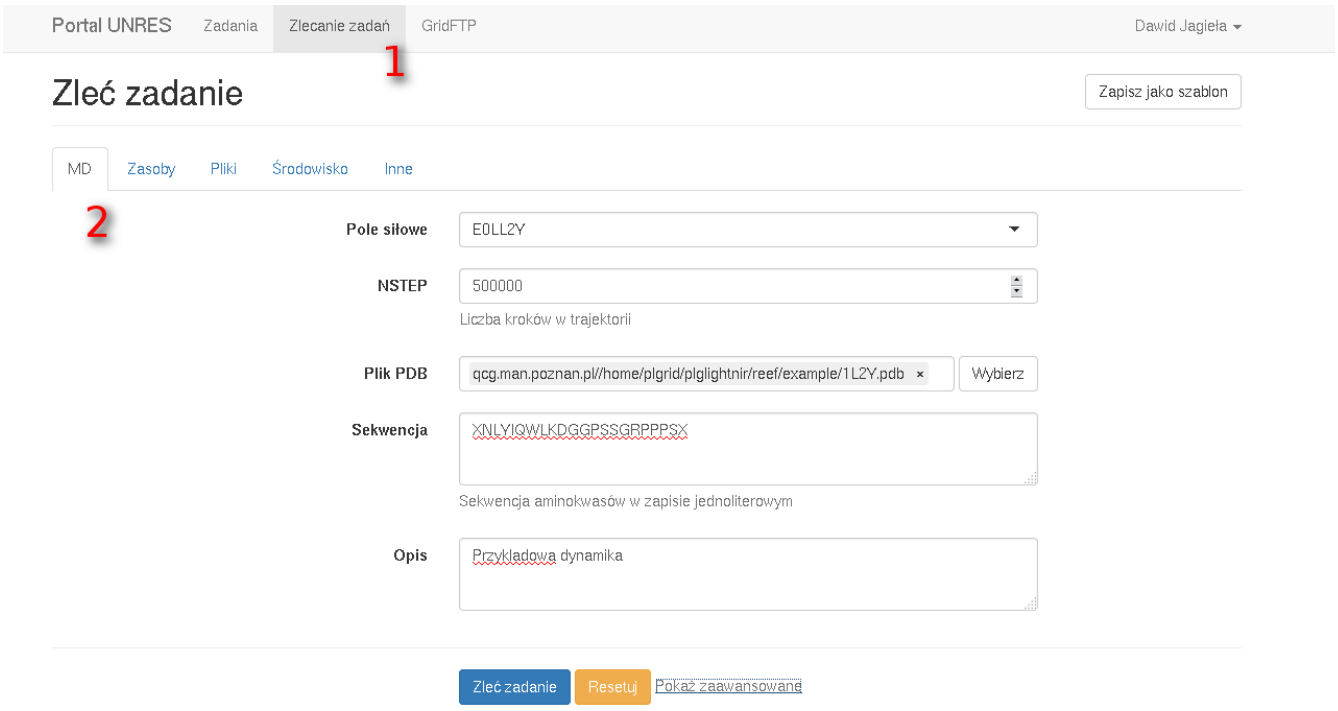
Portal UNRES jest dostępny pod adresem https://unres-portal.plgrid.pl. Portal jest zintegrowany z OPENID. Należy zalogować się na portal używając identyfikatora użytkownika w systemie PL-GRID.

W celu zlecenia zadania z poziomu portalu UNRES należy wybrać zakładkę "Zlecanie zadań", a następnie przycisk "nowe zadanie":



W celu zlecenia dynamiki molekularnej należy w zakładce "MD" :

- ustawić pole siłowe (GAB lub E0LL2Y)
- ustawić liczbę kroków dynamiki
- wybrać plik PDB będący strukturą referencyjną
- podać sekwencję aminokwasów w pliku PDB w zapisie jednoliterowych uwzględniając aminokwasy terminalne w zapisie pakietu UNRES.



Uwaga 1: Wybranie pliku pdb, który zawiera strukturę odniesienia danego białka (na ogół strukturę eksperymentalną z bazy pdb), jest o w obecnej konfiguracji portalu konieczne. Jeżeli ten plik nie zostanie podany, zadanie zakończy się z błędem.

Uwaga 2: Sekwencja aminokwasowa musi zaczynać/kończyć się resztą "dummy" oznaczaną jako X jeżeli łańcuch nie zaczyna się/kończy pełną grupą peptydową (czyli grupa początkowa jest grupą $-NH_3^+$ lub grupa końcowa jest grupą COO-; sekwencja "nieblokowana"). Jeżeli łańcuch zaczyna się/kończy pełną grupą peptydową lub pierwszą/ostatnią resztą jest glicyna, należy wstawić G. Wstawienie innych reszt niż X lub G na początku lub końcu spowoduje błędy w obliczeniach. Wstawienie grup blokujących powoduje pozorne wydłużenie sekwencji, np. jeżeli chcemy wykonać obliczenia nieblokowanego pentapeptydu Ala-Lys-Gly-Pro-Ser to musimy wprowadzić sekwencję XAKGPSX a jeżeli chcemy wykonać obliczenia analogicznego blokowanego pentapeptydu Ac-Ala-Lys-Gly-Pro-Ser-NHCH3 to wprowadzamy sekwencję GAKGPSG. W przypadku sekwencji np. Gly-Leu-Pro-Leu-Ala-Gly nie trzeba dodawać grup blokujących i wprowadzić sekwencję GLPLAG

Następnie w zakładce "Zasoby" ustawiamy klaster obliczeniowy oraz czas obliczeń. **UWAGA: W chwili obecnej portal uruchamia zadania jedynie na klastrze inula).**

Więcej opcji dynamiki można uzyskać po kliknięciu napisu "Zaawansowane" w zakładce MD. Odpowiednie pola są objaśnione poniżej; wartości domyślne podano w nawiasach:

NTWE (100): częstość zapisu energii w dynamice molekularnej.

NTWX (1000): częstść zapisu współrzędnych cząsteczki białka.

DT: (0.1) długość kroku czasowego; jednostka jest równa 48,9 fs.

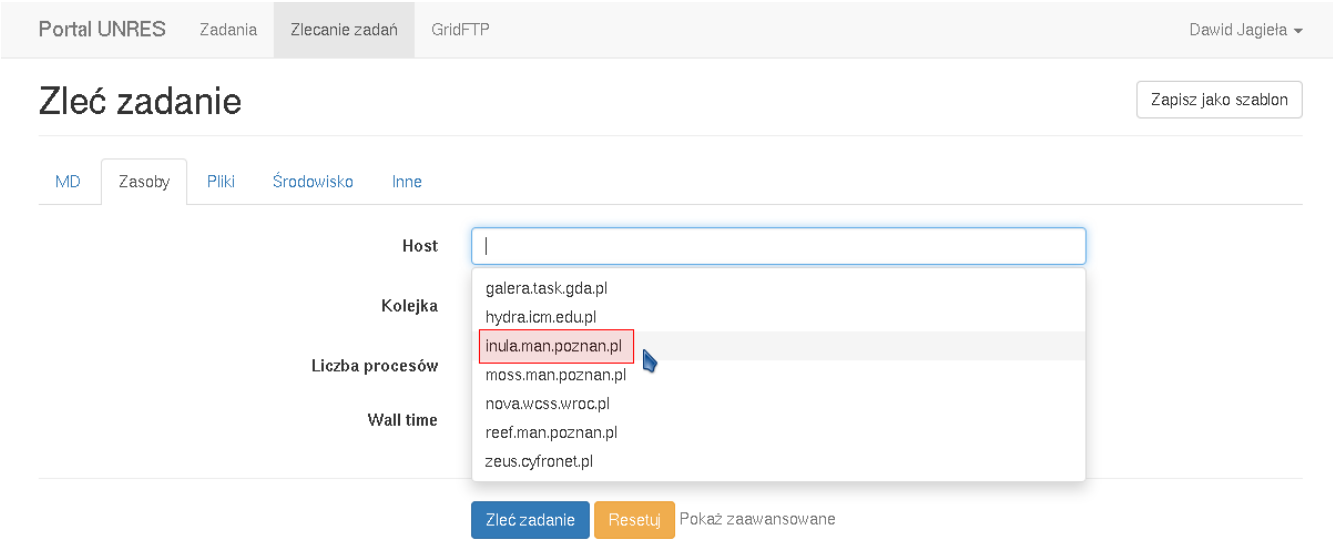
DAMAX (1): Maksymalna dopuszczalna zmiana przyspieszenia podczas jednego kroku czasowego

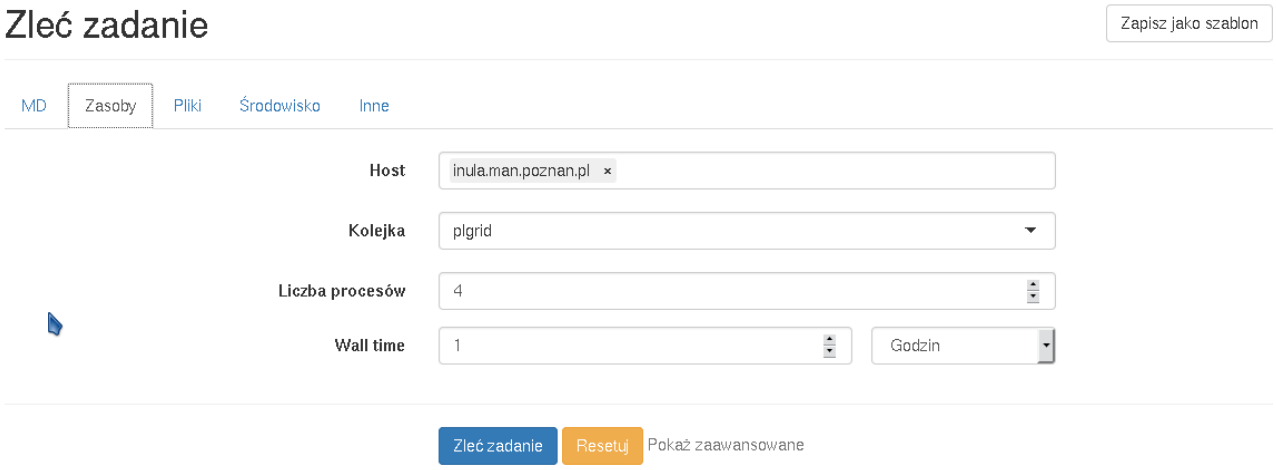
Aby wybrać grant w ramach którego będą wykonywane obliczenia, należy wykonać następujące czynności:

1. wybrać zakładkę MD,

2. kliknąć napis "pokaż zaawansowane",

3. wpisać w pole Grant ID grantu.





Program UNRES wygeneruje tyle niezależnych trajektorii ile wynosi liczba procesorów.

Plikami wynikowymi, które po poprawnym zakończeniu zadania pojawią się w katalogu roboczym i będą mogły być pobrane przez gftp, są:

ZADANIE.out_GB000 - ZADANIE.out_GB00n (gdzie zadanie jest prefiksem nadawanym przez portal a n+1 jest liczbą procesorów): główne pliki wynikowe. Zawierają podstawowe informacje o układzie, informacje o ustawieniach obliczeń dynamiki molekularnej oraz ewentualne informacje o błędach w danych.

ZADANIE_GB000.stat - ZADANIE_GB00n : pliki zawierające podstawowe informacje o przebiegu dynamiki dla każdej trajektorii (nr kroku, czas, energia, rmsd od struktury odniesienia). Proszę zapoznać się z opisem plików danych i wynikowych programu UNRES (dokumentacja w języku angielskim).

ZADANIE_MD000.pdb - ZADANIE_MD00n.pdb : zrzuty konformacji w formacje pdb dla każdej trajektorii. Pliki te można bezpośrednio oglądać przeglądarkami do molekuł np. pymol.

Uruchamianie bezpośrednio w systemie wsadowym

Uruchamianie zadań na klastrze inula

W celu zdefiniowania ścieżek dostępu oraz ustawienia wartości zmiennych środowiskowych dla usługi należy załadować moduł `plgrid/apps/unres-e0ll2y/3.2.1` (pole E0LL2Y0) lub `plgrid/apps/unres-gab/3.2.1` (pole GAB), w zależności od żądanego pola siłowego. W przypadku uruchamiania zadań przez portal odpowiedni moduł jest ładowany poprzez wybór odpowiedniego pola siłowego z menu.

Przykłady przygotowywania plików wsadowych oraz danych do uruchamiania usługi UNRES w różnych wariantach wraz z opisem zawarte są w archiwum zip. przykłady.zip można pobrać korzystając z przytoczonego linku.

Poniżej krótki opis wraz z objaśnieniem uruchamiania kanonicznej dynamiki molekularnej Langevina. Używany jest wariant pola siłowego UNRES oznaczony jako pole E0lL2Y (pole "ogólnych zastosowań"). Ten przykład jest zawarty w przytoczonym archiwum w katalogu ff_1l2y_1le1/LANG.

Skrypt QCG (plik `langdyn.qcg; nie ma w nim dodanych tutaj komentarzy`):

```
#QCG host=inula
## Obliczenia na inuli (na razie jedyna moliwo)
#QCG walltime=PT15M
## maksymalny czas zadania 15 minut
#QCG nodes=1:1
## uywamy 1 procesor
#QCG note=l2y-langdyn
## identyfikator zadania
#QCG output=${JOB_ID}.output
## specyfikacja nazw pliku z wydrukami z programu i systemu qcg na ekran
#QCG error=${JOB_ID}.error
## specyfikacja nazwy pliku z komunikatami o bdach
#QCG stage-in-dir=.
## pliki danych bd brane z biecego katalogu
#QCG stage-out-dir=.
## pliki wynikowe bd umieszczane w biecym kagalogu
module load plgrid/apps/unres-e0ll2y/3.2.1
## adowanie moduu zawierajcego komp0onentu usugi dla pola E0LL2Y
export NPROCS=`cat $PBS_NODEFILE | wc -l`
cd $PBS_O_WORKDIR
mpirun -machinefile $PBS_NODEFILE -np $NPROCS unres.csh
## uruchamiamie skryptu unres.csh
```

Plik `unres.csh (nie ma w nim dodanych tutaj komentarzy)`

```
#!/bin/csh
setenv FGPROCS 1
# obliczenia energii nie s zrównoleglone
setenv POT GB
# specyfikacja potencjau oddziaywa midzy acuchami bocznymi (musi by taka dla pola E0LL2Y)
setenv PREFIX 1L2Y_lang
# specyfikacja nazw plików; plik wynikowy bdzie si nazywa 1L2Y_lang.inp
setenv OUT1FILE YES
# plik wynikowy bdzie produkowany tylko przez procesor gówny (tutaj nie jest to wane bo obliczenia s
jednoprocesorowe)
unresMD_gfortran_MPICH_E0LL2Y.exe $*
# uruchamianie aplikacji.
```

Plik danych `1L2Y_lang.inp` (uwaga: formatowanie przy wyświetlaniu na stronie podręcznika nie jest poprawne); plik poprawnie sformatowany można pobrać stąd. Proszę NIE KOPIOWAĆ jego treści podanej dalej bezpośrednio z ekraru ponieważ zawiera ona komentarze, które będą powodowały błędy czytania. Poniżej podany jest tylko przykładowy skrótowy opis; pełen opis danych znajduje się w dokumentacji pakietu UNRES (w języku angielskim).

```
1L2Y                                                                                # tytu (acuch tekstowy
80-znakowy).

SEED=-3059743 PDBREF MD                                                             # ogólne dane; startowa
liczba losowa, specyfikacja, e bdzie struktura odniesienia i specyfikacja oblicze MD

nstep=1000000 ntwe=100 ntwx=10000 dt=0.01 damax=10000.0 lang=1 scal_fric=0.01  &    # 10 mln kroków
dynamiki, zrzut energii co 100 kroków, zrzut wspórzdnych co 10000 kroków, krok 0.01 jednostek
"gruboziarnistych" (4.89 fs), obliczenia w trybie Langevina, skalowanie lepkoci wody przez 1/100, kontynuacja
tych danych w nastpnej linii ("&" w 80-tej kolumnie).

t_bath=300                                                                          # temperatura 300 K.

WLONG=1.00000 WSCP=1.23315 WELEC=0.84476 WBOND=1.00000 WANG=0.62954           &    # wagi wkadów do energii
(nie mog by zmienione dla uywanej wersji pola siowego)

WSCLOC=0.10554 WTOR=1.84316 WTORD=1.26571 WCORRH=0.19212 WCORR5=0.00000       &

WCORR6=0.00000 WEL_LOC=0.37357 WTURN3=1.40323 WTURN4=0.64673 WTURN6=0.00000   &

WVDWPP=0.23173 WHPB=1.00000 WSCCOR=0.0                                         &

CUTOFF=7.00000 WCORR4=0.00000

1L2Y.pdb                                                                             # nazwa pliku ze
struktur eksperymentaln (struktur odniesienia); podlinkowany do pobrania.
```

```
22                                                                                                  # 22 reszty aminokwasowe

 D   ASN LEU TYR ILE GLN TRP LEU LYS ASP GLY GLY PRO SER SER GLY ARG PRO PRO PRO      # sekwencja biaka w
kodzie trójliterowym (D oznacza grup blokujc, która nie zawiera penej grupy peptydowej); format 20 (1X,A3).

 SER D

 0                                                                                                  # brak reszt cysteiny
mogcych tworzy wizania disulfidowe

 0                                                                                                  # brak wizów

  104.9286   87.6954   81.9040   82.4664   84.4658   83.9446   85.3958   91.4490      # specyfikacja
geometrii wirtualnej: wirtualne kty walencyjne, wirtualne kty torsyjne oraz kty sferyczne okrelajce geometri
acuchów bocznych.

   94.6016  101.8618  119.3634   94.3628   96.2641  138.1186   96.2995  129.7022

  109.4446  106.3486  106.0416  108.7182

 -100.4302   72.4264   66.0265   51.4337   53.5083   60.5686   44.1766   67.6037

  -72.8136  -61.9155  -75.8939   67.3579  129.7011  -95.5708   63.9717  -74.5043

 -122.3059 -134.6048   92.1133

  102.3561  120.0919  152.3636  134.9756  122.3426  152.1780  159.0518  100.5580

  139.9612    0.0000    0.0000  117.4525  137.0250  146.2899    0.0000   93.9014

  101.0251  113.0432   93.7775  153.8351

  -82.3166  -56.6854   85.0901  -88.6662 -140.9453   38.0240  179.4707  -73.0903

 -144.7967    0.0000    0.0000 -133.1635 -106.6593 -130.3055    0.0000 -102.7467

 -111.6412 -122.0445 -102.3738 -143.3033

-------------------------------------------------------------------------------------------------------------
-------------------------------------------------------------------------------------------
```

Uruchamianie

Po zalogowaniu się na serwer, z którego można uruchamiać zadania w systemie Qcg-Qoscos, np. qcg.man.poznan.pl i przeniesieniu tam wymienionych powyżej plików, należy wydać polecenie:

```
qcg-sub langdyn.qcg
```

Do monitorowania zadań służą polecenia qcg.

Plikami wynikowymi będą:

1L2Y_lang.out_GB000 : plik zawierający podstawowe informacje o danych wejściowych, typie obliczeń, zastosowanych ustawieniach oraz przebiegu obliczeń.

1L2Y_lang_GB000.stat : plik zawierający skróconą informację o powszczególnych krokach czasowych dynamiki; opis (w języku angielskim) znajduje się na stronie opisu programu UNRES.

1L2Y_lang_GB000.cx : plik zawierający współrzędne poszczególnych konformacji z trajektorii dynamiki Langevina (zgodnie z informacją podaną w pliku wejściowym, są one zapisywane z częstotliwością co 10000).

Trajektoria zapisana w formie skompresowanej w pliku cx nie jest gotowa do oglądania/przetwarzania programami grafiki molekularnej. Należy przekształcić go do formatu Protein Data Bank (PDB) przy użyciu programu xdrf2pdb. Program jest dostępny w ramach usługi UNRES i może być uruchamiany w trybie wsadowym jednak z uwagi na to, że pliki pdb zajmują znacznie więcej miejsca niż pliki cx, lepiej skopiować plik cx na swój lokalny komputer i tam uruchomić xdrf2pdb interaktywnie. Program xdrf2pdb można uzyskać ze strony "downloads" pakietu UNRES. Po wejściu na stronę należy kliknąć na guzik "ACCEPT LICENSE TERMS" i ściągnąć archiwum **xdrfpdb-src-v.3.2.1.tar.gz**. Program xdrf2pdb wymaga biblioteki xdrf, która jest w pakiecie UNRES. Jeżeli jeszcze jej nie posiadamy to trzeba ściągnąć archiwum **lib.tar.gz** ze strony pakietu UNRES. Można też ściągnąć cały pakiet UNRES **unrespack-v.3.2.1.tar.gz**; biblioteka jest w sources/lib/xdrf lub xdrf_em64 (64 bit) albo xdrf-Argonne (BlueGene Q) gdyby ta nie zadziałała.

Polecenie konwersji dla podanego przykładu jest następujące:

```
xdrf2pdb three seq-3let 1L2Y_lang_MD000.cx 1 1 100 1L2Y_lang.pdb
```

gdzie

three oznacza, że podawana będzie sekwencja aminokwasowa białka w kodzie trójliterowym

seq-3let jest plikiem z sekwencją; format 20(A3, 1X); zawartość poniżej

```
D   ASN LEU TYR ILE GLN TRP LEU LYS ASP GLY GLY PRO SER SER GLY ARG PRO PRO PRO

SER D
```

`1L2Y_lang_MD000.cx` jest nazwą pliku ze współrzędnymi konformacji białka z obliczonej trajektorii w formacie skompresowanym.

1 1 100 : konformacje będą zapisywane co 1, począwszy od konformacji 1 a skończywszy na konformacji 100

1L2Y_lang.pdb : wynikowy plik z konformacjami w formacie PDB; konformacje te zawierają geometrię na poziomie gruboziarnistym; tylko atomy węgla alfa (CA) i centra łańcuchów bocznych (CB).

Uruchamianie zadań na klastrze Prometheus

Zadania są uruchamiane w systemie kolejkowania slurm. W zależności od używanego pola należy załadować jeden z modułów:

- plgrid/apps/unres-e0ll2y/3.2.1 (w tym przypadku należy uruchomić aplikację unresMD_ifort_MPI_E0LL2Y.exe lub odpowiedni stowarzyszony z nią program przetwarzający wyniki symulacji)
- plgrid/apps/unres-gab/3.2.1 (w tym przypadku należy uruchomić aplikację unresMD_ifort_MPI_GAB.exe lub odpowiedni stowarzyszony z nią program przetwarzający wyniki symulacji)

Dodatkowo należy załadować moduł plgrid/tools/impi.

Podobnie jak w przypadku klastra inula, załadowanie modułów powoduje zdefiniowanie plików z właściwymi dla danego pola parametrami; pliki te można jednk podmienić na pliki z parametrami użytkownika. Przykładowy skrypt jest podany poniżej.

Plik energy-pdb.sbatch

```
#!/bin/bash -l

#SBATCH -J unres

#SBATCH -N 1

#SBATCH --ntasks-per-node=1

#SBATCH -n 1

#SBATCH --time=00:01:00

#SBATCH -A unresprometheustest

#SBATCH -p plgrid

#SBATCH --output="output.out"

#SBATCH --error="error.err"

#

module load plgrid/apps/unres-e0ll2y/3.2.1

module add plgrid/tools/impi

export PREFIX=1L2Y_ene-pdb

export OUT1FILE=YES

export FGPROCS=1

mpirun unresMD_ifort_MPI_E0LL2Y.exe
```

Przykładowe pliki wsadowe dla systemu slurm oraz pliki danych i pliki wynikowe dla różnych trybów obliczeń wraz z krótkim opisem są dostępne w katalogu /net/software/local/unres/Przyklady na klastrze Prometheus; archiwum można pobrać stąd w postaci pliku Przyklady_prometheus.zip.

Zaawansowane użycie

Przewidywanie *de novo* struktury białka przy pomocy pola siłowego UNRES

Pole siłowe UNRES umożliwia przeprowadzanie przewidywania *de novo* struktury białka, korzystając jedynie z sekwencji aminokwasowej. W tym celu należy wykonać symulację dynamiki molekularnej ze zwielokrotnioną wymianą replik (MREMD) wprowadzając sekwencję białka o poszukiwanej strukturze do przykładowego (Rysunek 1) pliku wejściowego MREMD.

```
T0810
SEED=-3059743 RE rescale_mode=2 one_letter out1file extconf timlim=1420.0
nstep=50000000 dt=0.10 ntwe=10000 ntwx=10000 lang=0 tbf tau_bath=1 t_bath=300  &
damax=20.0 EDRIFTMAX=20.0 reset_moment=1000 reset_vel=0 restart respa          &
ntime_split=1 maxtime_split=512
nrep=32 nstex=20000 tlist mlist traj1file rest1file sync nsyn=20000
250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345&
 350 360 380 390 400 410 420 430 440 460 480 500
  2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2&
  2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2   2
WLONG=1.00000 WSCP=1.23315 WELEC=0.84476 WBOND=1.00000 WANG=0.62954            &
WSCLOC=0.10554 WTOR=1.34316 WTORD=1.26571 WCORRH=0.19212 WCORR5=0.00000        &
WCORR6=0.00000 WEL_LOC=0.37357 WTURN3=1.40323 WTURN4=0.64673 WTURN6=0.00000    &
WVDWPP=0.23173 WHPB=1.00000 WSCCOR=0.25                                        &
CUTOFF=7.00000 WCORR4=0.00000
385
XMYMKKLVFGGMLIVSAASLVGCGSQIGSSVRQAVSDNQSAQTLVEWENSEANPEALFANWRHEFMVDSSKRESMKTELC
KELQALPAQDLTLFENEIRDENNRALVSGCKEELLAQVDEHFDEQRESMSVPGHALKAVQSRNSFRFPDNTQKRDMSNGY
MAVRGDVARKEVVLTFDDGPHGLYTDAILRALKEVNAKAMFFATGKSVRTNPEALKRVAADGHVIGSHSITHACLGTSVA
CYKQMGNRNLTFDEAAAEVRGGHQAVFDVLGWVDPVFRFPYGETSKDLKAFLKTKSTGEFAWNIESDDWRTQSNEQLLAR
VLANVESQGRGIVLFHDIQRRTAEIMPQFLRELYNRGYSVVLLTAADPSAKYNSKLVKRKQQLPX
0
385
  50.0
    1   0.000 180.000
    2   0.000 180.000
    3   0.000 180.000
    4   0.000 180.000
    5   0.000 180.000
    6  50.000  20.000
    7  50.000  20.000
    8  50.000  20.000
```

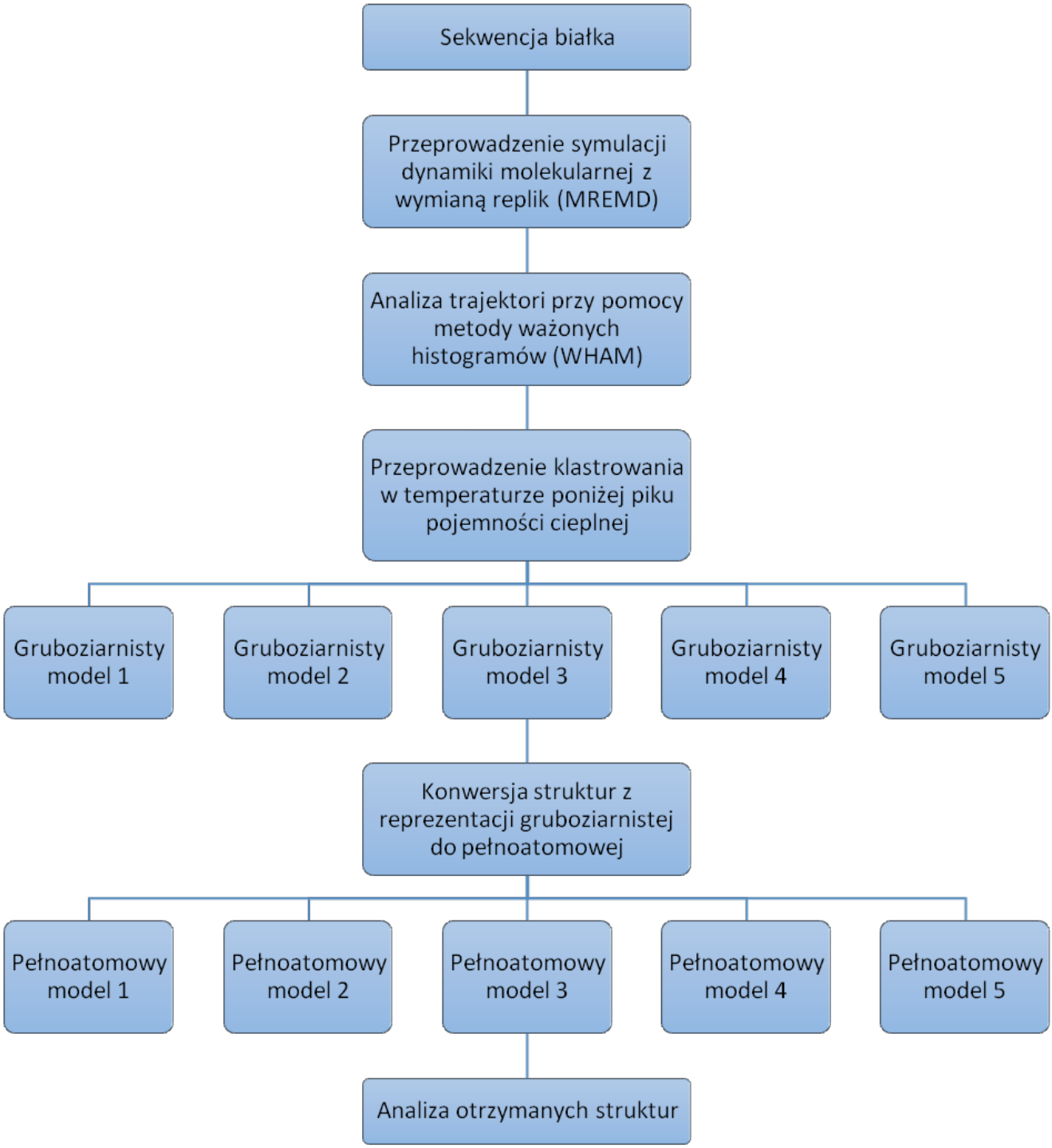
Rysunek 1. Przykładowy plik wejściowy używamy w polu siłowym UNRES. Linia pierwsza stanowi komentarz, linie 2-14 zawierają parametry używane w polu siłowym, linia 15 zawiera całkowitą liczbę reszt aminokwasowych symulowanego układu z uwzględnieniem „dummy atom", natomiast kolejne linie zawierają sekwencję aminokwasową w kodzie jednoliterowym wraz z „dummy atom" (litery X). Ostatnie linie wykorzystywane są do wprowadzenia ograniczeń swobody układu (więzów) np. na strukturę drugorzędową lub odległości między parami atomów.

Przy wprowadzaniu sekwencji należy pamiętać o dodawaniu „*dummy atom*" na początku i końcu każdego łańcucha białka (litery X w kodzie jednoliterowym).

W celu przyspieszenia symulacji można wprowadzić do pliku wejściowego dane o strukturze drugorzędowej (przewidzianej przy pomocy zewnętrznego narzędzia, takiego jak PSIPRED czy JPred) w postaci listy wartości brzegowych kątów torsyjnych ograniczających swobodę łańcucha (ostatnie linie pliku wejściowego).

W celu przeprowadzenia analizy otrzymanych trajektorii należy użyć podprogramu WHAM, wykorzystującego metodę analizy ważonych histogramów do określenia prawdopodobieństwa wystąpienia struktur w danych temperaturach. Następnie konieczne jest przeprowadzenie analizy skupień (klastrowania) przy użyciu podprogramu Cluster, w temperaturze poniżej temperatury piku pojemności cieplnej, w celu wytypowania najbardziej prawdopodobnych struktur białka. Otrzymane w ten sposób struktury należy następnie przekonwertować z postaci gruboziarnistej do pełnoatomowej przy użyciu dostępnych narzędzi (np. programu Pulchra).

Zalecany schemat postępowania został umieszczony na poniższym diagramie:



Gdzie szukać dalszych informacji?

Strona dokumentacji pakietu UNRES ze szczegółowym opisem wprowadzanych danych (w języku angielskim).