

MAK 4079 - Biyomoleküler Sistemler Termodinamiği Projesi: Sterolü Uzaklaştırılmış β -Cinnamomin'in Simülasyonu

N. Ilgaz Çaylı & Eren Çelik

¹İstanbul Teknik Üniversitesi - Makina Mühendisliği Fakültesi

Özet. Protein Veri Bankası'ndan 2A8F proteini seçilmiştir. Bu protein hakkında bir literatür taraması yapılarak genel özellikleri hakkında bilgi verilmiştir. VMD (Visual Molecular Dynamics) programı ile kristal yapılarda bulunmayan hidrojen atomları protein yapısına eklenmiş, PSF (protein yapı dosyası) ve PDB (protein koordinat dosyası) dosyaları oluşturulmuştur. Oluşturulan sistemi içine alacak büyüklükte bir su kutusu oluşturulmuştur ve istenilen şartları sağlayacak şekilde iyon eklenmiştir. NAMD (Nanoscale Molecular Dynamics) programı kullanılarak, her simülasyonun uzunluğu 5 ns olacak şekilde hazırlanan sistemin simülasyonu 300K ve 400K sıcaklıklar için gerçekleştirilmiştir. Elde edilen simülasyon sonuçları analiz edilmiş ve sistemin kinetik enerji, basınç, hacim, sıcaklık değişimleri zamana bağlı olarak çizilerek incelenmiştir. Sistemlerin kök ortalama kare sapma (RMSD) değerleri hesaplanmıştır. Sonrasında her bir amino asit için RMSD değeri hesaplanarak proteinin hareketli olan bölgeleri belirlenip görselleştirilmiştir.

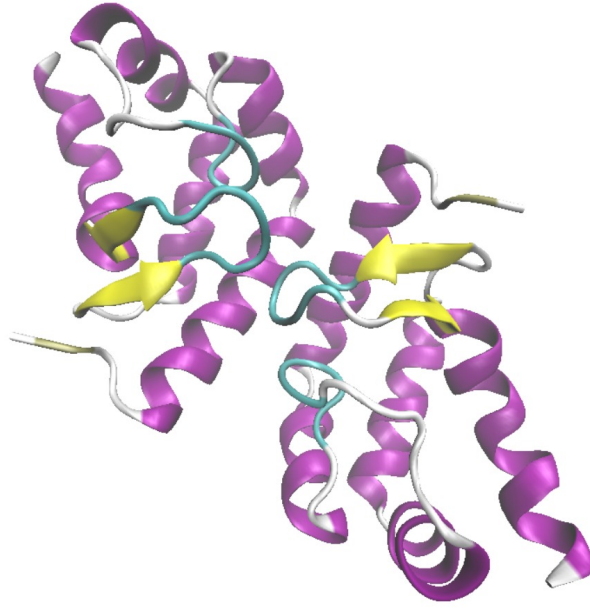
1. Giriş

1.1. Proteinin Genel Tanımı ve Özellikleri

Bitkilerde patojenlerin salgıladığı metabolik maddelere elisitör denilir. Bitkilerin ise elisitörlere karşı geliştirdiği çeşitli savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalardan birisi aşırı duyarlı tepki olarak isimlendirilir. Aşırı duyarlı tepki, patojenlerin yayılmasını engellemek amacıyla yoğun bir biçimde hücre ölümüdür bu tepki ise ekonomik olarak ağır hasarlara neden olmaktadır. Phytophthora ve Pythium elisitini olarak adlandırılan protein bazlı elisitör madde salgılayarak aşırı duyarlı tepkiye sebep olan patojenlerin büyük bir kısmını barındırır. Özellikle Phytophthora cinsine ait P. Cinnamomi, bitkilere en çok hasar veren türdür. Solanaceae ve cruciferae familyalarından bitkilerde yerel ve uzak savunma tepkilerini indükler. Yaprak nekrozunu ortaya çıkarır ve patogenezele ilgili proteinlerin birikmesine neden olur [Mikes et al. 1998]. Yalnızca Avustralyada 2000'den fazla bitki türünü etkilediği belgelenmiştir. Ayrıca dünyanın geri kalanına da yayılmış olan bu tür tarih içinde büyük ormanlık alanların ölümüne yol açmıştır [Hardy 2004].

1.2. Proteinin yapısı

P.cinnamomi türünün salgıladığı β -cinnamomin kuvvetli bir çürütme kabiliyetine sahip elisitindir. Bazik olması nedeniyle başına β işareti getirilmiştir. Yapısal olarak bulunduğu elisitini grubunun özelliklerini gösterir, aynı grupta bulunan cryptogein ile dizilimsel olarak %87,8 ve capsicein ile %82,7 benzerlik göstermektedir [Huet and Pernollet 1989]. Plazma zarının lipidik molekülleri ile etkileşime girebilir. Elisitinler, sterollerin zarlar arasında yükleyebilir, taşıyabilir ve aktarabilir [Mikes et al. 1998]. Elisitini grubuna ait karakteristik kıvrım görülmektedir. 6 adet alfa-helisi, kısa bir beta-sheet ve omega-loop içermektedir. Beta-sheet ile omega-loop hidrofob bir oyucu çevreleyen bir motif oluştururlar [Rodrigues et al. 2006].



Şekil 1. β -cinnamomin proteininin yapısı.

Şekil 1’de görülmek üzere NewCartoon gösterimi ile, ikincil yapılar renklendirilmiştir. A ve B olmak üzere birbirine simetrik olan iki adet zincirden oluşmaktadır. Sarı oklarla görülen kısımlar β -sheet, mor ile gösterilen kısımlar α -helix yapılarıdır.

						5										10														15																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
--	--	--	--	--	--	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Şekil 2. Üç elisitın sekans karşılaştırılması [Huet and Pernollet 1989].

Şekil 2’de görülmek üzere üç farklı elisitın türünün aminoasit dizilimleri kıyaslanarak farklı olan aminoasitler kutu içine alınmıştır. Cryptogein (Cry), Cinammomin (in), Cap-sicein (Cap) şeklinde gösterilmiştir.

2. Yöntem

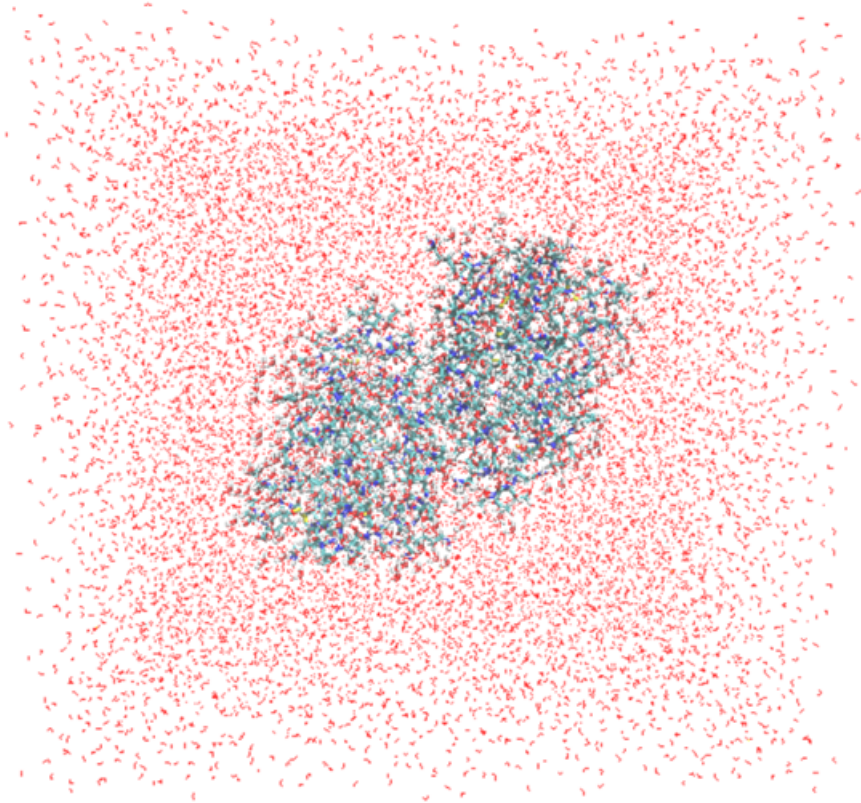
Öncelikle RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank) üzerinden β -cinnamomin proteinine ait 2A8F isimli PDB dosyası indirilmiştir. Sonrasında VMD programı üzerinden yüklenen PDB dosyası açılmıştır ve eksik residue olup olmadığı kontrol edilmiştir. Helix yapıda bulunan carbon alfalar için 4, 21, 32 ve 53 eksik residuelar olarak belirlenmiştir. Eksik residue kontrolü beta-sheetler için de yapılır. Beta-sheetler için 2 numaralı residue orijinal sekansta bulunmamaktadır ve fazlalık olarak not edilir.

2.1. Hidrojen atomları protein yapısına eklenmesi

VMD programı kullanılarak protein dosyası simülasyon için hazırlanmıştır. Kristal yapılarda bulunmayan hidrojen atomları protein yapısına eklenmiştir. Yapısına hidrojen atomları eklenmiş protein için PSF (Protein yapı dosyası) ve PDB (Protein koordinat dosyası) dosyaları oluşturulmuştur.

2.2. Sistemin su kutusuna yerleştirilmesi

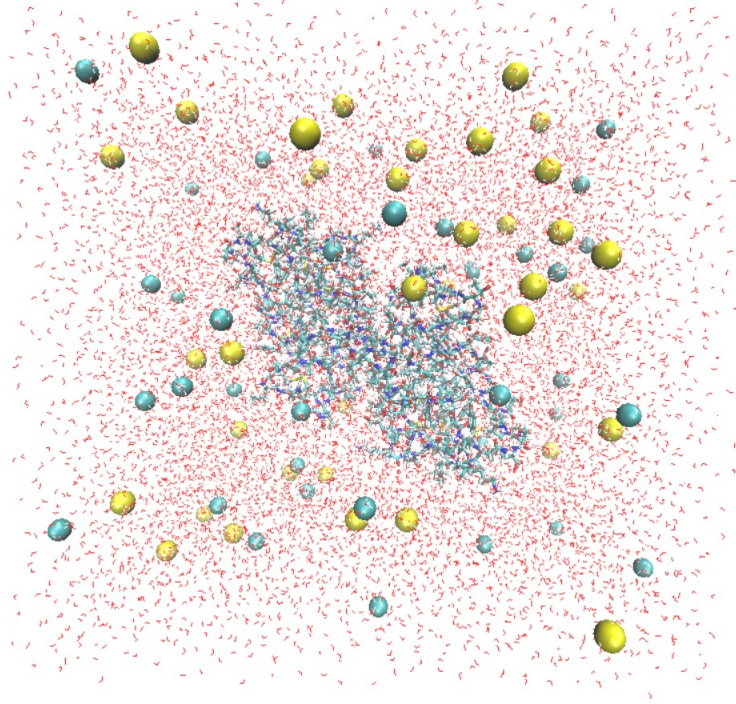
Bir sonraki adım için her ekseninde 15 Å pay bırakılarak, protein bir su kutusu içine alınmıştır. Şekil 3’de de görüldüğü gibi beta-cinnamomin proteininin su kutusunun içine yerleştirilmiştir.



Şekil 3. Proteinin su kutusuna yerleştirilmiş hali.

2.3. Sistemin nötrale edilmesi

Nötrale edildikten sonra fizyolojik şartların sağlanması için 150 mMol/L NaCl iyon eklenmiştir. Bu adımlar tamamlandıktan sonra simülasyona sokulmaya hazır bir psf dosyası elde edilir.



Şekil 4. Su molekülleri line gösterimi ile, protein licorice gösterimi ile ve iyonlar van der waals gösterimi ile.

2.4. Simülasyonun yapılması

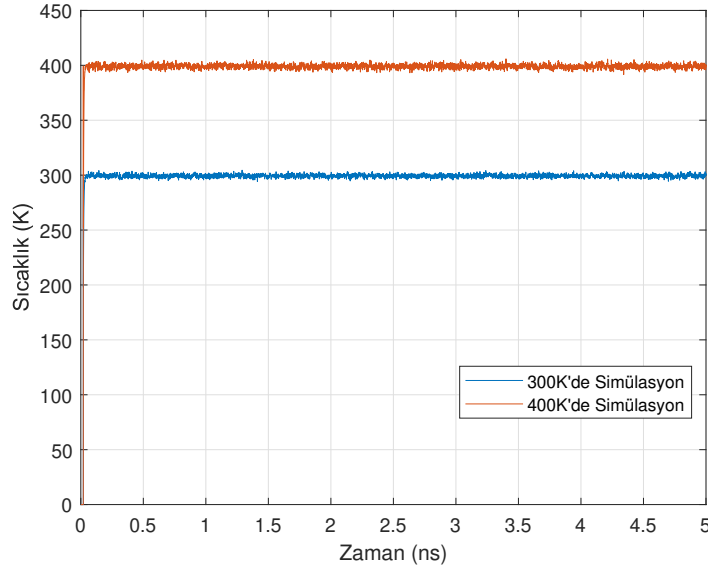
Öncelikle simülasyonun yapılması için CONF (konfigürasyon) dosyası oluşturulur. Daha sonra bu CONF dosyasının çalıştırılmasında PRM (parameters) dosyaları par_all36_carb.prm, par_all36_cgenff.prm, par_all36_na.prm, par_all36_prot.prm, top-par_water_ions_namd.str ve par_all36_lipid.prm kullanılmak üzere konumları belirlenir (Bknz. EK 1). UHeM (Uluslararası Hesaplama Merkezi)'de iş betiği yazılarak 56 işlemci ile 300 ve 400 Kelvin sıcaklık için, her bir durum için 5 ns olacak şekilde simülasyon gerçekleştirilmiştir (Bknz. EK 2).

3. Sonuçları Analizi

Sistemin kinetik enerji, basınç, hacim, sıcaklık değişimlerine LOG dosyası üzerinden ulaşılır. 300K ve 400K simülasyon sonucundaki grafikler sıcaklık, hacim, basınç ve kinetik enerji için çizdirilten sonra datalar dışarı aktarılmış. Dışarı aktarılan datalar daha sonra MATLAB'de yazılan bir kod yardımıyla 300K ve 400K arasındaki grafikleri karşılaştırılmak üzere çizdirilmiştir.

3.1. Sistemin sıcaklık karşılaştırılması

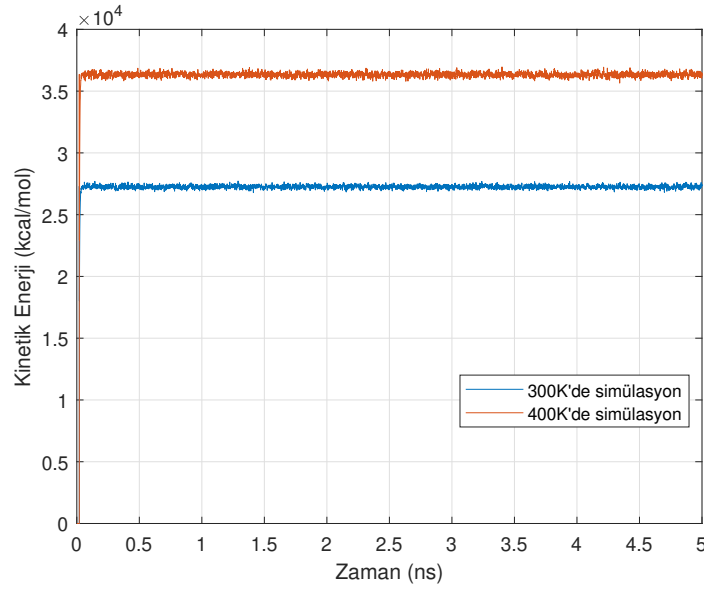
Şekil 5’de de görüldüğü gibi grafiklerde simülasyona girilen 300K ve 400K sıcaklık değerleri elde edilir.



Şekil 5. 300K ve 400K için sıcaklık karşılaştırılması.

3.2. Sistemin kinetik enerji karşılaştırılması

Şekil 6’da görüldüğü gibi sistemin kinetik enerjisi sıcaklıkla doğru orantılı olacak şekilde çıkmıştır. Daha sıcak koşulda yapılan analizin kinetik enerjisi de daha büyük çıkmıştır.

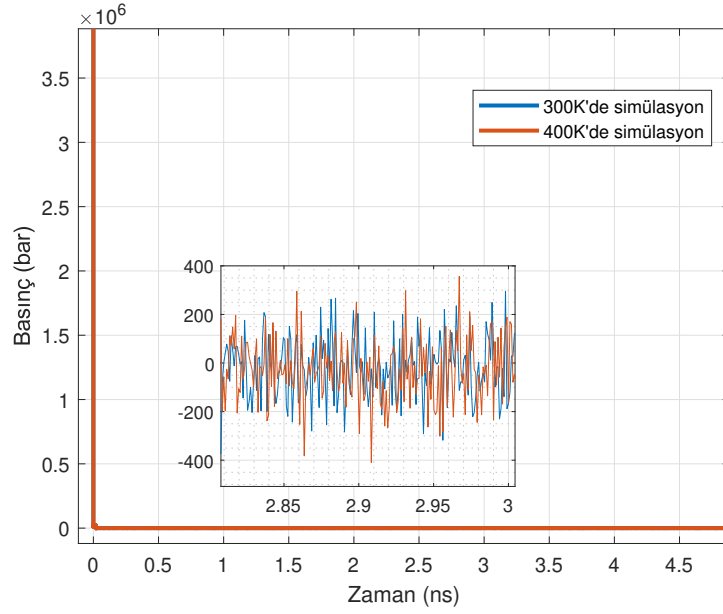


Şekil 6. 300K ve 400K için kinetik enerjilerin karşılaştırılması.

Kinetik enerji değerleri yaklaşık olarak 300K için 2750 kcal/mol ve 400K için 3600 kcal/mol bulunmuştur

3.3. Sistemin basınç karşılaştırılması

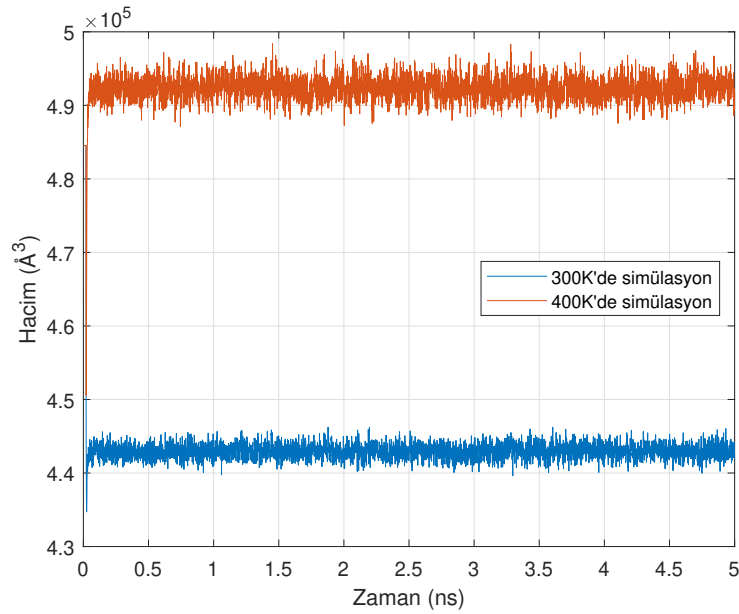
Şekil 7’de görüldüğü üzere iki sistem için de basınç değeri çok hızlı bir şekilde 0’a ulaşmıştır.



Şekil 7. 300K ve 400K için basınç karşılaştırılması.

3.4. Sistemin hacim karşılaştırılması

Şekil 8’de görüldüğü gibi hacim büyüklükleri sıcaklıkla orantılı olacak şekilde gelmiştir. Hacim 300K için ortalama $4.43 \text{ \AA}^3$ ve 400K için $4.9 \text{ \AA}^3$ bulunmuştur.



Şekil 8. 300K ve 400K için hacim karşılaştırılması.

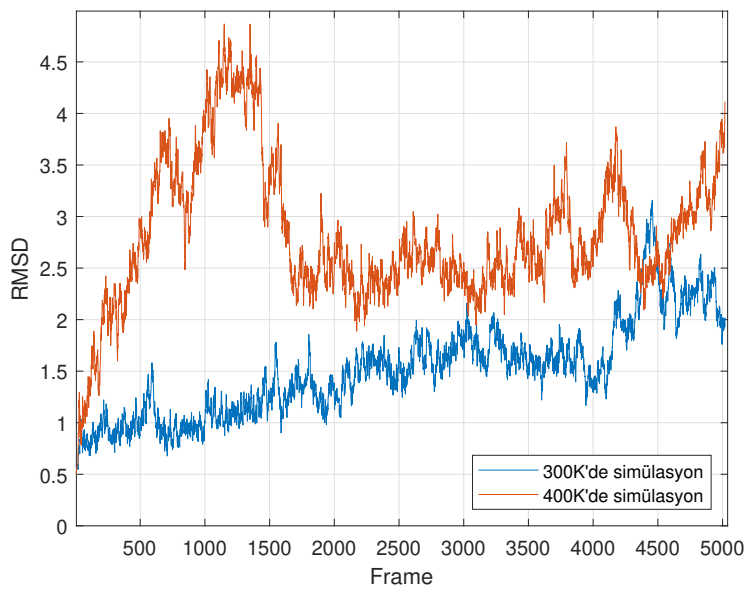
3.5. Sistemlerin kök ortalama kare sapma (RMSD) değerleri

RMSD hesabının yapılabilmesi için simülasyona hazır hale getirilmiş dosyanın üzerine (ionized.pdb), 300 Kelvin ve 400 Kelvin sıcaklıkta yapılan simülasyonlar sonucu elde edilen dcd dosyaları ayrı ayrı eklenmiştir. Bu dosyaların her biri 5020 frame'den oluşmaktadır. 300 Kelvin ve 400 Kelvin sıcaklık için VMD main üzerinden analiz bölümünde RMSD Trajectory kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. RMSD Trajectory için öncelikle proteinin tamamı seçilip align edilmiş ve analizi yapılmıştır. Sonrasında protein ve α -helix için, en son protein ve β -sheet için aynı işlem yapılmıştır. Her adımda RMSD analizleri bir grafik olarak çizdirilmiştir. Bu grafiklerin verileri birer matris halinde kaydedilip Matlab üzerinden 300 Kelvin ve 400 Kelvin için karşılaştırmalı grafikler haline getirilmiştir.

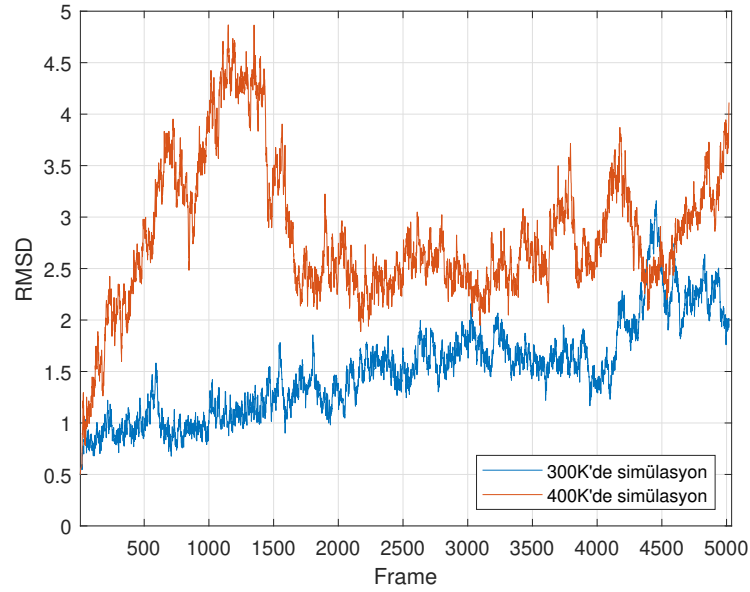
Tablo 1. RMSD değerleri karşılaştırılması.

Bölge	300K		400K	
	Ort	Maks	Ort	Maks
1 - Protein	1.507	3.159	2.816	4.8167
2 - α -helix	1.507	3.159	2.816	4.867
3 - β -sheet	1.315	2.816	1.343	3.216

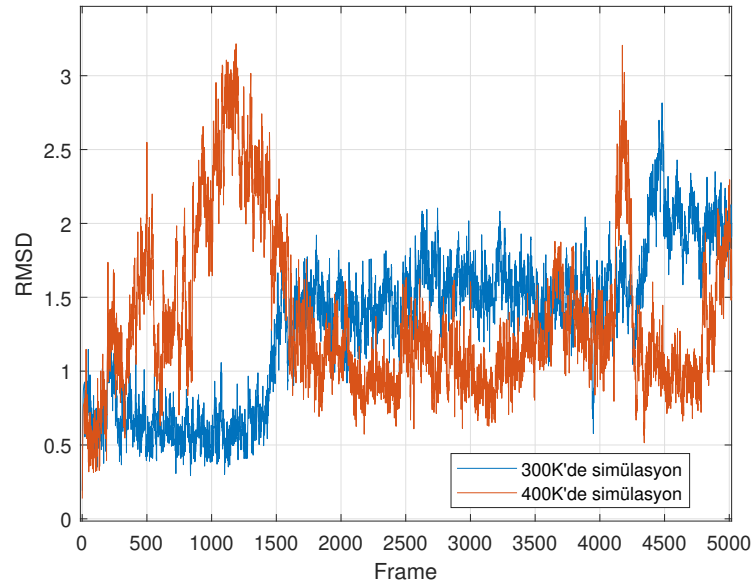
Tablo 1’de görüldüğü üzere α -helix için RMSD değerleri β -sheet’lerden daha yüksek çıkmaktadır. Ayrıca görülmektedir ki virgülden sonra digit için proteinin ve α -helix’in RMSD değerleri hem ortalama hem de maksimum için eşit çıkmıştır. Bunun nedeninin proteinin yapısındaki α -helix’in residue sayısının β -sheet’lerden sayıca çok olduğu düşünülmektedir.



Şekil 9. Protein için 300K ve 400K RMSD karşılaştırması.



Şekil 10. Alpha-helix için 300K ve 400K RMSD karşılaştırması.

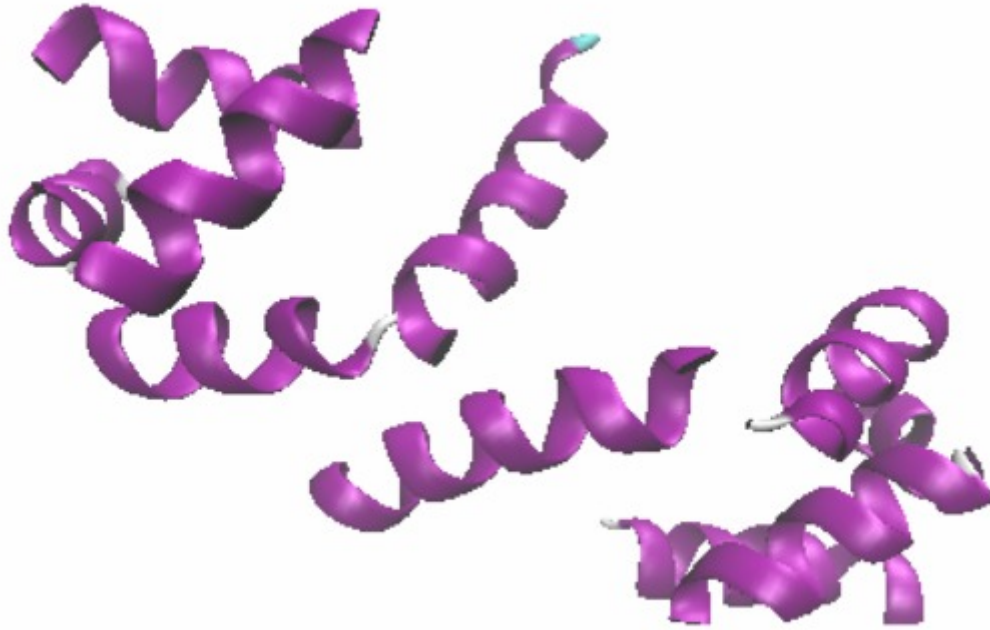


Şekil 11. Beta sheet için 300K ve 400K RMSD karşılaştırması.

4. Sonuç ve Tartışma

VMD ve NAMD kullanılarak 300 Kelvin ve 400 Kelvin için simülasyonu yapılan yapılan β -cinnamomin, analiz edilerek sistemin kinetik enerji, basınç, hacim ve sıcaklık değişimleri zamana bağlı çıktılar halinde alınmış ve daha sonra grafik haline getirilmiştir. 300K ve 400K değerleri için üst üste çizdirilen grafiklere bakılarak analizi yapılan özelliklerin doğrudan sıcaklıkla ilişkili olduğu görülmektedir. Bu ilişkinin ise doğru orantılı olduğu sonucuna varılmıştır. Basınç değerlerinde, her iki sıcaklık değeri için çok keskin bir düşüş görülmektedir daha sonrasında ise basınç sabit bir değer halinde analiz bo-

yunca devam etmektedir. Bu keskin düşüşe analiz için yapılan minimizasyon sebep olmaktadır. 300K ve 400K için RMSD grafikleri karşılaştırmalı olarak çizdirilmiştir. Şekil 9'da görüldüğü üzere 400 Kelvin'de çok daha büyük sapma görülmektedir. Yaklaşık 1200 frame'de hareketlilik en yüksek noktaya ulaşmıştır. 3500 frame'e kadar ortalama değere yakın olan RMSD değerleri 5020 frame'e kadar artarak sonlanmıştır. Aynı şekil üzerinde 300 Kelvin'de ortalama değerin altında başlayarak, düzenli sayılabilecek bir şekilde artan ve yaklaşık 4400 frame'de tepe noktaya ulaşan hareketlilik görülmüştür. 300K ve 400K'deki RMSD grafikleri kıyaslandığında 400K'de proteinin çok daha hareketli olduğu görülmüştür. Aynı sonuçlara Şekil 10 ve Şekil 11'den de varılmıştır. Bu karşılaştırmalar sonucu β -cinnamomin proteinin α -helix ve β -sheet'lerinin sıcaklık ile birlikte benzer bir hareketlilik sergilediği görülmüştür. β -sheet'lerin farklı sıcaklıklarda RMSD değerlerinin 1500 frame'den 4000 frame'e kadar çok yakın olduğu görülmüştür. Buradan β -sheet'lerin RMSD değerlerinin sıcaklık farklarında α -helix'ten daha az etkilendiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 12. β -cinnamom yapısındaki alpha-helixler.

Kaynaklar

- [Hardy 2004] Hardy, G. (2004). Pathology — phytophthora root rot of forest trees. In Burley, J., editor, *Encyclopedia of Forest Sciences*, pages 758–766. Elsevier, Oxford.
- [Huet and Pernollet 1989] Huet, J.-C. and Pernollet, J.-C. (1989). Amino acid sequence of cinnamomin, a new member of the elicitin family, and its comparison to cryptogein and capsicein. *FEBS Letters*, 257(2):302–306.
- [Mikes et al. 1998] Mikes, V., Milat, M. L., Ponchet, M., Panabières, F., Ricci, P., and Blein, J. P. (1998). Elicitins, proteinaceous elicitors of plant defense, are a new class of sterol carrier proteins. *Biochemical and biophysical research communications*, 245(1):133–139.
- [Rodrigues et al. 2006] Rodrigues, M. L., Archer, M., Martel, P., Miranda, S., Thomaz, M., Enguita, F. J., Baptista, R. P., Pinho e Melo, E., Sousa, N., Cravador, A., and Carrondo, M. A. (2006). Crystal structures of the free and sterol-bound forms of β -cinnamomin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1764(1):110–121.

EKLER

EK 1

Simülasyonun çalıştırılması için yazılan CONF dosyası.

```
#####
## 2A8F SIMULATION                                     ##
#####

# Minimization and Equilibration of
# 2A8F in a water box

#####
## ADJUSTABLE PARAMETERS                               ##
#####

structure          ../ecelik01/MAK4079/proje/ionized.psf
coordinates         ../ecelik01/MAK4079/proje/ionized.pdb

set temperature     400
set outputname      2a8f_400K_eq

firsttimestep       0

#####
## SIMULATION PARAMETERS                               ##
#####

# Input
paraTypeCharmm      on
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/
    par_all36_carb.prm
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/
    par_all36_cgenff.prm
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/par_all36_na.
    prm
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/
    par_all36_prot.prm
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/
    toppar_water_ions_namd.str
parameters          ../ecelik01/MAK4079/proje/
    par_all36_lipid.prm
temperature         $temperature
```

```

# Force-Field Parameters
exclude                scaled1-4
1-4scaling             1.0
cutoff                 12.0
switching              on
switchdist             10.0
pairlistdist           14.0

# Integrator Parameters
timestep               2.0    ;# 2fs/step
rigidBonds             all    ;# needed for 2fs steps
nonbondedFreq          1
fullElectFrequency     2
stepspercycle          10

# Constant Temperature Control
langevin               on      ;# do langevin dynamics
langevinDamping         1      ;# damping coefficient (gamma) of
                             1/ps
langevinTemp            $temperature
langevinHydrogen        off     ;# don't couple langevin bath to
                             hydrogens

# Periodic Boundary Conditions
cellBasisVector1        82.681    0.0    0.0
cellBasisVector2         0.0    87.578    0.0
cellBasisVector3         0.0     0.0    66.915
cellOrigin              0.590    15.790    34.485

wrapAll                 on

# PME (for full-system periodic electrostatics)
PME                     yes
PMEGridSpacing          1.0

#manual grid definition
#PMEGridSizeX           45
#PMEGridSizeY           45
#PMEGridSizeZ           48

```

```

# Constant Pressure Control (variable volume)
useGroupPressure      yes ;# needed for rigidBonds
useFlexibleCell        no
useConstantArea        no

langevinPiston         on
langevinPistonTarget   1.01325 ;#   in bar -> 1 atm
langevinPistonPeriod   100.0
langevinPistonDecay    50.0
langevinPistonTemp     $temperature

# Output
outputName             $outputname

restartfreq            500      ;# 500steps = every 1ps
dcdfreq               500
xstFreq               500
outputEnergies        500
outputPressure        500

#####
## EXTRA PARAMETERS                                     ##
#####

#####
## EXECUTION SCRIPT                                     ##
#####

# Minimization
minimize              10000
reinitvels            $temperature

run 2500000 ;# 5ns

```

EK 2

UHeM’de simülasyonu çalıştırmak için yazılan iş betiği.

```
#!/bin/bash
#SBATCH -A                # account / proje adi
#SBATCH -n 56             # çekirdek / işlemci sayısı
#SBATCH -N 2              # sunucu makina sayısı
#SBATCH -p defq

module load NAMD/NAMD_2.14_Source_verbs_icc_core40q
NAMDDir=/okyanus/progs/namd/NAMD_2.14
    _Source_verbs_icc_core40q/Linux-x86_64-icc

$NAMDDir/charmrun +p\${SLURM_NTASKS} ++mpiexec $NAMDDir/namd2
    +setcpuaffinity 2a8f_400K_eq.conf > 2a8f_400K_eq.log
```