作成：2017 年 12 月 21 日
改定：2026 年 03 月 18 日

YASARA エネルギー最小化チュートリアル

株式会社アフィニティサイエンス

概要：YASARA Structure (Version 24.4.10)により、タンパクの周囲に水分子を発生させて行うエネルギー最小化(Minimization)操作をチュートリアル形式で説明します。本チュートリアルでは、アルツハイマー病の発症に関与すると考えられるアミロイドβタンパクの産生および凝集性を決定する酵素β-site APP cleaving enzyme 1（BACE1）の複合体構造（PDB ID:5I3V）を用いて、エネルギー最小化を実施します。
（※エネルギー最小化を行うには、YASARA Dynamics 以上のグレードが必要）

1. はじめに

本チュートリアルでは、ソフトウェア付属のエネルギー最小化用マクロファイル（em_runclean.mcr または em_run.mcr）を利用する方法について紹介します。（本チュートリアルでは、標準の「em_runclean.mcr」を使用します。）
２種類のマクロファイルには以下の違いがあり、実際の実行時には目的に沿ったものを選択してください。

マクロファイル名	説明
em_runclean.mcr（標準）	水素付加等の Clean 処理（CleanAll コマンド）及び水素結合ネットワークの最適化（OptHydAll コマンド）を行った後、エネルギー最小化を実行します（本マクロ内で Clean 処理等を行った後、em_run.mcr を読込み・実行)。通常はこちらを利用します。
em_run.mcr	Clean 処理と水素結合ネットワークの最適化を行わず、入力構造のままエネルギー最小化を実行します。手動で割り当てられたラジカルや遷移構造を含む場合など、YASARA による原子の追加や削除を行いたくない場合に選択します。

エネルギー最小化計算は、メニューから Experiment Minimization を実行することでも可能です。詳細については、4. 補足情報とヒントの「4.1 Experiment によるエネルギー最小化」をご参照ください。

2. 準備

2.1 PDB ダウンロードと構造表示

「File」→「Load」→「PDB file from Internet」を選択し、PDB ID に「5i3v」と入力、PDF ファイルをダウンロードすると、画面上にタンパク 3D 構造が表示されます。
※インターネット未接続の場合、PDB ファイルを別途入手し、「File」→「Load」→「PDB file」等から構造を読み込んでください。「View」→「Style scene」またはファンクションキーで分子の表示方法を変えることができます。本チュートリアルでは、「Ribbon」（F6 キー）に設定しています。

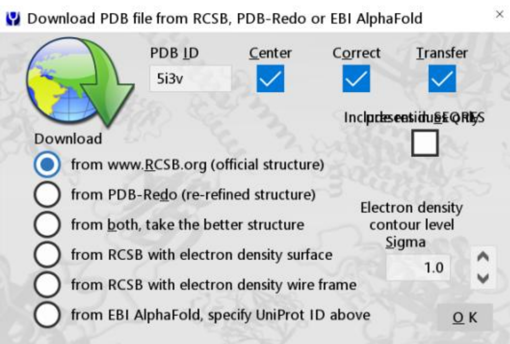

Figure 2.1　PDB ファイルのダウンロード

2.2 前処理（不要分子の削除）

レセプター（タンパク）とリガンド（低分子）以外の不要なものを取り除くため、メニュー「Edit」→「Delete」→「Molecule」を実行して、不要分子を削除します。

今回は、Sequence リストの上から 1 番目がタンパク質分子、3 番目がリガンド分子なので、その他の分子を Ctrl キーを押しながら複数選択して、OK ボタンを押します。

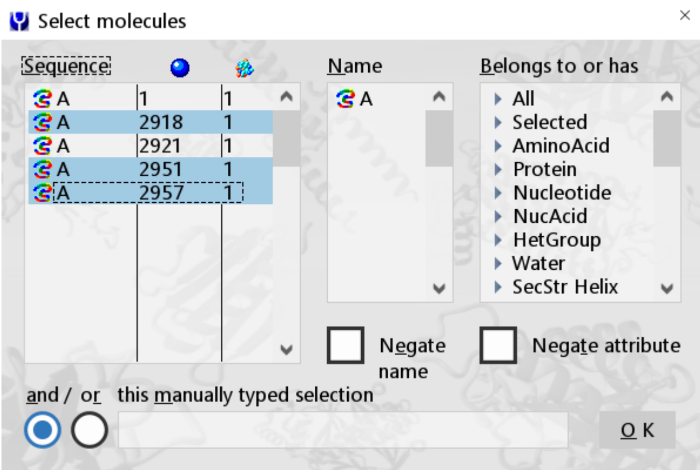

Figure 2.2　Delete の実行（Ctrl キー＋クリックで複数選択が可能）

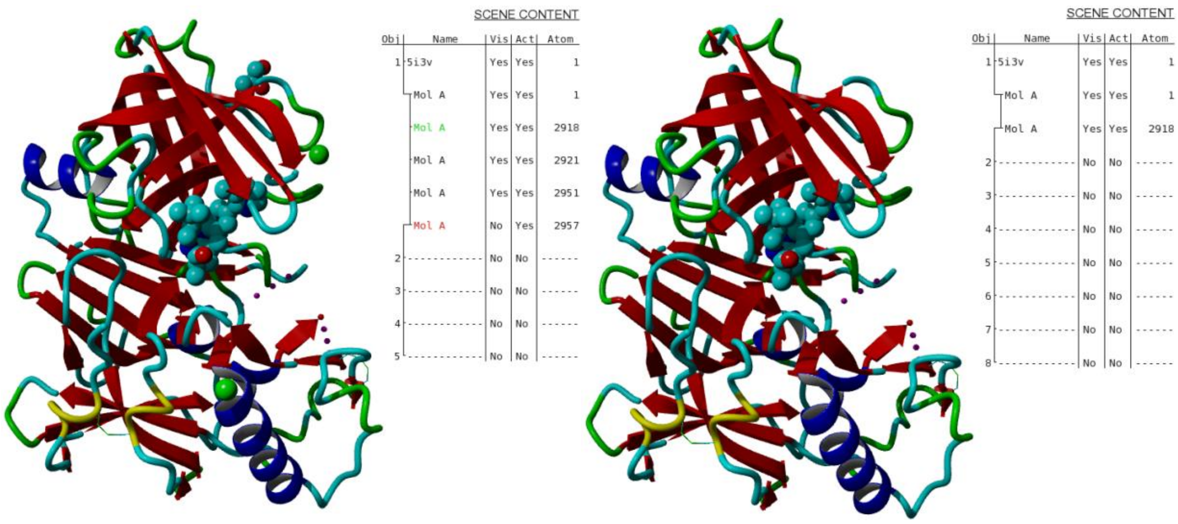

Figure 2.3　（左図）不要分子削除前　（右図）不要分子（ヨウ化物イオン／グリセロール／水）削除後

2.3 構造ファイルの保存（任意）

「File」→「Save as」→「YASARA Scene」、「YASARA Object」、「PDB file」のいずれかを実行して任意のフォルダ（ディレクトリ）に構造を保存します（※対応ファイル形式：sce, yob, pdb）。保存場所やファイル名は任意で問題ありませんが、YASARA 上で表示が乱れるため日本語を含まないようにしてください。

例）C:¥Users¥username¥Desktop¥YASARA_DATA¥tuto_em¥5i3v.pdb

※GUI からエネルギー最小化マクロを実行する場合、この操作（構造ファイルの保存）は必須ではありません。

3. エネルギー最小化マクロの実行

エネルギー最小化マクロは、他の多くのマクロファイルと同様、GUI とコマンドラインから実行することができます。マクロファイル自体は全く同じ内容ですが、構造データの事前読込みの有無などで、GUI とコマンドラインで一部の挙動が変わる場合があります。

3.1 GUI から実行する場合

3.1.1 力場設定

エネルギー最小化を実行するにあたり使用する力場を設定します。メニューから「Simulation」→「Force field」を選択し、力場（YASARA2 等）を選択し、「OK, and if … parameters」をクリックします。

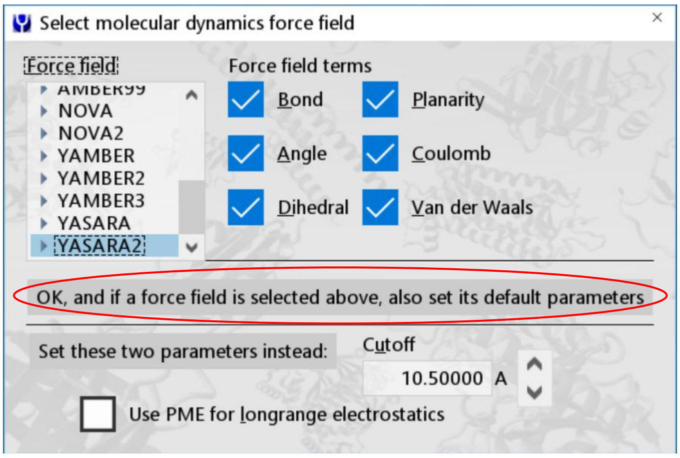

Figure 3.1　力場設定

3.1.2 マクロの実行（GUI）

「Option」→「Macro&Movie」→「Play macro」からエネルギー最小化用のマクロ「em_runclean.mcr」を選択し、エネルギー最小化を実行します。

計算が終了すると、下部コンソール画面にエネルギー値とエネルギー最小化前の構造と比較した RMSD 値が表示されます。必要に応じて、構造をメニューの「File」→「Save as」から保存します。

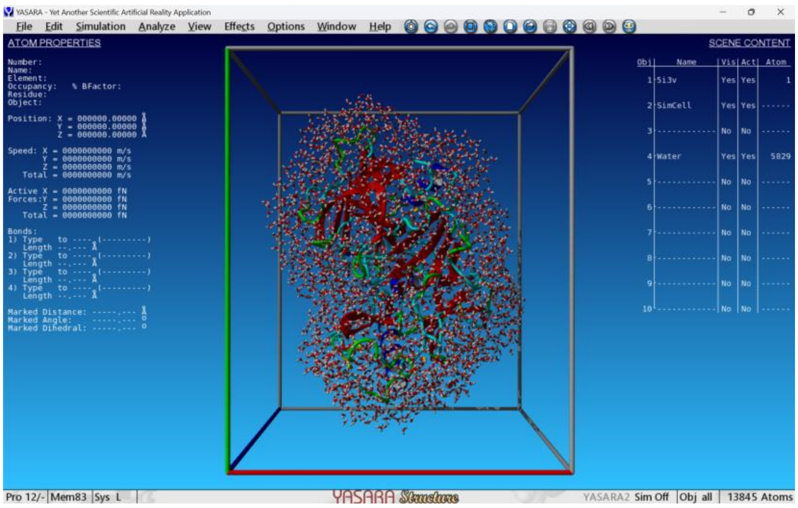

Figure 3.2　em_runclean.mcr 実行画面

```
Macro>Wait ExpEnd - OK
Energy minimization experiment completed after 1357 steps. Final energy is -357470.317 kJ/mol.
Macro>HideMessage - OK
Macro>  Console Off - OK
The all-atom minimization RMSD of object 1 [5i3v] is 0.726 A
WARNING - There are 1 wrong isomers and 4 cis-peptide bonds.
```

↑最小化構造のエネルギー値

←最小化前の構造と比較した RMSD 値

Figure 3.3　em_runclean.mcr 実行結果（下部コンソール画面）

【Tips】

＊力場を変更せず、デフォルトの NOVA 力場（真空中のタンパク質のエネルギー最小化向けに最適化）のままエネルギー最小化計算を行うとタンパク周囲に水分子（water shell）は配置されません。

＊実行結果の最終行で WARNING が出力されていますが、詳細は、Analyze メニューの「Check」→「All」から、Isomers や PepBonds を選択することで確認することができます（上の例では、LEU A 167 が D-amino acid、PRO A 23/PRO A 129/ASP A 223/PRO A 373 の cis 型ペプチド結合が警告対象となっています。em_run.mcr 内で CorrectIso, CorrectCis コマンドが有効化されていますが、この例では修正されなかったようです）。L-amino acid への変更は、SwapRes コマンドや SwapPosAtom コマンド、cis/trans 型ペプチドは、Dihedral や DelBond、AddBond コマンド等を用いて手動で変更することができます。

```
>CheckAll Type=Isomers
Residue LEU A   167  in object 1: D-amino acid
Object  1 (5i3v) has a wrong isomer count of 1.000
Object  4 (Water) has a wrong isomer count of 0.000
Interpretation: > 0 is bad
>CheckAll Type=PepBonds
Found a cis-peptide bond at the N-terminus of PRO A   23  in object 1.
Found a cis-peptide bond at the N-terminus of PRO A  129  in object 1.
Found a cis-peptide bond at the N-terminus of ASP A  223  in object 1.
Found a cis-peptide bond at the N-terminus of PRO A  373  in object 1.
Object  1 (5i3v) has a cis-peptide bond count of 4.000
Object  4 (Water) has a cis-peptide bond count of 0.000
Interpretation: > 0 is bad, but cis-prolines are OK
>_
```

Figure 3.4　CheckAll コマンド実行結果

3.2　コマンドライン（CLI）から実行する場合

3.2.1 構造ファイルの準備

準備 2.3 でエネルギー最小化の対象となる構造を保存していない場合、任意のディレクトリに構造ファイルを保存します（対応ファイル形式：sce, yob, pdb）。保存場所やファイル名は任意で問題ありませんが、YASARA 上で表示が乱れるため日本語を含まないようにしてください。

例）C:¥Users¥username¥Desktop¥YASARA_DATA¥tuto_em¥5i3v.pdb

3.2.2 マクロの実行（CLI）

Windows であればコマンドプロンプト（Win キー+R キーでファイル名を指定して実行ダイアログを開き、名前に cmd を入力し OK ボタンをクリックすることで起動可）、Linux であればターミナルプログラム（gnome-terminal など）を開き、次の手順に従いコマンドを入力、Enter キーを押すことで実行することができます。ファイルの指定は相対パスでもよいため、カレントディレクトリに必要なファイル（構造ファイルやマクロファイル）が保存してあればそのパスを、また、環境変数 Path（Windows）または PATH（Linux）に YASARA 実行ファイルのディレクトリパスを追加済みであれば、そちらのパスもそれぞれ省略できます。

① YASARA インストールディレクトリ内の YASARA 実行ファイルを指定

② スペースを空け、テキストモード用オプション（-txt）を指定

③ スペースを空け、先ほど編集したマクロファイルを指定（付属のマクロを使用する場合は、YASARA インストールディレクトリ内の mcr ディレクトリに格納されているマクロを指定）

④ スペースを空け、MacroTarget を指定（全体をダブルクォーテーション（"）で囲み、ターゲットをシングルクォーテーション（'）で囲む。拡張子は不要）

⑤ （任意）スペースを空け、力場を指定（全体をダブルクォーテーション（"）で囲み、力場をシングルクォーテーション（'）で囲む）

実行例（絶対パス使用）

Windows

```
C:¥Users¥username¥Desktop¥yasara¥YASARA.exe -txt C:¥Users¥username¥Desktop¥yasara¥mcr¥em_runclean.mcr
        "MacroTarget='C:¥Users¥username¥Desktop¥YASARA_DATA¥tuto_em¥5i3v'" "ForceField='YASARA2'"
```

Linux

```
/home/username/yasara/yasara -txt /home/username/yasara/mcr/em_runclean.mcr
        "MacroTarget='/home/username/YASARA_DATA/tuto_em/5i3v'" "ForceField=' YASARA2'"
```

実行例（環境変数 Path/Path 設定済、構造ファイル・マクロファイルをカレント（作業）ディレクトリに保存してある場合）

Windows

```
YASARA.exe -txt em_runclean.mcr "MacroTarget='5i3v'" "ForceField=' YASARA2'"
```

Linux

```
yasara -txt em_runclean.mcr "MacroTarget='5i3v'" "ForceField=' YASARA2'"
```

計算が終了すると、最小化前の構造を保存したフォルダ（ディレクトリ）に、計算後の構造が「~_minimized.拡張子」というファイル名で出力されます。（出力ファイル形式は入力ファイルと同じ形式になります）

4. 補足情報とヒント

4.1 Experiment によるエネルギー最小化：Experiment Minimization

メニューから「Options」→「Choose experiment」→「Energy minimization」を選択することで、GUI から直接エネルギー最小化を実行することもできます。（この操作を行うと、コマンド「Experiment Minimization」が実行されます。）

Experiment Minimization を実行すると、セルが作成され、カレントパラメータを用いた最急降下法（steepest descent）によりエネルギー最小化が行われます。強いバンプ（strong bump）を持つ領域は、短距離エネルギートラップを避けるため、初期段階では静電相互作用なしで最小化されます。バンプが除去され、構造上の不自然な応力がなくなると（つまり、MinStep/AccelMax の平方根が 2.5 fs より大きくなる状況。AccelMax はスープ内の原子に作用する最大加速度）、シミュレーテッド・アニーリング法による最小化が行われます。この最小化は、エネルギーが収束するまで（200 ステップごとに計算される）繰り返し実行されます。この収束基準は、「Convergence」パラメータで設定することができます。これにより、構造は近傍のより安定なエネルギー最小値まで移動しますが、必ずしも大域的なエネルギー最小値に到達するわけではないことにご注意ください。詳しくは、YASARA ユーザーマニュアルの、Commands - Tell YASARA what to do > Options - Other commands > Experiments - Let YASARA cook for you > Experiment - Choose and control experiments 内の、「Example 1: `Experiment Minimization`」をご参照ください。

なお、マクロファイル em_run.mcr 内では「Experiment Minimization」が実行されています。em_runclean.mcr または em_run.mcr を使用することで、Experiment 単独での処理に加え、構造のクリーニング、水素結合ネットワークの最適化、必要に応じて溶媒シェルの追加、RMSD の計算など、複数の追加作業が自動的に行われる仕様になっています。

4.2 2 種類のマクロ（em_runclean.mcr と em_run.mcr）の違いについて

標準のマクロ em_runclean.mcr では、em_run.mcr に構造のクリーニング処理が追加されます。em_runclean.mcr 内でコマンド「CleanAll」と「OptHydAll」が実行された後、em_run.mcr が実行されます。エネルギー最小化処理の大半は、em_run.mcr 内で記述されています。

```
# Prepare the structure for minimization
CleanAll
if Structure
  # Optimize the hydrogen-bonding network
  OptHydAll
# Run the normal minimization protocol
include em_run        ← include ステートメントで em_run.mcr を呼び出す（相対パス、拡張子自動補完）
```

Figure 4.1　マクロファイル「em_runclean.mcr」末尾部分

4.3 マクロ実行時にエネルギー最小化後の構造が自動保存される条件

コマンドラインからマクロファイルを実行すると、エネルギー最小化後の構造が自動的に保存されますが、GUI から実行する場合も、次の２つの条件を満たしている場合は自動保存が可能になります。

① YASARA 上に原子が読み込まれていない状態であること
② マクロターゲットに構造ファイル（.sce .yob .pdb 形式）が指定されていること

これはマクロの仕様（!Atoms and MacroTarget!="を満たす場合に、ファイル形式を指定する変数 type が定義され、type が値を持つ場合に Save コマンドが実行される）によるもので、コマンドラインから実行する場合は必然的にこの条件を満たすことになるためエネルギー最小化後の構造が自動的に保存されるようになっています。詳細は、em_run.mcr の内容をご確認ください。

4.4 マクロサンプル（Example_CorrectCis.mcr）

mcr フォルダに格納されている標準マクロの他、ユーザーマニュアル内に多くのマクロ例が記述されています。次のマクロサンプルは、CorrectCis コマンドページに掲載されているもので、www.yasara.org/minimizationserver の背後で動作しているマクロです。

```
# EXAMPLE CorrectCis
# Requires YASARA Structure
# This macro is behind the minimization server at www.yasara.org/minimizationserver
# Remove cis-peptide bonds and wrong isomers, and optimize the energy, including side-chain rotamers and hydrogen-bonding network.
EnergyUnit kJ/mol
if !Atoms
  # No PDB file loaded yet, pick one
  LoadPDB 1acp,Model=1,Download=yes
（省略）

# Make sure that the water shell is in the same coordinate system as the solute
TransferObj Water,End,Local=Fix
# Save the result - as a scene of everything and just the result as a PDB file
SaveSce minimization
SavePDB 2,result
LabelAll 'www.YASARA.org/minimizationserver',Height=0.4,Color=Yellow,Y=-3
```

Figure 4.2　マクロ例「Example_CorrectCis.mcr」（※ファイル名は任意）

YASARA GUI からエネルギー最小化の対象となる構造を読込み（例、PDB:5i3v)、「Options」→「Working directory」で作業ディレクトリを指定、本マクロを実行することで、最小化前後の構造、エネルギー値、Z スコアが画面上に表示され、作業ディレクトリに「minimization.sce」と「result.pdb」が保存されます。

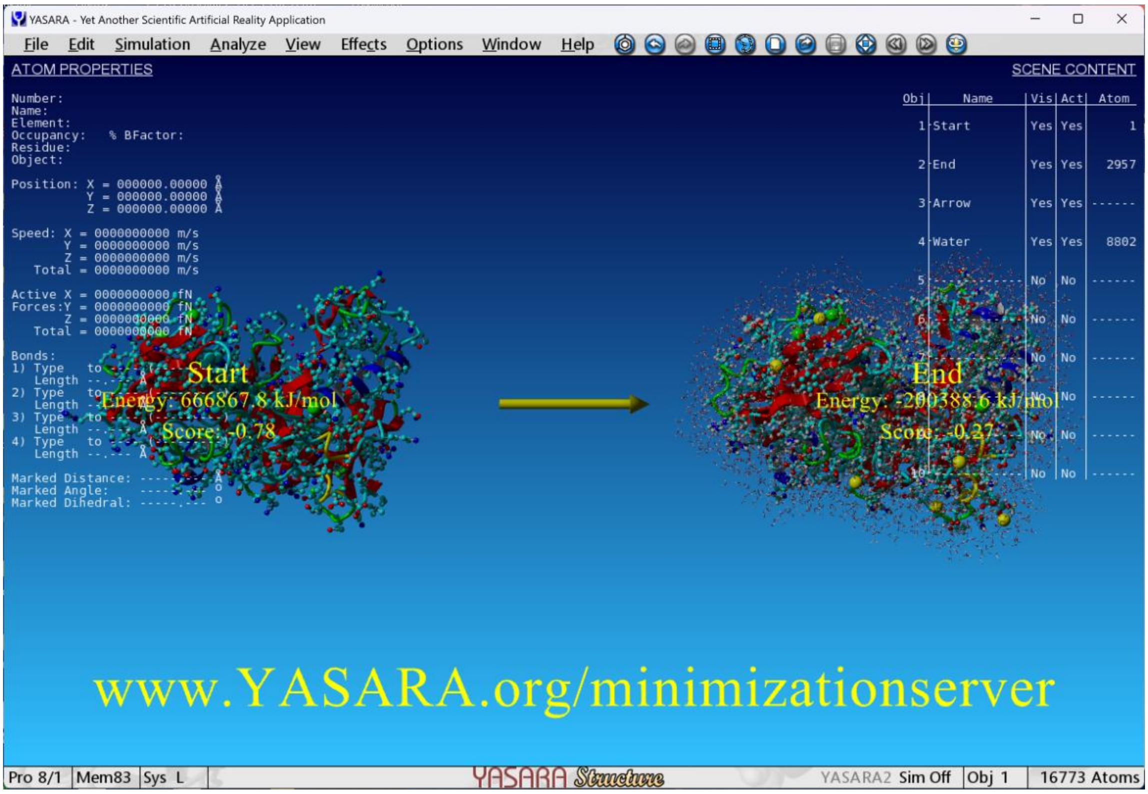

Figure 4.3　マクロ「Example_CorrectCis.mcr」実行終了後の GUI 画面

4.5 Windows で CLI から実行した場合に RMSD 値等の確認ができない

Windows コマンドプロンプトから実行した場合、通常、コマンドを実行したウィンドウとは別のウィンドウが表示され、そちらに計算内容が出力されます。このウィンドウは、計算終了と共にすぐ閉じられるため RMSD 値等の確認が難しい場合があります。このような場合、em_run.mcr の末尾部分に Wait コマンド（例、Wait Forever）の追加や、Exit コマンド行の行頭に”#”を加えてコメントアウトすることで、マクロの即時終了やウィンドウがすぐに閉じられる状況を回避することができ、値を確認できるようになります。

【Tips】

上記の em_run.mcr 編集において、Exit 行をコメントアウトした場合、出力最後に「Macro>」が表示され、入力待ちの状況になります。Stop または StopMacro でマクロ終了、Exit で YASARA を終了することができます。

```
（省略）
    SaveSce (MacroTarget)_minimized
Wait 10,Unit=Seconds        ← テキストエディタ等でこの行を追加
# Exit YASARA if this macro was provided as command line argument in console mode and not included from another macro
if runWithMacro and ConsoleMode and !IndentationLevel
  Exit
Console open
```

Figure 4.4 マクロ「em_run.mcr」末尾部分の編集例（終了直前に 10 秒間の Wait コマンド）

4.6 その他のヒント（ユーザーマニュアルより一部抜粋）

・YASARA は、シミュレーテッド・アニーリング法により最小化を行い、構造を近傍の安定したエネルギー最小（極小）構造に移動させます。グローバルな最適化ではないため、この方法でペプチド鎖を折り畳むことはできません。

・現在選択されている力場が明示的な溶媒（explicit solvent）で使用することを目的としている場合、YASARA は最小化の開始時に溶媒シェルを作成します。最小化中に表示されるエネルギーには、溶媒シェルが含まれます。溶媒シェルを作成するには、セル全体を一時的に水で満たす必要があり、かなりのメモリを消費します。したがって、非常に大きなタンパク質の場合は、セルをできるだけ小さく保つことが推奨されます。

・エネルギー最小化標準マクロは、CorrectCis および CorrectIso コマンドを使用して、新たに形成されたシスペプチド結合および間違った異性体 (初期構造に深刻な構造ストレスが含まれている場合に発生する可能性があります) を修正します。初期に存在していたエラーも修正したい場合は、マクロを調整するか、マクロの実行中に修正モードを変更します。

・特定の領域だけを最小化したい場合は、Fix コマンドで固定する原子を指定します。

・短い時間で多数の構造のエネルギー最小化計算を実施したい場合、標準マクロ em_run.mcr を複製するなどし、一部を編集した独自のマクロファイルを作成します。マクロ後半で指定される 2 番目の 'Convergence'パラメータの値を大きくすることで最小化（収束判定）条件を緩めることができ、計算時間を短縮することができます。

```
# Main energy minimization
ShowMessage "Running main energy minimization..."
Experiment Minimization
  # Converge as soon as the energy improves by less than 0.05 kJ/mol = 50 J/mol per atom during 200 steps
  Convergence (50.*JToUnit/AvoConst)
Experiment On     ↑”50.”を大きい値へ変更（e.g. 100.→100J/mol）※JToUnit/AvoConst:定義済み変数
Wait ExpEnd
HideMessage
```

Figure 4.5　マクロファイル「em_run.mcr」Main energy minimization 該当部分

・最終的に表示される結果のエネルギーは、残基を固定して最小化計算から除外するなどの方法をとらない限り、通常はマイナスとなります（※結合エネルギーとは異なり、値が小さい方がより安定な構造です）。

5. 参考資料

・YASARA ユーザーマニュアル（Help > Show user manual）の、以下のページにエネルギー最小化計算に関する内容が記載されています。

Recipes - Perform complex tasks > Run an energy minimization

・タンパク質モデリング（AI ベースまたはホモロジーモデリング）やループモデリングについては、弊社ウェブサイトのチュートリアルやブログ記事をご参照ください。

YASARA 日本語チュートリアル
https://www.affinity-science.com/yasara-tutorial

Affinity Science Blog/.org
https://www.affinity-science.org/

以上