



دانشکده علوم - گروه شیمی
پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری
رشته شیمی - گرایش شیمی فیزیک

عنوان:

بررسی مکانیسم غیرطبیعی شدن حرارتی پلاستوسیانین
به روش دینامیک مولکولی

اساتید راهنما:

دکتر محمد رضا حسین دخت

دکتر فرامرز طیاری

استاد مشاور:

دکتر محمد رضا بزرگمهر

نگارنده:

محسن سرگلزایی

تابستان ۱۳۹۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فهرست

فصل اول: شبیه سازی دینامیک مولکولی

- ۱-۱ مقدمه ۱
- ۲-۱ انواع حرکت ۱
- ۳-۱ اساس آماری دینامیک مولکولی ۴
- ۴-۱ دینامیک مولکولی نیوتونی ۶
- ۱-۴-۱ معادله حرکت نیوتن ۶
- ۲-۴-۱ ویژگی‌های معادله حرکت نیوتن ۶
- ۵-۱ الگوریتم‌های محاسباتی ۷
- ۶-۱ اجرای شبیه‌سازی در عمل ۱۱
- ۱-۶-۱ انتخاب گام زمانی انتگرال‌گیری ۱۳
- ۲-۶-۱ بعضی از راهکارها برای شبیه‌سازی بهتر ۱۴
- ۷-۱ مدل‌های حلال ۱۶
- ۱-۷-۱ مدل‌های حلال ضمنی ۱۶
- ۲-۷-۱ مدل حلال بورن عمومی ۱۷
- ۳-۷-۱ مدل‌های حلال صریح ۱۷
- ۴-۷-۱ مدل ساده ۱۷
- ۸-۱ کاربرد شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در بررسی تاخوردگی و بازشدگی پروتئین ۱۸
- ۱-۸-۱ اهمیت بررسی تاخوردگی و بازشدگی پروتئین ۱۸
- ۲-۸-۱ شبیه‌سازی و بررسی بازشدن پروتئین ۱۹
- ۳-۸-۱ عوامل مختلف تأثیرگذار به فرایند بازشدگی ۲۰

فصل دوم: پلاستوسیانین

- ۱-۲ معرفی پروتئین ۲۴
- ۲-۲ کارهای انجام گرفته در مورد شناخت پروتئین (ساختار و دینامیک) ۲۸
- ۳-۲ کارهای انجام گرفته در مورد اندرکنش پروتئین و حلال ۳۲

۳۳ کارهای مرتبط با عملکرد انتقال الکترون مربوط به پروتئین.
۳۶ روشهای مکانیک کوانتومی / مکانیک مولکولی
۳۸ رابطه ساختار و عمل

فصل سوم: نتایج و بحث

۴۸ ۱-۳ مقدمه
۵۳ ۲-۳ محاسبات
۵۵ ۳-۳ بررسی مکانیسم بازشدگی دمایی
۵۵ ۱-۳-۳ آنالیز ریشه دوم میانگین مجذور انحراف (RMSD)
۵۶ ۲-۳-۳ آنالیز شعاع ژیراسیون (Rg)
۵۷ ۳-۳-۳ تشخیص حد واسط
۵۸ ۴-۳-۳ ریشه دوم میانگین مجذور افت و خیز (RMSF)
۵۹ ۵-۳-۳ آنالیز ساختار دوم
۶۰ ۶-۳-۳ نمایش کارتونی ساختارها
۶۰ ۷-۳-۳ نمودارهای تماس
۶۱ ۴-۳ بررسی رفتار آب در مکانیسم بازشدن
۶۱ ۱-۴-۳ توزیع مولکولهای آب
۶۱ ۲-۴-۳ آنالیز ضریب نفوذ
۶۲ ۳-۴-۳ آنالیز پیوند هیدروژنی
۶۳ ۴-۴-۳ آنالیز سطح قابل دسترس حلال (SASA)
۶۳ ۵-۴-۳ آنالیز تابع توزیع شعاعی (RDF)
۶۶ منابع
۷۶ جداول و شکلها

چکیده

در این پایان نامه اثر دما روی پروتئین پلاستوسیانین توسط شبیه سازی دینامیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. در مورد دماهای مورد مطالعه تنها تغییرات معنی دار مربوط به منحنی RMSD و Rg در دمای ۴۵۳K مشاهده شد. در این دما، Met۹۲ پایداری کمتری نسبت به سایر باقیمانده ها دارد. نواحی با انعطاف پذیری زیاد مربوط به باقیمانده های ۴۰-۵۶ می باشد. سه حالت شامل حالت طبیعی، واسطه و حالت غیر طبیعی شده و همچنین دو حالت گذار در دمای ۴۵۳K مشاهده گردید. آنالیز ساختار دوم نشان داد که اولین حالت گذار شبیه به حالت طبیعی بوده در حالیکه دومین گذار شباهت زیادی به حالت غیرطبیعی دارد.

علاوه بر این ساختار و دینامیک مولکولهای آب در طول گرمایی توسط روش دینامیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. بعضی از ویژگی های مربوط به آب مثل ضریب دیفیوژن و تابع توزیع شعاعی جهت بررسی رفتار آب مورد استفاده قرار گرفت. ضریب نفوذ آب در فاصله ۵ آنگستروم اطراف پروتئین در دماهای مختلف محاسبه گردید. آنالیز تابع توزیع شعاعی در اطراف باقیمانده های با مساحت سطح قابل دسترس بالا انجام گرفت. از آنالیز تابع توزیع شعاعی نتیجه گیری شد که تعدادی از مولکولهای آب در اطراف بعضی از باقیمانده ها می توانند از طریق شکستن پیوندهای هیدروژنی در فرآیند باز شدن شرکت نمایند.

Abstract

In this work, molecular dynamics approach was used to study of thermal denaturation mechanism of spinach plastocyanin protein and related molecular dynamics advantages are presented. The only significant change in C_{α} RMSD and Rg plot was seen at 453K temperature. At this temperature, less stability for Met92 with respect to the other residues was found. More flexible region was found for residues 40-56 at all temperatures. In our simulation, three steady states including native, intermediate and denatured states and two transition states ensembles have been found at 453K temperature. Secondary structure analysis have shown that the structure of first transition state is more similar to the native state while the second transition state is more like to denatured state.

Also, molecular dynamics simulations were performed to analysis dynamics and structure of water molecules during thermal unfolding process. Some water characters such as diffusion coefficient and radial distribution function were used to trace water behavior during protein unfolding. Water diffusion coefficients at 453K around considered protein were determined in presence of four different temperatures. Radial distribution function analyses were done around residues with large solvent accessible surface area at all temperatures. Radial distribution function analyses demonstrate that some water molecules around specific residues can participate in unfolding process via disruption of hydrogen bonds.

فصل اول

شیء سازی دینامیک مولکولی

۱-۱ مقدمه

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی^۱ ابزاری قدرتمند در علوم شیمی، فیزیک و بیوشیمی می‌باشد. این تکنیک برای مطالعه ارزیابی زمانی سیستم و پیش‌بینی خواص دینامیکی آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. شبیه‌سازی‌های دینامیکی، فرآیندهای وابسته به زمان را در سیستم‌های مولکولی به منظور مطالعه خواص ساختاری، دینامیکی و ترمودینامیکی به وسیله حل معادله حرکت مورد بررسی قرار می‌دهند.

دینامیک مولکولی اطلاعاتی را در مورد وابستگی زمان و بزرگی افت و خیزها در هر دو مورد موقعیت‌ها و سرعت‌ها فراهم می‌نماید در حالی که روش مونت کارلو^۲ اطلاعات موقعیتی را ارائه می‌دهد.

بسته به درجه دقت موردنظر، معادله حرکت نیوتنی یا معادله حرکت لانگوینی و یا حتی ترکیب کوانتومی و حالت کلاسیکی (QM/MM) حل می‌گردد.

۲-۱ انواع حرکت

درشت مولکول‌ها دارای دامنه وسیعی از حرکت‌های خاص هستند. این حرکت‌ها شامل حرکت‌های متمرکز و سریع اتمی تا حرکت‌های عظیم و کند درشت مولکول می‌باشند. تعدادی از این حرکت‌ها نقش مهمی در عملکرد بیولوژیکی پروتئین‌ها دارند. به عنوان مثال حرکت‌های موضعی زنجیرهای جانبی، نفوذ اکسیژن را به داخل و خارج میوگلوبین کنترل می‌کند. جدول ۱-۱ انواع مختلف حرکت‌های یک پروتئین همراه با مقیاس‌های زمانی و بزرگی آنها را نشان می‌دهد. مشخصه مهم حرکت‌های بیومولکولی این است که حرکت‌ها به همدیگر وابسته و جفت هستند. به عنوان مثال یک انتقال دینامیکی در مقیاس عظیم بدون در نظر گرفتن حرکت‌های با مقیاس

^۱ Molecular dynamics simulation

^۲ Monte Carlo

متوسط مثل بازآرایی مارپیچ‌ها امکان‌پذیر نیست، از طرف دیگر حرکت های مقیاس متوسط بدون در نظر گرفتن حرکت های مقیاس

کوچک مثل حرکت زنجیر جانبی امکان‌پذیر نیست. و در آخر حتی حرکت های زنجیر جانبی نمی‌توانند بدون حضور افت و خیزهای اتمی خیلی سریع اتفاق بیافتند.

از نظر شبیه‌سازی دینامیکی این مطلب از اهمیت بسزایی برخوردار است. چون حتی در مطالعه حرکت های با مقیاس کم صرفنظر کردن از حرکت های سریع که روی طول زمان شبیه‌سازی و گام زمانی تأثیرگذار هستند امکان‌پذیر نیست [۹-۱].

جدول ۱-۱: انواع حرکت در پروتئین ها

نوع حرکت	زمان و مقیاس
حرکت های موضعی: افت و خیز های اتمی حرکت زنجیر جانبی	زمان: از فمتو ثانیه تا پیکو ثانیه مقیاس: کمتر از یک انگستروم
حرکت های مقیاس متوسط: حرکت حلقه ^۱ حرکت جسم صلب	زمان: نانو ثانیه تا میکرو ثانیه مقیاس: کمتر از یک تا پنج انگستروم
حرکت های مقیاس بزرگ: حرکت دامنه ها ^۲ حرکت زیر واحدها	زمان: میکرو ثانیه تا میلی ثانیه مقیاس: پنج تا ده انگستروم
حرکت های عمومی: انتقال پیچه-مارپیچ ^۳	زمان: میلی ثانیه تا ساعت مقیاس: بیشتر از ده انگستروم

^۱ Loop

^۲ Domain

^۳ Helix-Coil transition

۱-۳ اساس آماری دینامیک مولکولی

یک سیستم کلاسیکی به وسیله هامیلتونی کلاسیکی تشریح می‌شود (H). این هامیلتونی تابعی از مختصات (r) و اندازه حرکت (p) می‌باشد.

$$H(r, p) = K(p) + U(r) = \sum_i P_i^2 / 2m_i + U(r) \quad (1-1)$$

در معادله بالا $K(p)$ انرژی جنبشی، $U(r)$ انرژی پتانسیل، P_i اندازه حرکت ذره i و m_i جرم ذره i می‌باشد.

حالت میکروسکوپی سیستم به وسیله مجموعه مقادیر $\{r, p\}$ مشخص می‌شود. این مجموعه نشان‌دهنده نقاط مختلف در فضای مختصات و اندازه حرکت می‌باشند (فضای فاز).

به منظور بدست آوردن میانگین‌های ترمودینامیکی در مجموعه کانونیکال (T, V, N) باید احتمال پیدا کردن سیستم در هر نقطه را بدانیم. این توزیع احتمال $\rho(r, p)$ به وسیله تابع توزیع بولتزمن^۱ بیان می‌گردد.

$$\rho(r, p) = \frac{\exp\left[-\frac{H(r, p)}{k_B T}\right]}{Z} \quad (2-1)$$

در معادله بالا Z تابع تقسیم کانونیکال، $\exp\left[-\frac{H(r, p)}{k_B T}\right]$ فاکتور بولتزمن^۱ و k_B ثابت بولتزمن می‌باشد. با داشتن این تابع توزیع می‌توان میانگین‌های فضای فاز را برای هر متغیر دینامیکی $A(r, p)$ محاسبه نمود. مثال‌های متغیرهای دینامیکی شامل موقعیت، انرژی کل، انرژی جنبشی، افت و خیزها و هر تابع وابسته به r و p می‌باشد.

^۱ Boltzmann

$$\langle A(r, p) \rangle = \int_V dr \int_{-\infty}^{+\infty} dp \rho(r, p) A(r, p) \quad (3-1)$$

برای محاسبه میانگین‌ها باید احتمال بولتزمن را برای همه حالت‌های $\{r, p\}$ بدانیم. این کار از نظر محاسباتی خیلی مشکل است.

بجای میانگین‌گیری روی کل فضای فاز می‌توان میانگین‌ها را با دنبال کردن حرکت یک نقطه در فضای فاز محاسبه نمود. در این روش حرکت یک نقطه (یک حالت مولکولی تک) در فضا به صورت تابعی از زمان می‌باشد و میانگین‌ها روی نقاطی که مشاهده شده اند انجام می‌گیرد. میانگین‌های محاسبه شده از این روش، میانگین‌های دینامیکی نامیده می‌شوند. حرکت یک نقطه در فضای فاز به وسیله انتگرال‌گیری از معادله حرکت سیستم بدست می‌آید. با شروع از نقطه $\{r(0), p(0)\}$ فرآیند انتگرال‌گیری مسیر مولکولی تولید می‌نماید که شامل مجموعه‌ای از نقاط $\{r(t), p(t)\}$ می‌باشد. پس از بدست آوردن مقادیر r و p در زمان t می‌توان مقادیر میانگین را از فرمول زیر محاسبه نمود.

$$\langle A(r, p) \rangle = \frac{\int_0^\tau A(r(t), p(t)) dt}{\tau} \quad (4-1)$$

که در آن τ زمان شبیه‌سازی می‌باشد. این روش ساده‌تر از روش قبلی است. پس می‌توان دو روش ذکر شده برای میانگین‌گیری را به صورت زیر خلاصه کرد:

میانگین‌گیری ترمودینامیکی: میانگین روی همه نقاط در فضای فاز در یک زمان خاص

میانگین‌گیری دینامیکی: میانگین روی یک نقطه در فضای فاز در همه زمان‌ها

طبق فرضیه ارگودیک^۱ برای یک مسیر مولکولی بزرگ و نامحدود میانگین ترمودینامیکی و میانگین دینامیکی با همدیگر برابر می‌شوند.

$$\lim_{\tau \rightarrow \infty} \langle A(r, p) \rangle = \langle A(r, p) \rangle_z \quad (5-1)$$

برای این که این فرضیه برقرار باشد باید سیستم در حالت تعادل باشد.

^۱ Ergodic hypothesis

۴-۱ دینامیک مولکولی نیوتونی

۱-۴-۱ معادله حرکت نیوتن

بهترین ابزار برای تشریح رفتار مولکول‌ها معادله وابسته به زمان شرودینگر می‌باشد. به علت این که حل این معادله برای سیستم‌های بزرگ مشکل است از ابزار مکانیک کلاسیک برای تشریح حرکت مولکول‌ها استفاده می‌گردد.

$$F_i = m_i a_i \quad (۶-۱)$$

در این معادله نیرو (F_i) به وسیله گرادیان تابع انرژی پتانسیل $U(r)$ که خود تابعی از مختصات اتمی (r) می‌باشد بدست می‌آید.

$$F_i = -\nabla_i U(r) \quad (۷-۱)$$

معادله نیوتن را با استفاده از هامیلتونی سیستم می‌توان به صورت زیر نوشت.

$$\dot{r}_k = \frac{\partial H(r,p)}{\partial p_k} \quad (۸-۱)$$

$$\dot{p}_k = \frac{-\partial H(r,p)}{\partial r_k}$$

۲-۴-۱ ویژگی‌های معادله حرکت نیوتن

بقاء انرژی:

با فرض اینکه H و U وابسته به زمان نباشند، می‌توان نشان داد که مشتق کل هامیلتونی برابر صفر است ($\frac{dH}{dt} = 0$). یعنی هامیلتونی یک ثابت حرکت برای معادله نیوتن است به عبارت دیگر انرژی کل در معادله حرکت نیوتن بقاء دارد.

بقاء اندازه حرکت زاویه‌ای و خطی:

اگر تابع پتانسیل U تنها وابسته به جدایی ذرات باشد و همچنین میدان خارجی در سیستم وجود نداشته باشد معادله حرکت نیوتن اندازه حرکت خطی کل سیستم (p) را حفظ می‌کند.

$$P = \sum p_i \quad (9-1)$$

$$L = \sum_i r_i \times p_i \quad (10-1)$$

برگشت‌پذیری زمانی:

سومین ویژگی معادله حرکت نیوتن برگشت‌پذیری آن از لحاظ زمان می‌باشد. تغییر علامت همه سرعت‌های موجود در سیستم باعث می‌گردد مولکول روی مسیر مولکولی‌اش برگردد.

۱-۵ الگوریتم‌های محاسباتی

برای حل معادله نیوتن باید از روش عددی برای انتگرال‌گیری استفاده شود. برای این منظور از روش اختلاف جزئی^۱ استفاده می‌گردد. در این روش سرعت‌ها و مختصات مولکولی در زمان $t + \Delta t$ از سرعت‌ها و مختصات در زمان t بدست می‌آیند. انتخاب گام زمانی Δt بستگی به خواص سیستم مورد مطالعه دارد.

برخی از الگوریتم‌های انتگرال‌گیری اختلاف جزئی عبارتند از:

۱- الگوریتم ورلت^۲

اساس این روش بسط تیلور حول زمان t برای $r(t + \delta t)$ و $r(t - \delta t)$ می‌باشد. در این الگوریتم با داشتن $r(t)$, $r(t - \delta t)$, $a(t)$ می‌توان $r(t + \delta t)$ و سرعت $v(t)$ را محاسبه نمود. این الگوریتم از لحاظ زمانی برگشت‌پذیر است. مشکل الگوریتم ورلت این است که مکان r در زمان $t + \delta t$ و سرعت در زمان t در پایان هر گام زمانی بدست می‌آید.

$$r_{n+1} = r_n + v_n \Delta t + \frac{1}{2} \left(\frac{F_n}{m} \right) \Delta t^2 + o(\Delta t^3) \quad (11-1)$$

^۱ Finite-difference approach

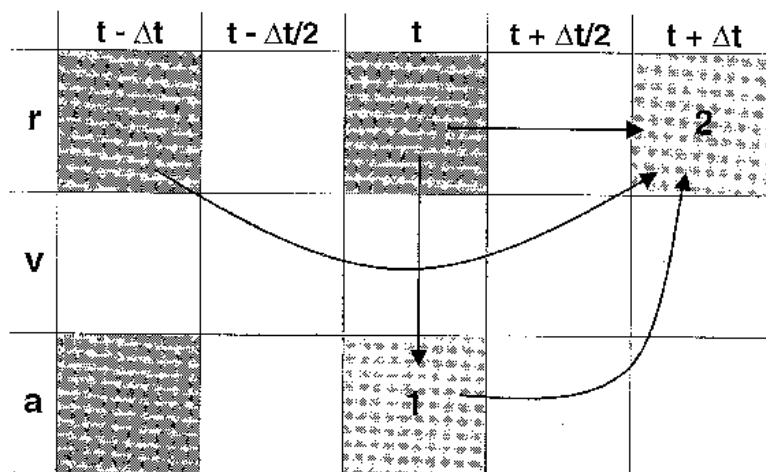
^۲ Verlet

$$r_{n+1} = r_n - v_n \Delta t + \frac{1}{2} \left(\frac{F_n}{m} \right) \Delta t^2 - o(\Delta t^3) \quad (12-1)$$

مجموع دو معادله عبارت است از:

$$r_{n+1} = 2r_n - r_{n-1} + \left(\frac{F_n}{m} \right) \Delta t^2 + o(\Delta t^4) \quad (13-1)$$

شکل ۱-۱ مراحل مربوط به این الگوریتم را نشان می‌دهد. مربع‌های سیاه رنگ مقادیر اولیه را نشان می‌دهند.



شکل ۱-۱: مراحل انتگرال‌گیری الگوریتم ولت

۲- الگوریتم پرش قورباغه^۱:

الگوریتم ولت جهت بهبود ارزیابی سرعت مورد بازنگری و اصلاح قرار گرفت. یکی از این اصلاحات الگوریتم پرش قورباغه می‌باشد. در این الگوریتم سرعت‌ها در نقطه میانه تخمین موقعیت مورد ارزیابی قرار می‌گیرند [۱۰].

این الگوریتم به صورت زیر نوشته می‌شود.

$$r_{n+1} = r_n + v_{n+1/2} \Delta t \quad (14-1)$$

$$v_{n+1/2} = v_{n-1/2} + \frac{F_n}{m} \Delta t \quad (15-1)$$

^۱ Leap-frog

که در آن $v_{n \pm 1/2}$ نماینده سرعت در زمان $t \pm 1/2 \Delta t$ می‌باشد. حذف سرعت‌ها از این معادلات نشان‌دهنده این است که روش از لحاظ جبری با الگوریتم ورلت هم‌ارز است.

این الگوریتم شامل ۳ مرحله است:

۱- استفاده از موقعیت کنونی r_n به منظور محاسبه نیرو F_n

۲- استفاده از F_n و سرعت نیم مرحله قبل $(V_{n-1/2})$ جهت محاسبه سرعت نیم مرحله بعد $(V_{n+1/2})$

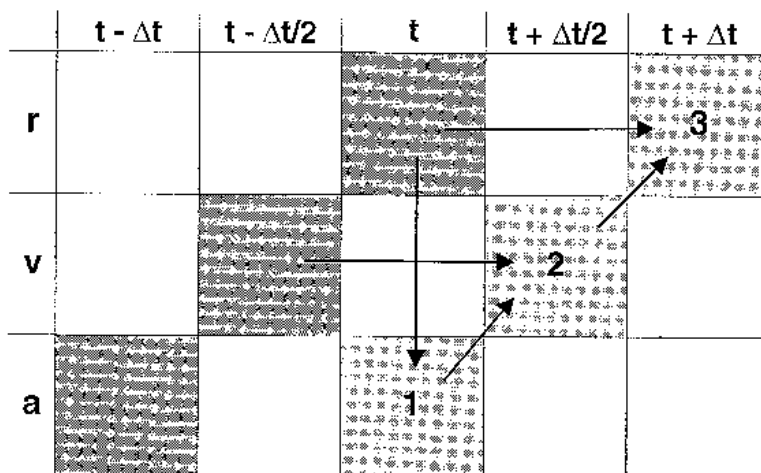
۳- استفاده از موقعیت کنونی r_n و سرعت نیم مرحله بعد $(V_{n+1/2})$ جهت محاسبه موقعیت در مرحله بعد (r_{n+1})

مزایای الگوریتم پرش قورباغه به شرح زیر می‌باشد:

۱- ارزیابی سرعت بهبود می‌یابد.

۲- ارزیابی مستقیم سرعت‌ها امکان کنترل دمای شبیه‌سازی را به ما می‌دهد.

مراحل مختلف این الگوریتم به صورت شکل ۱-۲ است:



شکل ۱-۲: مراحل انتگرال‌گیری الگوریتم پرش قورباغه

۳- الگوریتم ورت سرعتی^۱:

این الگوریتم یک نوع الگوریتم ورت می‌باشد که موقعیت‌ها، سرعت‌ها و شتاب‌ها در زمان t ذخیره می‌شود [۱۱]. الگوریتم به صورت زیر نوشته می‌شود.

$$r_{n+1} = r_n + v_n \Delta t + \frac{1}{2} \left(\frac{F_n}{m} \right) \Delta t^2 \quad (16-1)$$

$$v_{n+1} = v_n + \frac{1}{2} \left[\frac{F_n}{m} + \frac{F_{n+1}}{m} \right] \Delta t \quad (17-1)$$

حذف سرعت‌ها از این معادلات مثل الگوریتم ورت است.

الگوریتم ورتله سرعتی در عمل شامل مراحل زیر است:

۱- محاسبه موقعیت r_{n+1} در زمان $t + \Delta t$

۲- محاسبه سرعت $v_{n+1/2}$ با استفاده از معادله

$$v_{n+1/2} = v_n + \frac{1}{2} \left(\frac{F_n}{m} \right) \Delta t \quad (18-1)$$

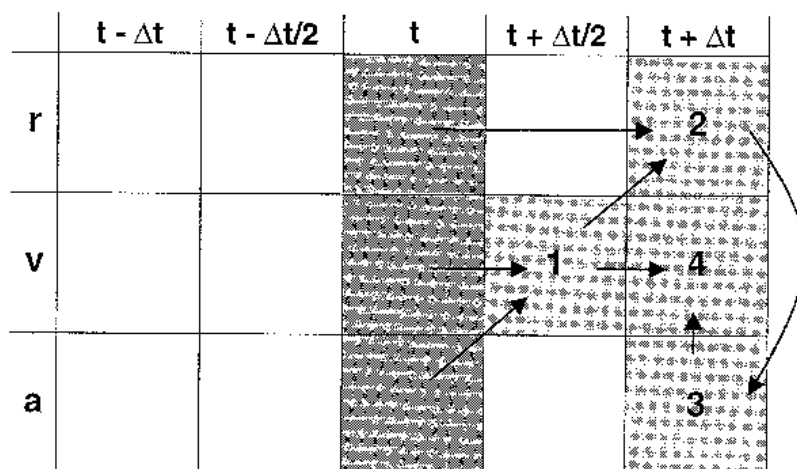
۳- محاسبه نیروی F_{n+1} در زمان $t + \Delta t$

۴- ارزیابی v_{n+1} با استفاده از معادله

$$v_{n+1} = v_{n+1/2} + \frac{1}{2} \left(\frac{F_{n+1}}{m} \right) \Delta t \quad (19-1)$$

شکل ۱-۳ مربوط به مراحل مختلف این الگوریتم می‌باشد:

^۱ Velocity Verlet



شکل ۱-۳: مراحل انتگرال گیری الگوریتم ورله سرعتی

۱-۶ اجرای شبیه‌سازی در عمل

معادله نیوتن یک معادله دیفرانسیلی مرتبه دو می‌باشد که نیاز به دو مقدار اولیه برای هر درجه آزادی به منظور شروع انتگرال گیری دارد. این دو مقدار اولیه شامل یک مجموعه از مختصات اولیه $\{r(0)\}$ و یک مجموعه از سرعت های اولیه $\{v(0)\}$ می‌باشد.

الف - مختصات اولیه:

مختصات اولیه $\{r(0)\}$ معمولاً از روش های تجربی مثل کریستالوگرافی اشعه X و آزمایشات NMR بدست می آید. همچنین مختصات اولیه می‌توانند براساس مدل های کامپیوتری با تکنیک های مدل سازی تولید شوند. ساختارهای تجربی گاهی اوقات احتیاج به تغییراتی جهت استفاده در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی دارند. کریستالوگرافی اشعه X قادر به تولید موقعیت های اتم هیدروژن نمی باشد. لذا در این گونه فایل ها باید مختصات اتم های هیدروژن به ساختار اولیه قبل از شبیه‌سازی اضافه گردد. در بعضی موارد دیگر یک قسمت از ساختار (مثلاً لوپها) به دلیل انعطاف پذیری زیاد در ساختار تجربی دیده نمی‌شود.

بهر حال بعد از اینکه همه مختصات اتم‌ها در مولکول مشخص گردید باید بهینه‌سازی انرژی را انجام داد. این بهینه‌سازی‌ها باعث می‌گردد تا طول پیوند و زوایای مربوط به ساختار تجربی بهینه گردند.

ب - سرعت‌های اولیه:

برخلاف مختصات اولیه که هم به طریق تجربی و تئوری بدست می‌آید تنها اطلاعات مرتبط با سرعت اتم‌ها، دمای سیستم (T) می‌باشد. که به وسیله آن می‌توان توزیع سرعت‌ها را مشخص نمود. سرعت‌های اولیه (v_x, v_y, v_z) معمولاً از توزیع سرعتی استاندارد ماکسول^۱ در دمای T طبق رابطه زیر بدست می‌آیند.

$$P(v)dv = \left(\frac{m}{2\pi k_B T}\right)^{3/2} \exp\left[\frac{-mv^2}{2k_B T}\right] dv \quad (17-1)$$

البته این ارزیابی اولیه سرعت‌ها در حال تعادل نیست. همچنین انتظار ما این است که اتم‌هایی که توسط یک پیوند به هم متصل هستند با سرعت‌های یکسان حرکت نمایند اما استفاده از توزیع ماکسول^۱ این تضمین را به ما نمی‌دهد. علاوه بر این استفاده از روش تصادفی تخمین سرعت، ممکن است باعث شود مجموعه اتم‌های مستقر دارای سرعت‌های بالایی گردند که در نتیجه آن اصطلاحاً نقاط گرم^۲ در سیستم ایجاد می‌گردد که خود باعث ناپایداری شبیه‌سازی می‌شود. جهت رفع این معضل ابتدا سرعت‌های اولیه در دمای پایین به اتم‌های سیستم اختصاص داده می‌شود سپس به طور آهسته دما بالا می‌رود تا به دمای مورد نظر برسد.

در عمل گرمادهی به وسیله افزایش سرعت اتم‌ها در سیستم انجام می‌گیرد. این افزایش سرعت یا به وسیله اختصاص دوباره سرعت‌های جدید از توزیع ماکسول در دماهای بالا صورت می‌گیرد یا به وسیله افزایش سرعت‌ها با یک فاکتور انجام می‌شود. بر طبق اصل هم‌بخشی، $T(t)$ با استفاده از انرژی سینتیکی میانگین طبق رابطه زیر بدست می‌آید:

^۱ Maxwellian distribution

^۲ Hot spot

$$T(t) = \frac{1}{k_B N_{dof}} \sum_{i=1}^{N_{dof}} m_i |v_i|^2 \quad (18-1)$$

که در آن N_{dof} تعداد درجات آزادی غیر محدود شده در سیستم می‌باشد ($N_{dof} = 3N - n$).

N در این رابطه تعداد اتم‌ها و n تعداد محدودیت‌ها می‌باشد. از این عبارت می‌توان به این

نتیجه رسید که مقیاس‌بندی سرعت‌ها با فاکتور $\left[\frac{T.}{T(t)}\right]^{1/2}$ منجر به انرژی سینتیکی میانگین

مربوط به دمای مورد نظر T می‌گردد.

۱-۶-۱ انتخاب گام زمانی انتگرال‌گیری

گام‌های زمانی کوچک باعث بالا رفتن کیفیت انتگرال‌گیری می‌شوند. از طرف دیگر تعداد مراحل

موردنیاز جهت انتگرال‌گیری افزایش می‌یابد. در هر شبیه‌سازی باید هم دقت و هم هزینه

محاسبات را در نظر گرفت. گام زمانی مناسب باید با توجه به سریع‌ترین حرکت موجود در سیستم

انتخاب شود. اگر τ زمان تناوب سریع‌ترین حرکت در سیستم باشد به طور تقریبی می‌توان گام

زمانی را از معادله زیر محاسبه نمود.

$$\tau / \Delta t \approx 20 \quad (19-1)$$

برای درشت مولکولی مثل پروتئین، سریع‌ترین حرکت مربوط به ارتعاشات کششی مربوط به

پیوندهای اتصالی بین اتم هیدروژن و اتم‌های سنگین می‌باشد (کشش X-H). فرکانس این

حرکت‌ها در حدود 3000 cm^{-1} می‌باشد. با توجه به این عدد موج، زمان تناوب آن 10 fs می‌باشد.

لذا گام زمانی مناسب جهت شبیه‌سازی 0.5 fs می‌باشد. این گام زمانی کوچک باعث می‌گردد تا

شبیه‌سازی‌های امروزی تا حد نانوثانیه انجام شود. کوشش‌های فراوانی جهت توسعه الگوریتم‌های

مناسب برای افزایش گام زمانی انجام شده است. یکی از کارهای انجام گرفته حذف حرکت‌های

سریع از سیستم مورد مطالعه می‌باشد. با حذف این حرکت سریع، حرکت سریع بعدی در سیستم

شامل کشش مربوط به پیوند X-X می‌باشد که در حدود 1500 cm^{-1} ظاهر می‌گردد. برای این عدد موج گام زمانی در حدود ۱fs محاسبه می‌گردد.

الگوریتم مورد استفاده جهت این امر الگوریتم SHAKE [۱۲ و ۱۳] می‌باشد. این الگوریتم طول پیوند X-H را ثابت در نظر می‌گیرد. چون در یک شبیه‌سازی عددی همیشه افت و خیزها وجود دارد ثابت نگه داشتن طول پیوند به معنی کوچک بودن انحراف طول K امین پیوند d_k در زمان t از طول پیوند ایده‌آل (ثابت) آن d_k^* از یک مقدار معین می‌باشد یعنی:

$$S_k = [d_k^* - d_k] / d_k^* < \epsilon \quad (20-1)$$

الگوریتم SHAKE بعد از هر مرحله انتگرال‌گیری، موقعیت‌های اتم‌های هیدروژن را تنظیم می‌نماید. این الگوریتم طی یک فرآیند متناوب باعث می‌گردد تا S_k کوچکتر از مقدار ϵ برای همه مقادیر K گردد. الگوریتم SHAKE نه تنها برای پیوندهای شامل اتم هیدروژن (X-H) مورد استفاده قرار می‌گیرد بلکه برای همه حرکت‌های کششی پیوندها در سیستم نیز بکار برده می‌شود. نتیجه اعمال آن برای تمام حرکت‌های کششی در سیستم افزایش گام زمانی تا حدود ۲ تا ۳ فمتوثانیه می‌باشد. الگوریتم SHAKE برای حرکت‌های شامل زوایای پیوندی منجر به کاهش کیفیت شبیه‌سازی می‌گردد چون حرکت‌های خمشی مربوط به زوایا با حرکت‌های دوجبهی به صورت جفت قرار دارند.

دو الگوریتم مشابه الگوریتم SHAKE شامل الگوریتم SETTLE و الگوریتم LINCS هستند. در الگوریتم SETTLE مولکول‌های آب به صورت مولکول‌های سخت در نظر گرفته می‌شوند. در الگوریتم LINCS روی پیوندهای قید اعمال می‌شود و سپس قیدها حذف شده و پیوندها به مقدار صحیح بر می‌گردند [۱۴].

۱-۶-۲ بعضی از راهکارها برای شبیه‌سازی بهتر

هر شبیه‌سازی دینامیک مولکولی شامل چندین مرحله است.