

RAPORTARE STIINTIFICA

Proiect EURO NANO MED II

Nanoparticule magnetice, incapsulate in grafene multifunctionale, ca detectori autonavigabili, termal-inteligenti pentru integrin-receptori, utilizabili în tratamentul anticancer ghidat prin imagistică de rezonanță magnetică.

Acronim GEMNS

RST - Raport stiintific si tehnic

Partener 7 (ID-57)

CUPRINS

1. Obiective anul 2015
2. Rezumatul etapei – gradul de atingere a rezultatelor estimate;
3. Descrierea stiintifica si tehnica, cu punerea in evidenta a rezultatelor etapei si gradul de realizare a obiectivelor; (se vor indica rezultatele)
4. Anexe (copii pdf articole elaborate);
5. Rezultate verificabile etapa – parametrii, nivel de performanta parametrii;
6. Concluzii
7. Bibliografie;
8. Scurt raport despre deplasarea (deplasările) in strainatate privind activitatea de diseminare si/sau formare profesionala
9. Pagina web a proiectului – actualizata cu datele ultimei raportari.

1. Obiective 2015

T1.2. Optimizarea structurii si dimensiunii polimerului PEI utilizat pentru imobilizarea enzimei GOx (Glucoze Oxydaze).

T1.2.a Modelarea structurii enzimei

T1.2.b Polimer PEI: structura, numar atomi, ramificare

T1.3. Modelarea interactiunilor enzima-polimer-GEMNS functie de temperatura

Comentariu: Etapa T1.3 s-a realizat partial in 2015 dar finalizarea se va face in 2016, conform Proiectului GEMNS.

2. Rezumatul Etapei 1.2

Etapa 1.2 din proiectul cu acronimul GEMNS numita “Optimizarea structurii si dimensiunii polimerului PEI utilizat pentru imobilizarea enzimei GOx” a inclus urmatoarele activitati:

- Studiu de literatura
- Constructia bazei de date (info-molecule)
- Calcule de chimie cuantica pentru definirea sarcinilor partiale atomice, utilizate in input-ul programelor de andocare/docking si dinamica moleculara.
- Calcule de andocare pe proteina enzimei GOx
- Calcule de chimie cuantica si topologie moleculara pe polimerul PEI
- Studii asupra structurii 3D a polimerilor, incluzand PEI
- Calcule de Dinamica Moleculara pe complexul enzima-PEI
- Coroborarea datelor cu date experimentale ale altor grupuri, parteneri GEMNS
- Concluzii
- Scrierea articolelor (3 articole)

Etapa 1.2 a fost indeplinita in proportie de 85% (articolele nu au fost inca publicate).

Cauze:

- (a) Intarzierea semnarii Contractului cu UEFISCD
- (b) Lipsa programelor software solicitate pentru astfel de calculi
- (c) Lipsa statiilor de lucru de mare capacitate, impuse de calculi pe polimeri si proteine

3. DESCRIEREA STIINTIFICA SI TEHNICA

T1.2.a Modelarea structurii enzimei

Activitatea biologica a unei molecule, in particular a enzimei Glucose Oxydase GOx, este functie de structura sa, de distributia 3D a atomilor si natura acestora, de proprietatile electronice ale grupelor functionale si ale intregii (macro) molecule. Reprezentarea 3D a moleculei enzimei s-a dovedit a fi un instrument efectiv in predictia interactiunilor enzima-liganzi, interactiuni care se soldeaza cu imobilizarea enzimei (prin interactiuni/legaturi non-covalente) in complexul GOx-PEI (Polietilenimina).

- A.** Prima sarcina a Partenerului 7 (Grupul Cluj, Romania) a fost “**cartarea**” **intregii molecule proteice GOx**, a corpului si suprfetei, modelarea zonelor accesibile solventului (apa) si moleculelor PEI.

Structura GOx=3QVR, a fost descarcata din baza Brookhaven Protein Database PDB

GOx a fost investigata cu programul de andocare/docking AutoDockVina

B Energia libera a sistemului a fost calculata in aproximatia “Molecular Mechanics Poisson–Boltzmann Surface Area (MM-PBSA) approach.

Cele mai favorabile situsuri de andocare au fost selectate si studiate in detaliu prin calculi de Dinamica Moleculara/Molecular Dynamics (cu programul AMBER).

Cercetarea a evidențiat un site activ, numit aici LIG1, situat în interiorul macromoleculii GOx, care este de fapt centrul catalitic al enzimei, unde Glucoza este oxidată la acid glucuronic și H₂O₂ (apa oxigenată). Un al doilea situs reactiv este locat la suprafața macromoleculii (notat aici LIG2) și pare a fi mai accesibil moleculelor liganzilor (Figura 1).

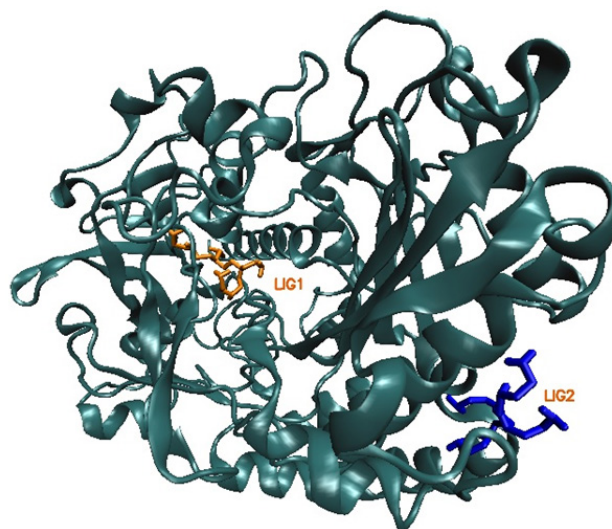


Figura 1. GOx 3D: structura cu cele două situsuri active, andocate cu PEI.

Pe lângă aceste două situsuri active, andocarea a mai evidențiat 3 situsuri de interacțiune moderată, sau chiar repulsive, pe care nu le-am mai considerat în continuare.

T1.2.b Modelarea liganzilor PEI

Structuri moleculare ale Polietileniminei PEI, de diferite mărimi/size (număr de atomi) și forme/shapes (de la linear LPEI, la ramificat/branched BPEI) au fost generate cu programul original Nano-Studio, dezvoltat la TOPO GROUP CLUJ.

Structura 3D a unor polimeri, cu implicații bio-farmaceutice, a fost studiată în detaliu, în particular, structura elicoidală a unor astfel de polimeri.

Stabilitatea sistemului GOx-PEI a fost studiată în funcție de numărul de atomi ai lanțului polimeric PEI și funcție de ramificarea lui, înainte și după andocare la GOx (Figura 2).

Comportamentul complexului GOx-PEI a fost studiat atât in vacuo cât și în solvent=apa, aplicând "Periodic boundary conditions" pentru simulare în cutia cubică, cu temperatura controlată cu termostatul Langevin, la presiune isotropă.

Sistemului GOx-PEI a fost studiat cu ajutorul Dinamicii moleculare MD: sistemul a fost încălzit la 320K timp de aprox. 100 ps, (cu 10 ns pentru echilibrarea sistemului), apoi încă 110 ns, simularea MD propriu-zisă. Trajectoriile MD au fost realizate cu Amber-Force Field, din Programul Amber 11 și respectiv MOE.

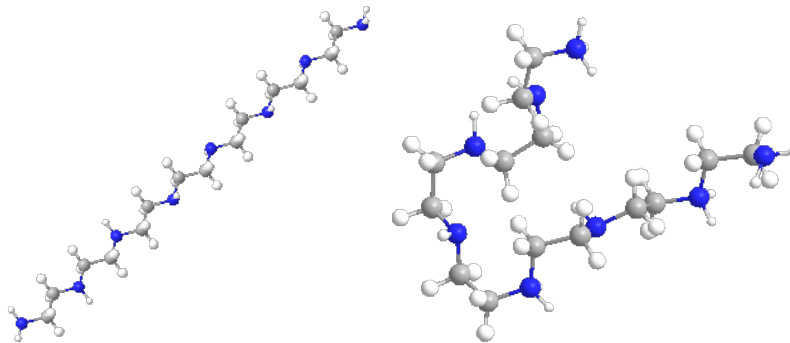


Figura 2. LPEI 01 C14N8 inainte si dupa andocare la GOx.

T1.3. Modelarea interactiunilor in complexul enzima-PEI-GEMNS functie de temperatura

Etapa T1.3 s-a realizat partial in 2015 dar finalizarea se va face in 2016, conform Proiectului GEMNS. Variatia de temperature calculata a fost in domeniul

For this task the results obtained at T1.2 will be used as starting points, the objectives will be achieved by simulated annealing calculations performed by dynamically changing the reference temperature used in the thermostat algorithm selected. The obtained results will be correlated with experimental observations.

4. Anexe

(copii pdf articole elaborate);

- Molecular dynamic studies of the complex polyethylenimine and glucose oxidase
B. Szefler, M.V. Diudea and I.P. Grudzinski
- Linear and branched PEIs (Polyethylenimines) and their properties space
Claudiu N. Lungu, Mircea V. Diudea and P. Grudziński
- Geometry of linear polymers stabilized as helices
Lorentz Jäntschi, Sorana D. Bolboacă, Mircea V. Diudea
- Molecular dynamics of complex pei – gox enzyme
Beata Szefler
Posters (NanoMathChem, Cluj 12-14 Nov. 2015)
- GEMNS Kick-Off Meeting (3-4 Dec. 2015).

5. Rezultate verificabile etapa

T1.2: modelul suprafetei enzimei, modelul complexului polymer-enzima, modelul interactiunilor ca functie de numarul atomilor si ramificarea catenei PEI.

Datele au fost trimise Directorului de Proiect GEMNS.

Verificabile T1.2: 1 articol ISI (Trei articole, trimise la jurnale ISI)

6. Concluzii

Etapa T1.2 a evidenciat urmatoarele aspecte:

- Datele obtinute de Grupul 7 (Cluj, Romania) din proiectul cu acronimul GEMNS se inscriu in linia rezultatelor altor grupuri de investigatori (din date de literatura)
- Enzima GOx prezinta doua situsuri active: LIG1 si LIG2, care pot fi andocate=imobilizate de liganzi polimerici de tip PEI
- Calculele de energie de andocare si energie libera a complexului GOx-PEI arata ca polimerul liniar LPEI (cu numar de atomi in catena intre 8 si 10) este cel mai adaptabil la structura 3D si electronica a moleculei enzimei GOx.
- Ligarea de molecule PEI ramificate (de tip Dendrimer) produce complexi prea stabili, greu de scindat in etapele ulterioare ale procesului GEMNS si cu risc de toxicitate crescut.
- Se impune scalarea intregului edificiu: GOx-PEI-GEMNS pentru a putea fi utilizat „in vivo”.
- Variatia cu temperatura a stabilitatii complexului GOx-PEI-GEMNS este foarte mica, in limitele acceptate fiziologic (datele si concluziile vor fi completate in urmatoarea etapa T1.3).

7. Referinte

1. M. V. Diudea, Cs. L. Nagy, *Periodic Nanostructures*, **SPRINGER**, Dordrecht, **2007**
2. M. V. Diudea, V. R. Bucila, D. M. Proserpio, 1-Periodic Nanostructures, *MATCH Commun. Math. Comput. Chem.* **2013**, *70*, 545-564
3. B. Szeffler, M. V. Diudea, On molecular dynamics of the diamond D₅ seeds, *Struct. Chem.*, **23** (3), **2012**, 717-722;
4. C. Sittiwet, M. Srisa-ard and Y. Baimark, Immobilization of Glucose oxidase and Peroxidase onto Nanoporous Chitosan-based Films, *Malaysian Polymer Journal*, Vol. 5, No. 2, p 108-116, 2010)
5. [2] T. Homma, T. Ichimura, M. Kondo, T. Kuwahara, M. Shimomura,
6. Covalent immobilization of glucose oxidase on the film prepared by electrochemical polymerization of N-phenylglycine for amperometric glucose sensing, *European Polymer Journal* **51** (2014) 130–135)
7. [3] M. Shimomura, N. Kojima, K. Oshima, T. Yamauchi, and S. Miyauchi, Covalent Immobilization of Glucose Oxidase on film prepared by electrochemical copolymerization of Thiophene-3-acetic acid and 3-Methylthiophene for Glucose sensing. *Polymer Journal*, Vol. 33, No. 8, pp 629—631 (2001)
8. Trott O, Olson AJ. AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comp Chem*; 2010 31:455-461.
9. Case DA, Darden TA, Cheatham TE III, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, Luo R, Walker RC, Zhang W Merz KM, Roberts B, Wang B, Hayik S, Roitberg A, Seabra G, Kolossváry I, Wong KF, Paesani F Vanicek J, Liu J, Wu X, Brozell SR, Steinbrecher T, Gohlke H, Cai Q, Ye X, Wang J, Hsieh MJ, Cui G, Roe DR, Mathews DH, Seetin MG, Sagui C, Babin V, Luchko T, Gusarov S, Kovalenko A, Kollman PA. AMBER 11, University of California, San Francisco 2010.
10. Kasprzak A, Popławska M, Bystrzejewski M, Łabędź O, Grudziński IP. Conjugation of polyethylenimine and its derivatives to carbon-encapsulated iron nanoparticles. *RSC Adv*;2015 5:85556–85567, DOI: 10.1039/c5ra17912b
11. Todde G1, Hovmöller S, Laaksonen A, Mocci F. Penicillium amagasakiense: characterization of the transition state of its denaturation from molecular dynamics simulations. *Proteins*; 2014, 82:2353-63.
12. Akinc, A; Thomas, M; Klibanov, AM; Langer, R (2004). "Exploring polyethylenimine-mediated DNA transfection and the proton sponge hypothesis". *Journal of Gene Medicine* 7(5): 657–663.
13. [Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML, (1983), Comparison of simple potential functions for simulating water solutions can be seen in *J. Chem. Phys.* 79:926-935 ;
14. de Souza O.N., Ornstein R.L., (1997) Effect of periodic box size on aqueous molecular dynamics simulation of a DNA dodecamer with particle-mesh Ewald method. *Biophys J.* 72(6):2395-2397].

15. Ryckaert JP, Ciccotti G, Berendsen HJC, (1977) *Numerical integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes*. J. Comput. Phys. 23(3):327-341]
16. Miller BR, McGee TD, Swails JM, Homeyer N, Gohlke H, Roitberg A E, (2012) MMPBSA.py: An efficient program for End-State free energy calculations. J. Chem. Theory Comput. 8 (9), 3314-3321
17. Pérez A, Marchán I, Svozil D, Šponer J, Cheatham TE III, Laughton CA, Orozco M (2007) Refinement of the AMBER force field for nucleic acids: improving the description of conformers. Biophys J. 92:3817–3829]
18. Vivek P. Raut,[†] Madhuri A. Agashe,[†] Steven J. Stuart,[‡] and Robert A. Latour, Molecular Dynamics Simulations of Peptide-Surface Interactions, *Langmuir* **2005**, *21*, 1629-1639.

8. Raport despre deplasarea (deplasările) în strainatate privind activitatea de diseminare și/sau formare profesională.

În perioada 3-4 Dec. 2015, a fost organizat GEMNS Kick-Off Meeting la Varsovia (Polonia), Universitatea de Medicină.

Au participat Directorii de Grupuri GEMNS (Polonia, Norvegia, România), au fost discutate rezultatele Proiectului GEMNS în anul 2015.

Din partea României au participat (titlurile prezentărilor):

Diudea Mircea: „Computing Nanochemistry”
Lungu Claudiu: „GEMNS by Cluj Computing”

Au fost stabilite căile de colaborare cu celelalte grupuri GEMNS.

9. Pagina web a proiectului – actualizată cu datele ultimei rapoartări.