

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

Proiect: Design computațional al unor polimeri cationici ca vectori genetici

Cod proiect: PN-III-P4-ID-PCE-2016-0474

Contract nr. 36 / 2017

Acronim: PolyGeneVec

Etapa 1 – Dezvoltarea unui câmp de forțe atomistic (CHARMM) pentru polietilenimină (PEI) protonată și simulări de dinamică moleculară (MD) a structurării dinamice a lanțurilor PEI solvate.

- Dezvoltarea unui nou câmp de forțe CHARMM pentru PEI.
- Simulări MD atomistice privind dinamica structurală a lanțurilor PEI solvate.
- Creșterea numărului de personal tânăr implicat în proiect.
- Achiziții de tehnică de calcul de înaltă performanță.
- Publicație în revistă de prestigiu și comunicări la conferințe internaționale.
- Raport de etapă.

Activitatea 1.1 - Dezvoltarea unui câmp de forțe CHARMM pentru lanțuri PEI protonate.

- Optimizarea ab initio la nivel MP2/6-31G(d) a unor tetrameri model PEI de referință.
- Ajustarea parametrilor câmpului de forță pe baza calculelor ab initio.
- Construirea fișierelor CHARMM standard de topologie și parametri de forță pentru PEI în stări de protonare arbitrară.
- Achiziții de tehnică de calcul (3 stații de lucru de înaltă performanță).

Activitatea 1.2 - Investigarea prin simulări MD a structurării dinamice a lanțurilor PEI solvate.

- Simulări MD atomistice de polimeri PEI solvatați de diverse dimensiuni și stări de protonare.
- Colectarea datelor, mediere pe ansambluri de traiectorii și analiza statistică a rezultatelor.
- Elaborarea publicațiilor și participarea cu comunicări la conferințe internaționale.
- Achiziții de tehnică de calcul (laptop, tabletă, proiector, software), reparații și amenajări.
- Elaborarea raportului științific de etapă.

Etapa 2 – Dezvoltarea unui câmp de forțe coarse-grained (CG) și simulări MD pentru lanțuri de polietilenimină (PEI) protonate.

- Dezvoltarea unui nou câmp de forțe CG pentru PEI și o strategie de simulare adecvată.
- Simulări MD CG privind dinamica structurală a lanțurilor PEI solvate.
- Achiziții de tehnică de calcul.
- Publicație în revistă de prestigiu și comunicări la conferințe internaționale.
- Raport de etapă.

Activitatea 2.1 - Dezvoltarea unui câmp de forțe CG pentru lanțuri PEI protonate.

- Analiza unor scheme de mapare CG a reziduurilor atomistice ale PEI.
- Dezvoltarea fișierelor CG de parametri de forță și topologie pentru PEI.
- Achiziții de tehnică de calcul (placă grafică, software), reparații și amenajări.

Activitatea 2.2 - Investigarea prin simulări MD CG a structurării dinamice a lanțurilor PEI solvate.

- Simulări MD CG de polimeri PEI solvatați de diverse dimensiuni și stări de protonare
- Colectarea datelor, mediere pe ansambluri de traiectorii și analiza statistică a rezultatelor.
- Elaborarea publicațiilor și participarea cu comunicări la conferințe.
- Elaborarea raportului științific de etapă.

Etapa 3 - Simulări MD atomistice și coarse-grained (CG) de condensare a poliplecșilor PEI-ADN.

- Simulări MD atomistice și CG privind condensarea poliplecșilor PEI-ADN.
- Sinteză a caracteristicilor optime ale lanțurilor PEI pentru procesul de condensare a poliplecșilor PEI-ADN.
- Elaborarea publicațiilor, a raportului științific final, participarea la conferințe internaționale
- Achiziții de tehnică de calcul.

Activitatea 3.1 - Investigarea prin simulări MD AA și CG a condensării poliplecșilor PEI-ADN.

- Simulări MD atomistice și CG masive de condensare PEI-ADN pentru diverse configurații inițiale, fracții de protonare și temperaturi.
- Colectarea datelor, mediere pe ansambluri de traiectorii și analiza statistică a rezultatelor.
- Elaborarea publicațiilor, a raportului științific final, participarea cu comunicări la conferințe.
- Achiziții de tehnică de calcul (stație de lucru de înaltă performanță, laptop, software), reparații și amenajări.

Obiectivele proiectului au fost realizate în totalitate.

Introducere

Tehnicile de terapie genică sunt în mod continuu dezvoltate și perfecționate pentru a trata eficient afecțiuni la nivel celular, având în același timp un grad scăzut de toxicitate. Metoda standard de livrare a materialului genetic (ADN) constă în formarea complexelor de tip ADN – vector genic (Figura 1), condensarea și infiltrarea acestora în celule prin endocitoză. Polietilenimina (PEI), având formula chimică - $[CH_2-NH-CH_2]_n-$, este un polimer cu eficiență de transfecție ridicată. Această proprietate, împreună cu sarcina electrică pozitivă a grupărilor protonate ale PEI (care interacționează cu grupările fosfat din ADN prin intermediul forțelor electrostatice), fac din acesta un important vector care întrunește toate caracteristicile necesare pentru a fi utilizat pe scară largă în terapia genică.

În prezent există un interes deosebit în optimizarea formării și condensării poliplexșilor ADN-PEI. Studiile experimentale au demonstrat atât eficiența polietileniminei ca vector genic, cât și toxicitatea scăzută a complexșilor ADN-PEI. De exemplu, condensarea ADN-ului prin intermediul lanțurilor de PEI ca parte a unui amestec de agenți cationici și ioni trivalenți a fost demonstrată de Jorge et al. [1], care a arătat eficiență crescută în prezența ionilor de fier. În contextul imunoterapiei în cancer, Cai et al. [2] au construit nanocompuși formați din PEI și material anorganic și au demonstrat eficiența acestora prin microscopie de fluorescență.

Proiectul are ca scop principal modelarea polietileniminei și studiul amănunțit al dinamicii acesteia în prezența ADN-ului prin intermediul simulărilor de dinamică moleculară de înaltă calitate la nivel atomic (AA) și coarse-grained (CG). Pentru atingerea acestui scop, prima etapă a proiectului a urmărit dezvoltarea unui câmp de forțe AA pentru PEI de calitate superioară celor existente în literatura de specialitate, a doua etapă a implicat dezvoltarea unui câmp de forțe CG pentru PEI, iar în ultima etapă s-au efectuat simulări de dinamică moleculară ale complexșilor ADN – PEI.

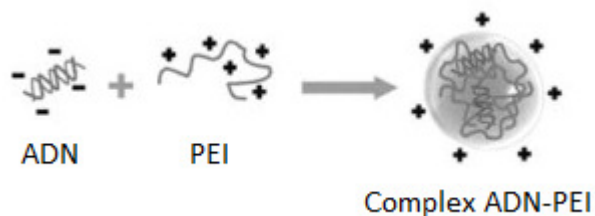


Fig. 1 Formarea complexșilor ADN – PEI.

<https://www.sciencedirect.com/topics/materials-science/polyethyleneimine>

Rezumatul etapelor

Prima etapă a acestui proiect a avut ca obiectiv dezvoltarea unui câmp de forțe atomic (CHARMM) pentru polietilenimină protonată și simulări de dinamică moleculară (MD) a lanțurilor PEI solvate. Scopul acestei etape a fost îndeplinit în totalitate, iar rezultatele au fost publicate în anul 2017 în două reviste indexate ISI, și anume **Journal of Computational Chemistry** (factor de impact 3.229) și **AIP Conference Proceedings**, ambele menționând

finanțarea de către UEFISCDI a proiectului. Pentru vizibilitatea proiectului a fost creată o pagină web care este periodic actualizată, având adresa <http://www.phys.ubbcluj.ro/~tbeu/PolyGeneVec/>.

Cea de-a doua etapă a avut ca scop principal *dezvoltarea unui câmp de forțe coarse-grained și simulări MD pentru lanțuri PEI protonate*. În primă fază a fost dezvoltat un nou câmp AA pentru PEI, de data aceasta bazat pe reziduuri simetrice, necesar pentru parametrizarea câmpului CG. Au fost realizate simulări MD AA, pentru ca apoi să se extragă, prin tehnica Boltzmann inversion [3], parametrii de forță legați CG (pentru legături, unghiuri și diedrale). Parametrii nelegați au fost adoptați din matricea de interacțiune a câmpului Martini [4], și s-au efectuat simulări MD CG ale lanțurilor PEI. Validarea noului câmp CG a fost realizată prin compararea rezultatelor cu cele atomistice. În anul 2018 a fost publicat noul câmp de forțe AA în **Journal of Computational Chemistry** (factor de impact 3.221), iar rezultate parțiale privind dezvoltarea câmpului CG au fost publicate în **Chemical Physics Letters** (factor de impact 1.901). În această etapă au fost efectuate și simulări AA ale formării complexelor ADN-PEI care întocmesc o parte din obiectivul ultimei etape, *Investigarea prin simulări MD atomistice și CG a condensării poliplecșilor ADN-PEI*, planificată pentru anul 2019. Acestea au fost publicate în **Studia UBB Chemia** (factor de impact 0.305), iar toate cele trei articole menționează proiectul de față.

A treia etapă a avut ca obiectiv *realizarea simulărilor MD atomistice și coarse-graining de condensare a poliplecșilor ADN-PEI* și investigarea acestora în raport cu diferite fracții de protonare și configurații inițiale. O parte din obiectivele ultimei etape, și anume *investigarea prin simulări MD atomistice a condensării poliplecșilor ADN-PEI*, au fost realizate, utilizând câmpul de forțe AA dezvoltat în prima etapă, și publicate în anul 2018 în revista **Studia UBB Chemia** (factor de impact 0.305). Având la îndemână câmpul coarse-grained pentru PEI dezvoltat în etapa a doua și câmpul standard Martini pentru ADN [5], s-au efectuat simulări CG masive ale poliplecșilor ADN-PEI, din care reiese clar rolul polietileniminei în procesul de condensare a materialului genetic. Rezultatele care privesc dezvoltarea câmpului CG și formarea complexelor ADN-PEI au fost publicate în **Journal of Computational Chemistry** (factor de impact 3.224), iar articolul menționează finanțarea prin proiectul de față.

Toate obiectivele proiectului de față au fost realizate în totalitate, iar rezultatele au fost publicate în reviste de prestigiu și diseminate la conferințe internaționale.

Programe și modele utilizate

VMD [6] - program de vizualizare și modelare a sistemelor biomoleculare.

ffTK [7] (Force Field Tool Kit) – aplicație de ultimă oră pentru ajustarea parametrilor câmpurilor de forțe de tip CHARMM bazat pe calcule ab initio de înaltă calitate (pachet al programului VMD).

NAMD [8] - program de dinamică moleculară proiectat pentru realizarea simulărilor la scară largă a unor sisteme biomoleculare; prezintă o eficiență ridicată a paralelizării.

GROMACS [9] – program de dinamică moleculară utilizat pentru simularea eficientă a sistemelor biomoleculare la nivel atomistic și coarse-grained; are la dispoziție un pachet consistent de câmpuri de forțe (AMBER, CHARMM, GROMOS, OPLS).

CHARMM [10] - câmp de forțe atomistic. Calculul energiei potențiale (interacțiuni legate/nelegate) se realizează după descrierea de mai jos:

$$V = \sum_{bonds} k_b(b - b_0)^2 + \sum_{angles} k_\theta(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{dihedrals} k_\phi[1 + \cos(n\Phi - \delta)] +$$

$$\sum_{impropers} k_\omega(\omega - \omega_0)^2 + \sum_{Urey-Bradley} k_u(u - u_0)^2 + \sum_{non-bonded} \epsilon \left[\left(\frac{R_{min}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{R_{min}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}$$

Martini [4] – câmp de forțe coarse-grained (CG) care modelează în medie 4 atomi grei (împreună cu atomii de hidrogen aferenți) ca o singură particulă (numită bead). Energia potențială are forma:

$$V = \sum_{bonds} \frac{1}{2} k_b(r - r_{eq})^2 + \sum_{angles} \frac{1}{2} k_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{dihedrals} k_\phi[1 + \cos(\varphi - \varphi_{eq})] +$$

$$\sum_{impropers} k_\phi(\Phi - \Phi_{id})^2 + \sum_{i,j} \left\{ \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r} + 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^6 \right] \right\}$$

Infrastructura tehnică

Datorită efortului imens de calcul în studiul formării și condensării poliplecșilor ADN-PEI (sisteme compuse din sute de mii de atomi), a fost necesară achiziționarea unor stații de calcul de înaltă performanță. În mod ideal este nevoie și de existența plăcilor grafice (GPU) pe care programele de dinamică moleculară scalează excelent. În acest sens, în anul 2017 au fost achiziționate 3 stații de calcul Fujitsu Celsius R940 Power cu 28 core-uri și placă grafică (2 x Intel® Xeon® E5-2690v4, 28 cores, 2.6 - 3.5 GHz, GPU NVIDIA Tesla K40) – vezi Figura 2 a).

Pentru a crește performanța infrastructurii existente și a îndeplini obiectivele proiectului de față, în anul 2018, conform bugetului alocat și a altor surse de finanțare s-a achiziționat o placă grafică suplimentară NVIDIA Tesla K40 – vezi Figura 2 b). În cadrul proiectului în anul 2019 au fost achiziționate o stație de calcul Fujitsu CELSIUS M770 (Figura 3 a), având un procesor de ultimă generație (Intel i9) cu 28 de core-uri și un laptop DELL XPS 9570 (Figura 3 b) cu procesor Intel Core i9.

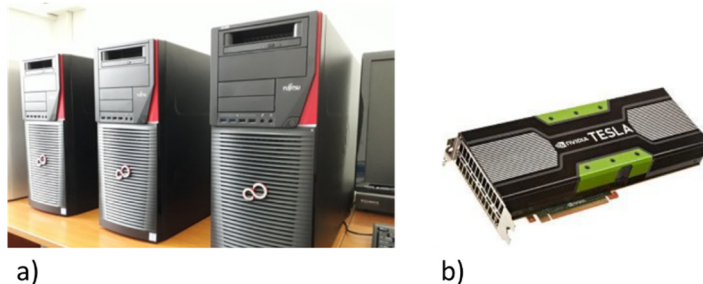


Fig. 2 a) Stațiile Fujitsu Celsius R940 Power și b) Placa grafică profesională NVIDIA Tesla K40.



Fig. 3 a) Stație grafică Fujitsu CELSIUS M770 și b) Laptop DELL XPS 9570.

Detalii de modelare și implementare

Etapa 1 - Dezvoltarea unui câmp de forțe CHARMM pentru polietilenimină.

Activitatea 1.1 Dezvoltarea unui nou câmp de forțe CHARMM pentru lanțuri PEI protonate.

CHARMM [10] este un câmp de forțe atomistic care include parametri pentru proteine, lipide, carbohidrați și acizi nucleici. Datorită versatilității și utilizării acestuia la scară largă, a fost adoptat ca model pentru dezvoltarea câmpului de forțe pentru PEI.

Pentru parametrizarea câmpului atomistic a fost urmată metodologia implementată în pachetul fTK (force field Tool Kit) v1.1. [7] S-au efectuat calcule ab initio la nivelul de teorie MP2/6-31G(d) utilizând programul de chimie computațională Gaussian 09 Rev. E.01 [11] pentru doi polimeri model compuși din câte patru monomeri: PEI4p0 (neprotonat) și PEI4p1 (conținând o singură grupare protonată). Figura 4 exemplifică structura polimerului model PEI4p1.

Au fost definite 5 tipuri de reziduuri: PEA – NH₂ la capătul polimerului, PEI – monomerul neprotonat –CH₂-CH₂-NH-, PEP – monomerul protonat –CH₂-CH₂-NH₂⁺-, PEQ – monomerul neprotonat care formează sarcină unitară împreună cu reziduul PEP și se situează imediat după acesta, PEZ – reziduul terminal –CH₂-CH₂-NH₂; și 10 tipuri noi de atomi pentru PEI: NH₂, HN₂, NH₁, HN₁, NH₂P, HN₂P, CH₂, CH₂P, CH₂X, HC₂. Primul pas al dezvoltării câmpului a fost atribuirea parametrilor Lennard-Jones, prin similaritate cu cei deja existenți în câmpul CHARMM. Pentru a determina

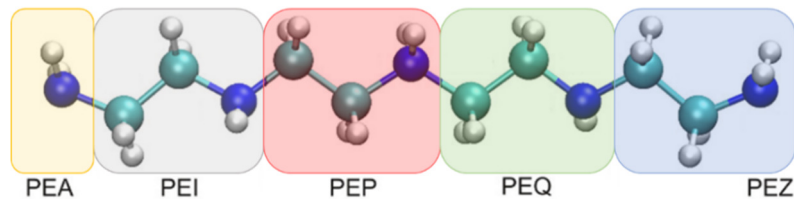


Fig. 4 Tetramerul model PEI4p1 conținând toate cele 5 tipuri de reziduuri definite.

sarcinile parțiale pe atomi, au fost construiți complecși de tip (moleculă de H₂O) - tetramer model, care au fost optimizați la nivel cuantic. Apoi, utilizând profilele de interacțiune, sarcinile au fost calculate la nivelul de teorie al mecanicii moleculare și modificate altfel încât să reproducă rezultatele cuantice.

Pentru stabilirea constantelor de forță și a valorilor de echilibru pentru legături și unghiuri, au fost calculate matricile hessiene ab initio și clasică (prin intermediul programelor Gaussian 09 și fTK). Energiile totale de deformare au fost calculate folosind aceste matrici, apoi fitate în mod iterativ pentru a determina parametrii de forță pentru legături și unghiuri.

Energia diedrală nu are o formă armonică, deci calculul matricilor hessiene nu poate fi utilizat în acest caz. În schimb, cu ajutorul scanărilor unghiurilor diedrale de interes s-au calculat suprafețele de energie potențială cuantice. Minimizând diferența dintre acestea au fost determinați parametrii de forță corespunzători diedralelor.

Au fost create două fișiere standard CHARMM, unul de topologie și unul de parametri, care cuprind respectiv, proprietățile topologice ale reziduurilor de polietilenimină și parametrii de forță pentru legături, unghiuri și unghiuri diedrale. La publicarea rezultatelor au fost incluse și aceste fișiere care fac posibilă orice simulare atomică a unui sistem care conține lanțuri PEI.

Activitatea 1.2 Investigarea prin simulări MD a structurării dinamice a lanțurilor PEI solvate

S-a efectuat un studiu complex al proprietăților structurale și dinamice ale polietileniminei de diverse lungimi (lanțuri care cuprind 14, 26 sau 50 de monomeri) și tipare de protonare (0 – neprotonat, 1/2 – alternativ protonat, 1/3 – un monomer protonat din trei și 1/4 - un monomer protonat din patru).

Pentru fiecare lanț PEI considerat fost generate câte 40 de simulări (20 de nanosecunde fiecare) pornind de la configurații inițiale diferite. Au fost calculate diverse mărimi de interes, printre care raza de girație (R_g), distanța end-to-end (D_{ee} , distanța dintre reziduurile din capetele polymerului), numere de coordinare, distribuții radiale și coeficient de difuzie. Pentru îmbunătățirea statisticii, acestea au fost mediate pe ansamblurile de traiectorii (corespunzătoare unui interval de timp total de 680 de nanosecunde). Rezultatele razelor de girație și a distanței end-to-end sunt prezentate în Figura 5. Se poate observa că R_g și D_{ee} prezintă o creștere atât în funcție de lungimea lanțului considerat, cât și de fracția de protonare.

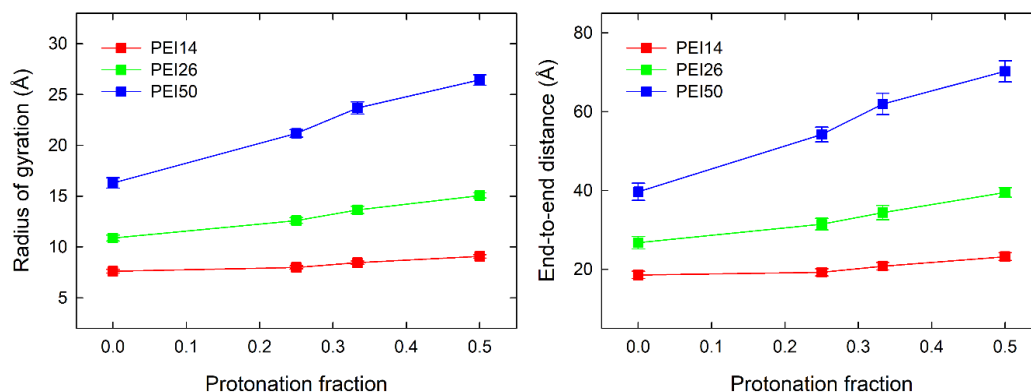


Fig. 5 Raza de girație și distanța end-to-end în funcție de fracția de protonare pentru PEI14, PEI26 și PEI50.

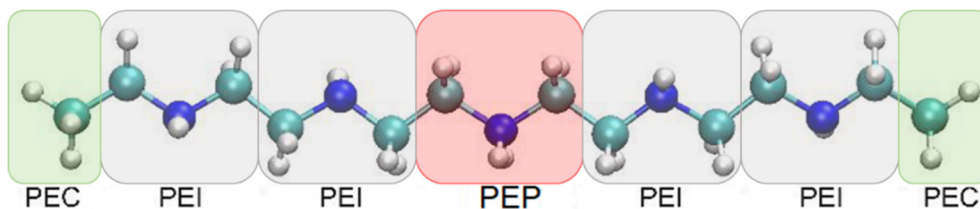


Fig. 6 Pentamerul model PEI5p1 conținând toate cele 3 tipuri de reziduuri definite.

Etapa 2 - Dezvoltarea unui câmp de forțe Martini pentru polietilenimină.

Pentru a putea determina parametrii de forță pentru câmpul coarse-grained al polietileniminei, a fost necesară, în primul rând, dezvoltarea unui nou câmp atomistic cu reziduuri simetrice (backbone –C-N-C-) care sunt considerate bead-uri la nivel CG. A fost urmărită și în acest caz metodologia implementată în pachetul fftk [7] pentru 3 pentameri model: PEI5p0 – neprotonat, PEI5p1 – protonat central (vezi Figura 6) și PEI5u2 – alternativ protonat.

Au fost definite 3 tipuri noi de reziduuri: PEC – grupare –CH₃ din capetele polymerului, PEI – monomerul neprotonat –CH₂-NH-CH₂-, PEP – monomerul protonat –CH₂-NH₂⁺-CH₂-; și nouă tipuri noi de atomi: NH1, HNH1, NH2P, HN2P, CH2, CH2P, HC2, CH3, HC3.

Au fost mai apoi efectuate simulări AA ale lanțurilor PEI din care s-au extras distribuțiile de probabilitate pentru distanțe, unghiuri și diedrale formate de centrele de masă ale reziduurilor (bead-uri CG) adiacente. În Figura 8 a) se poate observa o configurație tipică a lanțului PEI27u3 în timpul unei simulări.

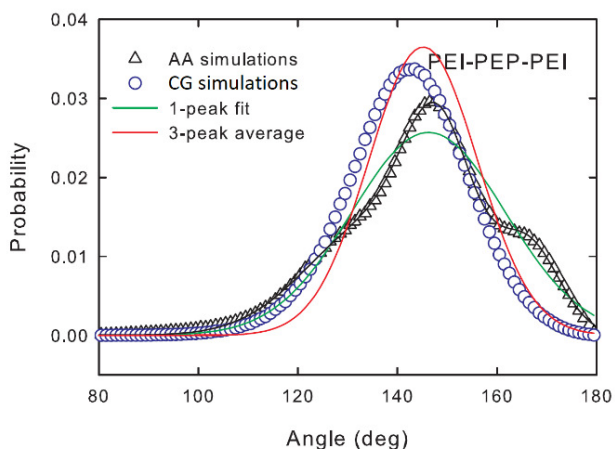


Fig. 7 Distribuțiile de probabilitate atomistice și coarse-grained pentru unghiul PEI-PEP-PEI.

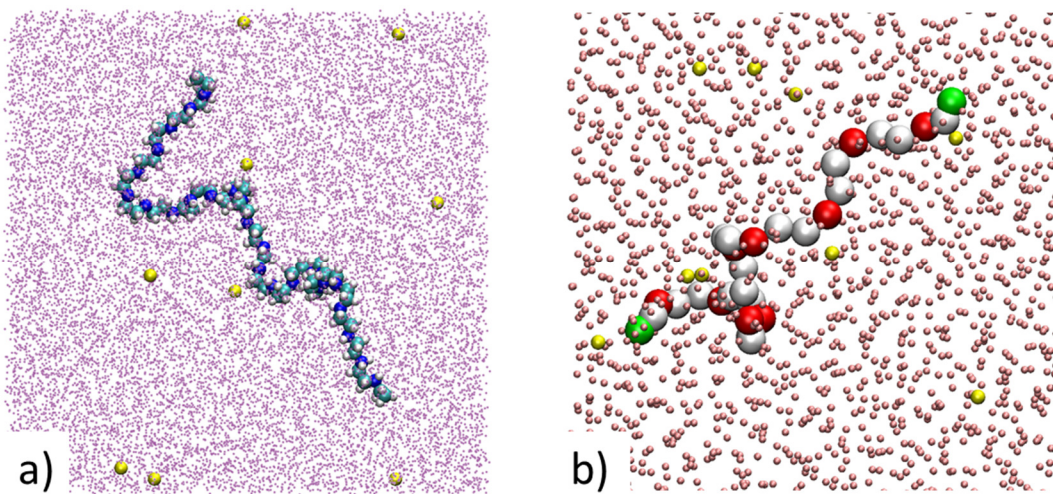


Fig. 8 a) – Simulare atomistică și b) – simulare coarse-grained a lanțului compus din 27 de monomeri protonați în fracție de 1/3 (PEI27u3).

Activitatea 2.1 - Dezvoltarea unui câmp de forțe CG pentru lanțuri PEI protonate.

După maparea directă a bead-urilor CG prin asocierea cu reziduurile atomistice, a fost aplicată metoda Boltzmann inversion [3] asupra distribuțiilor de probabilitate atomistice în vederea extragerii parametrilor de forță legați. Figura 7 reflectă distribuțiile de probabilitate AA și CG pentru unghiul PEI-PEP-PEI. Este arătată și fitarea distribuției AA cu o singură funcție Gaussiană (verde) și cu media a trei funcții (roșu).

Parametrii nelegați van der Waals au fost aleși din matricea de interacțiune a câmpului Martini [4], asociind fiecare bead (PEI, PEP) cu câte un tip standard. În prezența apei nepolarizabile cele mai bune rezultate au fost date de combinația SNO-SQ0, iar în conjuncție cu apa polarizabilă Martini [12] cea mai bună alegere s-a dovedit a fi SNda-Qd.

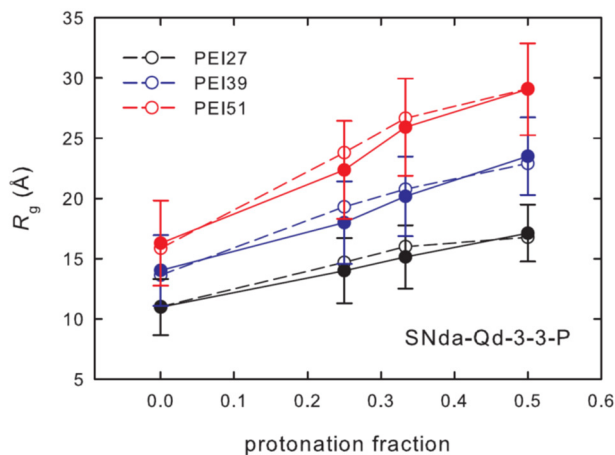


Fig. 9 Raza de girație CG (linie continuă) și AA (linie punctată).

Activitatea 2.2 - Investigarea prin simulări MD CG a structurării dinamice a lanțurilor PEI solvate.

Câmpul CG pentru PEI a fost utilizat în simulări de dinamică moleculară a lanțurilor formate din 27, 39 și 51 de bead-uri și având fracțiile de protonare 0, 1/2, 1/3 și 1/4. Figura 8 b) arată o configurație tipică a lanțului PEI_{27u3} în decursul unei simulări. Proprietățile structurale și dinamice au fost investigate calculând raza de girație (vezi Figura 9), distanța end-to-end și coeficientul de difuzie. Rezultatele au fost comparate cu cele AA și s-a observat o bună concordanță între acestea, dovedind calitatea înaltă a câmpului CG dezvoltat.

Etapa 3 - Simulări MD atomistice și coarse-grained de condensare a polipeptidilor PEI-ADN.

Activitatea 3.1 - Investigarea prin simulări MD AA și CG a condensării polipeptidilor PEI-ADN.

S-au realizat simulări atomistice ale sistemelor formate din lanțuri de PEI și ADN utilizând câmpul AA dezvoltat în cadrul primei etape a acestui proiect. Rezultatele au fost publicate în anul 2017 în revista Studia UBB Chemia. Noul câmp coarse-grained pentru polietilenimină a fost folosit împreună cu cel pentru ADN [5] și cel al apei polarizabile [12] pentru realizarea unor simulări masive CG ale complexelor ADN-PEI. Configurațiile inițiale pentru simulările de acest fel se pot vedea în Figura 10 a) – la nivel AA și b) – la nivel CG.

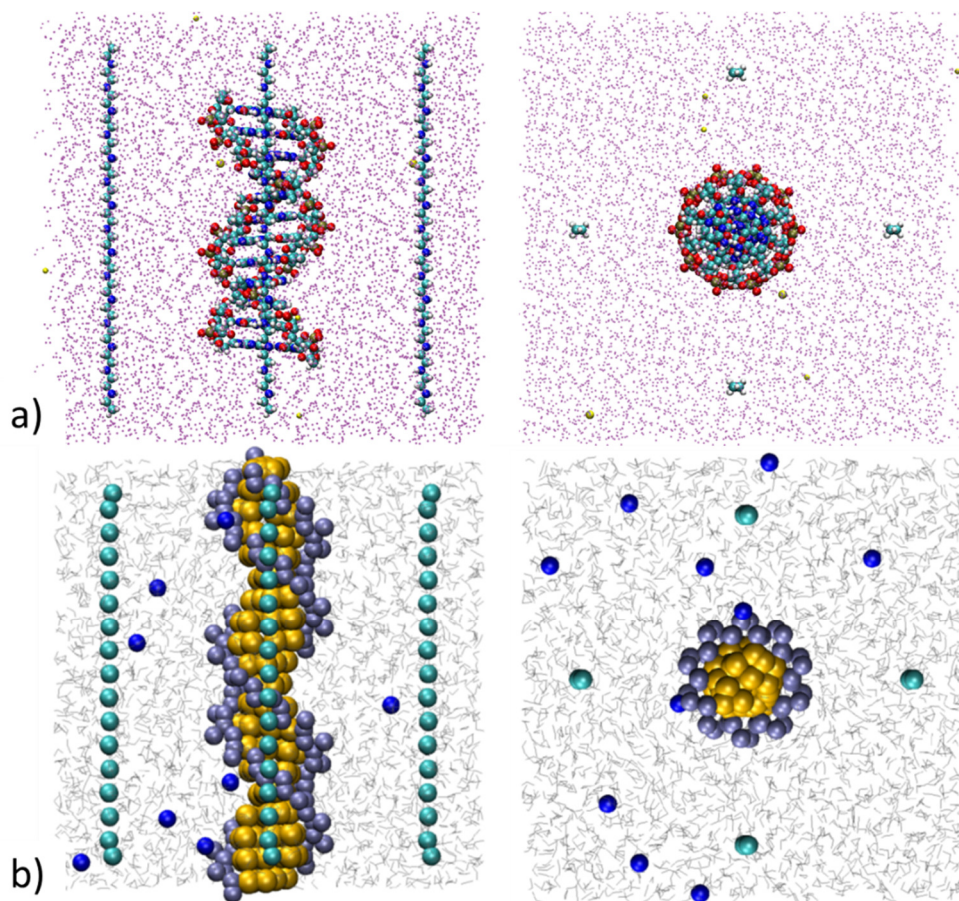


Fig. 10 Sistem format din ADN, 4 lanțuri PEI de câte 15 monomeri protonați uniform din 2 în 2, apă și ionii necesari neutralizării. a) – atomistic, b) – coarse-grained (vedere laterală și de sus).

S-a observat formarea poliplecșilor ADN-PEI și a fost calculat potențialul de forță medie (Figura 11) dintre bead-urile protonate ale polimerului (PEP) și grupările fosfat ale ADN (BB1) care indică un minim absolut la o interdistanță de 0.46 nm. Se poate vedea că lanțurile alternativ protonate produc profile aproape indiscernabile, însă potențialul de forță medie al celor protonate cu fracția 1/4 este mai mare. Acest lucru este datorat faptului că, în cazul protonării 1/2, distanța dintre două bead-uri PEP consecutive este comparabilă cu distanța dintre două grupări fosfat consecutive ale ADN-ului, iar în cazul lanțurilor de protonare 1/4 distanța PEP-PEP este semnificativ mai mare decât distanța BB1-BB1.

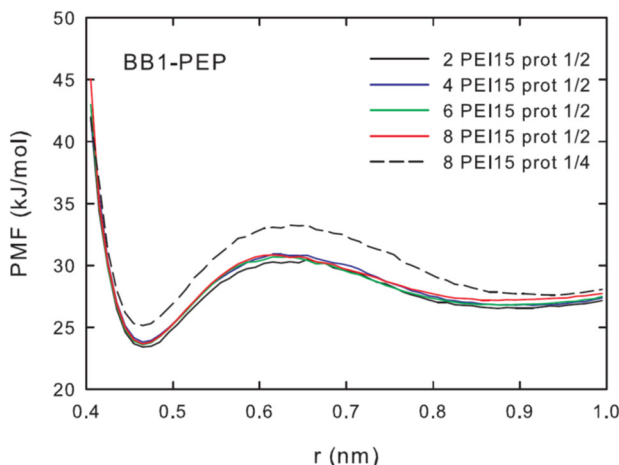


Fig. 11 Potențialul de forță medie între bead-urile protonate ale PEI și grupările fosfat ale ADN-ului.

Concluzii științifice

Etapa 1

- 1.1. A fost dezvoltat un câmp de forțe atomistic (CHARMM) bazat pe reziduuri nesimetrice (-C-C-N-) pentru polietilenimină protonată/neprotonată. Calitatea câmpului de forțe poate fi atribuită faptului că au fost determinați toți parametrii legați (legături, unghiuri, diedrale) prin calcule ab initio de mare acuratețe.
- 1.2. Câmpul AA a fost utilizat în simulări de dinamică moleculară de înaltă precizie. S-a observat că raza de girație a polimerului crește cu lungimea lanțului dar și cu gradul de protonare. Din analiza funcțiilor de distribuție radiale s-a concluzionat faptul că moleculele de apă se orientează cu momentul de dipol înspre atomul de azot al grupărilor PEI neprotonate (neutre). Coeficientul de difuzie scade cu lungimea lanțului și cu gradul de protonare.

Etapa 2

- 2.1. A fost dezvoltat un nou câmp de forțe atomistic (CHARMM) pentru PEI, de această dată bazat pe reziduuri simetrice (-C-N-C-), cu care s-au efectuat simulări MD, iar comportamentul lanțurilor PEI este consistent cu rezultatele etapei 1. Prin tehnica general acceptată de inversie Boltzmann, a fost dezvoltat un câmp de forțe coarse-grained (Martini) pentru polietilenimină în stări de protonare arbitrară.

- 2.2.** Au fost realizate simulări de dinamică moleculară cu ajutorul noului câmp de forțe CG pentru PEI, iar rezultatele au fost comparate cu cele de nivel atomistic. Razele de girație, distanțele end-to-end și coeficienții de difuzie sunt în acord cu valorile AA. Aceste rezultate permit realizarea simulărilor masive de formare și condensare a poliplecților ADN-PEI, care pot fi utile în dezvoltarea unor tehnici eficiente de transfer genic.

Etapa 3

- 3.1.** S-au efectuat simulări AA (cu câmpul de forțe CHARMM) și CG (cu câmpul de forțe MARTINI) ale complecșilor ADN-PEI și s-a constatat că cel mai eficient vector genic este polietilenimina protonată alternativ datorită faptului ca distanța dintre 2 bead-uri protonate PEP (încărcate pozitiv) este comparabilă cu distanța dintre 2 grupări fosfat consecutive ale ADN-ului (încărcate negativ).

Rezultate diseminate

Articole publicate în reviste indexate ISI

- 1.** T.A. Beu, A. Farcaș, "CHARMM force field and molecular dynamics simulations of protonated polyethylenimine", J. Comput. Chem. 38(27), 2335 (2017), DOI: 10.1002/jcc.24890.

Factor de impact: 3.229

- 2.** T.A. Beu, A. Farcaș, "Structure and Dynamics of Solvated Polyethylenimine Chains", AIP Conference Proceedings (2017).

- 3.** T. A. Beu, A. E. Ailenei, A. Farcaș, "CHARMM Force Field for Protonated Polyethyleneimine", J. Comput. Chem., 39(31), 2564 (2018), DOI: 10.1002/jcc.25637.

Factor de impact: 3.221

- 4.** T. A. Beu, A. E. Ailenei, A. Farcaș, "Atomistic and Coarse-Grained Modeling of Polyethyleneimine", Chem. Phys. Lett., 714, 94 (2019), DOI: 10.1016/j.cplett.2018.10.071.

Factor de impact: 1.901

- 5.** T. A. Beu, A. E. Ailenei, R. I. Costinaș, " Martini Force Field for Protonated Polyethyleneimine", J. Comput. Chem. (2019), DOI:10.1002/jcc.26110.

Factor de impact: 3.224

- 6.** A. Farcaș, T. A. Beu, "Complexation of DNA with Cationic Polymers", Studia UBB Chemia, LXIII, 2, 165 (2018).

Factor de impact: 0.305

Conferințe internaționale

1. T.A. Beu, A. Farcaș, "CHARMM force field and molecular dynamics simulations of polyethylenimine chains", 4th International Conference on Physical and Theoretical Chemistry, 18-19 September 2017, Dublin, Ireland, oral presentation.
2. A. Farcaș, T.A. Beu, "Molecular Dynamics Simulations of Cationic Polymers", 19th International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB) and 11th European Biophysical Societies' Association (EBSA) Congress, 16-20 July 2017, Edinburgh, UK, poster presentation.
3. T. A. Beu, A. Farcaș, A. E. Ailenei, "Atomistic and Coarse-Grained Modelling of Gene Delivery Polymers", 12th Joint Conference on Mathematics and Computer Science (12th MaCS), 14-17 June 2018, Săcuieu, Romania, oral presentation.
4. T. A. Beu, A. Farcaș, A. E. Ailenei, "Atomistic and Coarse-Grained Modelling of Polyethylenimine for Gene Delivery Applications", Polymer World Congress 2018 (PWC 2018), 3-6 September 2018, Stockholm, Sweden, oral presentation.
5. T. A. Beu, A. E. Ailenei, A. Farcaș, "Coarse-grained modeling of polyethyleneimine", Molecular Modeling in Chemistry and Biochemistry Conference (MolMod), 28-30 October 2018, Cluj-Napoca, Romania, oral presentation.
6. A. Farcaș, T. A. Beu, "Cationic Polymers as Drug Delivery Systems", International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences (IC-ANMBES), 23-25 May 2018, Brașov, Romania, oral presentation.
7. T. A. Beu, R. I. Costinaș, A. E. Ailenei, "Coarse-grained modeling of DNA-genetic-vector complexes", TIM19 Physics Conference, 29-31 May 2019, Timișoara, Romania, plenary lecture.
8. A. E. Ailenei, R. I. Costinaș, T. A. Beu, "Coarse-grained simulations of solvated polyethyleneimine", TIM19 Physics Conference, 29-31 May 2019, Timișoara, Romania, poster presentation.
9. T. A. Beu, "DNA-polycation complexes: coarse-grained modeling and simulations", 2nd Euro Chemistry Conference, 17-19 June 2019, Valencia, Spain, keynote speech.
10. T. A. Beu, "Coarse-grained simulations of DNA-polyethyleneimine complex formation", 12th European Conference on Computational and Theoretical Chemistry (EUCCO-CTC), 1-5 September 2019, Perugia, Italy, oral presentation.
11. T. A. Beu, "DNA-Polyethyleneimine complex formation: coarse-grain simulations", 12th International Conference on Processes In Isotopes And Molecules (PIM19), 25-27 September 2019, Cluj-Napoca, Romania, oral presentation.
12. A. E. Ailenei, R. I. Costinaș, T. A. Beu, "Polyethyleneimine: coarse-grain modeling and simulations", 12th International Conference on Processes In Isotopes And Molecules (PIM19), 25-27 September 2019, Cluj-Napoca, Romania, poster presentation.

Bibliografie

- [1]. A. F. Jorge, R. S. Dias, and A. A. C. C. Pais, *Biomacromolecules* 13, 3151 (2012).
- [2]. J. Cai, G. Chen, R. Jin, C. Deng, S. Huang, X. Yuan, G. Chen, J. Zhao, Z. Wang, and H. Ai, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 76, 188 (2019).
- [3]. D. Reith, M. Pütz, and F. Müller-Plathe, *Journal of Computational Chemistry* 24, 1624 (2003).
- [4]. S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov, D. P. Tieleman, and A. H. de Vries, *The Journal of Physical Chemistry B* 111, 7812 (2007).
- [5]. J. J. Uusitalo, H. I. Ingólfsson, P. Akhshi, D. P. Tieleman, and S. J. Marrink, *Journal of Chemical Theory and Computation* 11, 3932 (2015).
- [6]. W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *Journal of Molecular Graphics* 14, 33 (1996).
- [7]. C. G. Mayne, J. Saam, K. Schulten, E. Tajkhorshid, J. C. Gumbart, *Journal of Computational Chemistry* 34, 2757 (2013).
- [8]. J. C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R. D. Skeel, L. Kale, and K. Schulten, *Journal of Computational Chemistry* 26, 1781 (2005).
- [9]. M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Pall, J. C. Smith, B. Hess, E. Lindahl, *SoftwareX* 1-2 19 (2015).
- [10]. K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya, S. Kundu, S. Zhong, J. Shim, E. Darian, O. Guvench, P. Lopes, I. Vorobyov and A. D. MacKerell Jr., *Journal of Computational Chemistry* 31, 671 (2010).
- [11]. Gaussian 09, Revision E.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, et al., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [12]. S. O. Yesylevskyy, L. V. Schafer, D. Sengupta, and S. J. Marrink, *PLOS Computational Biology* 6, 1 (2010).