

---

Universitatea Babeş-Bolyai

Facultatea de fizică



**Investigații de dinamică moleculară  
asupra sistemelor bio-macromoleculare:  
de la structuri mutante Huntingtin la subunitatea D2 a  
receptorului de dopamină și lanțuri monocatenare de ADN**

Rezumatul tezei doctorale

**Nastasia-Sanda Moldovean**

Îndrumător științific: Prof. dr. Vasile Chiș

2021

Cluj-Napoca

# CUPRINS

---

<b>1. Introducere .....</b>	<b>2</b>
1.1 Obiective științifice .....	2
1.2 Structura tezei de doctorat .....	3
1.3 Noțiuni teoretice .....	4
1.4 Boala Huntington și implicările genetice .....	7
1.5 Caracteristici structurale ale mutantului Huntingtin .....	8
<b>2. Rezultate și discuții .....</b>	<b>10</b>
2.1 Mutații specifice de-a lungul conformației helicoidale a proteinei Huntingtin-Exon 1 ar putea avea efecte antagonice asupra formării conținutului helicoidal toxic.....	10
2.2 Interacțiunile dintre calmodulin și un model mutant huntingtin ar putea reduce nivelul citotoxic în urma absorbției $\text{Ca}^{2+}$ intracelular.....	14
2.3 Investigații de dinamică moleculară asupra interacțiunilor dintre receptorul dopaminei D2 și trei compuși radiofarmaceutici marcați cu $^{11}\text{C}$ .....	18
2.4 Perspective biofizice asupra mecanismului de interacțiune între sisteme formate din lanțuri multiple, monocatenare de ADN: A1/A2 atașat pe o suprafață metalică și aptamerii miR21, anti-miR21, random, miR21-sp.....	22
<b>3. Concluzii .....</b>	<b>27</b>
Bibliografie .....	29
Publicații și conferințe .....	32

# 1. INTRODUCERE

---

## 1.1 Obiective științifice

Teza de doctorat se încadrează în domeniul neuroștiințelor și descrie tulburarea genetică Huntington care afectează sistemul nervos central și provoacă degenerarea progresivă a neuronilor, implicând efecte ereditare autozomal dominante ale motricității și abilităților cognitive. În cadrul acestui subiect, principalul scop al tezei este de a caracteriza, din punct de vedere biofizic, dinamica și structura unor mutații genetice adiționale mutantului huntingtin, cu efecte antagonice asupra formării lanțului toxic la nivelul secvenței ADN. Modelul HTT obținut a fost caracterizat folosind metode teoretice de dinamică moleculară.

Pe scurt, obiectivele prezentului studiu sunt:

- Dezvoltarea unei structuri mutante cu efecte antagonice asupra formării lanțului toxic la nivelul secvenței ADN în contextul bolii Huntington.
- Identificarea unor mutații specifice și caracterizarea modificărilor structurale la nivelul întregii structuri huntingtin.
- Evaluarea comportamentului dinamic al noului mutant și compararea acestuia cu alte structuri mutante, respectiv fiziologice, și determinarea impactului structural al mutantului asupra evoluției dinamice.
- Caracterizarea interacțiunii dintre mutantul propus (modelul 9P(EM)) și o altă structură proteică (calmodulin). Rezultatele obținute susțin ipotezele studiului și atestă eliminarea structurii helicoidale toxice, impactând dinamica modelului propus în interacțiunea directă cu proteina calmodulin prin încetinirea proceselor citotoxice și suprimarea absorbției calciului intracelular.
- În ceea ce privește receptorul dopaminei, liganzii etichetați cu izotop  $^{11}\text{C}$  au prezentat, conform literaturii de specialitate, afinități de legare mai mari în partea superioară a receptorului. De asemenea, energiile de interacțiune studiate au evidențiat doi potențiali candidați pentru tehnicile de imagistică pentru diagnoză: ligandul  $^{11}\text{C}$ -RACL docat în partea superioară a receptorului (conform literaturii) și  $^{11}\text{C}$ -SCH docat în partea inferioară a receptorului; ligandul din urmă reprezintă un nou potențial candidat pentru cuantificarea dopaminei la nivel cerebral.

# 1. INTRODUCERE

---

- Sistemele binare și ternare compuse din lanțuri monocatenare de ADN au evidențiat interacțiuni puternice, în concordanță cu datele experimentale obținute în cadrul aceluiași studiu, bazate pe comportamente structurale similare și pe identificarea nucleotidelor învecinate conform regulilor de complementaritate.

## 1.2 Structura tezei de doctorat

Capitolul introductiv descrie abordările teoretice de dinamică moleculară folosite pentru investigațiile structurale și dinamice ale sistemelor bio-macromoleculare complexe și stabilește obiectivele principale ale tezei. În capitolul 2 sunt evidențiate secțiunile biologice esențiale ale creierului uman și alte componente fiziologice implicate direct în transmisiile sinaptice. De asemenea, boala Huntington este caracterizată din punct de vedere patologic, împreună cu implicările genetice și modificările structurale ce pot apărea la nivelul tractului de poliglutamină și al regiunilor adiacente în urma mutației.

Capitolul 3 prezintă în detaliu integrarea tuturor etapelor metodologice luate în considerare pentru generarea traiectoriilor dinamice.

Rezultatele prezentate în capitolul 4 sunt împărțite în cinci părți. Primele trei părți se bazează pe articole de cercetare publicate, cu privire la boala Huntington. Primul articol sumarizează și analizează literatura de specialitate concentrată asupra investigațiilor teoretice ce presupun utilizarea metodelor de dinamică moleculară, comparate cu studiile experimentale, pe structurile proteice huntingtin fiziologice și mutante (*Molecular Dynamics simulations applied to structural and dynamical transitions of the HTT protein: A review*). Al doilea articol (*Specific key-point mutations along the helical conformation of Huntingtin-Exon 1 protein might have an antagonistic effect on the toxic helical content's formation*) descrie noul model 9P(EM). Modelul cu mutațiile adiționale sugerează un comportament structural/dinamic promițător, oferind un efect antagonic proteinei mutante huntingtin (insolubilă în solvenți organici și extrem de toxică). Cel de-al treilea articol se bazează pe studiul mecanismului de interacțiune dintre modelul 9P(EM) și o altă structură de interes (o proteină care leagă  $Ca^{2+}$ ), luând în considerare co-localizarea mutantului huntingtin cu proteina calmodulin demonstrată în literatura experimentală (*Decreased Interactions between Calmodulin and a Mutant Huntingtin Model Might Reduce the Cytotoxic Level of Intracellular  $Ca^{2+}$ : A*

## 1. INTRODUCERE

---

*Molecular Dynamics Study*). Ultimele două părți ale aceluiași capitol vizează studiul teoretic al unor interacțiuni care, în perspectivă, oferă aspecte importante în vederea implementării modelului 9P(EM) din punct de vedere experimental. Astfel, al patrulea articol caracterizează geometria și tăria de legare a trei compuși radiofarmaceutici etichetați cu izotopul  $^{11}\text{C}$ , des utilizați în studiile imagistice folosind tomografia cu emisie de pozitroni (PET) pentru cuantificarea receptorului dopaminei la nivel cerebral în cazul pacienților diagnosticați cu boala Huntington.

În cele din urmă, în ultima lucrare de cercetare, visează studiul interacțiunilor specifice între mai multe lanțuri monocatenare de ADN (aptameri) atașate pe o suprafață metalică de aur. Luând în considerare mecanismele de legare demonstrate în literatura experimentală, cele mai stabile sisteme de interacțiune bazate pe complementaritatea nucleotidelor pot oferi perspective noi în dezvoltarea unor abordări terapeutice în care lanțurile de ADN ar putea inhiba mecanismul de agregare a structurilor mutante huntingtin.

### 1.3 Noțiuni teoretice

Abordările teoretice biochimice sunt utilizate pe scară largă în ultimele decenii și presupun efectuarea calculelor bazate pe câmpuri de forță în vederea caracterizării sistemelor biomoleculare din punct de vedere structural și dinamic. Tehnicile hibride de mecanică cuantică/mecanică moleculară (QM/MM) combinate cu tehnici de dinamică moleculară clasică (MD) permit descrierea proprietăților biofizice ale interacțiunilor inter- și intra-moleculare. Aceste abordări variază în funcție de dimensiunile și complexitatea sistemelor de interes, acoperind metodele cuantice *ab initio*, cu funcționale bazate pe densități electronice, și metodele atomistice des utilizate pentru caracterizarea sistemelor de dimensiuni mari, cum ar fi sistemele macro-biomoleculare [1].

Noțiunea de *model* (sau modelare moleculară) în conceptul teoretic este relaționată cu descrierea simplificată sau idealizată a unui grup de atomi, cu potențialele aferente, menit să *imite* comportamentul real al moleculelor și/sau sistemelor moleculare. Majoritatea sistemelor studiate prin modelare moleculară nu pot fi caracterizate prin abordări cuantice datorită numărului mare de particule constituente, datorat includerii electronilor în modelul de interes. Pe de altă parte, metoda câmpurilor de forțe (sau modelare mecanică) neglijează mișcarea electronilor și tratează energia

## 1. INTRODUCERE

---

sistemului ca o funcție de poziții nucleare, permițând studierea/prezicerea comportamentului sistemelor cu un număr mare de atomi [1].

Capitolul introductiv prezintă conceptele teoretice esențiale pentru descrierea evoluției dinamice a structurilor proteice individuale, precum și a sistemelor de interacțiune de tip proteină-proteină și proteină-ligand. Studiile teoretice de ordin biofizic, la nivel molecular, pot fi efectuate luând în considerare mișcările atomice, factorul cheie în determinarea proprietăților sistemelor vii, cu o ulterioară descriere a corelației *structură-funcție* [2]. Această relaționare joacă, de asemenea, un rol esențial în dinamica sistemelor complexe, unde orice modificare structurală influențează caracteristicile dinamice ale biomoleculelor, respectiv funcționalitatea acestora.

Auto-asamblarea moleculară (*împachetarea* lanțului polipeptidic în spațiu) se realizează prin legături regulate de hidrogen (între grupări peptidice din același lanț sau din lanțuri adiacente) care conferă structurii de interes o formă anume. Aceste forme, denumite și *structuri secundare*, pot fi de natură helicoidală (sau spiralată), pot avea conformații plate asemenea unor lanțuri libere, sau pot fi dispuse în straturi [2]. Din punct de vedere geometric, numărul acestor configurații posibile este infinit de mare. În realitate însă, configurațiile proteice sunt determinate de secvența de aminoacizi constituenți, fluctuând astfel în jurul unei configurații medii corespunzătoare energiei libere minime. Luând în considerare complexitatea structurală a sistemelor proteice, *structura* lor *terțiară* poate fi determinată doar prin experimente de difracție de raze X [2].

Asamblările moleculare intrinseci sunt bazate pe interacțiuni intramoleculare descrise de legăturile formate între atomii lanțurilor polipeptidice. De asemenea, reproducerea proprietăților structurale ale unor sisteme complexe (libere sau de interacțiune) poate fi realizată cu ajutorul câmpurilor de forțe [3]. Transferabilitatea unităților structurale, denumite „building-blocks”, are ca scop parametrizarea unui grup de atomi (de exemplu, al unei hidrocarburi simple cum ar fi alcanul) ce poate fi ulterior aplicată oricărui alt grup de atomi corespunzători grupului declarat inițial. Cu alte cuvinte, în câmpurile de forțe, unitățile structurale trebuie parametrizate o singură dată. Astfel, un alt aspect important constă în declararea fiecărui *tip de atom*. Pentru o descriere cât mai corectă a unui sistem de interes, parametrii câmpului de forțe trebuie să diferențieze atomii (de același fel) cu grade de substituție sau stări de hibridizare distincte (diferențiere între un atom de carbon aferent unui alcan cu hibridizare  $sp^3$  și un atom de carbon corespunzător unui nucleu benzenic cu hibridizare  $sp^2$ ) [3].

## 1. INTRODUCERE

---

Toate câmpurile de forță au la bază următoarele componente ce descriu interacțiunile intra- și inter-moleculare dintr-un sistem dat [4]:

$$V(r_1, r_2, \dots, r_N) = \sum_{bonds} \frac{1}{4} K_b (b^2 - b_0^2)^2 + \sum_{angles} \frac{1}{2} K_\theta (\cos\theta - \cos\theta_0)^2 + \sum_{impropers} \frac{1}{2} K_\xi (\xi - \xi_0)^2 + \sum_{dihedrals} K_\phi [1 + \cos(\delta) \cos(m\phi)]^2 + \sum_{pairs} \left( \frac{C12_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C6_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \sum_{pairs} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{1}{r_{ij}} \quad (1.1)$$

Parametrii unui câmp de forță, cum ar fi GROMOS, OPLS, CHARMM și AMBER, sunt aleși astfel încât să reproducă datele obținute prin metode experimentale. Pe de altă parte, diversitatea moleculelor organice de dimensiuni mici fac imposibilă utilizarea parametrilor deja obținuți în cazul moleculelor asemănătoare și necesită o parametrizare individuală (atom cu atom) a fiecărui compus [4].

# 1. INTRODUCERE

---

## 1.4 Boala Huntington și implicările genetice

Boala Huntington este o tulburare neurodegenerativă autozomal dominantă, cauzată de un defect genetic localizat la nivelul genei Huntingtin de pe cromozomul 4, producând moartea lentă și progresivă a celulelor nervoase din creier. Modificarea genetică constă într-o expansiune cantitativă a grupărilor trinucleotidice CAG (citozină-adenină-guanină) la nivelul primului exon constituent al secvenței HTT. Gruparea trinucleotidică CAG codifică *glutamina* din proteina huntingtin. Secvența repetitivă polimorfică conține, în mod variabil la membrii sănătoși ai populației, 11-34 unități de CAG. Pe de altă parte, cu ocazia diviziunii celulare, numărul repetițiilor acestor nucleotide poate crește (expansiune), iar creșterea peste 35 a numărului de unități CAG determină starea de boală, care este cu atât mai severă și debutează cu atât mai precoce cu cât numărul trinucleotidelor este mai mare. Mecanismele de interacțiune intra-moleculară caracteristice proceselor de auto-asamblare a mutantului HTT rămân necunoscute, însă polimerizarea tracturilor de CAG impune condiția ca rata de agregare să fie direct proporțională cu extinderea lungimii tractului de poliglutamină (cu numărul de grupări CAG polimerizate). În această perspectivă, expansiunea poliglutaminelor induce un fenotip local cu funcții toxice, în timp ce concentrațiile scăzute ale proteinelor HTT de ordin fiziologic ar putea, de asemenea, induce agregate mutante specifice ca efect secundar sau incidental al bolii [5].

Neuronii (*Figura 1*, stânga) reprezintă unitățile morfofuncționale ale sistemului nervos și sunt responsabili pentru eliberarea semnalelor chimice, susținând rețeaua neuronală și transmiterea impulsurilor către alte celule țintă. Transmișiile de semnal electrochimice sunt generate de joncțiunile sinaptice (*Figura 1*, dreapta). Sinapsele electrice sunt responsabile pentru conexiunile electrice între doi sau mai mulți neuroni, în timp ce sinapsele chimice presupun transmiterea sinaptică prin intermediul unor substanțe chimice specifice (neurotransmițători) înglobate în veziculele sinaptice situate pe ambele terminale ale joncțiunii [6].

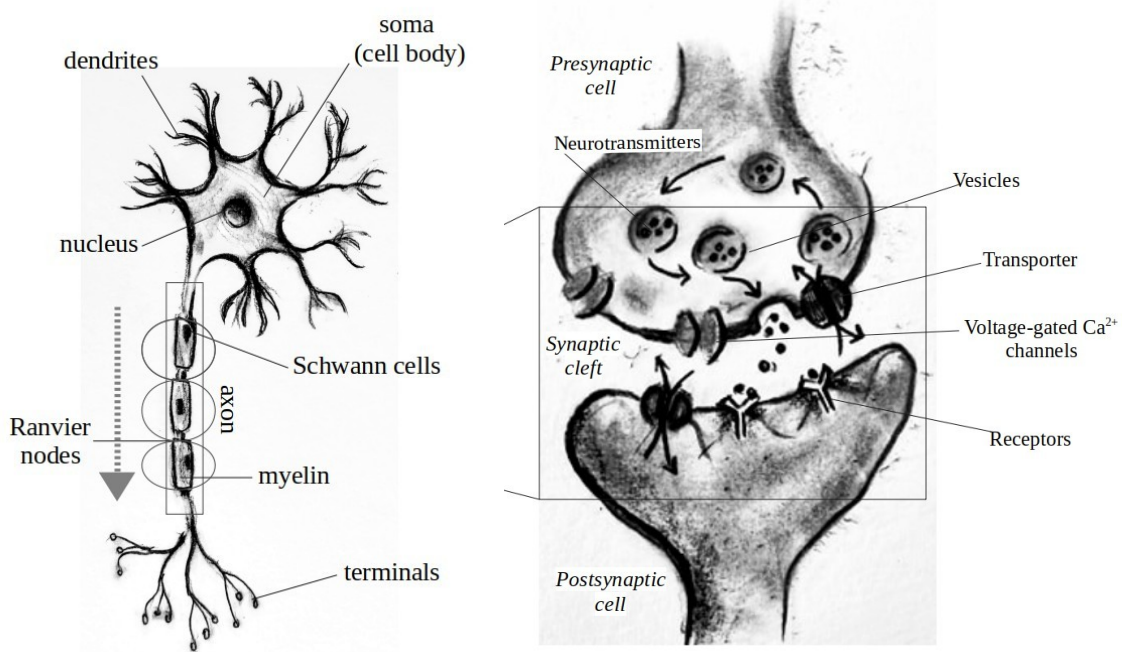
În contextul bolii Huntington, polimerizările excesive discutate anterior, de la nivelul primului exon, facilitează acumularea de structuri mutante, averse și insolubile în solvenți organici, în componenta neuronală pre-sinaptică. Aceste acumulări, cunoscute sub denumirea de *incluziuni cerebrale*, se formează în nucleul neuronilor inducând ulterior apoptoza (moartea) celulară. Rețelele neuronale distruse sunt caracterizate prin tulburări motorii de coordonare a mișcărilor, mișcări tipice



# 1. INTRODUCERE

---

spasmodice necontrolate, pierderea progresivă a capacităților mintale și a funcțiilor cognitive, modificări comportamentale, manifestări psihotice și crize epileptiforme [5].



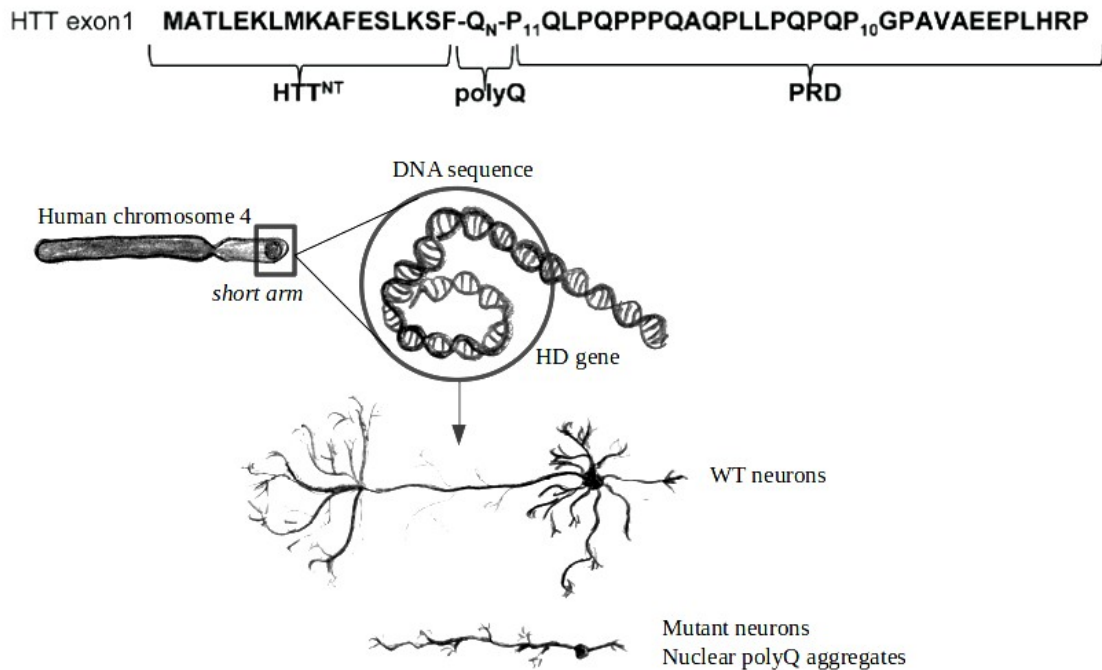
**Figura 1.** Structura neuronului (stânga) și implicările acestuia într-un sistem sinaptic (dreapta).

## 1.5 Caracteristici structurale ale mutantului Huntingtin

Exonul 1 (Ex.1) (Figura 2), unde are loc mutația HTT, conține un domeniu terminal N17 (cu 17 aminoacizi aferenți), lanțul poliglutaminei (polyQ) specific mutației și un segment populat de grupări de prolină (PRD sau polyP) [7, 8]. Majoritatea articolelor publicate s-au concentrat pe elucidarea biologică a structurii HTT. Cu toate acestea, este crucial să înțelegem tranzițiile structurale ale mutantilor de la stările lor monomerice la agregate de tip fibrilar, pornind de la prezumția că monomerii polyQ ar putea fi de fapt intrinsec toxici, prin urmare, un mod optim de abordare a comportamentului de agregare a proteinelor HTT este de a evalua schimbările conformaționale/dinamice pe diferite tipuri de modele [9-13].

## 1. INTRODUCERE

---



**Figura 2.** Secvența exonului 1 (HTT) unde are loc mutația propriu-zisă.

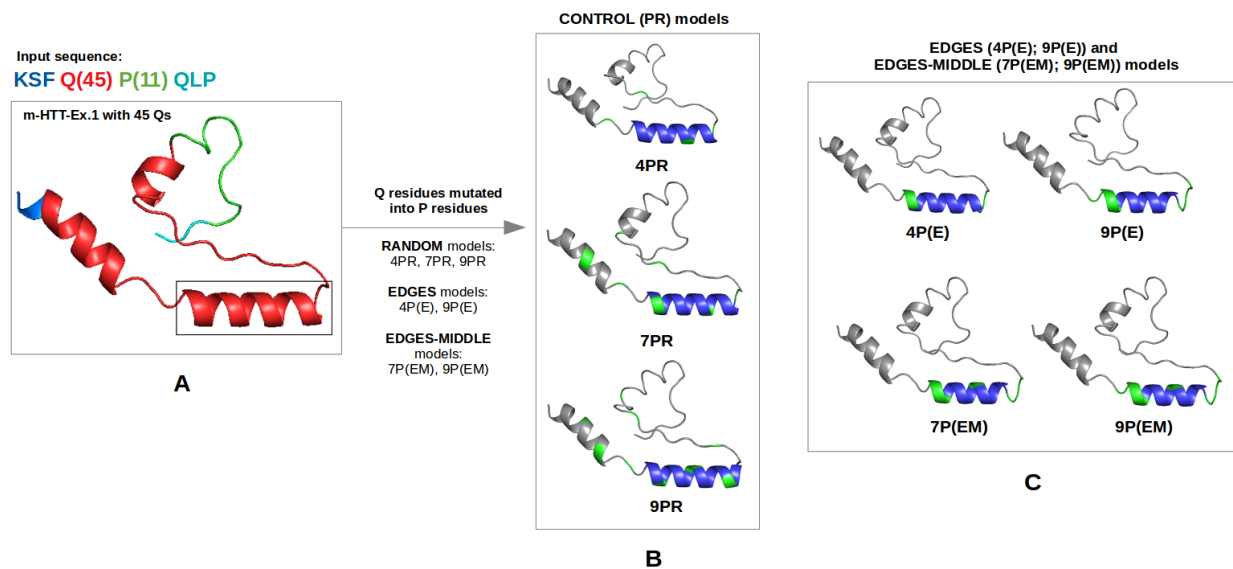
În multe cazuri, prezența tractelor polyQ mai lungi de 36–40 glutamine (Qs) a fost asociată cu tranziții structurale drastice de la bucle aleatorii la conformații de tip  $\beta$ -sheet [14-16]. În consecință, se consideră că pentru un număr mai mare de Qs, elasticitatea proteinelor HTT crește [17-19]. Pe de altă parte, studiile au demonstrat și că fragmentele polyQ mai scurte tind să aibă același comportament structural și să adopte configurații similare (post-agregare) cu cele caracteristice unui număr mai mare de reziduuri Q [20].

Un alt model caracteristic structurii toxice insolubile generate în urma polimerizărilor excesive ale glutaminelor, este modelul configurațiilor de tip  $\beta/\alpha$ -helix [21]. Luând în considerare că principala contradicție găsită în literatură este legată de structura secundară, unele articole au raportat că starea monomerică a conformațiilor HTT-Ex.1 este dominată de  $\alpha$ -helixuri [20-24], în timp ce alte studii au sugerat că rata de formare a configurațiilor  $\beta$ -sheet crește odată cu creșterea numărului de Qs [25, 26].

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 2.1 Mutații specifice de-a lungul conformației helicoidale a proteinei Huntingtin-Exon 1 ar putea avea efecte antagonice asupra formării conținutului helicoidal toxic

Primul studiu vizează caracterizarea comportamentului dinamic și modificările structurale aferente structurii helicoidale toxice ale proteinei mutante huntingtin, la nivelul căreia s-au implementat mutații adiționale din aminoacidul glutamină (GLN) în aminoacidul prolină (PRO) situate aleatoriu de-a lungul helixului (modele R), la capetele acestuia (modele E), respectiv la capete și în mijlocul componentei toxice (modele EM), conform *Figurii 1*.



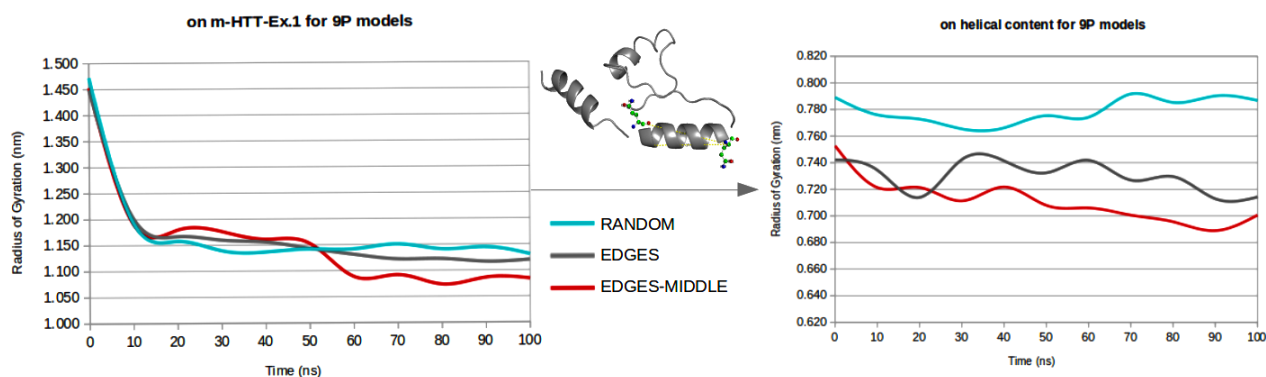
**Figura 1.** Schema corespunzătoare mutațiilor adiționale (cu verde) aplicate de-a lungul secvenței HTT-Exon1.

Rezultatele de ordin structural indică un grad crescut de compactare pentru modelele cu un număr mai mare de mutații (modele 7P și 9P) cu mutații specifice la capete, respectiv la capetele și în mijlocul conținutului helicoidal (*Figura 2*). Mai mult, distanțele dintre atomii de carbon alfa (atomi chirali) de la capetele helixului au scăzut pentru modelele 7P și 9P, în comparație cu modelele 4P. De asemenea, din punct de vedere dinamic, fluctuațiile atomice (profilurile RMSF) au prezentat valori maxime (medii) pentru modelele 9P cu mutații punctuale la capete și în mijlocul helixului. În plus, analiza structurii secundare sugerează tranziții structurale de la componente structurale insolubile (sau greu solubile) de forma  $\alpha$ -helix în componente solubile sub forma de *loop*

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

și *random coils* pentru modelele 7P și 9P, în special pentru modele în care mutațiile punctuale au fost considerate la capete și în mijlocul conținutului helicoidal.

Modelele cu mutații aleatorii (4PR, 7PR și 9PR) sugerează comportamente structurale similare, indiferent de numărul mutațiilor inițial considerate. În cazul profilului de girație, valorile medii pentru 4PR și 9PR au fost de 0.79 nm și 0.78 nm, în timp ce valoarea  $R_g$  medie pentru modelul 7PR a fost de 0.77 nm. Prin urmare, relevanța reziduurilor mutate în aminoacidul PRO (din aminoacidul GLN) în modele *random* este redusă.

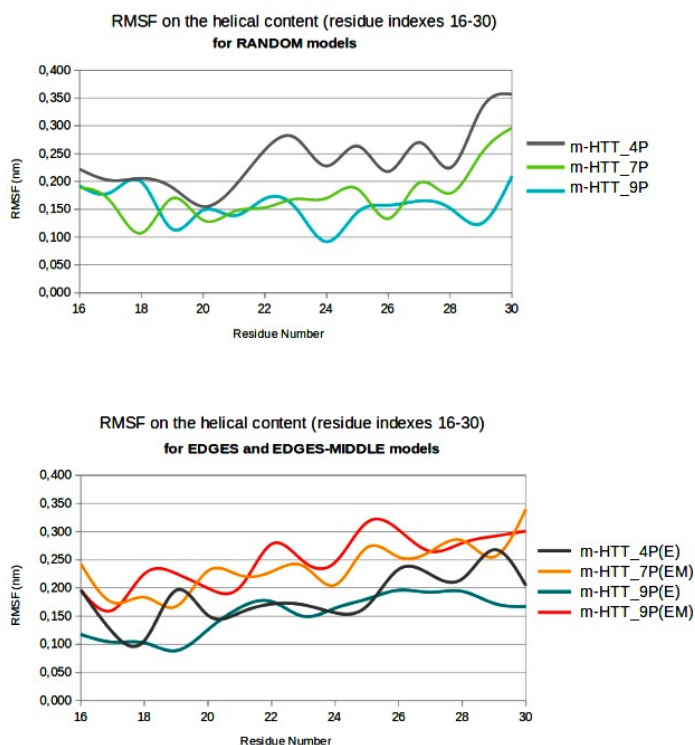


**Figura 2.** Profilul girației pentru modelele 9P.

În cazul mutațiilor specifice ale modelelor E și EM, valorile  $R_g$  au evidențiat variații semnificative direct corelate cu modificări de ordin structural. Aici, măsurătorile rotațiilor unghiulare pe componenta toxică au indicat valori medii scăzute pentru un număr mai mare de reziduuri mutante PRO situate la capetele helixului (0,74 nm pentru modelul 4P și 0.73 nm pentru 9P model), având valori chiar mai mici de 0.71 nm pentru modelele 9P cu mutații specifice la capete și în mijlocul helixului. Rezultatele din urmă au fost ulterior corelate cu schimbări conformaționale ce impun motive structurale reduse în vederea formării configurației helicoidale.

Pentru modelul 4P(E), media valorilor RMSF (*Figura 3*) a fost de 0.18 nm, spre deosebire de valoarea RMSF de 0,25 nm pentru modelul 9P(EM). Aceste fluctuații crescute în profilul RMSF al mutantului 9P(EM) aparțin tranzițiilor conformaționale anterior discutate. Mai mult, conform fluctuațiilor reziduale, valorile RMSF au fost mai mari pentru reziduurile indexate 24-30, indicând *întreruperi* parțiale ale structurii helicoidale dintr-o anumită direcție (de la terminusul PRD la terminus N17).

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII



**Figura 3.** Valorile RMSF pentru modelele HTT studiate la nivelul tractului de poliglutamină.

Luând în considerare modelele cu același număr de mutații dar considerate în puncte diferite ale axului helicoidal (modelele 9P(E) și 9P(EM)), valoarea maximă (de 2.16 nm) a distanței între capetele helicoidale a fost observată pentru modelul *random* 9P, în timp ce distanța minimă de 1.66 nm a fost obținută pentru același model dar cu mutații specifice considerate pe capete și în mijlocul helixului (pentru modelul mutant 9P(EM)).

Pentru mutațiile aferente modelului 4P, cele mai mari fluctuații atomice au fost observate la nivelul primelor cinci reziduuri terminale (KSFQQ) prezentate sub formă de configurații în *loop* (bucle). Astfel, modelele 4P(R) și 4P(E), deși par a fi extrem de flexibile, implică modificări conformaționale reduse, fără un impact direct asupra lanțului toxic de glutamine.

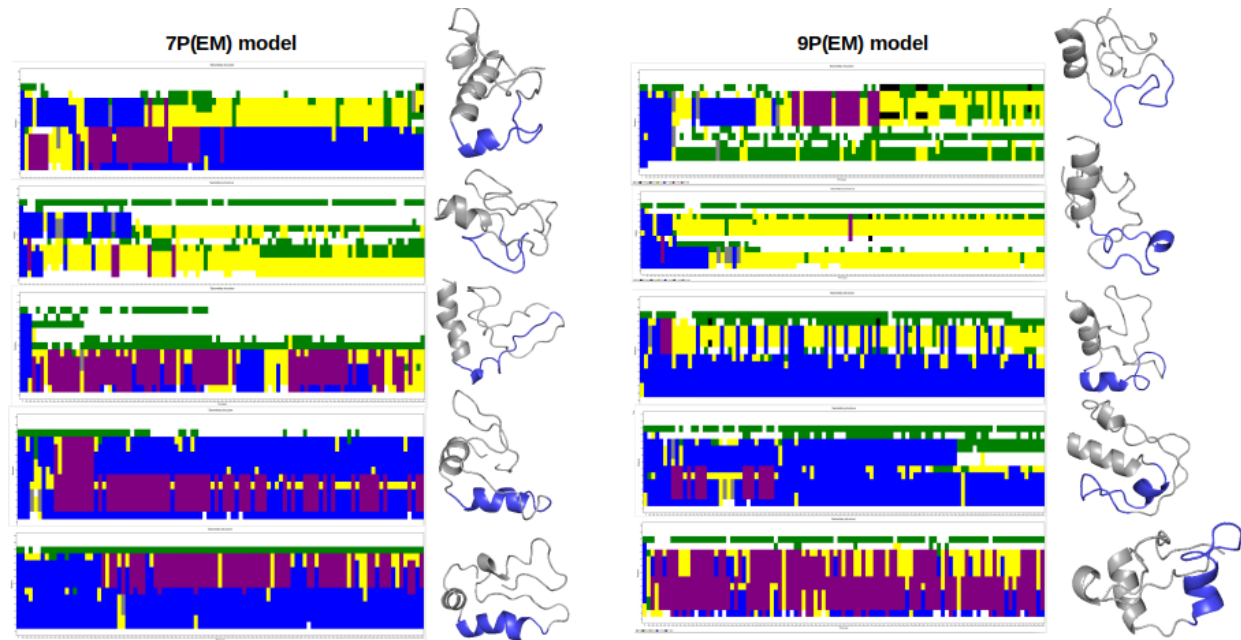
În general, cele mai mari fluctuații locale implicând deformări/modificări structurale la nivelul helixului toxic (Figura 4), au fost obținute pentru reziduurile KSFQ (indicii atomici 1-5), QQ (indicii 14-15) și QPP (indicii atomici 29-31). Dinamica din spatele acestor grupuri reziduale indică faptul că modelele cu mutațiile considerate la capetele helixului sunt mai predispuse să tragă întreaga structură de ambele extremități, impunând porțiunii centrale (atomilor indexați 14-15)

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

---

modificări structurale minime (de alungire). Pe de altă parte, pentru modelul 9P(EM) valorile RMSF crescute au fost corelate și cu atomii constituenți ai reziduurilor de PRO plasate în mijlocul tractului polyQ.

Mai mult, pentru același model, au fost obținute fluctuații maxime și pentru reziduurile de GLN și PRO situate la capetele helixului. Deși fluctuațiile conformațiilor domeniului terminal N17 sunt independente de conținutul helicoidal polyQ, acest model prezintă modificări structurale semnificative și corelate pentru reziduurile indexate 29-31, aferente componentelor structurale situate la extremitatea helicoidală dreaptă. Aceste descoperiri ar putea indica faptul că *întreruperea* helicoidală este predominant orientată înspre conformațiile componentelor externe (N17 și PRD) și că fluctuațiile crescute ale conținutul helicoidal pot afecta, de asemenea, stabilitatea domeniilor adiacente. În concordanță cu rezultatele discutate anterior, pentru modelul 9P(EM) propus ca prag mutațional, lungimea medie a axei corespunzătoare helixului toxic a fost de 1.23 nm, cu o valoare de alungire maximă de 1.36 nm.



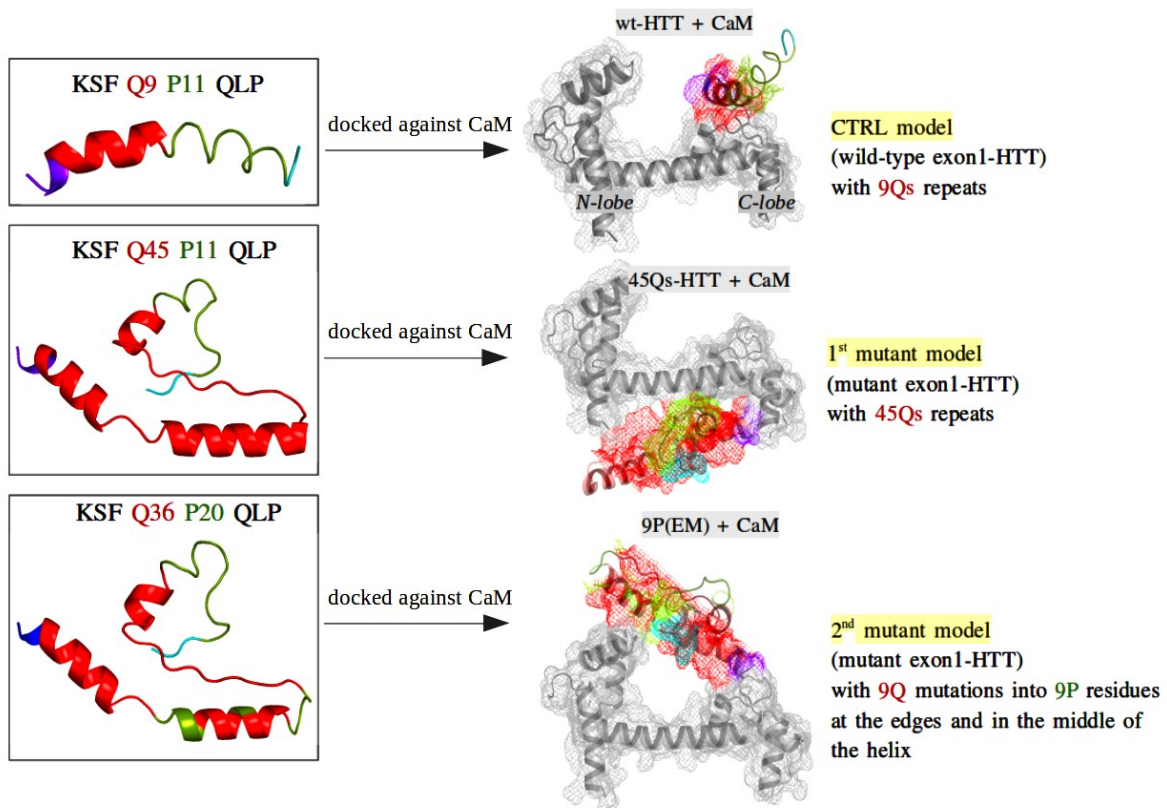
**Figura 4.** Tranziții structurale ale componentei helicoidale (cu albastru) insolubile în configurații solubile în solvenți organici (cu alb/galben) pentru modelele EM.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 2.2 Interacțiunile dintre calmodulin și un model mutant huntingtin ar putea reduce nivelul citotoxic în urma absorbției $\text{Ca}^{2+}$ intracelular

Studiile experimentale au demonstrat că proteinele mutante huntingtin și structurile de legare a  $\text{Ca}^{2+}$  se co-localizează în cortexul cerebral, având efecte semnificative asupra nivelului de calciu intracelular prin modificarea semnalelor neuronale specifice mediate de acesta. Datorită faptului că proteinele HTT mutante prezintă o afinitate crescută pentru moleculele de legare a  $\text{Ca}^{2+}$ , interacțiunile dintre acestea pot duce la o stabilizare suplimentară a agregatelor mutante HTT. În acest context, următorul studiu se concentrează pe descrierea interacțiunilor dintre calmodulină (CaM) și doi mutații HTT, inclusiv modelul mutant 9P(EM) anterior ipotetizat și dezbătut.

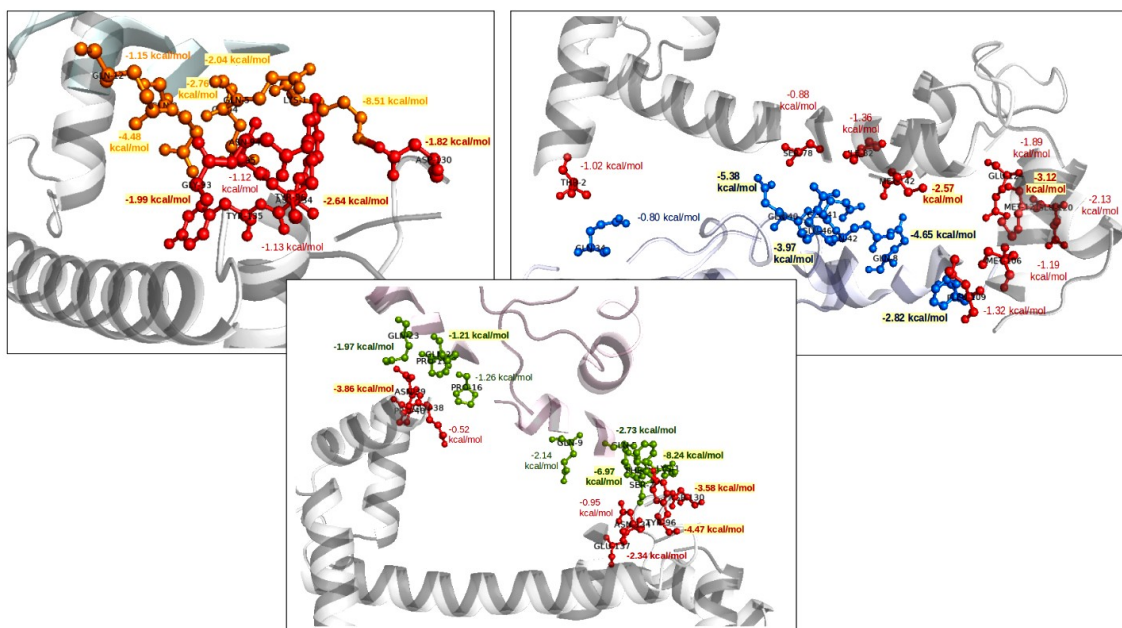
Conform figurii de mai jos, complexele de interacțiune cu proteina CaM - complexe obținute prin metode de docare – conțin o structură huntingtin de ordin fiziologic sau *wild-type* (cu 9 reziduuri de glutamină), un mutant cu 45 de reziduuri de glutamină (modelul 45Qs-HTT) și modelul 9P(EM) aferent mutațiilor suplimentare (din GLN în PRO) la capetele și în mijlocul tractului polyQ.



**Figura 5.** Complexele de interacțiune dintre proteina CaM și modelele HTT considerate.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

În urma docării, energia totală de legare dintre CaM și wt-HTT (*Figura 6, stânga-sus*) a fost de -32.90 kcal/mol, din care componentele polare ( $\Delta E_{\text{ele}}$  și  $\Delta G_{\text{polar}}$ ) aduc o contribuție pozitivă de 0.77 kcal/mol. Mai mult, interacțiunile electrostatice pentru acest complex au prezentat cea mai mare valoare absolută de 985,67 kcal/mol datorită contribuțiilor crescute ale aminoacizilor polari LYS, ASP și GLU. Componenta nepolară pentru același complex docat a fost de -4.73 kcal/mol, fiind cea mai mică valoare absolută obținută pentru contribuțiile hidrofobe. Cea mai mică energie de legare de -23.38 kcal/mol a fost obținută pentru complexul docat CaM cu mutantul 45Qs-HTT (*Figura 6, dreapta-sus*). Contribuțiile polare pentru acest complex au prezentat cea mai mare valoare pozitivă de 48.94 kcal/mol (cu  $\Delta G_{\text{polar}} = 1011,35$  kcal/mol). Pentru contribuțiile negative la legare, rezultatele de andocare au indicat o valoare de -62.73 kcal/mol corespunzătoare interacțiunilor de tip van der Waals. Pentru complexul CaM-9P(EM) (*Figura 6, jos*), energia totală liberă de legare a fost de -38.31 kcal/mol. Valorile globale ale contribuțiilor pentru fiecare componentă energetică au fost situate numeric între cele două complexe andocate (CaM cu wt-HTT, respectiv CaM cu 45Qs-HTT). Precum în cazul complexului format cu 45Qs-HTT, componenta energetică van der Waals pentru CaM-9P(EM) a fost de -41.78 kcal/mol, indicând faptul că forma/orientarea moleculară a acestor parteneri prezintă o influență crescută asupra proceselor de recunoaștere moleculară.



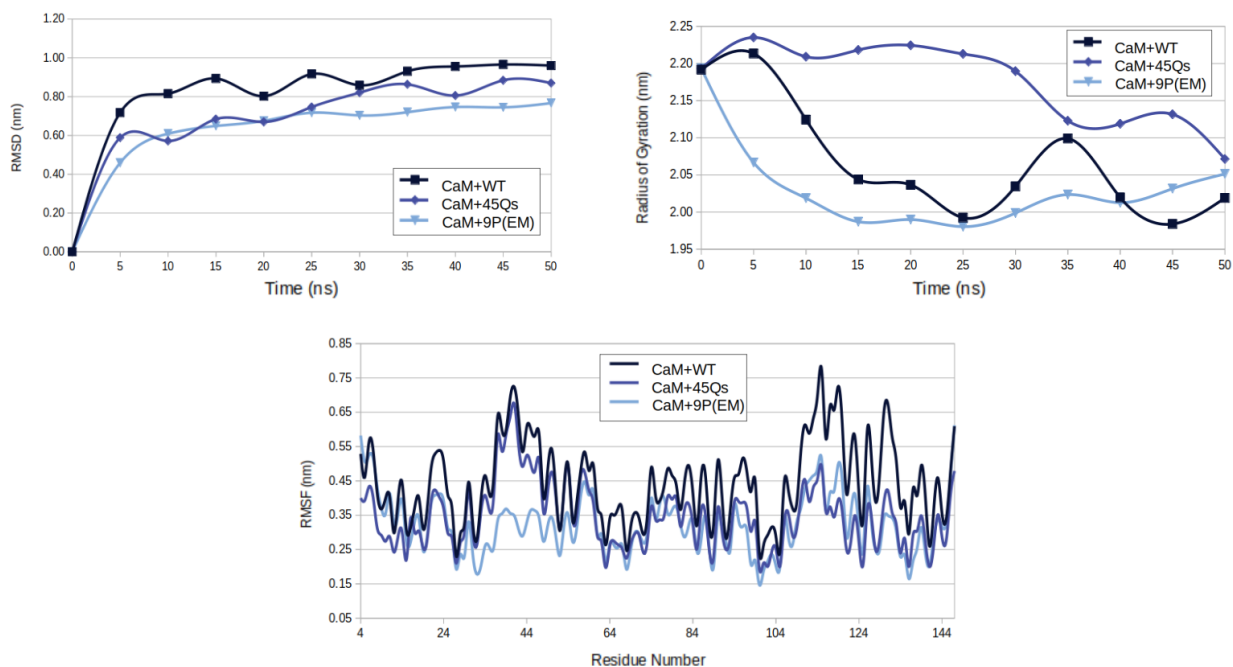
**Figura 6.** Reziduurile implicate în sistemele de interacțiune docate: CaM cu wt-HTT (*stânga, sus*), CaM cu 45Qs-HTT (*dreapta, sus*) și CaM cu modelul propus 9P(EM) (*jos*).



## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cele mai scăzute valori RMSD au fost obținute pentru complexul de interacțiune CaM-9P(EM), unde valorile maxime medii au variat între 0.71 și 0.76 nm. Variațiile crescute ale valorilor RMSD pentru CaM în interacțiune cu modelul wt-HTT sunt cel mai probabil cauzate în urma flexibilității crescute datorate conformațiilor în *loop* (blucle închise), promovând astfel o creștere a numărului de grade de libertate la nivelul proteinei CaM.

Cel mai scăzut profil de girație, ceea ce înseamnă cel mai înalt nivel de compactitate, a fost observat pentru proteina CaM în interacțiunile sale cu modelul 9P(EM) (*Figura 7, dreapta-sus*), unde valoarea distanței minime dintre lobi calmodulinului a reprezentat de fapt valoarea medie maximă de 0.77 nm. O valoare medie intermediară de 0.57 nm a distanței minime între lobul N și lobul C a fost obținută pentru complexul de interacțiune CaM cu modelul mutant 45Qs-HTT. Pentru modelul wt-HTT, datorită secvenței scurte de glutamine și, în consecință, a unui număr mai mic de componente helicoidale, valoarea medie Rg a fost de 1.22 nm și a rămas constantă pe tot parcursul traiectoriilor prezentând cele mai mici variații dintre toate modelele HTT. În plus, o valoare RMSF medie maximă de 0.34 nm a fost obținută pentru modelul wt-HTT, în timp ce mutații 45Qs și 9P(EM) au prezentat un comportament dinamic similar.

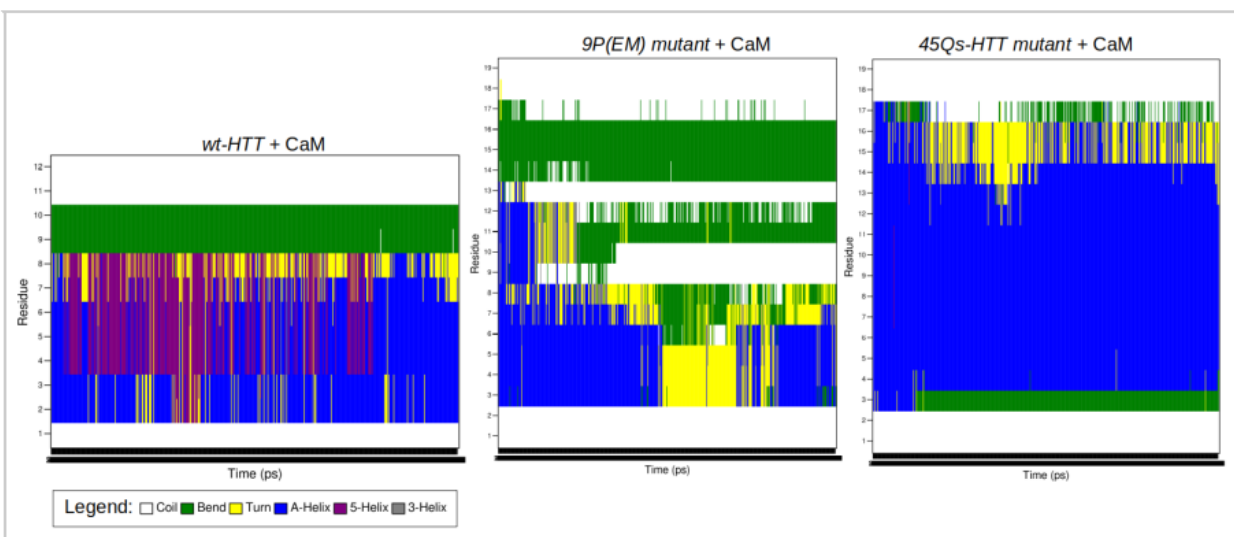


**Figura 7.** Modificări structurale ale proteinei CaM în interacțiune cu wt-HTT, 45Qs-HTT și 9P(EM).

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Modelul wt-HTT indică o conservare generală a conținutului său helicoidal. Pe de altă parte, structura 45Qs-HTT prezintă o distanță medie minimă între capetele helixului de 1.79 nm, în timp ce pentru modelul mutant 9P(EM) distanța medie minimă a fost de 1.42 nm. Ambii mutanți au avut o distanță helicoidală inițială de aproximativ 2.20 nm, iar modelul 45Qs-HTT prezintă o scădere semnificativă la 1.66 nm după 30 ns. Mai mult, modelul 9P(EM) a arătat, după doar 20 ns, o distanță minimă între capetele conținutului helicoidal de 1.27 nm.

Pentru modelul mutant 9P(EM) (Figura 8) numărul configurațiilor helicoidale scade semnificativ [27], aceste modificări inducând valori SASA ușor mai mici în comparație cu mutantul 45Qs-HTT și, în consecință valori RMSF mai mari, fiind în cele din urmă corelate cu energiile scăzute de interacțiune dintre CaM și 9P(EM).



**Figura 8.** Analiza structurii secundare rezultate pentru modelele HTT în interacțiune cu CaM.

Acest studiu confirmă faptul că energia totală de interacțiune dintre modelul CaM și wt-HTT este de -130.11 kcal/mol și, conform așteptărilor și ipotezei noastre, s-a obținut o valoare a energiei de interacțiune mult mai mare de -313.87 kcal/mol în cazul interacțiunilor dintre CaM și structura 45Qs-HTT. Mai mult, s-a observat o valoare (medie) intermediară a energiei de interacțiune de -238.95 kcal/mol pentru modelul 9P(EM) [28].

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 2.3 Investigații de dinamică moleculară asupra interacțiunilor dintre receptorul dopaminei D2 și trei compuși radiofarmaceutici marcați cu $^{14}\text{C}$

O corelație directă între mutații huntingtin și neurotransmițătorii dopaminei (DA) este că aceștia pot declanșa disfuncții locomotorii și alte profiluri patologice (cum ar fi simptome cognitive severe) la subiecții cu HD sau cu modificări ale DA la nivelul striatului. Există dovezi care sugerează o implicare a DA nigrostriatală în HD care implică concentrații crescute de DA (în creier postmortem) și că unii agoniști ai receptorilor DA pot fi utilizați în scopuri terapeutice.

Prin urmare, următorul studiu de cercetare își propune să caracterizeze subunitatea D2 a receptorului DA în interacțiunea sa cu trei liganzi etichetați cu izotopul [ $^{14}\text{C}$ ], utilizați pe scară largă în vederea cuantificării receptorilor de dopamină D2 la nivel cortical.

Rezultatele studiului, în urma tehnicilor de docare moleculară impuse, arată că profilele hidrophile și hidrofobe (*Figura 9*) au valori mai mici pentru liganzii andocați în partea superioară a receptorului, implicând faptul că liganzii au rămas în poziția docată, respectiv în interiorul situsului de interacțiune ale D2DR. Cea mai mare valoare medie SASA de  $5.63 \text{ nm}^2$  a fost observată pentru ligandul FLB docat în partea inferioară a receptorului. Lanțul alifatic al ligandului FLB indică fluctuații dinamice mari, datorită componentelor structurii secundare a D2DR în partea sa inferioară, unde configurațiile în bucle închise sunt mai abundente. Valoarea SASA maximă măsurată notată pentru același ligand a fost de  $6.32 \text{ nm}^2$ .

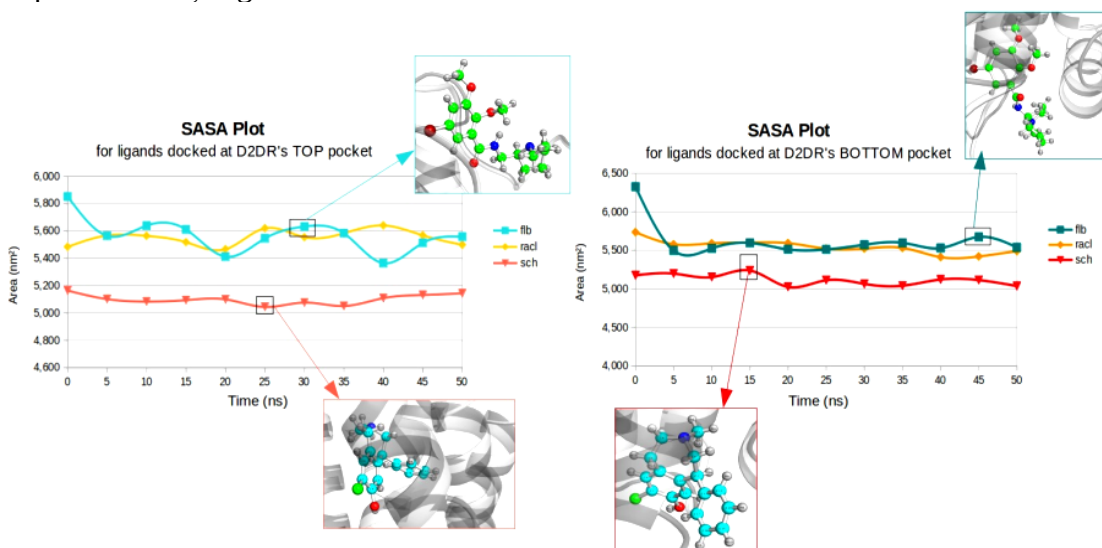
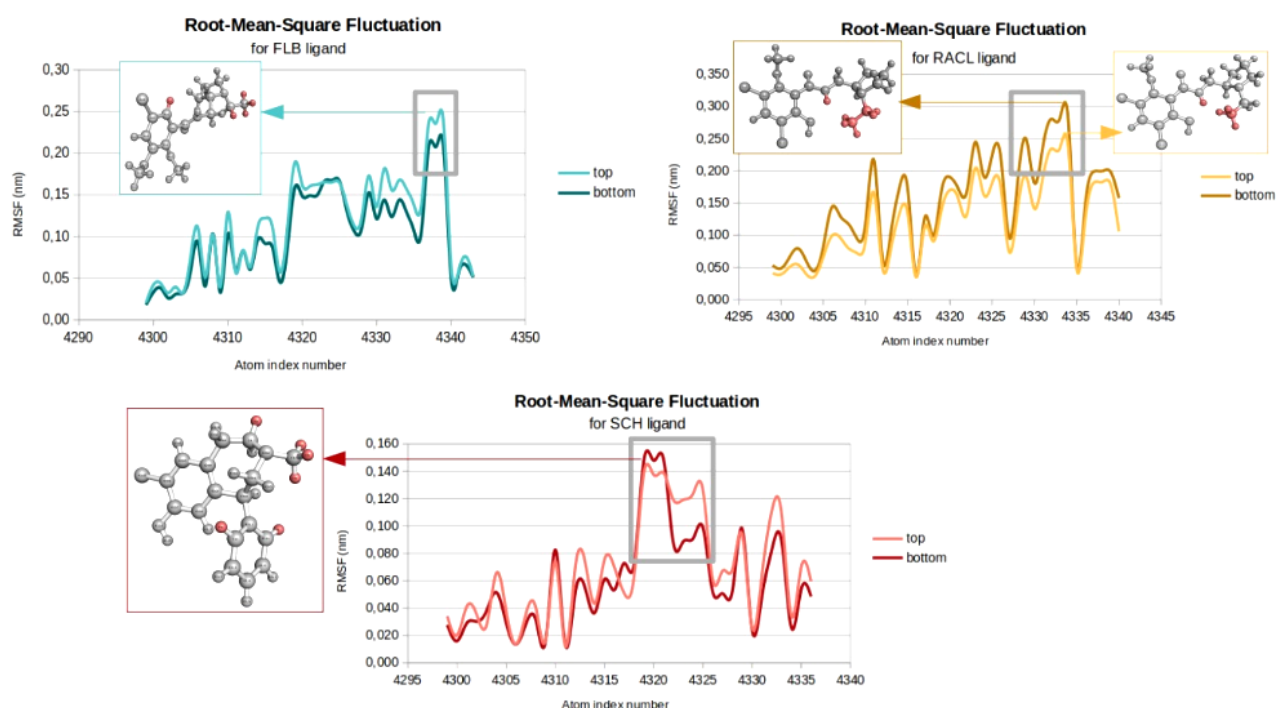


Figura 9. Analiza SASA pentru liganzii docați în partea superioară (stânga), respectiv inferioară a D2DR (dreapta).

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

De asemenea, pentru ambele poziții de andocare ale D2DR, ligandul FLB a prezentat cele mai mari valori medii ale girației de 0.41 nm. Cea mai mică valoare Rg medie de 0.34 nm a fost observată pentru ligandul SCH docat la ambele capete de interacțiune ale D2DR, deși cele mai mari modificări ale profilurilor de compacitate ale liganzilor în timpul simulărilor au fost descrise pentru ligandul RACL ancorat pe ambele capete ale receptorului.

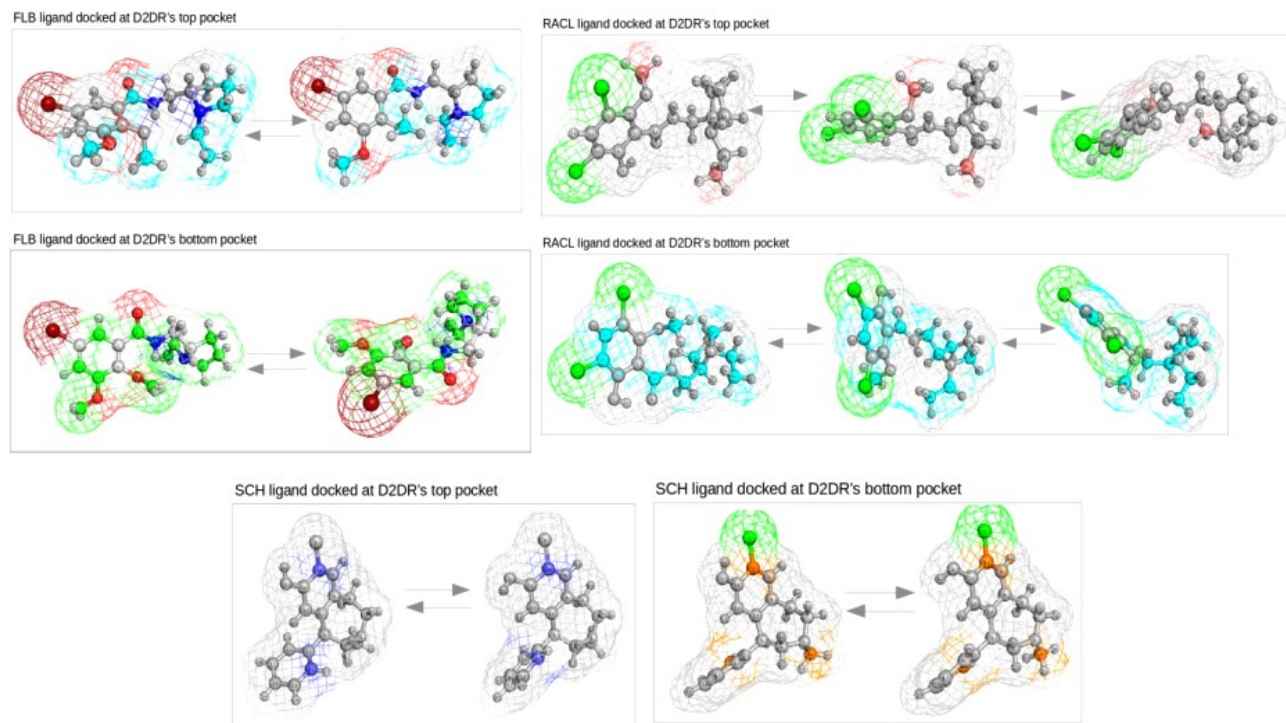
Cele mai mici fluctuații atomice au fost obținute pentru ligandul SCH (*Figura 10*), rezultatele fiind în concordanță cu valori ale girației mai mici în medie de 0.34 nm și cu profiluri hidrofobe ridicate descrise de cele mai mici valori SASA pentru ambele poziții de andocare D2DR. În același mod, s-a observat o corelație puternică între gradul crescut de flexibilitate a ligandului RACL și comportamentul său de girație, atunci când sunt luate în considerare valorile sale medii de compacitate.



**Figura 10.** Fluctuațiile atomice pentru fiecare compus radiofarmaceutic andocat.

Mai mult, pentru liganzii docați în porțiunea superioară a receptorului D2DR, legăturile rotative ilustrate în *Figura 11* promovează schimbări conformaționale drastice ale compușilor FLB și RACL, în consecință favorizând mișcările de translație și torsiune. Componenta etilamină (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-N-) are, în majoritatea cazurilor, un tip de mișcare rotativ.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII



**Figura 11.** Implicarea atomilor (corespunzători liganzilor) în fluctuațiile colective predominante.

În concordanță cu profilurile RMSD și de rotație, ligandul SCH a prezentat o flexibilitate foarte redusă. Pentru docarea în partea superioară a D2DR, doar doi atomi de C și mai mulți atomi H periferici au fost implicați în mișcările colective ale ligandului. Fluctuații puțin mai mari au fost observate pentru ligandul SCH ancorat în partea inferioară a receptorului, unde componentele sale principale implică mișcări rotative periferice C-Cl și -CH<sub>3</sub>.

Deși rezultatele noastre de andocare au arătat, așa cum era de așteptat, valori absolute semnificativ mai mici pentru liganzii considerați în partea inferioară a receptorului, valorile energiei de interacțiune comparate între cele două seturi de liganzi (sus și jos) au fost aproape comparabile. Mai mult, ligandul SCH ancorat în partea de jos a D2DR a prezentat cea mai mare energie de interacțiune. Comportamentele generale pentru liganzii FLB și RACL au fost similare pe ambele poziții D2DR, cu puține excepții în care ligandul FLB a prezentat variații mai mari, cum ar fi valorile medii SASA sau RMSD. Un alt rezultat interesant este că pentru liganzii RACL și SCH docați în ambele buzunare ale receptorului, comportamentele lor structurale opuse au fost corelate

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

---

cu cele mai mari energii de interacțiune cu D2DR. Interesul nostru de a studia ligandul SCH-23390 a fost legat în principal de ipoteza că, chiar dacă este o subunitate corespunzătoare afinităților subunității D1, compusul ar putea avea, de asemenea, efecte minime asupra tipului de receptor al subunității D2 [29, 30] și, conform literaturii de specialitate, nu există alte studii teoretice axate pe complexele D2DR care să interacționeze cu SCH.

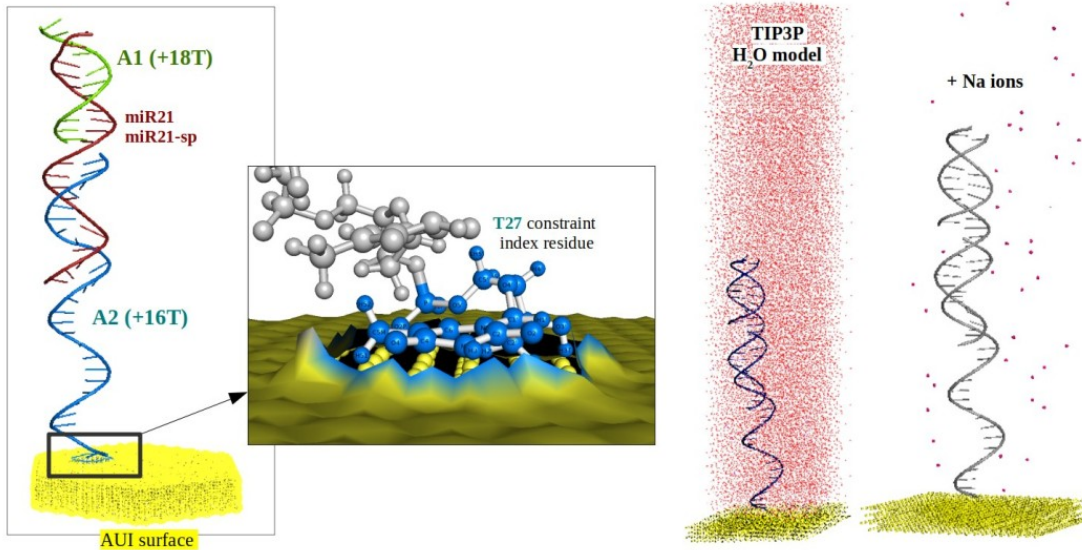
### 2.4 Perspective biofizice asupra mecanismului de interacțiune între sisteme formate din lanțuri multiple, monocatenare de ADN: A1/A2 atașat pe o suprafață metalică și aptamerii miR21, anti-miR21, random, miR21-sp

În condițiile bolii Huntington, specificitatea de legare a aptamerilor la structurile mutante/modificate activează modificări post-tranlaționale la nivelul tractului de poliglutamină și pot servi ca „biosenzori de detecție”. Acest tip de interacțiuni apar, în special, pentru tractele polyQ alungite. Ca urmare a legării aptamerilor, s-a demonstrat că nivelul energetic (ATP) celular crește semnificativ, implicând o hiper-vulnerabilitate mai redusă la stresurile celulare [31]. Prin urmare, oligonucleotidele de ADN monocatenar transfectate în linii celulare pot avea efecte celulare de protecție asupra mediului celular, prin modificarea sau chiar blocarea interacțiunilor cu proteinele mutante huntingtin [31].

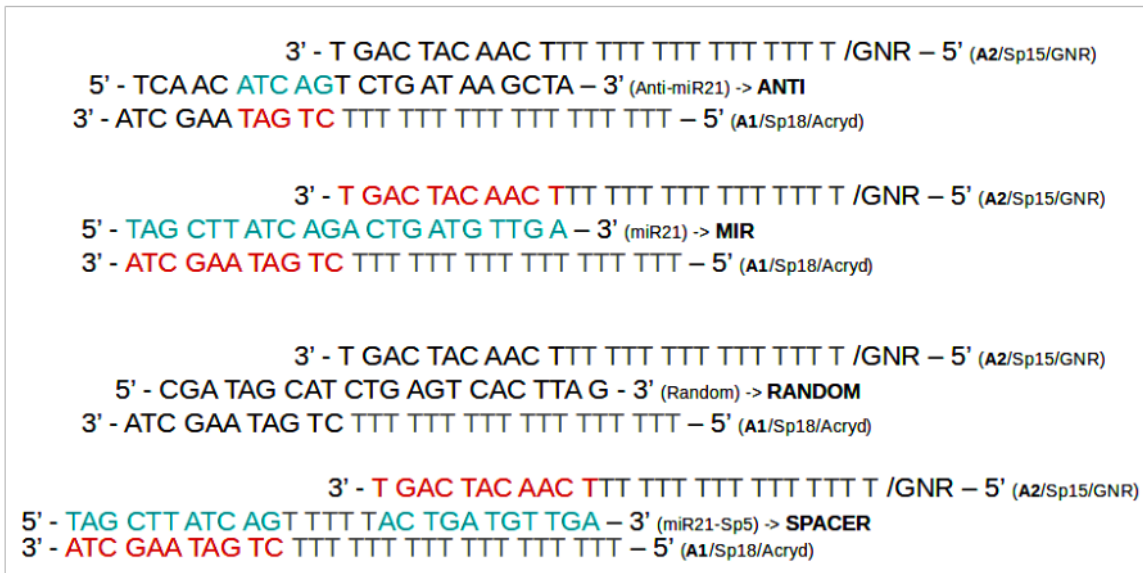
Integrarea *ssDNA*-urilor, cunoscute și sub denumire de *aptameri*, în studiile de recunoaștere celulară necesită utilizarea unor modele teoretice controlate și secvențial detaliate. Pe de altă parte, evoluția dinamică (și greu de controlat) a aptamerilor induce modificări structurale neadecvate declanșând „*afinități inadecvate*” și o specificitate de legare redusă. În acest cadru, ultimul studiu de interes (*Figura 12*) caracterizează schimbările dinamice și structurale a două tipuri de sisteme *ssDNA* în care interacționează: (1) un set binar format din aptamerii A1 și/sau A2 atașat pe o suprafață metalică de Au, având lanțurile anti-miR21, miR21, *random* și miR21-sp ca parteneri de interacțiune și (2) patru sisteme ternare în care aptamerii (anti-miR21, miR21, *random* și miR21-sp) au fost considerați în interacțiune atât cu lanțul monocatenar A1, cât și cu A2 (atașat pe suprafața de Au). Secvențele lanțurilor de ADN aferente fiecărui aptamer sunt ilustrate în *Figura 13*.

În cazul sistemelor binare, valoarea girației maxime de 4.43 nm a fost obținută pentru A2@GNRs în interacțiune cu aptamerul *random*, în timp ce valoarea Rg minimă de 3.12 nm a fost corelată cu sistemul de interacțiune A1-anti(miR21). Aptamerii aferenți sistemelor ternare, au prezentat valori Rg mult mai mari, indicând un grad crescut de liniarizare. De asemenea, valorile RMSD au fost mai mici pentru sistemele binare A1, în comparație cu sistemele binare A2@GNRs. Valorile RMSF (medii) maxime de 0.79 nm au fost obținute pentru complexul de interacțiune A1 cu aptamerul miR21-sp (*Figura 14*). Fluctuațiile atomice minime cu o valoare medie de 0.66 nm au fost obținute pentru aptamerul *random* în interacțiune cu A1.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII



**Figura 12.** Reprezentarea 3D a sistemelor solvate și neutralizate.



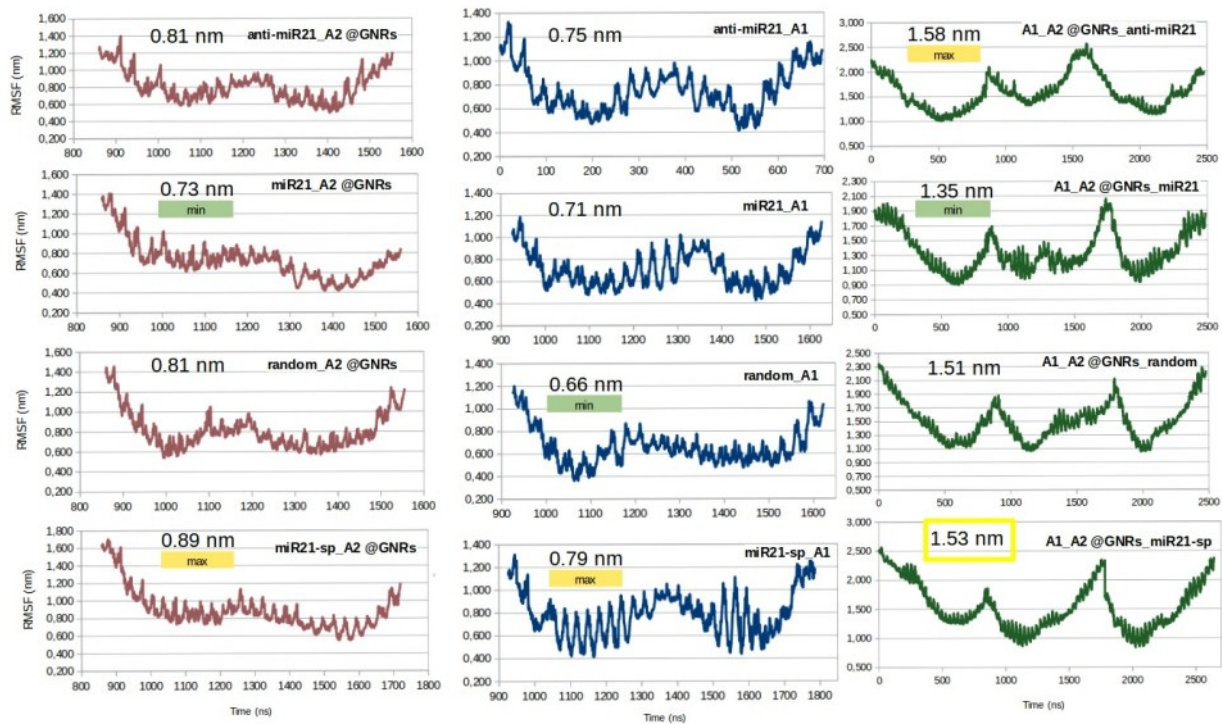
**Figura 13.** Secvențele lanțurilor de ADN corespunzătoare sistemelor studiate.

Pentru sistemele de interacțiune cu A2@GNRs, valorile RMSD au fost comparabile și au prezentat valoarea maximă de 1.13 nm în interacțiune cu aptamerul anti-miR21, în timp ce valoarea RMSD minimă de 1.06 nm a fost obținută pentru interacțiunile dintre A2@GNRs cu aptamerul miR21.



## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII

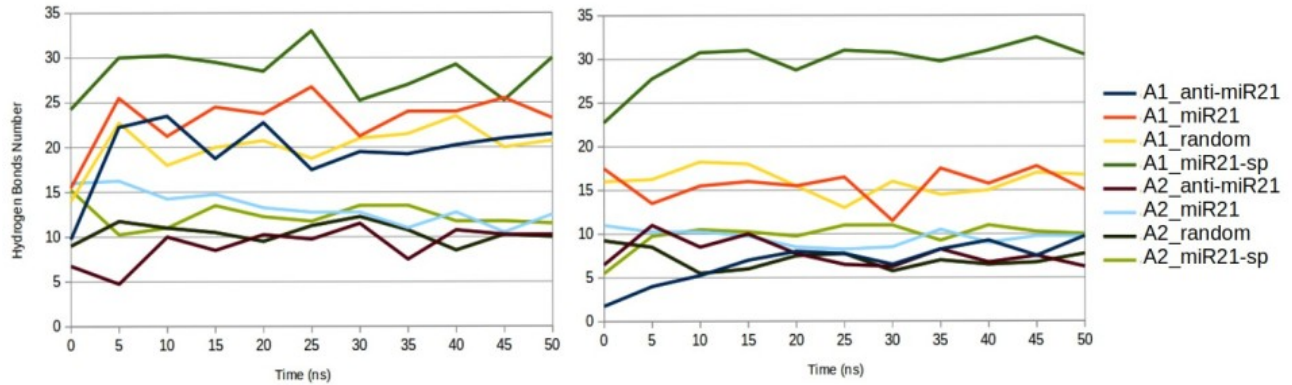
În cazul sistemelor ternare, valoarea minimă (de 1.35 nm) a fost notată pentru secvența miR21. Valorile RMSF maxime (de 1.58 nm și de 1.53 nm) au fost observate pentru aptamerii anti-miR21 și miR21-sp.



**Figura 14.** Valorile RMSF (medii) corespunzătoare sistemelor de interacțiune binare/ternare.

În acord cu măsurătorile dezbătute anterior, numărul maxim de legături de H a fost obținut pentru sistemele de interacțiune dintre A1/A2@GNRs cu aptamerul miR21-sp. Numărul legăturilor H dintre A1 și miR21-sp (Figura 15) a fost de aproximativ 30, în timp ce între A2@GNRs și miR21-sp, legăturile H formate au atins un număr maxim de 14. Totodată, un număr crescut de legături de H a fost corelat și cu sistemele A1/A2@GNR în interacțiune cu aptamerul miR21. Numărul minim de legături de H a fost obținut pentru sistemele de interacțiune aferente aptamerilor anti-miR21 și *random*.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII



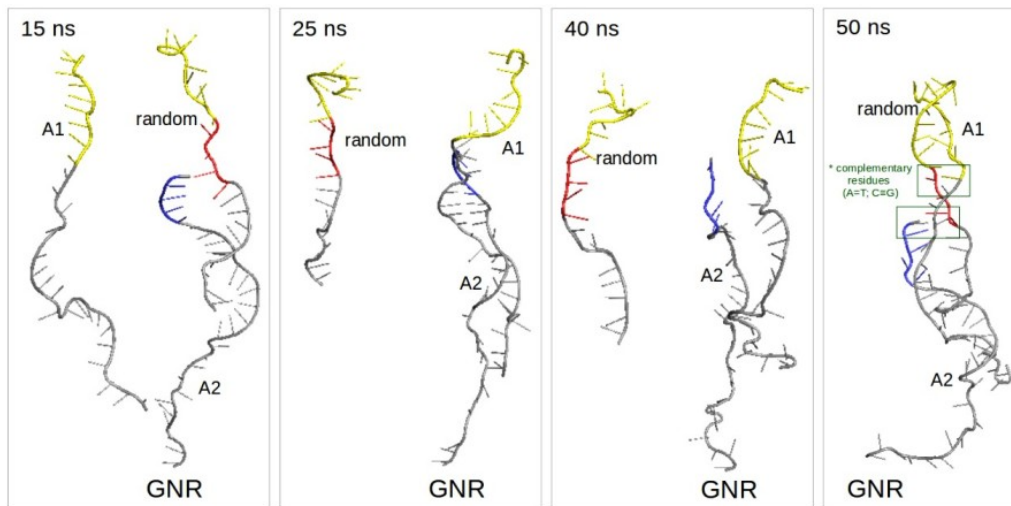
**Figura 15.** Legături de H formate în sistemele binare (stânga) și ternare (dreapta) A1/A2@GNR.

Pentru sistemele ternare, cele mai slabe interacțiuni au fost observate în cazul aptamerului *random*. Pe de altă parte, conform energiilor totale calculate, cele mai puternice interacțiuni au fost obținute pentru aptamerii miR21-sp și miR21. Comportamentul structural observat în cazul sistemelor mir21/-sp este puternic corelat cu valorile maxime ale razei de girație, cu fluctuațiile atomice crescute și numărul maxim de legături de H.

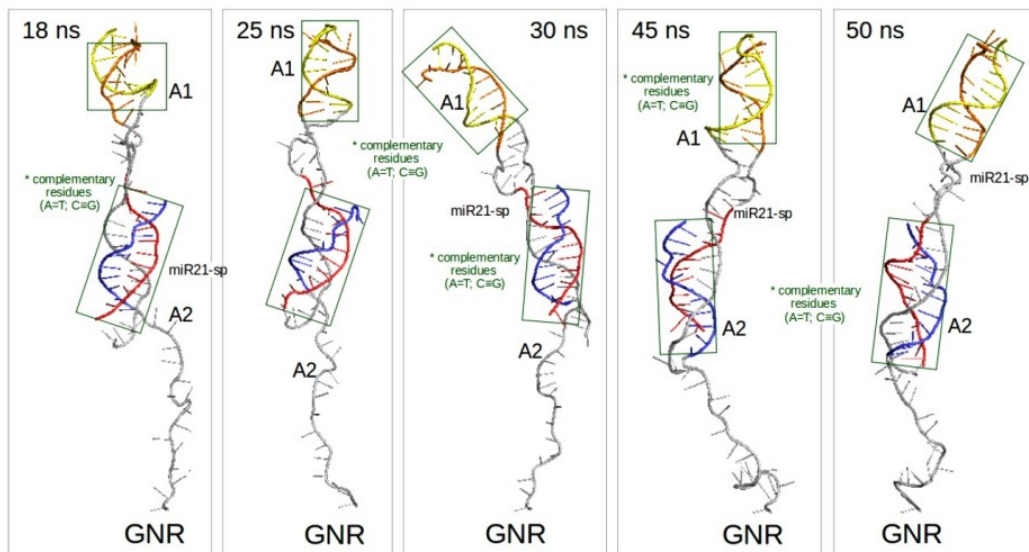
Traietoriile rezultate (vezi *Figurile 16, 17*) identifică o afinitate crescută între lanțurile de ADN bazate pe complementaritatea nucleotidelor în cazul sistemelor de interacțiune formate din aptamerii miR21 și miR21-sp. Mai mult, s-a observat o stabilitate dinamică crescută pentru complexe de interacțiune cu miR21-sp datorită inserării a 5 reziduuri de timină în mijlocul secvenței.

Cele mai slabe interacțiuni descriu un număr mult mai mic de legături de H, aferent aptamerului *random*. De asemenea, aptamerul anti-miR21 prezintă caracteristici dinamice/structurale similare, având energiile totale de interacțiune ușor crescute, influențate de prezența nucleotidelor complementare din lanțurile învecinate.

## 2. REZULTATE ȘI DISCUȚII



**Figura 16.** Traiectoriile sistemelor ternare alcătuite din A1/A2@GNR și aptamerul *random*.



**Figura 17.** Traiectoriile sistemelor ternare alcătuite din A1/A2@GNR și aptamerul miR21-sp.

### 3. CONCLUZII

---

Concluziile generale, extrase din studiile teoretice realizate, privind fiecare aspect investigat sunt:

1. În ciuda constatărilor relevante privind comportamentul structural al HTT, funcția și procesul de polimerizare în urma căruia se formează mutația HTT rămân încă necunoscute. În general, se crede cu tărie că, pe măsură ce lungimea tractului polyQ crește, structurile polyQ tind să adopte mai multe conformații de tip  $\beta$ -sheet și  $\alpha/\beta$ -helix. Mai mult, domeniile terminale N17 sunt de asemenea capabile să formeze structuri asemănătoare odată cu creșterea lungimii tractului polyQ. Un alt comportament structural care trebuie luat în considerare, este că numărul crescut de reziduuri Q în tracturile poliglutaminei duce la formarea structurilor condensate.

Deși modelele aleatorii (*random*) ale mutațiilor 4P, 7P și 9P nu au sugerat comportamente dinamice/structurale specifice, pentru modelul 9P(EM) valorile Rg au arătat scăderi semnificative care au fost ulterior corelate cu fluctuații atomice mari și, în consecință, cu potențiale perturbări ale conformației helicoidale. Mai mult, rezultatele noastre sunt în concordanță cu ipoteza că aminoacidul prolină este capabil să rupă atât conținutul  $\alpha$ -helix, cât și conținutul structural în  $\beta$ -sheet. Astfel, propunem un prag mutațional (cantitativ de 9 reziduuri) 9P cu puncte de mutație la capete și în mijlocul helixului pentru rate mai mari de *desfacere* helicoidală.

2. Cel mai înalt nivel de compactitate al complexului de interacțiune format de proteina CaM cu modelul 9P(EM) implică modificări structurale drastice la nivelul *linker*-ului helicoidal al structurii CaM. De asemenea, valorile RMSF sunt mai mari pentru modelul 9P(EM) comparativ cu modelul 45Qs-HTT, în timp ce valorile minime ale distanței dintre capetele helixului toxic, pentru același model, sunt semnificativ mai scăzute, implicând tranziții structurale drastice de la helice de tip  $\alpha$  la configurații solubile de tip *loop*.

3. Cea mai mare valoare absolută a energiei de interacțiune pentru secțiunea inferioară a receptorului a fost observată pentru ligandul SCH, în timp ce pentru partea superioară a D2DR, cele mai mari energii de interacțiune au fost observate în cazul ligandului RACL. Mai mult, în timp ce ligandul FLB manifestă o ușoară tendință de a ieși din situsul de interacțiune inferior al receptorului, liganzii SCH și RACL au prezentat o afinitate de legare mai mare pentru ambele capete ale receptorului, rămânând în interiorul D2DR pe tot parcursul traiectoriilor. Astfel, conform rezultatelor noastre, ligandul RACL dozat în secțiunea superioară a D2DR este cel mai eficient

### 3. CONCLUZII

---

compus pentru complexul de interacțiune receptor-ligand, în vederea cuantificării DA la nivel cerebral.

4. În ultimul studiu de interes, valorile energiei totale de interacțiune pentru sistemele binare A1-aptameri sunt mult mai mari în comparație cu A2@GNR-aptameri. Din punct de vedere structural, aptamerii miR21 și miR21-sp prezintă comportamente similare. Mai mult, complexe binare A2@GNR/A1-miR21-sp au prezentat cel mai mare număr de legături de H datorită lungimii crescute ale aptamerului miR21-sp (27 nucleotide, inclusiv 5 timine în mijlocul acestuia). Prin urmare, putem considera complexe de interacțiune A2-miR21-sp (împreună cu A1) și miR21 ca fiind cele mai potrivite pentru investigații experimentale mai amănunțite.

## Bibliografie

---

1. Genheden S., Reymer A., Saenz-Méndez P. and Eriksson L.A, (2017) Chapter 1: Computational Chemistry and Molecular Modelling Basics, in *Computational Tools for Chemical Biology*, 1-38.
2. Nair P. C, Miners J. O. (2014) Molecular dynamics simulations: from structure function relationships to drug discovery, In *Silico Pharmacol.*
3. Nair P. C, Miners J. O. (2014) Molecular dynamics simulations: from structure function relationships to drug discovery, In *Silico Pharmacol.*
4. Abraham M.J., van der Spoel D., Lindahl E., Hess B., and the GROMACS development team, *GROMACS User Manual version 2018.*
5. Reiner A., Dragatsis I., Dietrich P. (2011) Genetics and neuropathology of Huntington's disease. *Int Rev Neurobiol.* 98:325-372.
6. Kandel E. R, Schwartz J. H, Jessel T. M, eds. (2000) Ch. 9: Propagated signaling: the action potential. *Principles of Neural Science.* McGraw-Hill Professional.
7. Masino L., Kelly G., Leonard K., Trottier Y., and Pastore A. (2002) Solution structure of polyglutamine tracts in GST-polyglutamine fusion proteins. *FEBS Lett.* 513, 267–72.
8. Bennett M. J., Huey-Tubman K. E., Herr A. B., West A. P., Jr., Ross S. A., and Bjorkman P. J. (2002) A linear lattice model for polyglutamine in CAG-expansion diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 11634–11639.
9. Kang H., Vázquez F. X., Zhang L., Das P., Toledo-Sherman L., Luan B., Levitt M., and Zhou R. (2017) Emerging  $\beta$ -sheet conformations in super-compact Huntingtin exon-1 mutant structures. *J. Am. Chem. Soc.* 139 (26), 8820–8827.
10. Marques Sousa C., and Humbert S. (2013) Huntingtin: here, there, everywhere! *J. Huntington's Dis.* 2, 395–403.
11. Saudou F., Finkbeiner S., Devys D., and Greenberg M. E. (1998) Huntingtin Acts in the Nucleus to Induce Apoptosis but Death Does Not Correlate with the Formation of Intranuclear Inclusions. *Cell* 95 (1), 55–66.
12. Jimenez-Sanchez M., Licitra F., Underwood B. R., and Rubinsztein D. C. (2017) Huntington's Disease: Mechanisms of Pathogenesis and Therapeutic Strategies. *Cold Spring Harbor Perspect. Med.* 7, No. a024240.
13. Priya B. S., and Gromiha M. M. (2019) Structural insights into the aggregation mechanism of huntingtin exon 1 protein fragment with different polyQ lengths. *J. Cell. Biochem.* 120, 10519–10529.

## Bibliografie

---

14. Nagai Y., Inui T., Popiel H. A., et al. (2007) A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 14 (4), 332–340.
15. Bhattacharyya A., Thakur A. K., Wetzel R., et al. (2006) Oligoproline effects on polyglutamine conformation and aggregation. *J. Mol. Biol.* 355, 524–535.
16. Altschuler E. L., Hud N. V., Mazrimas J. A., and Rupp B. (1997) Random coil conformation for extended polyglutamine stretches in aqueous soluble monomeric peptides. *J. Pept. Res.* 50, 73–75.
17. Kim M. (2013) Beta conformation of polyglutamine track revealed by a crystal structure of Huntingtin N-terminal region with insertion of three histidine residues. *Prion* 7 (3), 221–228.
18. Neveklavska M., Clabough E. B., Steffan J. S., and Zeitlin S. O. (2012) Deletion of the huntingtin proline-rich region does not significantly affect normal huntingtin function in mice. *J. Huntington's Dis.* 1 (1), 71–87.
19. Caron N. S., Desmond C. R., Xia J., and Truant R. (2013) Polyglutamine domain flexibility mediates the proximity between flanking sequences in huntingtin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110 (36), 14610–14615.
20. Długosz M., and Trylska J. (2011) Secondary structures of native and pathogenic huntingtin N terminal fragments. *J. Phys. Chem. B* 115 (40), 11597–11608.
21. Ogawa H., Nakano M., Watanabe H., Starikov E. B., Rothstein S. M., and Tanaka S. (2008) Molecular dynamics simulation study on the structural stabilities of polyglutamine peptides. *Comput. Biol. Chem.* 32 (2), 102–110.
22. Chen S., Berthelie V., Yang W., and Wetzel R. (2001) Polyglutamine aggregation behavior in vitro supports a recruitment mechanism of cytotoxicity. *J. Mol. Biol.* 311, 173–82.
23. Kelley N. W., Huang X., Tam S., Spiess C., Frydman J., and Pande V. S. (2009) The predicted structure of the headpiece of the huntingtin protein and its implications on huntingtin aggregation. *J. Mol. Biol.* 388 (5), 919–927.
24. Wang Y., and Voth G. A. (2010) Molecular Dynamics Simulations of Polyglutamine Aggregation Using Solvent-Free Multiscale Coarse-Grained Models. *J. Phys. Chem. B* 114, 8735.
25. Adegbuyiro A., Sedighi F., Pilkington A. W., Groover S., and Legleiter J. (2017) Proteins containing expanded polyglutamine tracts and neurodegenerative disease. *Biochemistry* 56 (9), 1199–1217.

## Bibliografie

---

26. Lakhani V. V., Ding F., and Dokholyan N. V. (2010) Polyglutamine Induced Misfolding of Huntingtin Exon1 is Modulated by the Flanking Sequences. *PLoS Comput. Biol.* 6 (4), No. e1000772.
27. **Moldovean S. N. and Chiş V. (2020) Specific Key-Point Mutations along the Helical Conformation of Huntingtin-Exon 1 Protein Might Have an Antagonistic Effect on the Toxic Helical Content's Formation. *ACS Chemical Neuroscience*, 11, 2881-2889.**
28. **Moldovean S. N. and Chiş V. (2021) Decreased Interactions between Calmodulin and a Mutant Huntingtin Model Might Reduce the Cytotoxic Level of Intracellular Ca<sup>2+</sup> : A Molecular Dynamics Study. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(16):9025.**
29. Breese G. R, Mueller R. A. (1985) SCH-23390 antagonism of a D2 dopamine agonist depends upon catecholaminergic neurons. *Eur J Pharmacol.* 113(1):109-114.
30. Derlet R. W, Albertson T. E, Rice P. (1990) The Effect of SCH 23390 Against Toxic Doses of Cocaine, Amphetamine and Methamphetamine. *Life Sciences.* 47 (9): 821–827.
31. Shin B., Jung R., Oh H., Owens G. E., Lee H., Kwak S., Lee R., Cotman S. L., Lee J. M., MacDonald M. E., Song J. J., Vijayvargia R., Seong I. S. (2018) Novel DNA Aptamers that Bind to Mutant Huntingtin and Modify Its Activity. *Mol Ther Nucleic Acids.*, 11:416-428.



*Lucrări publicate în reviste cotate ISI raportate la teza de doctorat:*

1. **Moldovean S. N.** and Chiș V. (2020) Molecular Dynamics Simulations Applied to Structural and Dynamical Transitions of the Huntingtin Protein: A Review. ACS Chemical Neuroscience,11(2), 105-120. IF = 4.418 AIS = 1.07
2. **Moldovean S. N.** and Chiș V. (2020) Specific Key-Point Mutations along the Helical Conformation of Huntingtin-Exon 1 Protein Might Have an Antagonistic Effect on the Toxic Helical Content's Formation. ACS Chemical Neuroscience, 11, 2881-2889. IF = 4.418 AIS = 1.07
3. **Moldovean S. N.** and Chiș V. (2021) Decreased Interactions between Calmodulin and a Mutant Huntingtin Model Might Reduce the Cytotoxic Levels of Intracellular Ca<sup>2+</sup> : A Molecular Dynamics Study. International Journal of Molecular Sciences, 22(16):9025. IF =5.923 AIS = 1.123
4. **Moldovean S. N.**, Timaru D-G. and Chiș V. All-atom Molecular Dynamics Investigations on the Interactions between D2-subunit Dopamine Receptor and Three 11 C-labeled Radiopharmaceutical Ligands, *submitted, under review*.
5. Gliga L-E., Iacob B-C., **Moldovean S. N.**, Spivak D. A., Bodoki E., and Oprean R. Affinity capillary electrophoretic study of the molecular interactions between DNA aptamers for the development of biomarker platforms for microRNA detection, *submitted, under review*.

## PUBLICAȚII ȘI CONFERINȚE

---

*Participări la conferințe științifice naționale și internaționale:*

1. **Moldovean S. N.** Structural Insights into m-HTT Protein, The National Conference of doctoral students from “Universitaria” Consortium 2019, Bucharest, 26-27 September 2019.
2. **Moldovean S. N.** Huntington’s Disease in Molecular Dynamics, The National Conference of Medical Physics 2020, November 7 2020.
3. **Moldovean S. N.** Specific key-point mutations along the helical conformation of Huntingtin-Exon1 protein might have an antagonistic effect on the toxic helical content’s formation, International Conference on Interactive Molecular Dynamics and Applications 2021, Amsterdam, 8-9 February 2021 (*Best presentation award*).