



MODIFIKASI Y220C PADA RESIDU 220 OLEH ADDUCT PRIMA-SISTEIN MERESTORASI Y220C PADA RESIDU 120

Angeline Prita C*) dan Fajar Rakhman Wibowo

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret
Jl. Ir. Sutami 36 A, Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 63375

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima April 2014
Disetujui Mei 2014
Dipublikasikan Agustus 2014

Kata kunci:
reaktivasi
p53-Y220C
adduct PRIMA-sistein
simulasi dinamika molekuler

Abstrak

Mutasi tirosin pada *residu 220* menjadi sistein (Y220C) dapat menginduksi *cavity* pada *residu 220* sebagai pusatnya. Mutasi ini dapat menurunkan kestabilan termal dan menyebabkan adanya sedikit perubahan pada bagian kontak DNA. *p53 reactivation and induction of massive apoptosis-1* (PRIMA-1) terbukti dapat mereaktivasi *p53*, namun mekanisme dan target residunya belum cukup jelas. Fakta eksperimen menunjukkan PRIMA-1 dapat modifikasi sistein dengan membentuk *adduct*. Penelitian ini ditujukan untuk mengamati efek dinamis modifikasi sistein menggunakan PRIMA-1, yang disebut *adduct* PRIMA-sistein pada *residu 220* untuk mereaktivasi *p53*. Modifikasi Y220C dilakukan dengan memaksa *adduct* PRIMA-sistein masuk ke dalam *cavity* yang berukuran lebih kecil dibanding struktur *adduct* tersebut. Pengamatan stabilitas pada level molekuler dilakukan dengan cara simulasi dinamika molekuler (DM). Trajektori-trajektori yang dihasilkan simulasi dinamika molekul selama 100 ns menunjukkan perubahan dinamika karena adanya modifikasi Y220C pada *residu* nomor 220. Data *Backbone B-factor* dan order parameter menunjukkan bahwa adanya modifikasi Y220C sebagian mampu menyerupai *wild type* pada *residu 120* yang merupakan daerah yang berfungsi untuk interaksi dengan DNA. Selain itu, pada *residu 155* yang berinteraksi langsung dengan *residu 220* juga terdapat peningkatan fleksibilitas *residu 155* setelah adanya modifikasi Y220C.

Abstract

Mutations in the tyrosine residue 220 to cysteine (Y220C) can induce residue 220 cavity at its center. These mutations can decrease the thermal stability and causes a slight change in the contact section of DNA. *p53 reactivation and induction of massive apoptosis-1* (PRIMA-1) proved to be reactive p53, but the mechanism and the target residue is not quite clear. Experimental facts show PRIMA-1 can be modified cysteine by forming adducts. This study aimed to observe the dynamic effects of cysteine modification using PRIMA-1, called PRIMA-cysteine adducts in residue 220 to reactive p53. Y220C modification is done by forcing the PRIMA-cysteine adducts into the cavity is smaller than the structure of these adducts. Observations stability at a molecular level is done by means of molecular dynamics simulations (DM). Trajectory generated during 100ns molecular dynamics simulations indicate changes in dynamics due to the modification of Y220C on residue 220. Data Backbone B-factors and order parameters indicate that the presence of Y220C modification partially able to resemble the wild-type residue 120 which is an area that functions for interaction with DNA. In addition, the residue 155 which interacts directly with residue 220 also residue 155 improvement in flexibility after Y220C modification.

Pendahuluan

Protein *p53* merupakan salah satu gen penekan tumor (*tumor suppressor gen*) yang berperan dalam pengendalian pertumbuhan tumor atau kanker (Kern *et al.*; 1997 dan Livingston; 1992). Sebagian besar sel tumor pada kanker manusia terjadi karena kehilangan fungsi *p53* akibat protein membawa mutasi *p53* (Alberts; 2002 dan Almog and Rotter; 1997). Salah satu penyebab mutasi *p53* yaitu adanya aktivasi onkogen. Mutasi ini menyebabkan replikasi DNA yang salah, sehingga sel tumor akan berkembang terus menerus. Penanganan mutasi aktivasi onkogen dilakukan dengan mengubah stabilitas mutan hingga mendekati *wild type* (Farnebo, *et al.*; 2010). Salah satu mutasi aktivasi onkogen yaitu *Y220C* yang merupakan perubahan tirosin menjadi sistein pada *residu 220*. Mutasi tersebut menciptakan adanya *cavity* yang berukuran kecil pada *residu 220* sebagai pusatnya (Basse, *et al.*; 2010 dan Joerger, *et al.*; 2006).

Interaksi antara *cavity residu 220* pada mutan *Y220C* dengan senyawa phikan maupun benzotiazol telah terbukti mampu memberikan perubahan pada stabilitas mutan *Y220C* (Basse, *et al.*; 2010, Boeckler, *et al.*; 2008 dan Rauf, *et al.*; 2013). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa PRIMA-1 (*p53 reactivation and induction of massive apoptosis*) lebih efektif menghambat pertumbuhan sel tumor yang membawa mutan *p53* dibandingkan dengan sel tumor yang membawa *wild type p53* (Bykov, *et al.*; 2002).

Adanya modifikasi yang terdapat pada sekuen sistein mutan *p53* dapat mengembalikan konformasi dan fungsi mutan *p53* mendekati *wild type*-nya. Adanya modifikasi kovalen antara gugus thiol sistein dengan atom C PRIMA-1 yang mengikat gugus hidroksi yang disebut *adduct* PRIMA-sistein dapat menghalangi interaksi PRIMA-1 dengan mutan *p53*, sehingga menyebabkan induksi apoptosis PRIMA-1 terhambat (Lambert, *et al.*; 2009 dan Bykov, *et al.*; 2002).

Identifikasi perubahan thiol sistein sebagai mekanisme untuk reaktivasi mutan *p53* dapat memfasilitasi desain senyawa mutan *p53* yang lebih potensial dan pada akhirnya dapat digunakan sebagai pengembangan obat untuk penanganan kanker (Lambert, *et al.*; 2009). *Adduct* PRIMA-sistein mempunyai ukuran yang besar, sedangkan *cavity residu* sistein *220* pada *Y220C* tersebut berukuran lebih kecil. Sehingga, dimungkinkan terjadi pemaksaan dalam modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-

sistein. Adanya pemaksaan pada modifikasi tersebut dapat memungkinkan adanya perubahan pada mutan *Y220C*.

Modifikasi sistein melalui pembentukan *adduct* dapat dilakukan dengan pengujian secara *in silico* memungkinkan untuk menghitung sifat molekul pada sistem molekuler dan hasil perhitungan tersebut berkorelasi dengan eksperimen (Boeckler, *et al.*; 2008). Pengamatan stabilitas pada level molekuler dilakukan dengan cara simulasi dinamika molekuler (DM).

Metode Penelitian

Struktur *adduct PRIMA-Cystein* diperoleh dari modifikasi struktur *adduct PRIMA-NAC* teroptimasi (Nurmalitasari; 2012), kemudian dilakukan penggantian gugus asetil pada NAC dengan atom H. Selanjutnya dilakukan eliminasi atau pelepasan H₂O yaitu atom H pada gugus amina dan hidroksi (OH) pada atom C karbonil membentuk *adduct PRIMA-Cystein*. Optimasi dilakukan dengan *GAUSSIAN 03* metode *ab initio* pada level teori *HF* dan *basis set 6-31G**.

Struktur *p53* termutasi *Y220C* (.pdb) hasil *cluster* yang terdiri dari 10 *cluster* dipilih berdasarkan posisi *residu cystein* pada masing-masing *cluster*. Pemilihan makromolekul berdasarkan posisi *cystein* yang memiliki *cavity* pada permukaan yang cukup dalam dan *adduct* dimungkinkan dapat masuk pada posisi tersebut yang dilihat *surface* sistem dengan program *Chimera*.

Simulasi dinamika molekuler dilakukan terhadap *Y220C* yang telah dilakukan penggantian *residu* sistein *220* oleh *adduct* PRIMA-Sistein. Ion Cl⁻ sebagai *counterion* ditambahkan menggunakan modul *XLEAP* dalam *AMBER10*. Sistem kemudian disolvasi dengan penambahan eksplisit *solvent* berupa model air *TIP3PBOX* yang berupa sekumpulan molekul air yang berbentuk kotak yang melingkupi sistem dengan jarak minimum antara sistem dan model air sebesar 12 Å. Sistem tersebut disimpan dalam format arsip *pdb* (urutan atom dan posisinya), arsip *prmtop* (topologi sistem), dan arsip *inpcrd* (parameter sistem) yang nantinya akan digunakan dalam proses minimisasi, penyeimbangan, dan simulasi.

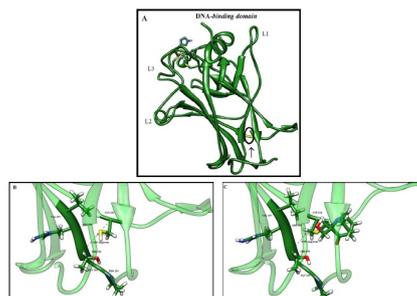
Minimisasi dilakukan agar proses solvasi sempurna yaitu jarak model air dekat dengan sistem. Tahap penyeimbangan (equilibrasi) diperlukan agar keadaan awal simulasi tidak dominan mempengaruhi analisa dari simulasi. Minimisasi dan penyeimbangan sistem dilaku-

kan dengan prosedur yang terbagi dalam 20 langkah. Makromolekul dan posisi-posisi ion dijaga konstan dengan penahanan harmonik (*harmonic restraint*) sebesar $1000 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ pada langkah pertama sampai langkah ke-5. Langkah pertama dilakukan minimisasi sistem tanpa melibatkan atom hidrogen (H). Langkah ke-2 dilakukan minimisasi dengan melibatkan air sebagai eksplisit *solvent* tanpa melibatkan atom H. Langkah ke-3 dilakukan penyeimbangan dalam kondisi N,V,T tetap dengan pemanasan bertahap $100\text{-}300\text{K}$ selama 1 fs tanpa melibatkan atom H. Langkah ke-4 dilakukan penyeimbangan dalam kondisi N,P,T tetap tanpa melibatkan atom H selama 2 fs . Langkah ke-5 kembali dilakukan penyeimbangan sistem dalam kondisi N, V, T tetap dengan penurunan temperatur secara bertahap $300\text{-}100\text{K}$ selama 1 fs . Langkah ke-6 sampai dengan langkah ke-19 dilakukan minimisasi dengan penurunan penahanan harmonik secara bertahap dari 1000 sampai $0,5 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$. Selanjutnya langkah ke-19 kembali dilakukan penyeimbangan dalam kondisi N, V, T tetap tanpa adanya penahanan harmonik selama 2 fs . Langkah terakhir dilakukan penyeimbangan dalam kondisi N, P, T tetap selama 2 fs .

Simulasi dijalankan pada temperatur konstan 300 K , tekanan 1 atm , *SHAKE constraints* $0,00005 \text{ \AA}$ (mengabaikan vibrasi yang melibatkan atom hidrogen), *nonbonded cutoff* 8 \AA , 2 fs *time step* dan prosedur *particle mesh Ewald* yang digunakan untuk menangani interaksi elektrostatik yang jangkauannya jauh (*long range electrostatic interactions*) menggunakan protokol *pmemd*. Simulasi dilakukan selama 100 ns , dimana informasi struktural dikumpulkan setiap 500 ps .

Hasil dan Pembahasan

Mutan *p53-Y220C* merupakan mutasi tirosin menjadi sistein pada *residu 220*. Mutasi tersebut terletak pada ujung *loop*, sehingga adanya mutasi tersebut dimungkinkan dapat memberikan perubahan konformasi pada keseluruhan *residu* protein tersebut. Oleh karena itu, modifikasi *Y220C* oleh *adduct* PRIMA-sistein dilakukan pada *residu 220*. Adanya modifikasi ini diharapkan mampu memberikan perubahan pada konformasi *Y220C* hingga mendekati *wild-type*. Posisi *residu 220*, jarak $C\alpha$ antara *residu 220* dan 155 *Y220C* dan modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein sebelum adanya simulasi dapat disajikan pada Gambar 1.

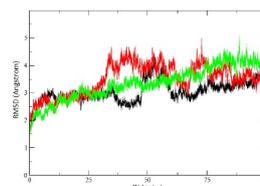


Gambar 1. *Residu* Sistein 220 (warna kuning) pada mutan *Y220C* dalam bentuk *cartoon* (A) Jarak $C\alpha$ antara *residu 220* dan 155 pada *Y220C* (B) dan Jarak $C\alpha$ antara *residu 220* dan 155 pada modifikasi *Y220C* oleh *adduct* PRIMA-sistein sebelum dilakukan simulasi (C).

Pada Gambar 1A, terlihat bahwa mutasi pada *residu 220* yang berada pada ujung bentuk *residu loop* dapat dimungkinkan mempengaruhi perubahan konformasi pada keseluruhan *residu*. Sehingga, apabila adanya modifikasi sistein 220 dapat dimungkinkan adanya perubahan konformasi juga pada keseluruhan *residu*.

Adanya penggantian *residu 220* dari sistein menjadi *adduct* PRIMA-sistein dapat memberikan perubahan konformasi pada *residu* lain. Hal ini ditandai dengan adanya pergeseran jarak $C\alpha$ antara *residu 220* dan 155 . Jarak $C\alpha$ antara *residu 220* dan 155 pada modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein sebelum dilakukan simulasi (Gambar 1C) mempunyai jarak yang lebih besar dibandingkan dengan jarak tersebut pada *Y220C* (Gambar 1B).

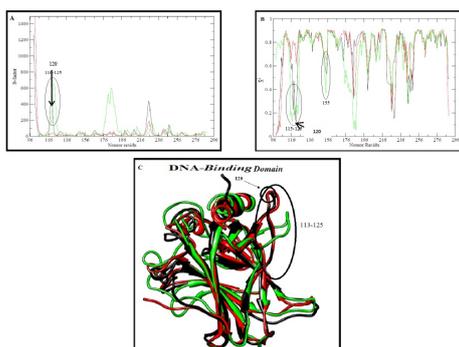
Simulasi dinamika molekuler. Setelah dilakukan proses minimisasi dan equilibrasi, sistem disimulasikan selama 100000 ps (100 ns). Sistem 1 tersebut adalah modifikasi *p53-Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-Sistein. Sebagai pembandingan sistem 2 yaitu mutan *p53-Y220C* dan sistem 3 yaitu *p53 wild-type* yang keduanya telah disimulasikan selama 100000 ps (100 ns). Hasilnya adalah suatu trajektori yang menspesifikasikan bagaimana posisi dan kecepatan partikel di dalam sistem bervariasi sesuai waktu. Posisi sistem tiap waktu dibandingkan posisi awal sistem dianalisis menggunakan grafik *RMSD* (*root mean square deviation*).



Gambar 2. Perbedaan *RMSD* sebagai fungsi waktu. Sistem 1 (hitam), Sistem 2 (merah), dan sistem 3 (hijau)

Grafik *RMSD* pada Gambar 2. memperlihatkan bahwa fluktuasi sistem 3 berbeda signifikan dibanding sistem 1 dan 2. Fluktuasi sistem 3 terlihat kecil, sedangkan pada sistem 1 dan 2 terlihat mempunyai fluktuasi yang hampir sama. Pada sistem 1 dan 2 memperlihatkan adanya fluktuasi yang cukup besar. Namun, pada sistem 1 mempunyai fluktuasi yang lebih kecil dibandingkan fluktuasi sistem 2 dan fluktuasi sistem 2 berlangsung lebih lama dibandingkan sistem 1. Hal ini menandakan bahwa pada sistem 1 dan 2 yang merupakan modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein dan mutan *Y220C* mempunyai kestabilan yang lebih rendah dibandingkan sistem 3 yang merupakan *wild-type*. Dengan demikian, adanya modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein mampu memberikan perubahan kestabilan mutan *Y220C* hingga lebih mendekati kestabilan *wild type*.

Pergeseran posisi yang telah ditunjukkan pada grafik *RMSD* berkaitan dengan fluktuasi atomik rata-rata sistem. Analisis *B-factor* dan entropi yang diwakili data order parameter dapat menggambarkan fluktuasi atomik rata-rata sistem yang disimulasikan. Harga *B-factor* dan order parameter sebagai fungsi nomor residu dapat menunjukkan residu-residu mana saja yang mengalami fluktuasi, sehingga terhadap *residu-residu* tersebut akan dapat dilihat perubahan posisi konformasinya selama simulasi berlangsung. Pada *backbone b-factor* menggambarkan pergerakan *backbone* masing-masing *residu* selama simulasi. Sedangkan data order parameter menggambarkan pergerakan ikatan peptida masing-masing *residu* selama simulasi.



Gambar 3. Perbedaan *B-factor* atom *backbone* sebagai fungsi nomor *residu* (A) dan order parameter vektor NH secara keseluruhan (B), serta perbedaan konformasi menggunakan *chimera*. Sistem 1 (hitam) cluster 30,6%, Sistem 2 (merah) cluster 25,1%, dan sistem 3 (hijau) cluster 27,2%

Backbone B-factor (Gambar 3A) dan entropi yang diwakili dengan data order parameter

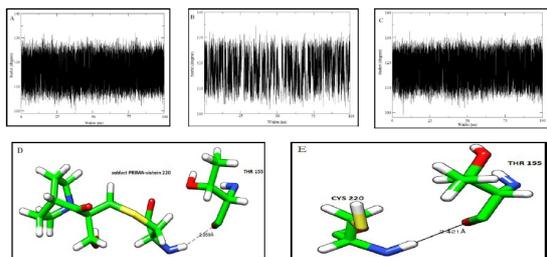
(Gambar 3B) *residu 116-125* menunjukkan bahwa fluktuasi sistem 1 menjauhi dari fluktuasi sistem 2 dan hampir menyerupai fluktuasi dari sistem 3. Hal ini menandakan bahwa adanya modifikasi *p53-Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein mampu memberikan peningkatan fleksibilitas *DNA-binding* terutama pada *residu 120*. Dengan demikian, modifikasi tersebut mampu mengembalikan *DNA-binding p53*.

Pada Gambar 3C. terlihat adanya perbedaan konformasi pada *residu 113-125* pada ketiga sistem yang divisualisasikan dengan program *chimera* menggunakan data *clustering trajectory*. Gambar 3C. menunjukkan bahwa sistem 1 mempunyai konformasi yang cenderung menyerupai konformasi sistem 2. Data tersebut bertolak belakang dengan hasil yang diperoleh dari data *backbone b-factor* maupun data order parameter. Hal ini dimungkinkan terjadi karena data yang diambil merupakan hasil dari *clustering trajectory* yang paling dominan, sehingga belum dapat menggambarkan pergeseran konformasi selama simulasi.

Adanya perubahan pada *residu 120* dimungkinkan terjadi akibat adanya pengaruh pergeseran *residu 155* karena adanya modifikasi pada *residu 220*. Perubahan pada *residu 155* akibat modifikasi *Y220C* terlihat pada fluktuasi data order parameter (Gambar 2B) yang menunjukkan bahwa fluktuasi modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein mendekati fluktuasi *wild type*. Namun, pada data *backbone B-factor* tidak memperlihatkan perbedaan fluktuasi pada *residu* tersebut. Hal ini menandakan bahwa pergeseran terjadi akibat pergerakan ikatan peptida. Pembuktian adanya peningkatan fleksibilitas pada pergerakan ikatan peptida dapat dihitung sudut atom H-N-C α pada *residu 155* dengan program *ptraj*. Dari perhitungan tersebut terdapat perbedaan fluktuasi sudut H-N-C α pada modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein (Gambar 4A) dan pada *wild type* (Gambar 4C) terlihat lebih *crowded* dibanding dengan fluktuasi pada *Y220C* (Gambar 4B). Selain itu, adanya modifikasi *Y220C* pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein dapat juga memberi perubahan pada ikatan hidrogen antara *residu 155* dan *220*. Pengamatan adanya ikatan hidrogen dilakukan dengan program *chimera* dan model protein menggunakan hasil *clustering trajectory*. Visualisasi adanya ikatan hidrogen antara *residu 155* dan *220* disajikan pada Gambar 4D. dan 4E.

Pada Gambar 4D. terlihat adanya ikatan hidrogen antara atom H *residu 220* dan atom O

residu 155 dan setelah adanya modifikasi Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein (Gambar 4E) ikatan hidrogen tersebut tidak terlihat. Namun, visualisasi menggunakan program *chimera* belum dapat menggambarkan ikatan hidrogen pada sistem selama simulasi, sehingga digunakan perhitungan ikatan hidrogen dengan program *ptraj*. Hasil dari perhitungan tersebut menunjukkan adanya ikatan hidrogen pada *residu 155* yaitu antara atom O *residu 155* dan atom H *residu 220* pada Y220C mempunyai % *occupancies* 34, 76% dan pada modifikasi Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein mempunyai % *occupancies* 25,53. Adanya penurunan % *occupancies* ikatan hidrogen antara atom O *residu 155* dan atom H *residu 220* pada *residu 155* dan 220 setelah adanya modifikasi Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein. Hal ini menandakan bahwa adanya modifikasi tersebut dapat melemahkan kekuatan ikatan hidrogen antara *residu 155* dan 220, sehingga memberikan pengaruh pada stabilitas *residu 155*.



Gambar 4. Perbedaan sudut H-N-C α *residu 155* pada sistem 1(A) sistem 2 (B) dan sistem 3 (C), serta perbedaan jarak antara atom H *residu 220* dan atom O *residu 155* pada sistem 1(D) sistem 2(E)

Simpulan

Adanya modifikasi *p53*-Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein dapat memberikan perubahan stabilitas mutan *p53*-Y220C pada *residu 116-125* yang berfungsi sebagai DNA-binding. Hal ini menandakan bahwa adanya modifikasi tersebut mampu mengembalikan DNA-binding pada *p53*. Adanya rantai samping *adduct* PRIMA-sistein yang berukuran besar pada modifikasi *p53*-Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein dapat menyebabkan pelebaran *cavity* pada *residu 220*. Hal ini dapat memberikan pengaruh *residu 155* yang ditandai dengan adanya peningkatan fleksibilitas *residu 155* setelah adanya modifikasi Y220C pada *residu 220* oleh *adduct* PRIMA-sistein.

Daftar Pustaka

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. *Molecular Biology of the Cell*. 4th Edition. New York: Garland Science. 2002

- Almog, N. and Rotter, V. 1997. *Involvement of p53 in Cell Differentiation and Development*. BBA-Reviews on Cancer. 1333 (1): F1-F27
- Basse, N., Kaar, J.L., Settani, G. 2010. Toward the Rational Design of p53-Stabilizing Drugs: Probing the Surface of the Oncogenic Y220C Mutant. *Chem and Biol*. 17: 46-56.
- Boeckler, F.M., Joerger, A.C., Jaggi, G., Rutherford, T.J. 2008. Targeted Rescue of a Destabilized Mutant of p53 by an in Silico Screened Drug. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 10360-10365
- Bykov, V.J.N., Issaeva, N., Selivanova, G., and Wiman, K.G. 2002. Mutant p53-Dependent Growth Suppression Distinguishes PRIMA-1 From Known Anticancer Drugs: A Statistical Analysis of Information In The National Cancer Institute Database. *Carcinogenesis*. 23 (12): 2011-2018
- Bykov, V.J.N., Hainaut, P., Lambert, J.M.R., Wiman, G.K. 2009. Mutant p53 Rescue and Modulation of p53 Redox State. *Cell Cycle*. 8 (16): 2509-2517
- Farnebo, M., Bykov, V.J.N., Wiman, K.G. 2010. The p53 Tumor Suppressor: A Master Regulator of Diverse Cellular Processes and Therapeutic Target in Cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 396: 85-89
- Joerger, A.C., Ang, H.C., and Fersht, A.R. 2006. Structural Basis for Understanding Oncogenic p53 Mutations and Designing Rescue Drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 15056-15061
- Kern, S.E., J.A. Pietenpol, S. Thiagalingan, A. Seymor, K.W. Kinzler and B. Vogelstein. 1997. *Oncogenic from of p53-regulated gene expression*.
- Lambert, J.M., Gorzov, P., Veprintsev, D.B., Soderqvist, M. 2009. PRIMA-1 Reactivates Mutant p53 by Covalent Binding to the Core Domain. *Cancer Cell*. 15: 376-388
- Livingston, L.R. 1992. Altered Cell Cycle Arrest and Gene Amplification Potential Accompany Loss of Wild-type p53. *Cell* 70: 923-935
- Nurmalitasari, D. 2012. *Studi Mekanika Kuantum pada Reaksi PRIMA-1 dan Turunannya terhadap N-Asetil Sistein*. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, Surakarta
- Rauf, S.M.A, Endou. A, Takaba, H., Miyamoto, A. 2013. Effect of Y220C Mutation on p53 and Its Rescue Mechanism: A Computer Chemistry Approach. *Protein J*. 32: 68-74