

## **ANALISIS BIOINFORMATIKA MUTASI S228I PROTEIN PCNA DAN PENGARUHNYA PADA STRUKTUR 3 DIMENSI PROTEIN**

Syarifah Dewi

Departemen Biokimia & Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta

Kampus Baru UI Depok Jawa Barat – 16424

dwey98@yahoo.com

### **Abstrak**

*Proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) adalah protein penjepit DNA yang meningkatkan efektivitas kerja DNA polimerase eukariot. Protein ini mempunyai struktur berbentuk cincin yang mengelilingi DNA dan meningkatkan *processivity* pada proses replikasi DNA. Mutasi titik pada gen PCNA manusia, Ser228Ile, akan menghasilkan kelainan autosomal resesif dengan gejala penyakit gangguan perbaikan kerusakan DNA seperti *Xeroderma pigmentosum*, *Cockayne syndrome*, dan *Ataxia telangiectasia*. Mutasi ini letaknya berdekatan dengan dengan situs pengikatan protein pengikat PCNA. Mutasi Ser228Ile pada protein PCNA akan menyebabkan perubahan pada struktur IDCL (*interdomain connecting loop*) dan *PIP-binding pocket* sehingga mengganggu pengikatan protein ligan ke PCNA dan fungsinya yang sebagian besar berhubungan dengan proses replikasi dan perbaikan DNA

**Kata kunci:** analisis, bioinformatika, dimensi protein

### **Pendahuluan**

*Proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) adalah protein penjepit DNA yang berperan sebagai faktor *processivity* (jumlah rata-rata nukleotida yang ditambahkan enzim polimerase) untuk *DNA polymerase* ( $\delta/\epsilon$ ) pada sel eukariot dan berperan penting dalam replikasi. Protein PCNA merupakan homotrimer dan berfungsi sebagai penjepit DNA dengan cara melingkari DNA dan merekrut protein-protein yang terlibat dalam replikasi DNA, perbaikan DNA, *chromatin remodeling* dan epigenetik. Protein ini berlokasi di nukleus dan merupakan kofaktor dari enzim *DNA polymerase*  $\delta$ . PCNA juga membantu ikatan DNA polymerase  $\epsilon$  ke DNA. PCNA dijepit ke DNA dengan bantuan *replication factor C* (RFC) yang merupakan anggota heteropentamer AAA+ dari ATPase. Ekspresi PCNA dikendalikan oleh kompleks faktor transkripsi E2F. DNA polymerase  $\epsilon$  terlibat dalam proses resintesis dari DNA yang rusak sehingga PCNA berperan dalam proses sintesis DNA dan perbaikan DNA. PCNA berperan penting dalam menjaga integritas genom.

PCNA terlibat dalam proses jalur toleransi kerusakan DNA yang dikenal dengan istilah *post-replication repair* (PRR). Pada PRR terdapat dua jalur, yaitu pertama jalur translesion dimana enzim DNA polymerase dapat menggabungkan basa DNA yang rusak pada situs aktifnya dengan melewati tempat kerusakannya. Jalur kedua adalah jalur *template switch* dimana DNA polymerase akan melewati tempat kerusakan DNA dengan cara mengaktifkan perangkat rekombinasi homolog. Protein PCNA sebelum menjalankan fungsinya dalam perbaikan DNA akan mengalami modifikasi

pasca translasi, meliputi ubiquitilasi, sumoylasi, asetilasi dan fosforilasi, yang akan mengatur fungsi PCNA. Modifikasi pasca translasi ini dan mekanisme pengenalannya telah banyak diteliti orang, diantaranya adalah ubiquitilasi pada residu lisin 164 (K164), yang akan memberikan sinyal kepada mesin sintesis DNA ketika *replication fork* berada pada DNA template yang rusak. Monoubiquitilasi pada PCNA akan memberikan sinyal kepada DNA polymerase untuk beralih ke jalur translesi dan menghasilkan replikasi yang rawan kesalahan karena melompati daerah DNA yang rusak. Sebaliknya pada polubiquitilasi PCNA akan memberikan sinyal replikasi yang bebas kesalahan, karena mengaktifkan jalur *template switch*, yang akan menggunakan template pasangannya yang tidak mengalami kerusakan (*sister-chromatid recombination*).

Sumoylasi pada PCNA akan merangsang protein RAD6 untuk melakukan ubiquitilasi serta menghambat proses rekombinasi homolog dengan cara mengaktifkan helikase Srs2 yang merupakan enzim antirekombinasi. Mekanisme ini adalah jalur penyelamatan dari dampak rekombinasi yang merugikan, seperti delesi kromosom akibat *rearrangement*. Fosforilasi pada PCNA distimulasi oleh faktor pertumbuhan. Suatu penelitian membuktikan bahwa stimulasi *epidermal growth factor* (EGF) akan menyebabkan translokasi EGF receptor (EGFR) ke dalam nukleus dan memfosforilasi PCNA pada residu tirosin 211 (pY211) pada *human epidermoid carcinoma cell line* A431. Pada eksperimen ini juga membuktikan dengan menggunakan antibodi yang mengenali pY211, terlihat bahwa PCNA yang terfosforilasi

spesifik ditemukan berikatan dengan kromatin sedangkan pada PCNA yang bebas tidak ditemukan terfosforilasi. PCNA yang terfosforilasi (pY211) banyak ditemukan pada kanker payudara dan berhubungan dengan overall survival yang buruk.

Protein-protein yang berinteraksi dengan PCNA memiliki *PCNA-interacting motif* yang disebut sebagai PIP (*PCNA-interacting protein*) box.<sup>10</sup> Analisis struktur mendemonstrasikan bahwa sekuens PIP-box dari protein akan berinteraksi dengan domain C terminal pada bagian IDCL (*interdomain connecting loop*) dengan membentuk struktur  $\beta$  sheet antiparalel dan melalui ikatan elektrostatis dengan permukaan PCNA yang bermuatan negatif. Bagian dalam PCNA yang berikatan dengan DNA dan dapat meluncur di sepanjang untai DNA bermuatan positif dengan struktur  $\alpha$  heliks. Selain mengandung PIP-box, protein-protein dari kelompok perbaikan kerusakan DNA berhubungan dengan PCNA melalui suatu motif yang dikenal dengan APIM (AlkB homolog 2 PCNA-interacting motif) yaitu motif yang awalnya dikenal pada human AlkB2 homolog 2 (hABH2), suatu oxidative demethylase yang terlibat dalam perbaikan kerusakan DNA. Analisis mutagenesis PCNA membuktikan bahwa pengikatan protein yang mengandung PIP dan APIM mempunyai situs yang saling tumpang tindih. Selain ABH2, beberapa protein yang mengandung motif APIM dan berperan dalam menjaga integritas genomik adalah TFIIS-L, TFII-I, Topo II a, RAD51B, FBH1 dan ZRANB3. Protein-protein yang berikatan dengan PCNA melalui PIP-box umumnya berperan dalam replikasi DNA, sedangkan protein-protein yang berikatan dengan PCNA melalui APIM umumnya berperan dalam konteks stres genotoksik

## Metode Penelitian

### Bahan

Gen *Proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) yang diperoleh dari situs NCBI dengan kode NC\_000020.11 (DNA) dan NM\_002592.2 (RNA).

### Metode

Beberapa metode yang dilakukan dalam penelitian ini diantaranya adalah : (1) analisis struktur, fungsi, ekspresi gen PCNA dengan menggunakan database bioinformatika dan situs NCBI, uniprot, ensemble; (2) Analisis salah satu mutasi pada gen PCNA dengan menggunakan situs OMIM, SNP; (3) Analisis sekuens protein PCNA serta analisis komparatif dengan sekuens mutan (Struktur sekunder, Prediksi daerah transmembran, domain protein, prediksi *signal peptide*, *Target peptide*) dengan menggunakan situs PSIPRED dan ExPasy; (4) Analisis struktur 3D protein PCNA serta

analisa komparatif dengan sekuens mutan dengan menggunakan situs Protein Data Bank, Swiss Model dan software PyMOL; (5) desain primer yg dapat digunakan untuk melakukan sekuensing pada daerah yg mengandung mutasi dengan menggunakan situs Primer NCBI, Primer3 dan software PerlPrimer; (6) Analisis prediksi situs enzim restriksi endonuklease pada sekuens gen PCNA yang normal dan mutan dengan NebCutter, apakah teknik RFLP dapat membedakan gen PCNA normal dan mutan.

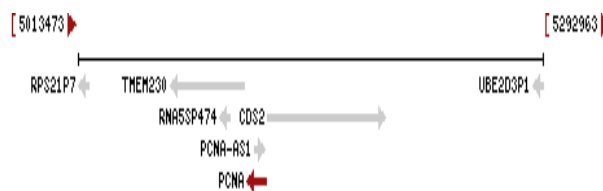
## Hasil dan Pembahasan

### Lokasi & Struktur Gen PCNA

Lokasi gen PCNA manusia terletak pada kromosom 20p7 (GRCh38.p7 )

**Chromosome:** 20 (5114953-5126622, complement)

**Location:** 20p7



Gambar 1.  
Lokasi gen PCNA

### Struktur Gen (NC\_000020.11)

Gen ini mempunyai panjang 11.670 bp, terdiri atas 7 ekson dan 6 intron

(1..123, 124..6708, 6709..7045, 7046..7756, 7757..7854, 7855..7945, 7946..8013, 8014..8958, 8959..9153, 9154..11050, 11051..11174, 11175..11260, 11261..11670)

Start kodon pada ekson 1 urutan basa ke 6825.

CDS (6825..7045, 7757..7854, 7946..8013, 8959..9153, 11051..11174, 11261..11340)

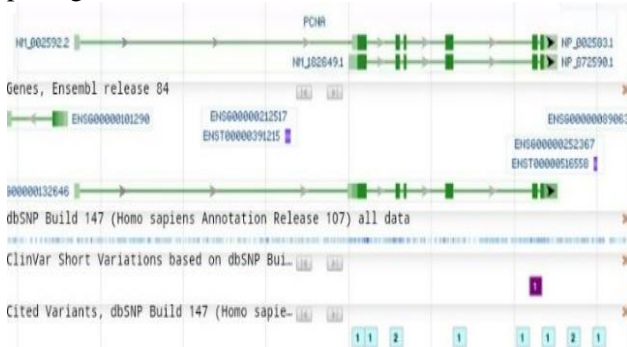
### Transkrip PCNA

Transkrip varian 1 PCNA (NCBI Refseq NM\_002592.2) terdiri dari 1355 bp setelah mRNA splicing. Transkrip ini mengandung 7 ekson dengan 6 ekson berkontribusi pada sekuens protein. Sekuens transkrip ditranslasikan pada pertengahan ekson 2 sampai permulaan ekson 7. Setelah splicing, transkrip ini akan berkurang sebesar 12% dari transkrip awal dan menghasilkan suatu protein dengan 261 asam amino (NP\_002583.1)

Transkrip varian 2 PCNA (NCBI Refseq NM\_182649.1) terdiri dari 1319 bp setelah mRNA splicing. Transkrip ini mengandung 7 ekson yang keseluruhannya berkontribusi pada sekuens protein. Translasi dimulai dari akhir ekson 1 sampai permulaan ekson 7. Setelah splicing, transkrip ini

akan berkurang sebesar 26% dari transkrip awal dan menghasilkan suatu protein dengan 261 asam amino.

Terdapat 2 variant transkrip seperti terlihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2

Varian transkrip PCNA dan anotasinya

**Protein PCNA**

Protein PCNA manusia (NCBI Refseq NP\_872590.1/Uniprot P12004) adalah polipeptida dengan 261 asam amino dan memiliki berat molekul 29 kDa. Protein fungsional berbentuk homotrimer, yang disusun dari 3 unit yang identik yang saling berinteraksi *head-to-tail*. Protein PCNA eukariot mempunyai domain N dan C terminal dan saling berikatan membentuk *long interdomain-connecting loop* (IDCL). Domain N terminal terletak pada asam amino 1-124 dan domain C terminal terletak pada asam amino 127-254. Tiga molekul PCNA identik berikatan satu sama lain dengan membentuk sebuah cincin homotrimer yang akan melingkari DNA *double helix*. Permukaan dalam dari lingkaran tersebut berbentuk  $\alpha$  heliks dan bermuatan positif sehingga dapat berinteraksi dengan DNA. Permukaan luar dari lingkaran ini berbentuk  $\beta$  sheet dan bermuatan negatif.

**Analisis Mutasi (SNP) pada PCNA**

Mutasi (SNP) pada PCNA yang sudah dilaporkan dan mempunyai implikasi klinis adalah mutasi pada posisi 228 terjadi perubahan asam amino dari serin menjadi isoleusin p.Ser228Ile (dbSNP rs369958038), atau pada posisi 683 sekuens mRNA berubah dari G menjadi T (c.683G>T, pada ekson ke-6 dan kodon ke-2). Adanya mutasi ini akan menyebabkan manifestasi klinis akibat penurunan mekanisme perbaikan kerusakan DNA. Kelainan ini dapat berupa *ataxia teleangiectasia* (AT) berdasarkan OMIM (615919), *xeroderma pigmentosum* (XP) dan *Cockayne syndrome* (CS). Gejala utamanya adalah penuaan dini, keganasan, neurodegenerasi, imunodefisiensi, fotosensitif dan kegagalan pertumbuhan. Mutasi ini tidak menyebabkan perubahan level ekspresi karena titik mutasinya tidak terletak di promoter, melainkan di ekson dan merupakan daerah CDS sehingga akan

mempengaruhi aktivitasnya. Mutasi ini juga menyebabkan perubahan asam amino dari serin (S) yang bersifat hidrofilik menjadi isoleusin (I) yang bersifat hidrofobik. Berdasarkan *scoring matrix* (BLOSUM) perubahan asam amino serin menjadi isoleusin nilainya -2, yang artinya sifat kedua asam amino ini berbeda dan kemungkinan besar mutasi ini akan merubah struktur 3D yang akan mempengaruhi fungsi dari protein tersebut.

**Analisis komparatif sekuens protein PCNA normal dan mutan**

**Analisis karakteristik fisiko-kimia protein (Protparam)**

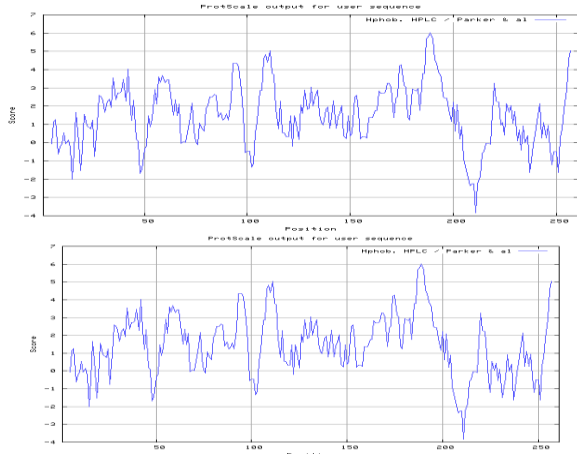
Untuk mengetahui presentasi asam amino, berat molekul, isoelectric point (pI) dan sifat fisiko kimia lain dari protein PCNA (normal dan mutan) maka sekuens asam amino PCNA dilakukan analisis dengan menggunakan Protparam Expsy.

Tabel 1.

Parameter	Protein PCNA Normal	Protein PCNA Mutan
Berat Molekul	28768.7	28794.8
pH isoelektrik	4.57	4.57
Komposisi asam amino	Ile (I) 14 .4% Serin (T) 25 9.6%	Ile (I) 15 .7% Serin (T) 24 9.2%
Komposisi atom	Karbon C 1257 Hidrogen H 2020  Nitrogen N 328 Oksigen O 408 Sulfur S 16  Rumus: C <sub>1257</sub> H <sub>2020</sub> N <sub>328</sub> O <sub>408</sub> S <sub>16</sub> Total jumlah atom: 4029	Karbon C 1260 Hidrogen H 2026  Nitrogen N 328 Oksigen O 407 Sulfur S 16  Rumus: C <sub>1260</sub> H <sub>2026</sub> N <sub>328</sub> O <sub>407</sub> S <sub>16</sub> Total jumlah atom: 4037
Index aliphatic	94.87	96.36
Grand average of hydropat hicity (GRAVY)	-0.095	-0.074

**Analisis Profil Skala Asam Amino (ProtScale)**

Untuk melihat hidrofobisitas sekuens asam amino protein PCNA normal dan mutan dilakukan analisis menggunakan ProtScale (Hphob. HPLC / Parker & al).



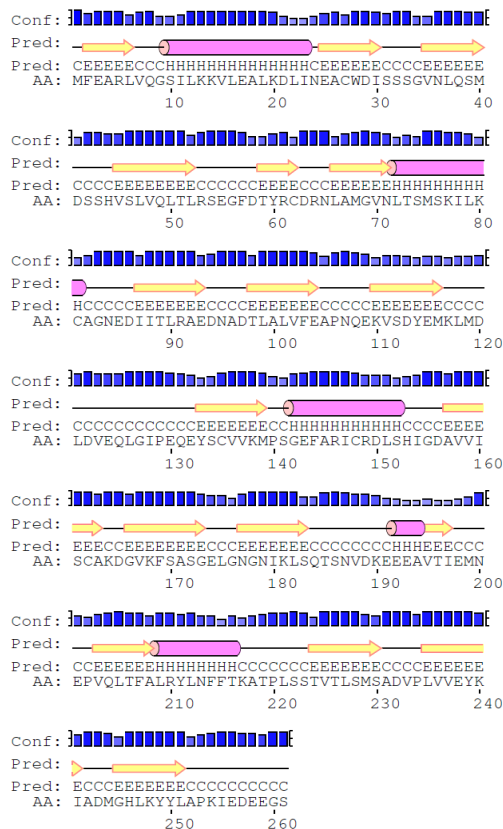
Gambar 3

Hasil analisis ProtScale untuk protein A. PCNA normal, B. PCNA mutan

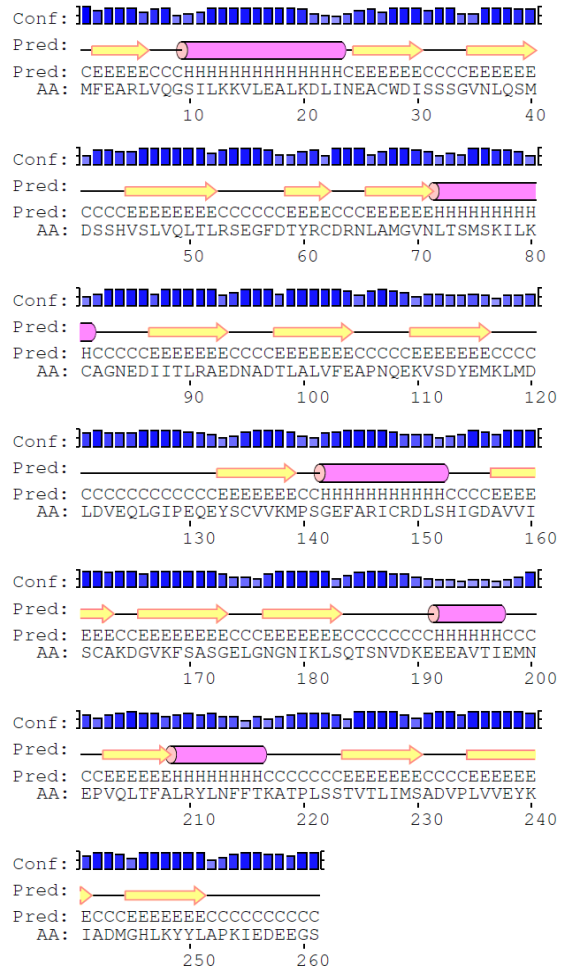
Dari grafik terlihat perubahan sifat hidrofobisitas pada protein mutan dibandingkan protein normal di daerah mutasi (228).

**Analisis struktur sekunder protein (Pspred)**

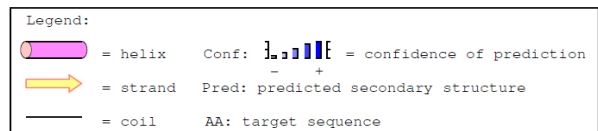
Pada protein PCNA normal, posisi asam amino ke 228 adalah serin maka struktur sekunder asam amino tersebut yaitu bentuk strand (gambar). Pada protein PCNA mutan dimana posisi asam amino ke 228 adalah isoleusin, struktur sekunder asam amino tersebut tetap berbentuk strand (gambar 4). Sehingga tidak ada perbedaan struktur sekunder pada protein PCNA normal dengan yang mutan.



A



B

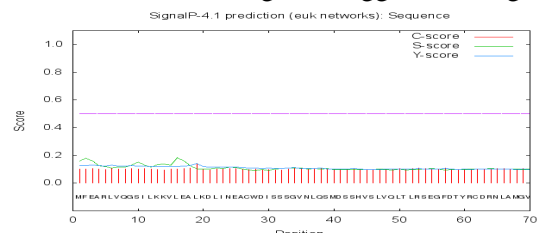


Gambar 4

Struktur Sekunder protein A. PCNA normal, asam amino ke-228 adalah Serin (S). B. PCNA mutan, asam amino ke-228 adalah isoleusin (I).

**Prediksi Signal Peptide (SignalP)**

Untuk mengetahui apakah pada protein PCNA mempunyai signal peptide atau tidak dilakukan analisis dengan menggunakan SignalP.



Gambar 5

Hasil analisis signal peptide pada protein PCNA dengan SignalP



Protein PCNA tidak memiliki signal peptide, begitu juga pada protein PCNA mutan karena memberikan hasil yang sama.

### Prediksi Lokasi Subseluler Protein (TargetP)

Untuk mengetahui lokasi subseluler protein PCNA dilakukan analisis dengan TargetP.

Number of query sequences: 1  
Cleavage site predictions not included.  
Using NON-PLANT networks.

Name	Len	mTP	SP	other	Loc	RC
Sequence	261	0.067	0.143	0.827	-	2
cutoff		0.000	0.000	0.000		

Protein PCNA tidak terletak di mitokondria dan bukan merupakan protein sekresi. Protein ini terletak di dalam inti sel (nukleus). Begitu juga untuk protein PCNA mutan memberikan hasil yang sama.

### Prediksi Enzim Protease yang Dapat Memotong Protein PCNA (Peptide Cutter)

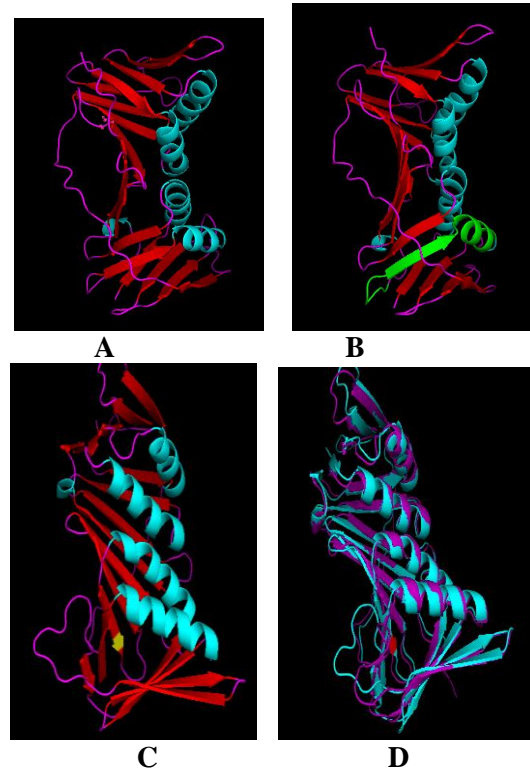
Pada protein PCNA normal, enzim *proteinase K* dan *thermolysin* dapat memotong protein dengan jumlah situs pemotongan sebanyak 134 dan 79. Sedangkan pada protein PCNA mutan, enzim *proteinase K* dan *thermolysin* dapat memotong protein dengan jumlah situs pemotongan sebanyak 135 dan 80. Pada protein PCNA mutan, posisi asam amino ke-228 yang berubah menambah situs pemotongan untuk enzim *proteinase K* dan *thermolysin*.

Tidak ada perbedaan jumlah situs pemotongan antara protein PCNA normal dengan yang mutan untuk enzim-enzim yang lain (*Arg-C proteinase*, *Asp-N endopeptidase*, *Asp-N endopeptidase + N-terminal Glu*, *BNPS-Skatole*, *CNBr*, *Chymotrypsin-high specificity (C-term to [FYW], not before P)*, *Chymotrypsin-low specificity (C-term to [FYWML], not before P)*, *Clostripain*, *Formic acid*, *Glutamyl endopeptidase*, *Hydroxylamine*, *Iodosobenzoic acid*, *LysC*, *LysN*, *NTCB (2-nitro-5-thiocyanobenzoic acid)*, *Pepsin (pH1.3)*, *Pepsin (pH>2)*, *Staphylococcal peptidase I*, *Trypsin*).

### Analisis Struktur 3D Protein PCNA Normal dan Mutan (Pymol)

Struktur 3 dimensi protein PCNA normal dan mutan dihasilkan dengan menggunakan software Pymol. Secara umum struktur PCNA mutan S228I hampir mirip dengan PCNA normal (gambar 8 dan 9), hanya terdapat sedikit pergeseran dengan global RMSD (*root-mean-square deviation*) dari posisi atom-atom sebesar 0,7 Å.<sup>16</sup> Muatan elektrostatis

permukaan protein PCNA S228I hampir mirip dengan PCNA normal, yang dapat diartikan pengikatan protein dengan DNA tidak terlalu dipengaruhi oleh mutasi ini. Namun ada perubahan substansial yang dekat dari lokasi mutasi, termasuk perubahan yang signifikan pada IDCL. Residu asam amino yang menempel pada situs mutasi adalah Tyr133 akan berputar ke arah luar hampir 90° untuk mencegah tumbukan dengan rantai samping Ile228 yaitu gugus gamma metil. Asam amino Tyr133 adalah sekuens yang lestari di dalam IDCL yang membatasi *PIP binding pocket* pada PCNA normal. Rotasi Tyr133 mengganggu secara signifikan seluruh IDCL, dengan perubahan struktur 3 dimensi penting dapat diamati pada residu IDCL yang jauh dari lokasi mutasi. Karena IDCL merupakan bagian besar dalam permukaan interaksi PIP box sehingga konformasi *PIP-binding pocket* secara substansial akan terganggu pada mutasi S228I. Permukaan molekul dekat *PIP-box binding groove* pada PCNA mutan sangat berbeda dengan PCNA normal. Volume dan kedalaman alur terlihat lebih kecil dan dangkal pada protein PCNA mutan dibandingkan dengan PCNA normal (gambar 9C&D). Hasil analisis struktur 3 dimensi protein PCNA dengan Pymol



Gambar 8

Struktur 3 dimensi 1 subunit protein PCNA. A. PCNA normal. B. DNA binding pada PCNA (hijau). C. PCNA mutan (lokasi mutan kuning). D. Alignment antara protein PCNA normal (ungu) dengan protein PCNA mutan (biru)



5' CTNAG DdeI 5' ---C TNAG--- 3'  
3' GANTC 3' ---GANT C--- 5'

Produk PCR yang dihasilkan oleh primer yang telah didesain adalah 172 bp. Bila terdapat situs restriksi untuk DdeI yaitu pada sekuens PCNA normal (CTCAG), maka produk PCR akan dipotong dengan enzim restriksi DdeI menjadi fragmen 145 bp dan 27 bp. Sedangkan pada sekuens PCNA mutan (mutasi basa G→T) yang menyebabkan tidak terdapat situs restriksi DdeI, sehingga sekuens PCNA mutan tidak akan dipotong.

## Diskusi

PCNA adalah protein penjepit DNA yang membantu kerja DNA polimerase untuk meningkatkan processivity dalam proses replikasi DNA, yaitu meningkatkan laju replikasi DNA dengan cara meningkatkan rata-rata jumlah nukleotida yang akan ditambahkan pada rantai DNA baru, yaitu sekitar 100 kali lipat. Selain itu PCNA juga berperan penting dalam koordinasi berbagai sinyal seluler untuk memastikan keberhasilan proses replikasi dan perbaikan DNA. Protein ini akan mengkoordinasi berbagai jalur sinyal melalui ikatannya dengan protein-protein lain setelah berikatan dengan DNA untuk menjalankan fungsinya. Struktur PCNA merupakan homotrimer, yaitu terdiri dari 3 unit polipeptida yang sama sehingga protein ini dapat mengikat 3 ligan secara simultan. Tempat pengikatan ligan pada PCNA dikenal dengan istilah *PCNA-interacting protein* (PIP). Masing-masing subunit memiliki satu tempat situs pengikatan ligan (PIP) yang terdiri dari bentuk alur dari domain C terminal dan *interdomain connecting loop* (IDCL) dan beberapa pasangan terikat juga dengan domain N terminal. Mutasi titik pada posisi asam amino ke-228 yang berubah dari serin menjadi isoleusin (Ser228Ile) pada protein PCNA menyebabkan timbulnya penyakit akibat gangguan pada proses perbaikan DNA. Mutasi ini letaknya berdekatan dengan dengan situs pengikatan protein pengikat PCNA. Mutasi S228I akan menyebabkan perubahan struktur tiga dimensi PCNA terutama pada *binding pocket* untuk protein pengikat PCNA.

Mutasi hipomorfik pada gen PCNA manusia (S228I) akan menghasilkan kelainan autosomal resesif dengan gejala penyakit gangguan perbaikan kerusakan DNA seperti *xeroderma pigmentosum*, *Cockayne syndrome*, and *ataxia telangiectasia*. Pada kelainan ini proses replikasi DNA terlihat normal, tetapi terdapat gangguan pada proses perbaikan kerusakan DNA (nucleotide excision repair/NER). Konversi serin menjadi isoleusin terletak pada proksimal situs PIP sehingga menyebabkan perubahan *binding pocket* untuk protein ligan

PCNA. Suatu penelitian dengan melihat struktur kristal dari protein PCNA mutan S228I, membuktikan bahwa terdapat kelainan pada struktur IDCL dan alur pengikatan PIP. Perubahan struktur pada IDCL dan PIP-box ini akan menyebabkan gangguan pengikatan protein-protein ligan PCNA, sehingga fungsi-fungsi protein yang memerlukan PCNA sebagai mediator akan terganggu.

## Kesimpulan

PCNA merupakan suatu protein penjepit DNA yang membantu kerja DNA polimerase untuk meningkatkan laju replikasi DNA. Selain itu PCNA juga berperan dalam proses perbaikan kerusakan DNA sehingga protein ini juga dikenal sebagai penjaga integritas genom. Protein ini berada di nukleus dan berbagai protein dapat terikat dengan PCNA untuk menjalankan fungsinya, terutama protein-protein yang terlibat dalam proses replikasi DNA, perbaikan kerusakan DNA, *chromatin remodelling* dan epigenetik. Protein PCNA mempunyai struktur homotrimer yang terdiri dari 3 unit polipeptida yang sama dengan berat molekul 29 kDa. Protein-protein yang akan berikatan dengan PCNA mempunyai domain PIP (*PCNA-interacting protein*) yang akan mengikat protein PCNA pada domain C terminal. Mutasi titik pada posisi basa 683 mRNA yang berubah dari G → T (kodon kedua) akan menyebabkan perubahan asam amino dari serin menjadi isoleusin pada posisi asam amino 228 (S228I). Mutasi ini akan menyebabkan perubahan pada struktur IDCL (*interdomain connecting loop*) dan *PIP-binding pocket*, sehingga mengganggu pengikatan protein ligan ke PCNA dan fungsinya.

## Daftar Pustaka

- Bacquin, A. et al. 2013. The helicase FBH1 is tightly regulated by PCNA via CRL4(Cdt2)-mediated proteolysis in human cells. *Nucleic Acids Res.* 41, 6501–6513
- Baple, E. L., Chambers, H., Cross, H. E., Fawcett, H., Nakazawa, Y., Chioza, B. A., Harlalka, G. V., Mansour, S., Sreekantan-Nair, A., Patton, M. A., Muggenthaler, M., Rich, P., and 10 others. Hypomorphic PCNA mutation underlies a human DNA repair disorder. *J. Clin. Invest.* 124: 3137-3146, 2014.
- Ciccica, A. et al. 2012. Polyubiquitinated PCNA recruits the ZRANB3 translocase to maintain genomic integrity after replication stress. *Mol. Cell* 47, 396–409
- Duffy CM, Hilbert BJ, KelchBA. A Disease-Causing Variant in PCNA Disrupts a

- Promiscuous Protein Binding Site. *J Mol Biol* (2016) 428, 1023–1040.
- Egelkroun EM, Mariconti L, Settlege SB, Cella R, Robertson D, Hanley-Bowdoin L (2002). “Two E2F elements regulate the proliferating cell nuclear antigen promoter differently during leaf development”. *Plant Cell* 14 (12): 3225–3236.
- Fander, B., Moldovan, G.L., Sacher, M., Hoege, C., and Jentsch, S. 2005. SUMO-modified PCNA recruits Srs2 to prevent recombination during S phase. *Nature* 436, 428–433.
- Gilljam, K.M. et al. 2009. Identification of a novel, widespread, and functionally important PCNA-binding motif. *J. Cell Biol.* 186, 645–654
- Hoege, C. et al. 2002. RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. *Nature* 419, 135–141
- J.M. Gulbis, Z. Kelman, J. Hurwitz, M. O'Donnell, J. Kuriyan, Structure of the C-terminal region of p21(WAF1/CIP1) complexed with human PCNA, *Cell* 87 (1996) 297–306.
- Lambert, S., Watson, A., Sheedy, D.M., Martin, B., and Carr, A.M. 2005. Gross chromosomal rearrangements and elevated recombination at an inducible site-specific replication fork barrier. *Cell* 121, 689–702.
- Lehmann AR, Fuchs RP (December 2006). *Gaps and forks in DNA replication: Rediscovering old models. DNA Repair (Amst.)* 5 (12): 1495–1498
- Moldovan GL, Pfander B, Jentsch S. 2007. *PCNA, the maestro of the replication fork.* *Cell* 129 (4): 665–79.
- Muller, R. et al. 2013. Targeting proliferating cell nuclear antigen and its protein interactions induces apoptosis in multiple myeloma cells. *PLoS ONE* 8, e70430
- P. McInerney, A. Johnson, F. Katz, M. O'Donnell. 2007. *Characterization of a triple DNA polymerase replisome.* *Mol. Cell* 27. 527–538
- R. Maiti, G.H. Van Domselaar, H. Zhang, D.S. Wishart. 2004. SuperPose: A simple server for sophisticated structural superposition, *Nucleic Acids Res.* 32. W590–W594
- R. McNally, G.D. Bowman, E.R. Goedken, M. O'Donnell, J. Kuriyan. 2010. Analysis of the role of PCNA–DNA contacts during clamp loading, *BMC Struct. Biol.* 10, 3
- T.R. Beattie, S.D. Bel. 2012. Coordination of multiple enzyme activities by a single PCNA in archaeal Okazaki fragment maturation, *EMBO J.* 3; 1556–1567
- Ulrich, H.D. and Walden, H. 2010. Ubiquitin signalling in DNA replication and repair. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11, 479–489
- Wang, S-C. et al. 2006. Tyrosine phosphorylation controls PCNA function through protein stability. *Nat. Cell Biol.* 8, 1359–1368
- Warbrick, E. 2000. The puzzle of PCNA's many partners. *Bioessays* 22, 997–1006
- Zhang G, Gibbs E, Kelman Z, O'Donnell M, Hurwitz J. 1999. *Studies on the interactions between human replication factor C and human proliferating cell nuclear antigen.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (5): 1869–1874.