مقاله پژوهشی

مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی
مرکز تحقیقات انفورماتیک پزشکی
دوره هشتم شماره اول. ص ۱۱۶-۱۰۵، ۱۴۰۰

بررسی مقایسه‌ای جهش R213G در دومین اتصالی به DNA پروتئین P53 با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

الهام اکبری[۱]، محمد تقی‌زاده[۲]*، فهیمه نعمتی[۳]

• دریافت مقاله:۹۹/۶/۲۳ • پذیرش مقاله: ۹۹/۱۰/۱۵

مقدمه: P53 یک پروتئین سرکوبگر تومور است و جهش‌های missense زیادی در ژن این پروتئین شناسایی شده است. این جهش‌ها در تعداد زیادی از سرطان‌ها مشاهده می‌شوند. R213G یکی از این موارد است که در ایجاد سرطان‌های متاستاتیک ریوی نقش دارد. در این پژوهش R213G در مقایسه با گونه وحشی با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش: برای ساختار سه بعدی پروتئین P53 گونه وحشی، زنجیره A از ساختار کریستالوگرافی با pdb ایدی 1TSR استفاده شد. برای جهش R213G، باقیمانده ۲۱۳ این ساختار به گلایسین تغییر داده شد. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با استفاده از بسته نرم‌افزاری گرومکس ۵-۱-۲، میدان نیروی AMBER99SB و مدل آب TIP3P به مدت ۱۵ نانوثانیه و به صورت دو بار تکرار انجام شد. آنالیزهای RMSD، RMSF، شعاع ژیراسیون و انرژی پتانسیل بر روی تراژکتوری‌های حاصل انجام شد.

نتایج: آنالیز RMSF نشان داد جهش R213G باعث تغییر انعطاف‌پذیری در یازده باقیمانده از جمله R-248 می‌شود. جالب است که این باقیمانده‌ها نزدیک محل جهش نیستند؛ اما همه آن‌ها در قطعه ۲۲۰–۲۵۰ از این دومین واقع شده‌اند و یا باقیمانده‌های همسایه این قطعه هستند. نتایج شعاع ژیراسیون و انرژی پتانسیل کاهش پایداری پروتئین در اثر این جهش را تأیید می‌کند.

نتیجه‌گیری: آنالیز RMSF جهش R213G به همراه تغییرات پایداری و شعاع بیان می‌کند که این جهش می‌تواند بر روی برهمکنش P53 با دیگر درشت مولکول ها تأثیر گسترده‌ای بگذارد.

کلیدواژه‌ها: ریشه میانگین مربعات نوسان (RMSF)، انعطاف‌پذیری پروتئین، پروتئین P53، جهش missense، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

•**ارجاع:** اکبری الهام، تقی‌زاده محمد، نعمتی فهیمه. بررسی مقایسه‌ای جهش R213G در دومین اتصالی به DNA پروتئین P53 با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی. مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی ۱۴۰۰؛ ۸(۱): ۱۶-۱۰۵.

۱. کارشناسی ارشد زیست‌فناوری میکروبی، گروه زیست‌فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. دکتری بیوانفورماتیک، استاد مدعو گروه زیست‌فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه زیست‌فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* **نویسنده مسئول:** محمد تقی‌زاده

آدرس: تهران، خیابان دکتر شریعتی، خیابان شهید خاقانی (زرگنده)، کد پستی: ۱۹۱۶۸۹۳۸۱۳ –صندوق پستی: ۱۹۳۹۵/۱۴۹۵

•**شماره تماس:** ۰۲۱۲۲۰۰۶۶۶۱ • **Email:** mtaghizadeh@Alumni.ut.ac.ir

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

مقدمه

ژن سرکوبگر تومور پی-۵۳ که به عنوان محافظ ژنوم شناخته می‌شود، معروف‌ترین ژن بازدارنده توموری است که در بیشتر از نیمی از تمام انواع سرطان‌های انسانی جهش یافته است. پروتئین پی-۵۳ یک عامل رونویسی است که به نقش حیاتی آن در پایداری ژنومی و سرکوب توموری با القای آپوپتوز، توقف چرخه یاخته‌ای و مهار رگ‌زایی اشاره شده است. انواع سرطان‌ها بیماری‌هایی پیچیده با تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی چندگانه هستند. تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در هر سرطان، (حتی مواردی که دارای منشأ بافتی/اندامی یکسانی هستند)، می‌توانند بسیار متفاوت باشند و یا به عکس می‌توانند مشابه باشند. سرطان‌هایی که منشأ بافتی متفاوت دارند، ممکن است تغییرات ژنتیکی یکسانی را در مسیرهای پیام‌رسانی خاص داشته باشند [۱]. سرطان معمولاً با پیشرفت نابه‌جای چرخه یاخته‌ای و همچنین آپوپتوز ناقص، به علت فعال شدن پرتو انکوژن‌ها و غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور ایجاد می‌شود [۲]؛ بنابراین برای درمان مؤثر هر سرطان، فهم دقیقی از تغییرات ژنتیکی (و اپی ژنتیکی) مربوط به آن سرطان ضروری به نظر می‌رسد تا بتوان با طراحی منطقی داروهای ترکیبی، مولکول‌ها و مسیرهای تغییر یافته را هدف قرار داد. با توجه به نقش‌های حیاتی پروتئین پی-۵۳ به عنوان مطرح‌ترین ژن سرکوب‌گر تومور در مهار سرطان‌زایی، این پروتئین می‌تواند یکی از مهم‌ترین اهداف دارویی برای درمان سرطان باشد. بر اساس نوع تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در پی-۵۳ در یاخته‌های توموری و سالم، می‌توان ترکیبی از داروهای متفاوت یا روش‌های دیگر را به صورت هوشمندانه‌تر به کار برد. برای نمونه، استفاده از داروهایی مانند ناتلین‌ها که موجب فعال شدن پی-۵۳ می‌شوند، به طور ترکیبی با داروهای دیگر استفاده می‌شوند. همچنین مطالعه مکانیسمی جهش یافته‌های پی-۵۳ می‌تواند ما را در شناسایی علت مقاومت یاخته‌های سرطانی به داروها یاری کند [۵-۳].

جهش یا حذف در ژن پی-۵۳ در بیش از ۵۰ درصد سرطان‌های انسانی دیده می‌شود که کارکرد سرکوبگری تومور در آن را از بین می‌برند. به سخنی دیگر، غیرفعال شدن آن متداول‌ترین رویداد تک ژنی است که در سرطان‌های انسانی دیده می‌شود و این موضوع پی-۵۳ را کانون توجه تحقیقات بالینی و علوم پایه پزشکی کرده است [۶]. نتیجه جهش در پی-۵۳ پیشرفت سرطان، متاستاز، مقاومت در برابر شیمی‌درمانی و اشعه درمانی است [۷]. در مطالعه‌ای که Sabapathy و همکاران ارائه دادند طبقه‌بندی جهش‌های پی-۵۳ را بر اساس عملکرد آن‌ها در سرکوب تومور و پاسخ به درمان پیشنهاد کردند [۸]. تقریباً ۸۰ درصد از جهش‌های missense پروتئین P53 بر روی باقیمانده‌های دومین اتصالی به DNA پی-۵۳ واقع می‌شود. این مسئله، اهمیت فعالیت دومین اتصالی به DNA در فعال‌سازی پی-۵۳ برای مهار تومور را برجسته می کند [۸].

جهش در ژن پی-۵۳ در هر دو حالت جرم لاین و سوماتیک مشاهده می‌شود. در افراد مبتلا به سندرم (Li-LFS (Fraumeni syndrome، جهش‌هایی در جرم لاین ژن پی-۵۳ رخ می‌دهد. این سندروم باعث ایجاد ریسک بالای ابتلاء به سرطان می‌شود [۹]. برای این که به اوج اهمیت این پروتئین اشاره شود باید گفت، یکی از پدیده‌های پیچیده شناخته شده در مورد این پروتئین این است که یاخته‌هایی که یک جهش missense از این پروتئین را دارند در مقایسه با یاخته‌هایی که اصلاً این پروتئین را ندارند بیشتر در معرض تغییر شکل و ایجاد تومور هستند. به این پدیده اضافه شدن عملکرد جدید یا GOF(Gain-of-Function) گفته می‌شود. به همین دلیل راز تأثیر این جهش‌ها (واریان‌های طبیعی) بر یاخته تا حد زیادی هنوز ناشناخته باقی مانده است [۶]. مطالعات گوناگونی بر روی تعیین ارتباط جهش‌ها (یا واریان‌های طبیعی) پی-۵۳ با انواع سرطان‌ها وجود دارد. در یکی از این مطالعات که در سال ۲۰۱۴ ارائه شده است، به منظور کمک به استراتژی‌های درمانی به دسته‌بندی تعداد قابل توجهی از جهش‌های پی-۵۳ بر اساس GOF و دسته‌بندی بر اساس نوع سرطان پرداخته است. در این مطالعه جهش R213G که در پژوهش حاضر برای مطالعات دینامیک مولکولی انتخاب شده است به عنوان جهشی که می‌تواند در ایجاد سرطان‌های متاستاتیک ریوی نقش داشته باشد، اشاره شده است [۱۰].

با استفاده از تکنیک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مطالعات گوناگونی بر روی پروتئین پی-۵۳ و همچنین جهش‌های میس سنس این پروتئین صورت گرفته است. Bromley و همکاران جهت مقایسه دومین اتصالی DNA تایپ وحشی پی-۵۳ و فرم موتانت Y220C در این دومین، از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده کردند. در این مطالعه مشخص شد بعضی از آنالیزهای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

مانند RMSF (Root Mean Square Fluctuation) برای تایپ وحشی و جهش یافته تغییرات جدی نشان می‌دهد. در این مطالعه سعی شده است با استفاده از یک الگوریتم که مبنای انجام مطالعات دینامیک مولکولی است، پاکت‌های اتصالی که می‌توانند پایداری پروتئین را افزایش دهند مشخص شود. همچنین در این مطالعه اشاره شده است که جهش Y220C، ۴ کیلوکالری بر مول پایداری دومین اتصالی به DNAپروتئین پی–۵۳ را کاهش می‌دهد [۱۱].

در مطالعه روحانی و همکاران شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پروتئین پی–۵۳ با استفاده از ساختار کریستالوگرافی 1TSR مربوط به دومین اتصالی به DNA پروتئین پی–۵۳ انجام شده است. در این مطالعه تایپ وحشی و چهار فرم جهش‌یافته شامل جهش‌های آرژنین–۱۷۵ و آرژنین ۲۷۳ به هیستیدین، پرولین ۲۲۳ به لوسین و والین ۲۷۴ به فنیل آلانین با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد، تفاوت معنی‌داری از لحاظ سطح انرژی در جهش یافته‌ها و فرم وحشی وجود دارد [۱۲].

در پژوهشی دیگر، با استفاده است شبیه‌سازی دینامیک مولکولی طولانی‌مدت مشخص شده است که یک مکانیسم تنظیمی آلوستریک برای جهش‌یافته R249S در سرطان کبد وابسته به پی–۵۳ وجود دارد. در این مطالعه مشخص شده است که این جهش می‌تواند به صورت آلوستریک بر روی پیچ بین رشته بتای S1 و S2 در ناحیه رویارویی با DNA اثر بگذارد [۱۳].

در زمینه مطالعات دینامیک مولکولی پروتئین پی–۵۳ موارد زیادی را می‌توان یافت که در آن‌ها از آنالیزهایی مانند RMSF و RMSD استفاده شده است. به طور مثال در مطالعه‌ای که Lu و همکاران منتشر کردند، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی دومین اتصال به DNA پروتئین پی–۵۳ در دو حالت متصل به DNA و آزاد مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج نشان داد که از آنالیز RMSF و RMSD استفاده شده است. RMSD فرم آزاد P53 و فرم متصل به DNA به دست آمده به خوبی نشان می‌دهد که RMSD پروتئین پی–۵۳ برای دومین اتصالی به DNA در حالت آزاد و متصل به DNA دارای نوسان‌هایی است که گاه دامنه آن‌ها به نیم آنگستروم هم می‌رسد و احتمالاً مربوط به ماهیت این پروتئین می‌شود و نه ناپایداری سیستم [۱۴].

هدف انجام پژوهش حاضر این است که با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، تلاش شود تا برخی ابعاد کشف نشده در مورد تغییر خصوصیات و رفتار پروتئین پی–۵۳ در اثر وقوع جهش R213G شناسایی شوند. در مورد اهمیت و ضرورت انجام این پژوهش باید اشاره شود که با توجه به نقش اثبات شده این جهش در برخی سرطان‌ها [۱۰] و نقش‌های بسیار کلیدی این پروتئین در عملکردهای مختلف درون یاخته‌ای از جمله تنظیم چرخه یاخته‌ای، تعیین تغییراتی که در اثر این جهش در خصوصیات و رفتار این پروتئین بسیار مهم رخ می‌دهد هم می‌تواند در شناسایی علل مولکولی وقوع اثر جهش R213G در بروز سرطان اهمیت داشته باشد و هم می‌تواند در شناسایی اثر این جهش در تغییرات احتمالی چرخه یاخته‌ای مفید واقع شود.

روش

این مطالعه با استفاده از روش محاسباتی البته بر پایه داده‌های تجربی مربوط به ساختار سه بعدی پروتئین پی–۵۳ به انجام رسیده است. در این پژوهش با استفاده از پایگاه داده Research Collaboratory for Structural Bioinformatics یا RCSB [۱۵] ساختارهای تجربی موجود برای پروتئین پی–۵۳ انسانی مورد بررسی قرار گرفت. برای توالی کامل این پروتئین که دارای ۳۹۳ باقیمانده است و وزن مولکولی معادل ۴۳۶۵۳ دالتون دارد ساختار سه بعدی که با استفاده از تکنیک‌های تجربی تعیین شده باشد یافت نشد؛ لذا از میان ساختارهای موجود که همه ساختارهایی از بخش‌هایی از این پروتئین بودند و پس از بررسی‌های بسیار زیاد در زمینه عدم وجود جهش یا بخش‌های میانی از دست رفته (missing)، ساختار سه بعدی با PDB-ID=1TSR مورد تأیید قرار گرفت تا در مراحل بعدی کار مورد استفاده قرار گیرد. این ساختار دارای قدرت تفکیک یا رزولوشن ۲/۲ آنگستروم بوده و با استفاده از روش پراش اشعه ایکس تعیین ساختار شده است. در انتخاب این ساختار علاوه بر عدم وجود جهش و بخش‌های میانی گم شده، داشتن ماکزیمم طول توالی در ساختار هم برای ما مهم بوده است. این ساختار PDB از پی–۵۳ به صورت سه زیر واحدی (تریمر) در برهمکنش با یک قطعه DNA به دست آمده است. در این مطالعه، زنجیره A از 1TSR در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی گونه وحشی به عنوان شاهد یا مرجع مقایسه مورد استفاده قرار گرفت و جهش R213G با تغییر آرژنین در جایگاه ۲۱۳ در ساختار زنجیره

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

آی 1TSR به گلایسین به وجود آمد و برای شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی مربوط به این جهش استفاده شد.

در این پژوهش از بسته نرم‌افزاری گرومکس (Gromacs) نسخه ۵،۱،۲ استفاده ش. این نرم‌افزار تحت لینوکس سرعت بالایی در انجام محاسبات با حجم بالا دارد. این قابلیت برای یک نرم‌افزار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بسیار حیاتی است؛ زیرا مقدار محاسباتی که چنین نرم‌افزاری باید انجام دهد در اکثر کارهایی که به نرم‌افزار سپرده می‌شود بسیار زیاد است؛ لذا برای کاهش زمان محاسبه و سریع به اتمام رساندن کار بهتر است که نرم‌افزار بتواند از همه توان محاسباتی سخت‌افزار استفاده کند. در این راستا کارهایی که در سال‌های اخیر بر روی این نرم‌افزار انجام شده است، حتی امکان استفاده این نرم‌افزار را از امکانات محاسباتی کارت گرافیک فراهم کرده است. در این پژوهش از یکی از میدان‌های نیرو از خانواده امبر که در سال ۲۰۱۰ منتشر شد به نام AMBER99SB استفاده شده است که برای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پروتئین‌ها جزو گزینه‌های مناسب به حساب می‌آید [۱۶،۱۷]. در این مطالعات با استفاده از جعبه شبیه‌سازی مکعبی، برای ساختار گونه وحشی و جهش R213G، به ترتیب ۱۰۳۷۶ و ۱۰۳۷۵ مولکول آب تعریف شد و از یوهای کلر برای برقراری تعادل الکتروستاتیک استفاده شد. از الگوریتم استیپست دیسنت (Steepest Descent) به منظور مینیمم‌سازی انرژی در مراحل اولیه آماده‌سازی سیستم‌های شبیه‌سازی، استفاده شد و سپس در مرحله بعد یک شبیه‌سازی حرکت محدود (position restrain) به مدت ۲۰ پیکوثانیه انجام شد تا حلال به خوبی در فضای جعبه و در برهمکنش با پروتئین مستقر شود. سپس مرحله اصلی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با میدان نیروی AMBER99SB و مدل آب TIP3P (که دارای سه نقطه برای بار الکتریکی است)، به مدت ۱۵ نانوثانیه برای هر یک از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی انجام شد. در کل مراحل انجام شده گام زمانی معادل ۲ فمتو ثانیه در نظر گرفته شد و هر شبیه‌سازی به صورت دوبار تکرار انجام شد.

چهار آنالیز مختلف از میان روش‌های آنالیز تراژکتوری در این پژوهش برای هر یک از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی با استفاده بسته نرم‌افزاری گرومکس، انجام شد. RMSD یا مربع ریشه میانگین انحراف (Root mean square deviation) برای کربن‌های آلفا در طول شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای چهار شبیه‌سازی محاسبه می‌باشد. این محاسبه در واقع نوعی محاسبه تغییرات کنفورماسیونی به شکل عمومی برای ساختار پروتئین در طول شبیه‌سازی به حساب می‌آید. واحد این محاسبه نانومتر است. RMSF یا مربع ریشه میانگین نوسان (Root mean square Fluctuation) می‌باشد و مرسوم‌ترین روش اندازه‌گیری حرکت‌های نوسانی برای درشت مولکول‌ها در مطالعات دینامیک مولکولی به حساب می‌آید. در این پژوهش از RMSF را برای کربن آلفای هر باقیمانده در ساختار پروتئین استفاده شد. واحد این محاسبه نانومتر می‌باشد. در این پژوهش انرژی کل سیستم با استفاده از بسته نرم‌افزاری گرومکس برای چهار جعبه‌های شبیه‌سازی مورد مطالعه به دست آمد. در این پژوهش از متوسط کل انرژی سیستم به عنوان یکی از ملاک‌های مقایسه بین پروتئین‌ها استفاده شده است. واحد این محاسبه کیلوژول بر مول (kJ/mol) است. آخرین آنالیز انجام شده شعاع ژیراسیون بوده است. برای شیء‌ای که فرم کروی ندارد نمی‌توان یک شعاع مطلق در نظر گرفت. در واقع پروتئین‌ها گرد نیستند، اما بعضی از آن‌ها شکلی دارند که در مجموع آن‌ها را به عنوان پروتئین‌های گلوبولار یا کروی معروف کرده است. برای چنین پروتئین‌هایی مقداری تقریبی به عنوان شعاع آن‌ها محاسبه شد. به این منظور یک نوع شعاع تقریبی با نام شعاع ژیراسیون را می‌توان برای پروتئین‌ها محاسبه کرد. از نظر ریاضی شعاع ژیراسیون را با مربع ریشه میانگین فاصله هر بخش از شیء تا مرکز جرم آن شیء به دست می‌آورند. در مورد پروتئین بخش‌های مختلفی که در جمله قبل مطرح شد، اتم‌های پروتئین می‌باشند. در طول شبیه‌سازی اگر عاملی باعث جمع شدن پروتئین شود شعاع ژیراسیون کم می‌شود و اگر عاملی مانند تغییر حلال یا برهمکنش‌های درون مولکولی پروتئین یا رفتن پروتئین به سمت دناتوراسیون، باعث باز شدن پروتئین شود، شعاع ژیراسیون افزایش می‌یابد؛ بنابراین افزایش پیوسته شعاع ژیراسیون در طول شبیه‌سازی می‌تواند نشانی از دناتوراسیون باشد؛ لذا افزایش شعاع ژیراسیون می‌تواند به معنای نشانی از کاهش پایداری پروتئین محسوب شود [۱۸]، واحد این محاسبه در این پژوهش نانومتر بوده است.

برای تعیین باقیمانده‌های دارای تفاوت معنی‌دار در مقدار آر ام اس اف بین تایپ وحشی و جهش مورد مطالعه (که هر کدام دارای دو بار تکرار شبیه‌سازی بوده‌اند)، آزمون‌های آماری شاپیرو برای بررسی نرمال بوده نمونه‌ها، فیشر برای آزمون برابری واریانس نمونه‌ها و آزمون تی- تست برای تشخیص

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

وجود یا عدم وجود تغییرات معنی‌دار آماری در RMSF. هر باقیمانده در فرم وحشی دومین اتصالی به DNA پروتئین پی-۵۳ در مقایسه با جهش R213G محاسبه شد. در این پژوهش برای نمایش ساختار سه‌بعدی پروتئین از نرم‌افزار شرکت اکسلریس (ACCELRYS) با نام نمایش دهنده سبک یا viewer Lite نسخه ۴-۲ استفاده شد. این نرم‌افزار به وسیله شرکت طراح در دسترس عموم قرار گرفته است.

نتایج

برای پروتئین پی-۵۳ جهش‌های بسیاری شناخته شده است و نقش بسیاری از این جهش‌ها در سرطان‌های گوناگون ثابت شده است. از میان این موارد برخی جایگاه‌ها مانند آر۲۱۳(R213)، جزو جایگاه‌های مطرح ایجاد جهش میس سنس (در ژن مربوطه) هستند که مطالعات دینامیک مولکولی کمتری بر روی آن‌ها انجام شده است، در حالی که بر روی برخی دیگر از محصول جهش‌های میس سنس پی-۵۳ مطالعات بیشتری انجام شده است [۲۱-۱۹]. در این پژوهش محصول یک جهش میس سنس یعنی R213G، برای انجام مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به صورت مقایسه‌ای با فرم طبیعی انتخاب شد. این جهش در دومین اتصالی به DNAپروتئین پی-۵۳ قرار دارد. چنان که در بخش روش اشاره شد، ساختاری کریستالوگرافی که برای این مطالعه انتخاب شد، شامل بخش ۹۴-۲۸۹ از کل توالی پروتئین پی-۵۳ انسانی را شامل می‌شود و این بزرگ‌ترین ساختاری است که تاکنون به صورت تجربی برای این پروتئین تعیین شده است. این ساختار با PDBID: 1TSR به صورت سه زیرواحدی در برهمکنش با DNA کریستال شده است. این مسئله یعنی در برهمکنش بودن هر زیر واحد با DNA در این پژوهش می‌تواند به نوعی مناسب باشد، زیرا هدف این مطالعه تعیین تغییرات در دینامیک ساختاری جهش R213G بود؛ لذا در شرایط فعلی می‌توان تغییرات حاصل را در کنفورماسیونی از پروتئین مورد مطالعه قرار داد که در مهم‌ترین حالت خود یعنی برهمکنش با DNA قرار دارد. البته در این مطالعات، زنجیره آ (A) موجود در ساختار PDB اولیه جداسازی شده و جهش انتخاب شده نیز با استفاده از همین زنجیره جدا شده ساخته شده است؛ اما کنفورماسیون این ساختار، کنفورماسیون اتصالی به DNA می‌باشد. دومینی از پروتئین که در ساختار PDB انتخاب شده یعنی 1TSR وجود دارد، دومین اتصال به DNA پروتئین پی-۵۳ است. این دومین، بزرگ‌ترین و مهم‌ترین دومین این پروتئین می‌باشد و بیشترین جهش‌های بیماری‌زای پی-۵۳ ناشی از جهش‌های میس سنس گوناگون در این دومین هستند.

نقش جهش یافته R213G پروتئین پی-۵۳ در برخی سرطان‌ها مانند سرطان‌های متاستاتیک ریه ثابت شده است [۱۰]. باقیمانده آرژنین ۲۱۳ که در این جهش یافته به گلایسین تبدیل می‌شود، در ابتدای رشته بتای اس-۷ (S7) دومین اتصالی به DNA پروتئین قرار دارد. نام‌گذاری قطعات ساختار دوم پروتئین در پژوهش Lukman و همکاران، قابل‌مشاهده است [۲۲]. سؤالاتی این مطالعه، شامل موارد زیر می‌شوند»:

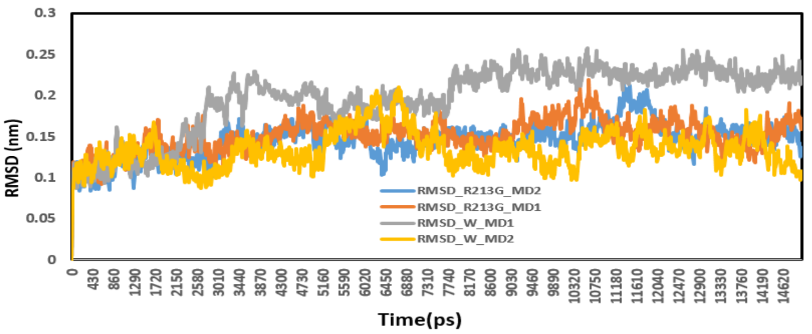
آیا این جهش می‌تواند انعطاف‌پذیری پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد؟

آیا این جهش می‌تواند قطر پروتئین را تغییر دهد و در کل روی پایداری پروتئین اثراتی بگذارد؟

در جستجوی پاسخی برای این سؤالات، در ادامه نتیجه چهار آنالیز RMSF، آر.ام.اس.دی، شعاع ژیراسیون و انرژی پتانسیل سیستم را ارائه کرده و مورد بررسی قرار داده شد.

آنالیز آر.ام.اس.دی. بر روی نتایج حاصل از چهار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای گونه وحشی دومین اتصالی به DNA پروتئین پی-۵۳ و جهش R213G این دومین انجام شد تا مشخص شود آیا مقدار این کمیت پایداری پروتئین در طول این شبیه‌سازی را تأیید می‌کند یا خیر؟ شکل ۱، نمودار آر.ام.اس.دی. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای R213G را در مقایسه با گونه وحشی پی-۵۳ دومین اتصالی به DNA نشان می‌دهد. آر.ام.اس.دی. نشان دهنده تغییرات کنفورماسیونی ساختار در مقایسه با اولین اسنپ شات ساختاری است؛ لذا نشان می‌دهد در طول شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به‌طورکلی پروتئین چقدر دچار تغییرات کنفورماسیونی می‌شود. با توجه به شکل ۱ همه شبیه‌سازی‌ها که شامل ۴ شبیه‌سازی ۱۵ نانوثانیه‌ای می‌شوند، در نیمه دوم زمان شبیه‌سازی، کم‌وبیش به حالت افقی در آمده‌اند و نوسان زیاد یا فرم صعودی یا نزولی جدی ندارند. البته ساختار پروتئین به گونه‌ای است که داشتن بخش‌های بدون ساختار دوم و لوپ زیاد یا پیچ‌های تصادفی (Random Coils) مثل قطعه ۹۴-۱۰۷ و ۱۶۴-۱۹۴ یا قطعاتی که در بخش بعدی به آن‌ها اشاره می‌شود تا حدودی می‌تواند باعث تغییرات دائمی و زیاد کنفورماسیونی شود.

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]



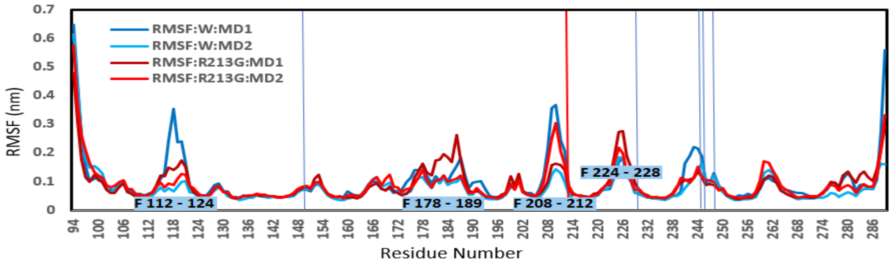
شکل ۱: آنالیز آر.ام.اس.دی. برای چهار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به مدت ۱۵ نانو ثانیه

منحنی‌های نارنجی روشن و خاکستری دو تکرار مربوط به گونه وحشی پروتئین پی–۵۳ دومین اتصالی به DNA می‌باشند و منحنی‌های نارنجی تیره و آبی مربوط به دو تکرار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای جهش R213G همان دومین از پروتئین پی–۵۳ می‌باشد.

با استفاده از نمودار آر.ام.اس.دی. نمی‌توان اطلاعات زیادی در مورد اثر جهش در ساختار جهش‌یافته به دست آورد و تنها می‌توان به طور نسبی تشخیص داد ساختار پروتئینی که در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی شرکت دارد در حال تخریب شدن یا بهتر بگوییم دناتوراسیون است یا خیر؟

RMSF آنالیزی است که نشان‌دهنده میزان انعطاف‌پذیری پروتئین در شبیه‌سازی است و می‌تواند انعطاف‌پذیری باقیمانده‌های پروتئینی را برای ما مشخص کند. در شکل ۲ مقدار RMSF کربن آلفا برای دو تکرار گونه وحشی و دو تکرار جهش‌یافته R213G قابل مشاهده می‌باشد. باقیمانده‌های دارای تفاوت معنی‌دار در انعطاف‌پذیری شامل سیستئین ۱۴۱، ترئونین ۱۵۰، گلایسین ۱۵۴، ترئونین ۱۵۵، پرولین ۲۲۲، ترئونین ۲۳۰، ترئونین ۲۳۱، هیستیدین ۲۳۳، آسپارژین ۲۳۹، سرین ۲۴۰ و آرژینین ۲۴۸ می‌باشند. بر روی این نمودار محل جهش و برخی باقیمانده‌های دارای تغییرات معنی‌دار آماری در انعطاف‌پذیری به ترتیب با خط عمودی قرمز و خطوط عمودی آبی مشخص شده‌اند.

نوسان‌های دیگری که در شکل دیده می‌شود و با مستطیل‌های آبی – قرمز مشخص شده‌اند مربوط به اثر جهش نیست و بیشتر مربوط به بخش‌هایی از پروتئین می‌شوند دارای ساختارهای دوم پایدار نیستند. باقیمانده آرژینین ۲۴۸ که جزو باقیمانده‌های دارای تغییرات معنی‌دار در انعطاف‌پذیری است جزو باقیمانده‌هایی از پروتئین پی–۵۳ می‌باشد که در برهمکنش با DNA نقش مستقیم دارد و در تماس با DNA قرار می‌گیرد، لذا می‌توان پیش‌بینی کرد که تغییرات انعطاف‌پذیری این باقیمانده در اثر جهش R213G احتمال دارد در توان برهمکنش پروتئین با DNA اثر بگذارد. البته اندازه کوچک گلاسین نسبت به آرژینین و تفاوت در بار الکتریکی این دو باقیمانده این احتمال را افزایش می‌دهد. قله‌های متغیر انعطاف‌پذیری در نمودار شکل ۲ که مربوط به قطعات ۱۱۲ – ۱۲۴، ۱۷۸ – ۱۸۹، ۲۰۸ – ۲۱۲ و ۲۲۴ – ۲۲۸ می‌شوند، تغییرات شدید؛ اما نامنظمی را از خود نشان می‌دهند. این قطعات شرکت مستقیم در باقیمانده‌های دارای تغییرات معنی‌دار آماری در انعطاف‌پذیری ندارند.

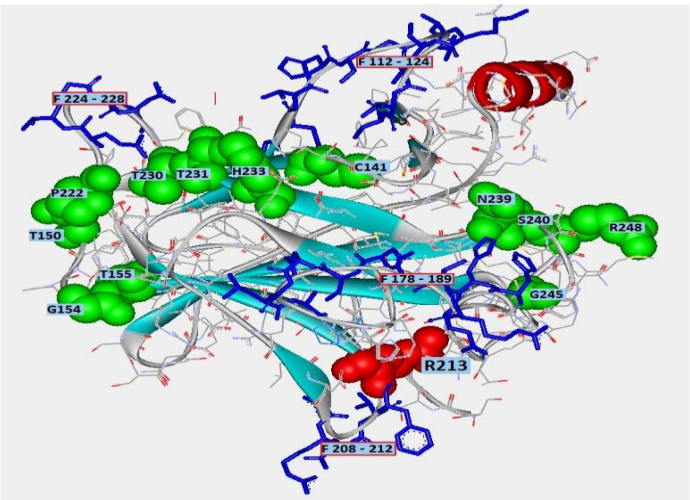


شکل ۲: آنالیز RMSF برای چهار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به مدت ۱۵ نانوثانیه

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

منحنی‌های سرمه‌ای و آبی دو تکرار مربوط به گونه وحشی پروتئین پی–۵۳ دومین اتصالی به DNA می‌باشند و منحنی‌های قرمز تیره و قرمز روشن، مربوط به دو تکرار شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای R213G می‌باشند. محور افقی شماره اسیدهای آمینه و عمودی مقدار RMSF برحسب نانومتر را مشخص می‌کند. خط عمودی قرمز جایگاه جهش R213G را نشان می‌دهد و خطوط عمودی آبی برخی از باقی‌مانده‌های دارای RMSF با تغییرات معنی‌دار در فرم جهش‌یافته را در مقایسه با گونه وحشی نشان می‌دهد. مستطیل‌های آبی که با حرف اف شروع می‌شوند محل لوپ ها یا رندم کویل‌هایی را نشان می‌دهد که انعطاف‌پذیری زیاد با تغییرات غیرقابل‌پیش‌بینی داشته‌اند.

شکل ۳ محل قرارگیری تغییرات معنی‌دار RMSF و محل باقیمانده جهش‌یافته را نشان می‌دهد. باقیمانده‌های دارای تفاوت انعطاف‌پذیری ناشی از جهش R213G که در بالا ذکر شدند ۱۱ مورد می‌باشند. چنان که دیده می‌شود این باقیمانده‌ها عموماً نزدیک محل جهش نیستند، اما همه آن‌ها در قطعه ۲۲۰–۲۵۰ قرار دارند یا در مجاورت این قطعه قرارگرفته‌اند (تی–۱۵۰ و سی–۱۴۱). جی–۱۵۴ و تی–۱۵۵ هم همسایه بخش نام برده به حساب می‌آیند و هم به فاصله نزدیکی پس از تی–۱۵۰ قرار گرفته‌اند. قطعه ۲۲۰ – ۲۵۰ شامل یک لوپ سپس یک رشته بتا و بعد از آن یک لوپ دیگر است که بعد از رشته بتای اس–۷ قرار گرفته اند و چنان که قبلاً هم اشاره شد، جهش دقیقاً در ابتدای رشته بتای اس–۷ قرار دارد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این جهش انعطاف‌پذیری برخی از باقیمانده‌ها را در بخشی که پس از جهش قرار گرفته است تغییر داده؛ اما این تغییرات به رشته بتای اس–۷ وارد نشده است. در هر صورت این جهش توانسته است انعطاف‌پذیری ۱۱ باقی‌مانده دومین اتصالی به DNA را تغییر دهد. این باقیمانده‌ها چنان که در شکل ۴–۳ قابل مشاهده است، بیشتر در سطح پروتئین قرار گرفته‌اند. این می‌توان نتیجه گرفت که جهش R213G می‌تواند دست کم برخی از عملکردهای این باقیمانده‌های سطحی را تغییر دهد. گستره تغییرات ناشی از این جهش همچنین نشان دهنده پیچیدگی ساختار این دومین است، به گونه‌ای که یک جهش می‌تواند رفتار تعداد زیادی از باقیمانده‌های این دومین را که به فاصله یک رشته بتا از باقی‌مانده جهش یافته قرار دارند تغییر دهد.



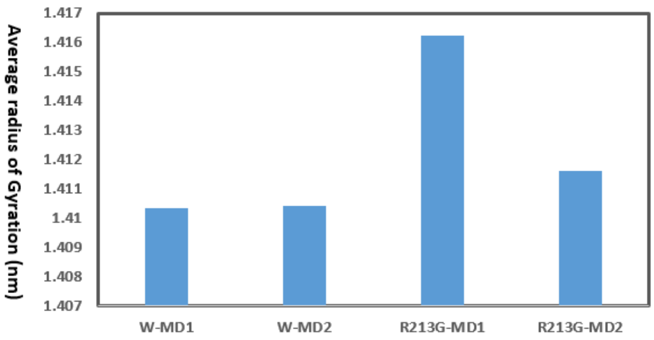
شکل ۳: نقاط معنی‌دار در آنالیز RMSF برای R213G در مقایسه با گونه وحشی بر روی ساختار سه‌بعدی دومین اتصالی DNA پروتئین P53

باقیمانده قرمز محل جهش و باقیمانده‌های سبزرنگ محل تغییرات انعطاف‌پذیری R213G نسبت به گونه وحشی را نشان می‌دهند. ریبون قرمز رنگ آلفا هلیکس را نشان می‌دهد و آبی فیروزه‌ای رشته‌های بتا را نشان می‌دهند. ریبون‌های خاکستری لوپ‌ها و رندوم کویل را نشان می‌دهند. بخش‌هایی که با مدل میله‌ای به رنگ سرمه‌ای مشخص شده‌اند لوپ‌ها یا رندم کویلی را نشان می‌دهند که انعطاف‌پذیری آن‌ها در چهار شبیه‌سازی انجام شده به مقدار زیاد و به صورت غیرقابل پیش‌بینی تغییر کرده است. مستطیل‌های آبی–قرمز طول این قطعات را نشان می‌دهند.

شعاع ژیراسیون نمادی از شعاع تقریبی پروتئین است. بررسی میانگین شعاع ژیراسیون در طول شبیه‌سازی نشان می‌دهد که این کمیت برای این فرم جهش‌یافته نسبت به گونه وحشی افزایش یافته است. چنان که در شکل ۴ مشاهده می‌شود میانگین شعاع ژیراسیون در طول شبیه‌سازی برای دو تکرار R213G نسبت به دو تکرار گونه وحشی افزایش یافته است. این مسئله می‌تواند نشانه‌ای از کاهش پایداری پروتئین باشد.

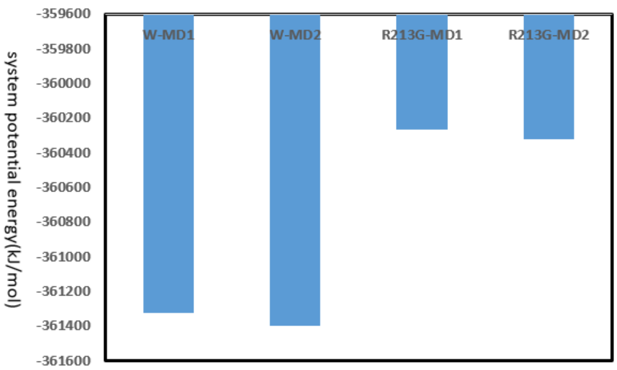
[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

شکل ۵ که میانگین انرژی پتانسیل کل سیستم در طول شبیه‌سازی را نشان می‌دهد، به روشنی بیان می‌کند که انرژی پتانسیل کل سیستم در طول شبیه‌سازی برای R213G نسبت به گونه وحشی افزایش یافته است. با توجه به این که افزایش انرژی پتانسیل یک سیستم نشان دهنده کاهش پایداری آن سیستم است، می‌توان نتیجه گرفت که پایداری R213G در مقایسه با گونه وحشی در طول این شبیه‌سازی‌ها کمتر شدن را نشان می‌دهد.



شکل ٤: مقادیر میانگین شعاع ژیراسیون در طول شبیه‌سازی

دو ستون سمت چپ برای دو تکرار گونه وحشی و دو ستون سمت راست برای دو تکرار جهش یافته R213G هستند.



شکل ۵: میانگین انرژی پتانسیل کل سیستم در طول ۱۵ نانوثانیه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

دو ستون سمت چپ برای دو تکرار گونه وحشی و دو ستون سمت راست برای دو تکرار R213G هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

ثابت شده است که بسیاری از جهش‌های میس سنس پروتئین پی-۵۳ از جمله R213G در ایجاد انواعی از سرطان حضور داشته و نقش دارند. ثابت شده است R213G در سرطان‌های متاستاتیک ریوی می‌تواند نقش داشته باشد [۱۰]؛ لذا بررسی و کشف تغییرات مولکولی که این جهش‌ها از جمله R213G به جای می‌گذارند، علاوه بر دانشی که در این مورد حاصل می‌کند، می‌تواند ما را یاری کند تا بتوان بر اساس اطلاعاتی که حاصل می‌شود، تغییرات توانایی این پروتئین مهم در برهمکنش با دیگر درشت مولکول‌های زیستی را پیشگویی شود. مثلاً چنان که در بخش نتایج گفته شد، آرژنین ۲۴۸ که در این پژوهش مشخص شد در اثر جهش R213G دچار تغییر در میزان انعطاف‌پذیری شده است، جزو باقیمانده‌های با تماس مستقیم با DNA است. همچنین بررسی ساختار کریستالوگرافی با PDBID: 1GZH [۲۳]، نشان می‌دهد این باقیمانده در برهمکنش با دومین BRCT از پروتئین 53BP1 شرکت دارد. از سوی دیگر، چنین اطلاعاتی می‌توانند در آینده به محققین در طراحی داروهایی که بر اساس جزئیات

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

برهمکنش بین پی-۵۳ با دیگر درشت مولکول‌ها طراحی می‌شوند کمک کند. به طور مثال ناتالین‌ها (Nutlins) آنالوگ‌های سیس-ایمیدازول هستند که از برهمکنش پروتئین MDM2 با پی-۵۳ ممانعت می‌کنند. MDM2 پروتئینی است که فعالیت‌های پی-۵۳ را مهار می‌کند [۲۵، ۲۴].

بررسی نتایج حاصل از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در این پژوهش نشان می‌دهد، تغییرات ناشی از جهش R213G قابل‌توجه هستند. این تغییرات شامل تغییر در انعطاف‌پذیری ۱۱ باقیمانده دومین اتصالی به DNA، تغییر شعاع ژیراسیون و همچنین انرژی پتانسیل کل سیستم است که دو مورد آخر می‌توانند نشانی از کاهش پایداری این دومین در اثر جهش R213G باشند. البته به عنوان پیشنهادهایی برای مطالعات آینده بهتر است زمان‌ها و تکرارهای بیشتر برای چنین مطالعه‌ای صورت گیرد تا اطمینان بیشتری از نتایج به دست آمده حاصل شود. البته با توجه به این که دو تکرار محاسبات در مواردی که تأکید شده یکدیگر را تأیید می‌کنند، نتایج ارائه شده قابل‌توجه هستند. افزایش شعاع ژیراسیون و کاهش پایداری در اثر جهش R213G می‌تواند به معنای ایجاد تغییرات جدی در رفتار این دومین از پروتئین پی-۵۳ باشند. البته باید توجه داشت که کل پروتئین پی-۵۳ شامل بخش‌های دیگری می‌شود و از نظر ساختاری دیگر بخش‌های این پروتئین به اندازه دومین اتصالی به DNA دارای ساختار منظم نیستند؛ بنابراین باید توجه داشت که کل پروتئین پی-۵۳ دارای ساختار بسیار پیچیده است که تا امروز حتی به صورت کامل امکان تعیین ساختار این پروتئین با استفاده روش‌های تجربی وجود نداشته است [۲۶]. در مجموع می‌توان گفت تغییرات در انعطاف‌پذیری ۱۱ باقیمانده که در بخش گسترده‌ای از این دومین گسترش یافته‌اند (و بر اساس شکل ۳ می‌تواند دید که بسیاری از آن‌ها بیشتر باقیمانده‌های سطحی هستند)، همچنین افزایش شعاع دومین، تحت تأثیر جهش R213G و افزایش انرژی پتانسیل سیستم که هر دو نشانه کاهش پایداری پروتئین هستند، بیانگر این است که این جهش می‌تواند تغییرات قابل‌توجهی در برهمکنش گونه وحشی دومین اتصالی به DNA پروتئین پی-۵۳ با دیگر درشت مولکول‌ها از جمله DNA و پروتئین‌های دیگر ایجاد کند و این مسئله می‌تواند باعث ایجاد تغییر در عملکردهای بسیار زیاد و متنوع پروتئین شود. بر این اساس می‌تواند درک کرد که چگونه چنین جهشی می‌تواند باعث ایجاد GOF و در نهایت سرطان‌زایی شود.

در آنالیز انعطاف‌پذیری که نتایج در نمودار شکل ۲ دیده شد، بخش‌هایی وجود دارد که تغییرات قابل توجهی بعضاً در چهار شبیه‌سازی نشان می‌دهند، اما در این مطالعات بر اساس آزمون‌های آماری که گرفته شده است، مشخص شده است که این تغییرات ناشی از جهش R213G نیستند. چهار مورد از این نواحی که بیشترین این تغییرات را نشان می‌دهند با مستطیل‌های آبی در شکل ۲ و با مستطیل‌های آبی-قرمز در شکل ۳ مشخص شده‌اند. بر اساس بررسی ساختار کریستالوگرافی 1TSR مشخص شد این نواحی اساساً لوپ‌ها یا رندم کویل هستند؛ لذا انعطاف‌پذیری زیاد آن‌ها و احتمالاً نداشتن ساختار دوم یا بعضاً نداشتن ساختار دوم پایدار، می‌تواند باعث ایجاد این رفتار شود. چنین رفتارهایی در نتایج شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی در مطالعه Taghizadeh و همکاران برای پروتئین CDK2 انسانی مورد بررسی قرار گرفته است [۲۷].

پژوهش‌های زیادی با استفاده از تکنیک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بر روی دومین اتصالی به DNA پروتئین پی-۵۳ انجام شده است و برخی از آن‌ها بر روی مقایسه تایپ وحشی این دومین با یک یا چند جهش یافته این دومین صورت گرفته‌اند [۱۴-۱۱]. در این پژوهش نیز مطالعه بر روی همین دومین در مقایسه با یکی از جهش یافته‌های سرطان‌زای این پروتئین یعنی R213G که تاکنون مورد مطالعه ساختاری یا شبیه‌سازی دینامیک مولکولی قرار نگرفته است، متمرکز شد. برخی از مطالعات قبلی، نتایجی مشابه، اما برای جهش یافته‌های دیگر به دست آورده یا گزارش کرده‌اند. مطالعه Bromley و همکاران که بر روی Y220C صورت گرفته است، گزارش می‌کند که این جهش باعث کاهش پایداری پروتئین می‌شود [۱۱]. این در حالی است که نتایج پژوهش حاضر هم نشان داد که جهش مورد مطالعه یعنی R213G باعث کاهش پایداری دومین اتصالی به DNA پروتئین پی-۵۳ می‌شود. در مطالعه‌ای دیگری که در سال ۲۰۰۷ بر روی مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی این دومین در حالت متصل به DNA و آزاد از اتصال به آن صورت گرفته است، دیده می‌شود که RMSD در هر دو حالت دومین، دارای نوسان‌هایی است که گاه به دامنه نیم آنگستروم می‌رسد [۱۴]. در مطالعاتی که در این پژوهش صورت گرفت، برای این دومین RMSD با ماکزیمم دامنه نوسان ۰/۱ یا ۰/۱۵ آنگستروم مشاهده می‌شود. احتمالاً یکی از دلایل کمتر بودن این نوسان،

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

پیشرفت نرم‌افزارهای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مانند گرومکس و میدان نیروی یا Force Field مورداستفاده در این پژوهش است. این میدان نیرو خود در سال ۲۰۱۰ منتشر شده است و پس از آن در نرم‌افزار گرومکس استفاده شده است [۲۸].

تشکر و قدردانی

با تشکر از دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دپارتمان زیست‌فناوری که رایانه مدرن جهش انجام محاسبات لازم برای این پژوهش را فراهم نمودند.

تعارض منافع

موردی برای تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Nooridaluiie MR, Abdollah Zadeh R. Role of p53 in Apoptosis and Cancer Therapy. Horizon Med Sci. 2014; 20(3): 191-201. [In Persian]

2. Turnpenny PD, Ellard S, Cleaver R, Mbchb BS. Principles of medical genetics Emery's elements of medical genetics. Translated by: Noori Daloii MR. 14th ed. Tehran: Jame-e-Negar; 2012. [In Persian]

3. Hines J, Lartigue S, Dong H, Qian Y, Crews CM. MDM2-Recruiting PROTAC Offers Superior, Synergistic Antiproliferative Activity via Simultaneous Degradation of BRD4 and Stabilization of p53. Cancer Res 2019;79(1):251-62. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2918

4. Bouchet BP, de Fromentel CC, Puisieux A, Galmarini CM. p53 as a target for anti-cancer drug development. Crit Rev Oncol Hematol 2006;58(3):190-207. doi: 10.1016/j.critrevonc.2005.10.005

5. Cao X, Hou J, An Q, Assaraf YG, Wang X. Towards the overcoming of anticancer drug resistance mediated by p53 mutations. Drug Resist Updat 2020;49:100671. doi: 10.1016/j.drup.2019.100671

6. Zhang C, Liu J, Xu D, Zhang T, Hu W, Feng Z. Gain-of-function mutant p53 in cancer progression and therapy. J Mol Cell Biol 2020;12(9):674-87. doi: 10.1093/jmcb/mjaa040

7. Lu C, El-Deiry WS. Targeting p53 for enhanced radio-and chemo-sensitivity. Apoptosis. 2009;14(4):597-606. doi: 10.1007/s10495-009-0330-1

8. Sabapathy K, Lane DP. Therapeutic targeting of p53: all mutants are equal, but some mutants are more equal than others. Nat Rev Clin Oncol 2018;15(1):13-30. doi: 10.1038/nrclinonc.2017.151

9. Malkin D. Li-Fraumeni Syndrome and p53 in 2015: Celebrating their Silver Anniversary. Clin Invest Med 2016;39(1):E37-47. doi: 10.25011/cim.v39i1.26328

10. Muller PA, Vousden KH. Mutant p53 in Cancer: New Functions and Therapeutic Opportunities. Cancer Cell 2014; 25(3): 304–17. doi: 10.1016/j.ccr.2014.01.021

11. Bromley D, Bauer MR, Fersht AR, Daggett V. An in silico algorithm for identifying stabilizing pockets in proteins: test case, the Y220C mutant of the p53 tumor suppressor protein. Protein Eng Des Sel 2016;29(9):377-90. doi: 10.1093/protein/gzw035

12. Rohani L, Morton DJ, Wang XQ, Chaudhary J. Relative stability of wild-type and mutant p53 core domain: A molecular dynamic study. J Comput Biol 2016;23(2):80-9. doi: 10.1089/cmb.2015.0163

13. Liu X, Tian W, Cheng J, Li D, Liu T, Zhang L. Microsecond molecular dynamics simulations reveal the allosteric regulatory mechanism of p53 R249S mutation in p53-associated liver cancer. Comput Biol Chem 2020;84:107194. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2019.107194

14. Lu Q, Tan YH, Luo R. Molecular dynamics simulations of p53 DNA-binding domain. J Phys Chem B. 2007;111(39):11538-45. doi: 10.1021/jp0742261

15. Burley SK, Berman HM, Bhikadiya C, Bi C, Chen L, Di Costanzo L, et al. RCSB Protein Data Bank: biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy. Nucleic Acids Res 2019;47(D1):D464-D74. doi: 10.1093/nar/gky1004

16. Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJ. GROMACS: fast, flexible, and free. J Comput Chem 2005;26(16):1701-18. doi: 10.1002/jcc.20291

17. Kutzner C, Páll S, Fechner M, Esztermann A, de Groot BL, Grubmüller H. More bang for your buck: Improved use of GPU nodes for GROMACS 2018. Journal of Computational Chemistry 2019; 15;40(27): 2418-31. https://doi.org/10.1002/jcc.26011

18. Lobanov MY, Bogatyreva NS, Galzitskaya OV. Radius of gyration is indicator of compactness of protein structure. Mol Biol (Mosk) 2008;42(4):701-6. [In Russian]

19. Kholmurodov K, Dushanov E, Yasuoka K. MD Simulations of the P53 oncoprotein structure: the effect of the Arg273→His mutation on the DNA binding domain. Advances in Bioscience and Biotechnology 2011; 13;2(05): 330-5. doi:10.4236/abb.2011.25048

20. Lepre M, Omar S, Grasso G, Morbiducci U, Deriu M, Tuszynski J. Insights into the Effect of the G245S Single Point Mutation on the Structure of p53 and the Binding of the Protein to DNA. Molecules 2017;22(8):1358. doi: 10.3390/molecules22081358

21. Demir Ö, Baronio R, Salehi F, Wassman CD, Hall L, Hatfield GW, et al. Ensemble-based computational approach discriminates functional activity of p53

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

cancer and rescue mutants. PLoS Comput Biol 2011;7(10):e1002238.
doi: 10.1371/journal.pcbi.1002238

22. Lukman S, Lane DP, Verma CS. Mapping the structural and dynamical features of multiple p53 DNA binding domains: insights into loop 1 intrinsic dynamics. PLoS One 2013;8(11):e80221. doi: 10.1371/journal.pone.0080221

23. Derbyshire DJ, Basu BP, Serpell LC, Joo WS, Date T, Iwabuchi K, et al. Crystal structure of human 53BP1 BRCT domains bound to p53 tumour suppressor. EMBO J 2002;21(14):3863-72. doi: 10.1093/emboj/cdf383

24. Popowicz GM, Dömling A, Holak TA. The structure-based design of MDM2/MDMX–p53 inhibitors gets serious. Angew Chem Int Ed Engl 2011;50(12):2680-8. doi: 10.1002/anie.201003863

25. Natarajan U, Venkatesan T, Dhandayuthapani S, Dondapatti P, Rathinavelu A. Differential mechanisms involved in RG-7388 and Nutlin-3 induced cell death in SJSA-1 osteosarcoma cells. Cell Signal 2020;75:109742. doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109742

26. Demir Ö, Ieong PU, Amaro RE. Full-length p53 tetramer bound to DNA and its quaternary dynamics. Oncogene 2017;36(10): 1451-60.

27. Taghizadeh M, Goliaei B, Madadkar-Sobhani A. Variability of the Cyclin-Dependent Kinase 2 Flexibility without Significant Change in the Initial Conformation of the Protein or Its Environment; a Computational Study. Iran J Biotechnol 2016;14(2):1-12. doi: 10.15171/ijb.1419

28. Lindorff-Larsen K, Piana S, Palmo K, Maragakis P, Klepeis JL, Dror RO et al. Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field. Proteins 2010; 78(8): 1950-8. doi: 10.1002/prot.22711

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]

Original Article

Journal of Health and Biomedical Informatics
Medical Informatics Research Center
2021; 8(1):105-116

Comparative Investigation of R213G Mutation in DNA-Binding Domain of P53 Protein via Molecular Dynamics Simulation

Akbari Elham[1], Taghizadeh Mohammad[2]*, Nemati Fahimeh[3]

• **Received:** 13 Sep 2020 • **Accepted:** 4 Jan 2021

Introduction: P53 is a tumor suppressor protein with numerous missense mutations identified in its gene. These mutations are observed in a vast number of cancers. R213G is one of them which has a role in metastatic lung cancers. In this research, R213G was studied in comparison with the wild type via molecular dynamics simulation.

Method: For the three-dimensional structure of the wild-type P53 protein, chain A was used from crystallographic structure with PDB ID: 1TSR. For R213G mutation, residue 213 of this structure was changed to glycine. Molecular dynamics simulation was repeated twice for 15 ns using Gromacs 5.1.2 software package, AMBER99SB force field, and TIP3P as water model. RMSD, RMSF, radius of gyration, and potential energy analyses were performed on resulted trajectories.

Results: RMSF analysis showed that the R213G mutation changes the flexibility of 11 residues including R-248. These residues are not near the mutated position, but all of them are located on 220-250 fragment of this domain or are residues in the neighbor of this fragment. The radius of gyration and potential energy results confirmed a reduction in stability of this protein as a result of this mutation.

Conclusion: RMSF analysis of R213G mutation beside the changes in stability and radius indicated that this mutation could greatly affect the P53 interactions with other macromolecules.

Keywords: Root Mean Square Fluctuation (RMSF), Protein Flexibility, P53 Protein, Missense Mutation, Molecular dynamics simulation

• **Citation:** Akbari E, Taghizadeh M, Nemati F. Comparative Investigation of R213G Mutation in DNA-Binding Domain of P53 Protein via Molecular Dynamics Simulation. Journal of Health and Biomedical Informatics 2021; 8(1): 105-16. [In Persian]

1. M.Sc. in Microbial Biotechnology, Biotechnology Dept., Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Ph.D. in Bioinformatics, Visiting Professor, Biotechnology Dept., Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Assistant Professor, Biotechnology Dept., Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

***Corresponding Author:** Mohammad Taghizadeh
Address: Shahid Khaghani (Zargandeh) St., Shariati Ave., Tehran, Iran
• **Tel:** +982122006661 • **Email:** mtaghizadeh@Alumni.ut.ac.ir

[Downloaded from jhbmi.ir on 2025-12-09]