

**PERANAN EKSPRESI p53 NUKLEUS DALAM MEMEDIASI APOPTOSIS SEL  
KANKER PAYUDARA MCF-7 SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI  
*Typhonium flagelliforme* (KELADI TIKUS) FRAKSI DIKLOROMETANOLIK**

**THE ROLE OF NUCLEAR p53 EXPRESSION-MEDIATED APOPTOTIC ON  
HUMAN MCF-7 BREAST CANCER CELL FOLLOWING TREATMENT BY  
TUBER EXTRACT OF *Typhonium flagelliforme* DCM FRACTION**

Agung Putra

Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

**ABSTRAK**

Sel kanker payudara MCF-7 mempunyai p53 *wild type*, namun tidak mudah mengalami apoptosis-dependent p53. Sebagai "guardian of genome" p53 merupakan pusat sejumlah jalur signaling, dari kerusakan dasar tingkat DNA, dengan mengikat sekwens spesifik DNA dan transaktivasi sejumlah gen, menyebabkan penundaan sementara siklus sel atau mentrigger kematian sel apoptosis. Disamping aktivitas nukleus, p53 juga mempunyai aktivitas sitosolik dan transkripsi-independent yang juga berhubungan dengan apoptosis. *Typhonium flagelliforme* yang dikenal sebagai keladi tikus di Indonesia, berperan dalam tertahannya siklus sel, atau mentrigger apoptosis. Tujuan penelitian adalah menilai tingkat ekspresi p53, juga lokasi subselulernya untuk menginvestigasi hubungan apoptosis dependent atau independent p53 pada sel MCF-7 setelah diberi perlakuan. Penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* pada sel MCF-7, dengan rancangan *post test control group only design*, dibagi 2 kelompok dan diinkubasi dalam 10 jam dan 20 jam. Kelompok kontrol tidak mendapatkan perlakuan, sedangkan kelompok perlakuan mendapatkan ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 62,08 g/mL (IC<sub>50</sub>), dan dianalisis dengan metode imunositokimia untuk melihat ekspresi p53. *Paired Sample T test* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol ( $p < 0,01$ ), dan peningkatan ekspresi p53 nukleus pada inkubasi 20 jam. Peningkatan ekspresi p53 nukleus berperan dalam apoptosis pada sel MCF-7 yang diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM.

**ABSTRACT**

*Human MCF-7 breast cancer cells have p53-wild type, yet it does not readily undergo p53-dependent apoptosis. As "guardian of genome" p53 is at the hub of numerous signalling pathways of baseline level DNA damage, by binding to specific DNA sequences and transactivates a number of genes to lead into the transient cell cycle arrest or triggering apoptotic cell death. In addition to nuclear activity, p53 also possesses some cytosolic and transcription-independent activities that was also associated with apoptotic. Typhonium flagelliforme, more commonly known as Keladi Tikus in Indonesia, plays a role for the cell-cycle arrest or trigger for apoptosis. The aimed of study is having assessed the expression levels of p53, as well as cellular localization to investigate the correlation of apoptotic-dependent or independent p53 on the MCF-7 cells following treatment. This study adapts laboratory experimental in-vitro in MCF-7 cells, with "post test control group only design," and divided into two groups, were incubated in 10h and 20h. The control group received no other treatment. The treatment group received the tuber extract of Typhonium flagelliforme DCM fraction, in 62,08 g/mL (IC<sub>50</sub>), followed by Immunocytochemical analysis to observe the expression of p53. Sample T test shows a significant differences in treatment groups compared with the controls ( $p < 0,01$ ), There were increased in the expression of nuclear p53. The increasing of nuclear p53 plays a role in apoptotic on MCF-7 cells following treatment tuber extract of Typhonium flagelliforme DCM fraction. p53, MCF-7 cell, tuber extract of Typhonium flagelliforme DCM Fraction.*

## PENDAHULUAN

Protein tumor supressor p53 merupakan pusat sejumlah jalur signal transaktivasi gen yang berfungsi sebagai “*guardian of genome*,” (Efeyan, 2007) terhadap gangguan/kerusakan tingkat DNA, dengan cara mentransaktivasi p21, menyebabkan penundaan siklus sel untuk memberi kesempatan DNA repair bekerja (Zhou *et al.*, 2001). Pada sisi lain p53 juga mentransaktivasi PUMA dan atau Bax, mentrigger kematian sel secara apoptosis (Cory and Adams, 2002), dengan demikian stabilitas genomik selalu terjaga. Meskipun demikian p53 juga mempunyai aktivitas sitoplasmik (Green and Kroemer, 2009) dan transkripsi-independent, yang juga berhubungan dengan apoptosis. Sehubungan dengan pentingnya peranan p53, hampir separuh penyakit kanker manusia mengalami mutasi p53 inaktif (Sigal and Rotter, 2000), sedangkan sebagian lainnya terjadi deaktivasi jalur p53 baik dengan meningkatnya inhibitor, penurunan aktivator maupun inaktivasi target downstreamnya (Green and Kroemer, 2009). Sel kanker payudara MCF-7 sendiri mempunyai p53 wild type, namun tidak mudah berespon dengan p53-dependent apoptosis, bahkan resisten terhadap stimulus proapoptosis, dan resisten terhadap multidrug anti kanker (Gadek *et al.*, 2011). Diduga hal ini akibat instabilitas genetik, berakibat pada insensitivitas terhadap signal antiproliferasi, dan resistensi terhadap signal apoptosis (Harper *et al.*, 2010), sehingga merupakan problem serius dalam upaya penanganan tumor.

Wtp53 (p53 *wild type*), yaitu sebuah gen tumor *suppressor*, dengan 11 exon dan 10 intron, dalam kromosom 17p13.1 (Isobe *et al.*, 1986). Dalam keadaan normal protein p53 berada dalam konsentrasi rendah di nuklues, dan meningkat tinggi saat terjadinya kerusakan DNA, aberasi kromosom, aktivasi onkogen tertentu, hipoksia dan atau pemendekan telomer. Keadaan ini memicu terekspresinya phosphoprotein nuklear dengan berat 53 kD, yang berfungsi sebagai protein faktor transkripsi untuk mengikat sekwens spesifik DNA, dan mentransaktivasi sejumlah target gen p53, termasuk tertahannya siklus sel, apoptosis, dan atau induksi perubahan metabolisme (Riley *et al.*, 2008). Secara struktural p35 terdiri atas struktur N-terminus untuk transaktivasi (residu 1-42), *central core* untuk DNA-binding (residu 102-292), dan C-terminus untuk teramerization dan regulator (Bai and Zhu, 2006).

Kemampuan sel kanker meregulasi ekspresi p53 dalam upaya merestorasi fungsi apoptosis secara normal diperlukan dalam optimalisasi pengobatan. Untuk itu

upaya menemukan senyawa yang memiliki karakteristik seperti tersebut diatas pada berbagai tanaman menjadi salah fokus kajian penelitian. Tanaman keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) yang sering digunakan dalam mengobati berbagai penyakit, termasuk penyakit tumor. Kandungan kimia *Typhonium flagelliforme* sangat tergantung pada pelarutnya, dengan pelarut *dicholoromethan* didapatkan *hexadeconoid acid*, *1-hexadecene*, *phytol* dan derivat *phytol*, *linoleic acid*, *9-hexadecanoic acid*, (Choon, 2008; Syam, 2010a) yang pada kadar  $IC_{50}$  dapat menghambat proliferasi sel tumor (Syam, 2010b) dan mampu menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 (Putra, 2011). Penelitian ini menganalisis ekspresi p53 dan lokasi subselulernya, untuk melihat hubungan apoptosis dependent atau independent p53 setelah perlakuan.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian berupa eksperimental laboratorik *in vitro* pada sel kanker payudara MCF-7 dengan rancangan *post test control group only design*, dibagi 2 kelompok dan diinkubasi selama 10 jam dan 20 jam. Kelompok kontrol tidak mendapatkan perlakuan, sedangkan kelompok perlakuan diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 62,08 g/mL( $IC_{50}$ ), dan selanjutnya dianalisis dengan metode imunositokimia untuk melihat ekspresi p53.

### **Bahan tanaman**

Berupa umbi segar *Typhonium flagelliforme*, hasil budidaya Taman Marina Semarang tahun 2011 dan telah dideterminasi di Fakultas Biologi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan UGM, Yogyakarta.

### **Ekstraksi *Typhonium flagelliforme***

Umbi *Typhonium flagelliforme* segar dicuci, dikeringkan suhu 45 °C dalam 48 jam dan dihaluskan hingga diperoleh serbuk, kemudian diekstraksi maserasi dengan pelarut *diklorometan* (Choon, 2008; Syam, 2010a; Syam, 2010b; Putra, 2011), diuapkan pada suhu 70 °C diperoleh ekstrak pekat dan ditimbang.

### **Pembuatan larutan stok, larutan induk dan larutan uji**

Ekstrak umbi 5 mg dan 50  $\mu$ l DMSO dilarutkan hingga diperoleh larutan stok  $10^5$  g/mL. Larutan stok 20  $\mu$ l dan 980  $\mu$ l RPMI menjadi larutan induk. Larutan induk 500  $\mu$ l dimasukkan dalam *effendrof* ke-1 berisi 500  $\mu$ l RPMI dan seterusnya secara bertingkat hingga *effendrof* ke-8, diperoleh larutan uji 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 g/mL.

### **Proses *thawing*, inisiasi dan panen kultur *cell-line* MCF-7**

Sel MC-7 dari tangki nitrogen cair, dicairkan suhu 37°C, pindahkan ke MK (media RPMI dengan FBS 10%, 100 g/ml streptomisin, 100 unit/ml penisilin), sentrifugasi, dan inkubasi suhu 37 °C dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam. Panen sel dilakukan setelah membentuk *monolayer* konfluens 80%, dengan cara buang media, cuci sel dengan PBS 3,5 mL, tambahkan Tripsin-EDTA 1 ml, media RPMI 14 ml dan sentrifugasi 10 menit.

### **Uji sitotoksitas dengan MTT**

Sebanyak 100  $\mu$ l suspensi sel (berisi  $2 \times 10^4$  *cell-line* MCF-7) didistribusikan ke dalam 96 *well plate*, masukan 100  $\mu$ l MK berisi larutan uji secara (triplo), kontrol dengan DMSO 0,1%. Inkubasi 48 jam, tambahkan MTT 100  $\mu$ l dan inkubasi 4 jam, tambahkan *stopper* 100  $\mu$ l SDS 10%, inkubasi 12 jam, dan dibaca dengan *ELISA reader* pada  $\lambda=595$  nm,

### **Pemeriksaan ekspresi p53 dengan metode Imunositokimia**

Sebanyak 1000  $\mu$ l suspensi sel (berisi  $5 \times 10^4$  sel/ 1000  $\mu$ l MK) distribusikan diatas *cover slip*, inkubasi 12 jam, cuci sel dengan PBS 500  $\mu$ l, masukan 1000  $\mu$ l MK berisi 62,08 g/ml (IC<sub>50</sub>) ekstrak umbi, sisakan satu kontrol positif dan satu kontrol negatif, setelah itu inkubasi 10 jam dan 20 jam, *cover slip* diangkat dan fixasi dengan metanol dingin, cuci dengan PBS, teteskan *blocking solution*, *prediluted blocking serum*. Terakhir dengan pengecatan *Monoclonal Anti-Human p53*. Ekspresi p53 dinilai dengan *skoring*, meliputi intensitas warna inti atau sitoplasma dengan kriteria: Tidak berwarna = 0, lemah (L)= 1, sedang (S)= 2, kuat (K)= 3, skore dihitung dengan rumus IDS: (3 x % K) + (2 x % S) + (1 x %L), dengan nilai maksimal 300 (Winters *et al.*, 2001).

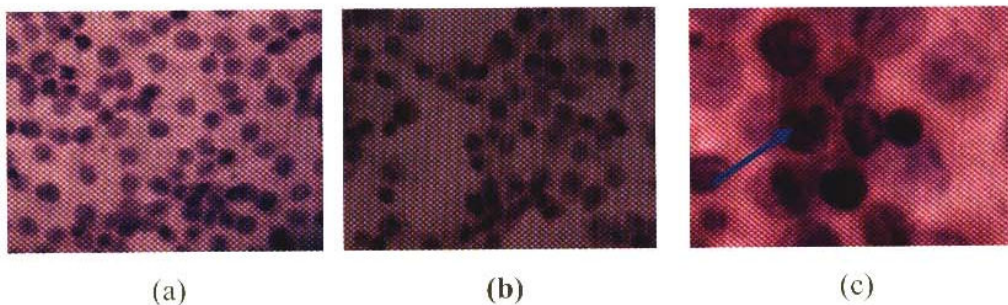
### Analisis data

Data disajikan dalam diskripsi statistik, dan dilakukan normalitas data dengan “uji *Shapiro Wilks*,” kemudian uji beda *Paired sample T test*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis ekspresi p53 dengan metode Imunositokimia

Ekspresi p53 pada sel MCF-7, setelah diberi perlakuan berupa ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 63,08 µg/mL (IC<sub>50</sub>) dinilai menggunakan imunositokimia dapat dilihat pada **Gambar 1**.



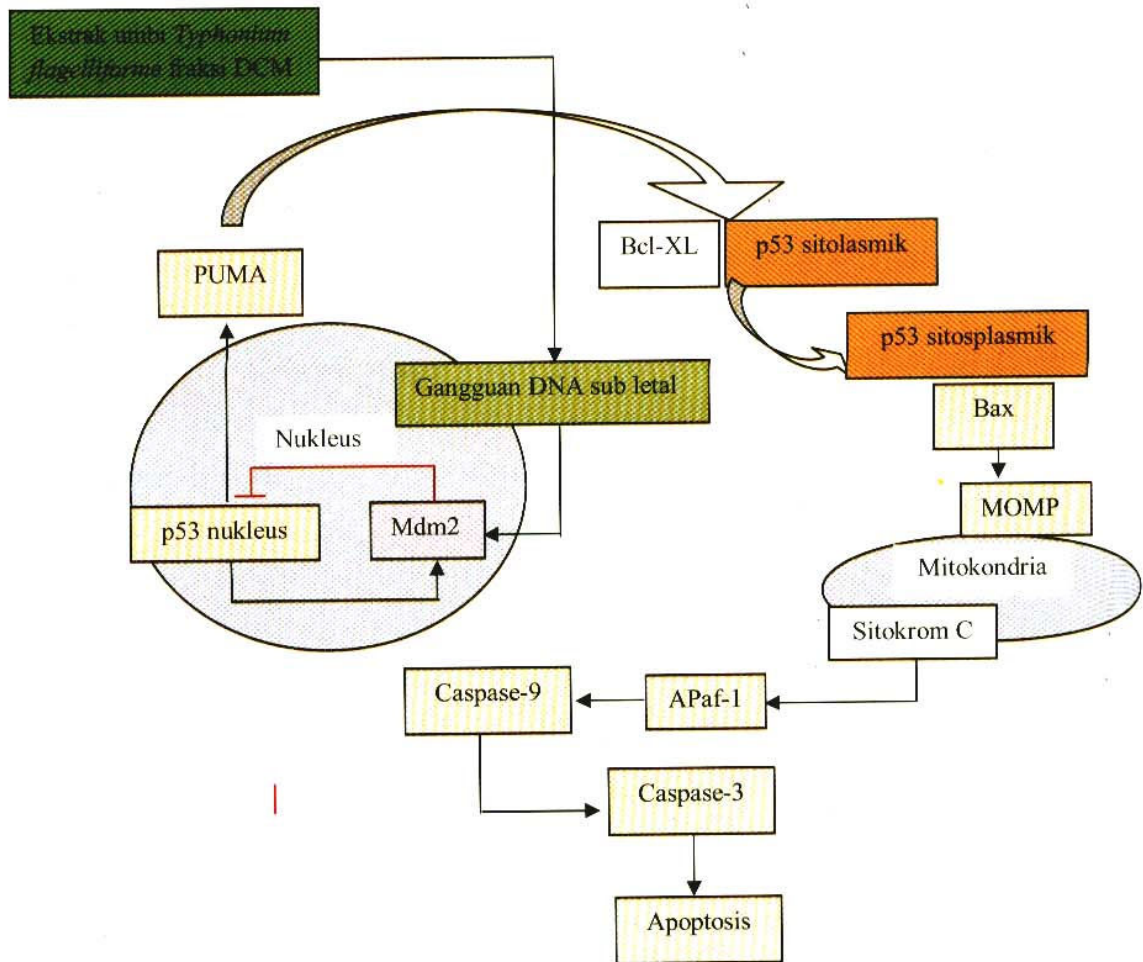
**Gambar 1.** Total skore ekspresi p53 sel MCF-7. (a) Inkubasi 10jam=1,23%, intensitas warna K=(-), S=(-) dan L=1,63, (b) Inkubasi 20 jam= 10,72%, dimana intensitas warna K=1,57, S=2,82 dan L=6,33, (c) p53 terekspresi di nucleus (panah biru). Berdasarkan data diatas disimpulkan bahwa terjadi perbedaan ekspresi p53 antara kelompok perlakuan dan kontrol, dimana p53 lebih banyak terekspresi pada nukleus pada inkubasi 20 jam

Dalam keadaan normal, p53 dipertahankan pada kadar rendah melalui degradasi yang dimediasi oleh protein Mdm2 pada daerah N-terminal domain (area aktivitas transaktivasi gen). Mdm2 sendiri merupakan target p53, dan essential bagi regulasi post-translasi p53, tanpa sistem ini p53 tidak akan berespon bila terjadi stress seluler ((Efeyan, 2007; Zhou *et al.*, 2001; Cory and Adams, 2002; Green and Kroemer, 2009). Disamping itu p53 mempunyai afinitas lebih tinggi untuk Bcl-XL dari pada Bak, sehingga diduga p53 pertama kali interaksi molekul dengan protein anti-apoptosis Bcl2 sebagai sensitizer (Winters *et al.*, 2001). Kerusakan DNA yang disebabkan stress selluler, akan didominasi protein famili Bcl-2, memaksa p53 menggunakan “modifikasi post-translasi”, sehingga terjadi transisi signal protektor ke killer, melalui fosforilasi p53 serine 20 residues, sehingga memicu terjadi apoptosis melalui aktivasi gen Bax dan IGF-BP3 (jalur independent), menginisiasi kematian sel tumor secara apoptotic (Sot *et al.*, 2007; Thornborrow *et al.*, 2002).

Kadar p53 dapat meningkat cepat dan menjadi aktif, saat terjadinya bermacam stimulus baik ekstraselluler maupun intraselluler. Pemberian ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar  $IC_{50}$ , merupakan stimulus ekstraseluler, menyebabkan gangguan subtoksik tingkat DNA sel kanker, sehingga p53 segera mendeteksi dan merespon gangguan tersebut, hal ini diperlihatkan dengan meningkatnya ekspresi p53 secara bermakna pada inkubasi 20 jam, dengan rata prosentase skor IDS p53 sebesar 10,72% dimana 1,57% dengan ekspresi kuat (berwarna coklat tua pada nukleus). dibandingkan dengan kelompok kontrol (tidak mendapatkan perlakuan).

Peningkatan ekspresi p53, menginduksi target gen p53 untuk mengkode protein tertentu yang berperan dalam tertahannya siklus sel dengan tujuan memberikan kesempatan DNA repair bekerja (Zhou *et al.*, 2001; Gottlieb *et al.*, 1997), dan atau memediasi terjadinya apoptosis bila kerusakan DNA irreversible (Wiesmüller, 2001), dalam rangka menjaga stabilitas genomik. Salah satu target protein p53 adalah p21, dengan cara mentransaktivasi gen p21 sehingga siklus sel tertunda (Kokontis *et al.*, 2001). Saat yang sama p21 nukleus berinteraksi dan menghambat aktivitas PCNA, DNA repair segera memperbaiki kerusakan DNA (Zhou *et al.*, 2001), akan tetapi kemampuan DNA repair tidak sebanding dengan tingkat gangguan DNA, sehingga suatu saat ambang kemampuan DNA repair terlampaui, terjadi akumulasi gangguan tingkat DNA, menyebabkan stabilisasi sekwens DNA tidak terjadi dan garpu replikasi kolaps, sehingga mulai memicu terbentuknya signal apoptosis (Kralj *et al.*, 2003).

Signal kematian tersebut menghambat degradasi protein mdm2, sehingga p53 terakumulasi baik didalam nukleus maupun dalam sitoplasma, saat berada disitoplasmik p53 segera berinteraksi dengan Bcl-XL, yang memungkinkan signal apoptosis tersebut terganggu. Akan tetapi p53 nukleus segera mentransaktivasi molekul PUMA (Oren, 2003), yang mampu menginteraksi p53 dengan Bcl-XL, sehingga p53 terlepas dan bergerak cepat ke membran mitokondria. untuk berinteraksi dengan Bax dan mentrigger permeabilitas membran luar mitokondria (MOMP) (Yee *et al.*, 2008). Pada membran mitokondria inilah persaingan dan dominasi faktor pro-apoptosis dengan anti-apoptosis terjadi untuk pertama kalinya dalam memicu proses apoptosis. (Moll *et al.*, 2006). Ringkasan proses korporasi dan interaksi p53 nukleus dan sitoplasmik dalam induksi apoptosis sel MCF-7 yang diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Interaksi p53 nukleus dan sitoplasmik dalam induksi apoptosis sel MCF-7

Akhirnya ekspresi p53 nukleus meningkat secara signifikan dalam menginduksi apoptosis sel kanker payudara MCF-7 setelah diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM, berkaitan dengan senyawa yang terdapat pada *Typhonium flagelliforme*, yang mengandung komponen *linoleic acid*, *hexadecanoic acid* dan *9-hexadecanoic acid* yang tinggi (Syam *et al.*, 2010 a), merupakan kandungan lemak tak jenuh terkonjugasi, dan diduga merupakan zat poten dalam menghambat pertumbuhan tumor in vitro, dan menginduksi apoptosis (Kroeme *et al.*, 2007).

## KESIMPULAN

Terdapat perbedaan bermakna ekspresi p53 pada sel kanker payudara MCF-7 yang diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM dibandingkan kelompok kontrol, berupa peningkatan ekspresi p53 nukleus.

## SARAN

*Typhonium flagelliforme* memiliki prospek baik untuk dikembangkan sebagai agen kanker, sehingga perlu penelitian dengan kadar lebih rendah/tinggi dari IC<sub>50</sub>, serta memperpanjang masa inkubasi untuk melihat dan membandingkan tingkat ekspresi p53. Pemeriksaan elektroforesis dan *flowcytometry* untuk melihat dan membuktikan pengaruh pada struktur molekul protein p53. Pemeriksaan protein targeting p53 terutama DNA repair, dan proapoptosis dan antiapoptosis, terutama Bax, Bak, PUMA, Bcl2, caspase-8, dan caspase-9.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bai L and Zhu WG. p53: structure, function, and therapeutic applications. *J Cancer Mol.* 2006, 2(4):141-153
- Choon SL, Rosemal HMH, Nair NK, Majid MIA, Mansor SM, Navaratnam V. *Typhonium flagelliforme* inhibits cancer cell growth in vitro and induce apoptosis : An evaluation by the bioactivity guided approach. *J Ethnopharmacol.* 2008 (118):14–20.
- Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer.* 2002 (2): 647-56
- Efeyan A, Serrano M. p53: guardian of the genome and policeman of the oncogenes. *Cell Cycle.* 2007.6(9):1006–10
- Gadek JW, Hackl S, Zulehner N, Maurer M and Komina O. Reconstitution of Human MCF-7 Breast Cancer Cells With Caspase-3 Does Not Sensitize Them to Action of CDK Inhibitors. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2011. (112):273–88
- Gottlieb E, Lindner S, Oren M. Relationship of sequence-specific transactivation and p53-regulated apoptosis in interleukin 3-dependent hematopoietic cells. *Cell Growth Differ.* 1997:301–10
- Green DR and Kroemer G. Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. *Nature.* 2009. (458):1127-30
- Harper LJ, Costea DE, Gammon L, Fazil B, Biddle A and Mackenzie IC. Normal and malignant epithelial cells with stem-like properties have an extended G2 cell cycle phase associated with apoptotic resistance. *BMC Cancer.* 2010 (10):1471-07
- Isoabe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13. *Nature.* 1986 (320): 84-85
- Kokontis JM, Wagner AJ, O’Leary M, Liao S, and Hay N. A transcriptional activation function of p53 is dispensable for and inhibitory of its apoptotic function. *Oncogene.* 2001(20): 659–68
- Kralj M, Husnjak K, Korbler T, Paveli J. Endogenous p21<sup>WAF1/Cip1</sup> status predicts the response of human tumor cell to wild-type p53 and p21<sup>WAF1/Cip1</sup> overexpression. *Cancer Gene Ther.* 2003(10):457- 67
- Kroemer, G., Galluzzi, L. & Brenner, C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol. Rev.* 2007.(87): 99–163.



- Li-Shu Wang LS, Huang YW, Liu S, Yan P and Lin YC. Conjugated linoleic acid induces apoptosis through estrogen receptor alpha in human breast tissue. *BMC Cancer*, 2008(8):208
- Moll UM, Marchenk N and Zhang XK. p53 and Nur77/TR3 — transcription factors that directly target mitochondria for cell death induction. *Oncogene*.2006 (25: 4725–43.
- Oren M. Decision Making by p53: Life, Death and Cancer. *Cell Death Differ*. 2003 (10):431–42
- Putra A. Pengaruh ekstrak keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) fraksi diklorometanolik terhadap ekspresi p21, caspase-3 dan Indeks Apoptosis sel kanker payudara MCF-7. *Tesis*. 2011. 53-67
- Riley T, Sontag E, Chen P & Levine A. Transcriptional control of human p53- regulated genes. *Nature Rev. Mol. Cell Biol*. 2008 (9): 402–12 .
- Sigal A and Rotter V. Oncogenic Mutation of the p53 Tumor Suppressor: The Demons of the Guardian of the Genome. *Cancer Research*. 2000(60):6788-93
- Sot B, Freund SM. and Fersht, AR. Comparative biophysical characterization of p53 with the pro-apoptotic BAK and the anti-apoptotic BCL-xL. *J. Biol. Chem*. 2007 (282): 29193–200 .
- Syam M, Bustamam A, Ibrahim S, Al-Zubairi AS, Aspollah M, Abdullah R, et al. In vitro Ultramorphological Assessment of Apoptosis on CEMss Induced by Linoleic Acid-rich Fraction from *Typhonium flagelliforme* Tuber. *eCAM*. 2010:1-13
- Syam M, Bustamam A, Ibrahim S, Al-Zubairi AS, Aspollah M. *Typhonium flagelliforme* induces apoptosis in CEMss cells via activation of caspase-9, PARP cleavage and cytochrome c release *J.Ethnopharmacol*. 2010,131(3):592-600
- Thornborrow EC, Patel S, Mastropietro AE, Schwartzfarb EM, Manfredi JJ. A conserved intronic response element mediates direct p53-dependent transcriptional activation of both the human and murine bax genes. *Oncogene*. 2002 (21): 990-99
- Wiesmüller L. Genetic stabilization by p53 involves growth regulatory and repair pathways. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2001,(1):1-11
- Winters ZE, Hunt NC, Bradburn MJ, Royds JA, Turley H, Harris AL, et al.. Subcellular localization of cyclin B, Cdc2 and p21<sup>WAF1/CIP1</sup> in breast cancer: association with prognosis. *Eur J Cancer*. 2001(37):2405–12.
- Yee KS, Vousden KH. Contribution of membrane localization to the apoptotic activity of PUMA. *Apoptosis*. 2008. (13):87-95
- Zhou J, Ahn J, Wilson SH and Prives. A role for p53 in base excision repair. *The EMBO Journal*. 2001, 20(4):914-23