

# Studi Perbandingan Sifat Struktur dan Dinamika Bentuk Apo dan Holo dari FKBP12 dan Mip dengan Menggunakan Simulasi Dinamika Molekul

Elisabeth Catherina Widjajakusuma<sup>(a)</sup>, Monica Frederica<sup>(a)</sup>, Kornelius Kaweono<sup>(a)</sup>, Arkenjela Shea<sup>(a)</sup>, Gracia De Sales Lodhu Jawa<sup>(a)</sup>, Yohanes Aliandra Kelan<sup>(a)</sup>, Ajeng Indah<sup>(a)</sup>, Firli An'nisavia<sup>(a)</sup>, Margaretha Yuliani Br Simatupang<sup>(a)</sup>, Fildzahdina<sup>(a)</sup>, Dwi Vita Setiyoningsih<sup>(a)</sup>

Interaksi protein dan ligan pada sisi pengikatan merupakan topik penting dalam desain obat dan proses prediksi fungsi protein. FKBP12 dan Mip (*macrophage infectivity potentiator*) termasuk dalam keluarga protein FKBP dengan sisi pengikatan yang kemiripannya sangat tinggi. Oleh karena itu untuk mendapatkan ligan yang selektif tidaklah mudah. Tujuan penelitian ini untuk membandingkan sifat struktur dan dinamis dari FKBP12 dan Mip dalam bentuk holo (membentuk kompleks dengan suatu ligan) dan bentuk apo (tidak terikat dengan ligan) dengan menggunakan simulasi dinamika molekul selama 40 ns dengan penambahan energi potensial selama 10 ns. Penggantian ligan rapamycin dengan ligan yang lebih kecil, yaitu turunan asam pipecolat, menyebabkan perubahan struktur pada FKBP12 dibandingkan Mip terutama pada asam amino Q81/E54, V82/F55, I83/I56, W86/W59, Y109/Y82, P117/H87, dan I118/I90. Hal ini memberikan informasi untuk pengembangan ligan yang selektif.

**Kata kunci:** FKBP12, Mip (*macrophage infectivity potentiator*), *Legionella pneumophila*, simulasi dinamika molekul, potensial *flooding*

## Comparison of Structural and Dynamic Properties of Apo- and Holo-Forms of FKBP12 and Mip using Molecular Dynamics Simulations

Protein-ligand interaction on its binding site is an important topic in drug design and the process of predicting protein functions. FKBP12 and Mip (*macrophage infectivity potentiator*) belong to the FKBP protein family with a highly conserved binding site. Accordingly, finding selective ligands for those proteins can be very challenging. This study aimed to compare the structural and dynamic properties of FKBP12 and Mip in the holo-form and apo-form by using molecular dynamics simulations for 40 ns with the addition of potential energy for 10 ns. The results showed that the replacement of the rapamycin with a smaller ligand, i.e. a derivative of pipecolic acid, led to more structural changes in FKBP12 compared to Mip, especially residues Q81/E54, V82/F55, I83/I56, W86/W59, Y109/Y82, P117/H87, and I118/I90. This information may be useful in drug design and drug development process.

**Keywords:** FKBP12, Mip (*macrophage infectivity potentiator*), *Legionella pneumophila*, molecular dynamics simulations, flooding potential

---

\*Corresponding author: Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya Kalisari Selatan No. 1 Surabaya, e-mail: [ecwidj@ukwms.ac.id](mailto:ecwidj@ukwms.ac.id)

---

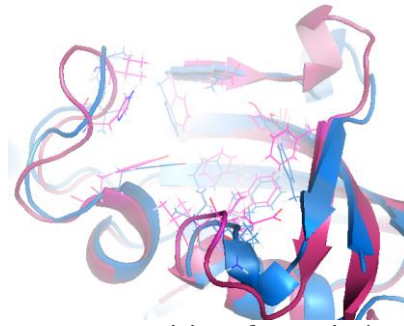
## PENDAHULUAN

Protein FKBP merupakan bagian dari famili protein yang memiliki aktivitas mengkatalisis perubahan cis/trans (PPIase, *peptidyl prolyl cis/trans isomerase*). PPIase memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis (Christner *et al.*, 1999). Berbagai FKBP memperlihatkan fungsi regulator sebagai bagian yang stabil atau dinamis dari kompleks heterooligomer. Banyak kemajuan yang sudah didapatkan dalam upaya mengerti mekanisme FKBP yang terlibat dalam pengaturan proses imunologis, pensinyalan steroid, dan peran yang dihasilkannya dalam proses fisiologis. Oleh karena itu, FKBP sudah menjadi target pengobatan untuk berbagai penyakit dan para peneliti berfokus pada pengembangan obat baru untuk menghambat FKBP (Kolos *et al.*, 2018; Gharthey-Kwansah *et al.*, 2018; Tong *et al.*, 2015).

FKBP12, anggota dari famili FKBP, dapat berinteraksi dengan obat immunosupresif (Kang *et al.*, 2008; Kolos *et al.*, 2018). FKBP12 berinteraksi dengan tacrolimus (FK506) membentuk kompleks yang selanjutnya berikatan dengan calcineurin, yaitu enzim yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh. Di lain pihak, interaksi FKBP12 dengan rapamycin membentuk kompleks FKBP12-rapamycin yang kemudian berikatan dengan FKBP *binding domain* dari mTOR (*mammalian target of rapamycin*). mTOR adalah suatu kinase yang terlibat dalam pertumbuhan dan proliferasi sel. Penghambatan kedua proses ini menyebabkan efek immunosupresif (Kolos *et al.*, 2018; Griffith *et al.*, 1995; Banaszynski *et al.*, 2005).

Mip (*macrophage infectivity potentiator*) adalah faktor virulensi penting yang di dalam beberapa bakteri Gram negatif yang memiliki struktur homolog yang sangat mirip dengan FKBP12 manusia. Mip terdapat *Legionella pneumophila*, penyebab penyakit *legionnaire*, sejenis penyakit paru-paru. Kemiripan Mip dari 2VCD (Ceymann *et al.*, 2008) dengan FKBP12 dari 1FKB (van-Duyne *et al.*, 1991) (Gambar 1) menyebabkan perlunya mengembangkan obat yang selektif untuk penyakit *legionnaire* tetapi tidak mempunyai efek immunosupresif (Rasch *et al.*, 2019; Donyak *et al.*, 2016).

Interaksi Mip dengan rapamycin yang diamati dengan NMR (Ceymann *et al.*, 2008) menunjukkan bagian pipokolat dari rapamycin terikat pada sisi pengikatan Mip. Berdasarkan hal tersebut, sintesis ligan Mip dari *Legionella pneumophila* telah dilakukan untuk beberapa turunan asam pipokolat (Juli *et al.*, 2011). Senyawa (S)-3-(3,4,5-trimetoksifenil)propil-1-benzilsulfonil) piperidine-2-karboksilat (ligan B) memperlihatkan aktivitas yang tinggi pada domain FKBP dari Mip. Meskipun demikian, senyawa ini tidak menunjukkan efek terhadap replikasi *L. pneumophila* pada sel yang mirip dengan sel makrofag manusia sel U937 (Juli *et al.*, 2011).



**Gambar 1.** Superposisi struktur Mip (merah) dan FKBP12 (biru) tanpa ligan. Asam amino yang terlibat dalam interaksi dengan ligan rapamycin diperlihatkan.

Dalam penelitian ini, perbedaan sifat struktur dan dinamik dari Mip dan FKBP12 diamati dengan menggunakan simulasi dinamika molekul. Mip diperoleh dalam keadaan tidak terikat ligan (bentuk apo), membentuk kompleks (senyawa holo) dengan rapamycin, dan membentuk kompleks dengan senyawa B). Demikian juga dengan FKBP12, simulasi dinamika molekul dilakukan dalam bentuk apo dan holo.

## METODE

Simulasi dinamika molekul dilakukan dengan paket program GROMACS versi 2018.2 dengan AMBERff99SB *forcefield* (Lindorff-Larsen *et al.*, 2010). Parameterisasi ligan dilakukan dengan AMBER (GAFF) dan muatan diturunkan menggunakan metode AM1-BBC yang diterapkan dalam program Antechamber (Wang *et al.*, 2004) dari AMBER18 (Case *et al.*, 2018). Topologi dan koordinat ligan yang diperoleh dari AMBER 18 dikonversi dengan acpype (da Silva *et al.*, 2012) untuk memperoleh format GROMACS versi 2018.2 (Abraham *et al.*, 2018). Struktur awal yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Prosedur yang sama dilakukan untuk setiap struktur awal pada Tabel 1. Sistem dinetralkan dengan menggunakan ion klorida dan dilarutkan dalam model air TIP3P (Jorgensen, 1983) dalam kotak dodekahedron yang batas kotak berjarak 10 Å dari setiap atom terluar sistem. Kondisi batas periodik dikenakan pada sistem. Algoritma Verlet dengan *timestep* 2 fs digunakan untuk mengintegrasikan persamaan gerak. Pendekatan *particle mesh* Ewald (Darden, 1993) dengan jarak *cutoff* 12 Å diterapkan untuk menghitung interaksi elektrostatis jarak jauh. Suhu sistem dikonstantakan pada 300 K menggunakan metode *V-rescale* (Bussi *et al.*, 2007) dan tekanan pada 1 bar menggunakan metode Parinello-Rahman (Parinello *et al.*, 1981). Panjang ikatan yang melibatkan atom hidrogen dibatasi dengan menggunakan metode LINCS (Hess *et al.*, 1997). Minimasi energi dilakukan selama 100 ps dengan metode *steepest descent* (Haug *et al.*, 1976), kemudian sistem disetimbangkan dengan *ensemble* NVT selama 100 ps, kemudian dengan

ensemble NPT juga selama 100 ps. Simulasi dinamika molekul kemudian dijalankan selama 10 ns (Grubmüller, 1995), dilanjutkan dengan penambahan *flooding potential* selama 10 ns. Dalam penelitian ini parameter yang digunakan adalah *adaptive flooding* dengan energi bebas untuk destabilisasi  $\Delta F_0 = 150$  kJ/mol, *the initial*

*flooding strength*  $E_{fl}^{(0)} = 0$ , dan konstanta waktu  $\tau = 0.1$  ps. Sistem kembali disimulasikan selama 20 ns. Total waktu simulasi adalah 40 ns. Visualisasi molekul menggunakan perangkat lunak Discovery Studio (BIOVIA, 2020) dan VMD (Humphrey *et al.*, 1996).

**Tabel 1.** Sistem simulasi dinamika molekul

Ko-de	Pro-tein	Lig-and	PDB	Eks-per-imen	TIP3P	Atoms
M1	Mip	Rapamycin	2VCD	NMR	8486	27699
M2	Mip	B	B-2VCD	NMR	8495	27649
M3	Mip		Apo-2VCD	NMR	8522	27663
M4	Mip		2UZ5	NMR	8315	27042
M5	Mip		1FD9	Sinar X	8598	27880
F1	FKBP12	Rapamycin	1FKB	Sinar X	6430	21098
F2	FKBP12	B	B-1FKB	Sinar X	6442	21057
F3	FKBP12		Apo-1FKB	Sinar X	6455	21029
F4	FKBP12		2PPN	NMR	6623	21533
F5	FKBP12		1FKT	Sinar X	6531	21257

1) Pustaka-pustaka PDB

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengerti kemiripan struktur 3D dari struktur awal, dilakukan perhitungan RMSD (*root mean square deviation*) untuk semua atom (angka bagian atas) dan atom tulang belakang (angka bagian bawah) seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 2. Secara umum, struktur Mip holo (2VCD) memiliki nilai RMSD yang lebih besar daripada FKBP12 holo (1FKB) baik terhadap protein aponya sendiri maupun dengan protein apo yang lain. Di lain pihak, struktur Mip apo memiliki kemiripan dengan struktur FKBP12 holo dan apo. Hal ini menunjukkan adanya fleksibilitas Mip yang lebih tinggi daripada FKBP12 dan adanya perbedaan antara struktur holo dan apo dari Mip.

Konfirmasi tentang fleksibilitas struktur Mip secara keseluruhan dapat dilihat dari perhitungan

RMSD dari ke-10 simulasi yang ditunjukkan pada Gambar 2. Perhitungannya dilakukan pada residu di sekitar sisi aktif yaitu residu 50-130 untuk Mip dan 20-100 untuk FKBP12. Secara umum, nilai RMSD untuk Mip lebih besar, yaitu sekitar 2-3 Å, daripada FKBP12 sekitar 2 Å sebelum adanya potensial *flooding* (<10 ns). Namun demikian, dengan adanya potensial *flooding* pada 20-30 ns terlihat bahwa potensial tambahan ini tidak memberi pengaruh yang lebih kecil pada Mip dibandingkan pada FKBP12. Bahkan struktur Mip apo dari sinar X memiliki nilai RMSD < 2 Å. Kenaikan RMSD akibat potensial tambahan terlihat cukup jelas hanya pada struktur Mip apo (M3, hijau). Sebaliknya, lonjakan RMSD terjadi pada semua struktur FKBP12, terutama pada struktur FKBP12 yang membentuk kompleks dengan ligan B (F2, merah).

**Tabel 2.** RMSD dari struktur awal. Terdapat dua nilai untuk setiap perhitungan; nilai pada bagian atas adalah perhitungan RMSD untuk semua atom dan pada bagian bawah adalah untuk atom tulang punggung

RMSD	2VCD <sup>1)</sup>	2UZ5 <sup>2)</sup>	1FD9 <sup>3)</sup>	1FKB <sup>4)</sup>	2PPN <sup>5)</sup>	1FKT <sup>6)</sup>
2VCD	0	2,77	2,31	2,58	2,55	2,63
	0	1,71	0,78	0,87	0,82	1,10
2UZ5	2,77	0	1,56	1,43	1,54	1,97
	1,71	0	1,36	1,23	1,27	1,78
1FD9	2,31	1,57	0	1,19	1,13	1,46
	0,78	1,36	0	0,58	0,59	0,78
1FKB	2,58	1,43	1,19	0	0,49	1,13
	0,87	1,23	0,58	0	0,16	0,89
2PPN	2,55	1,54	1,13	0,49	0	1,19
	0,82	1,27	0,59	0,16	0	0,87
1FKT	2,63	1,97	1,46	1,13	1,19	0
	1,10	1,78	0,78	0,89	0,87	0

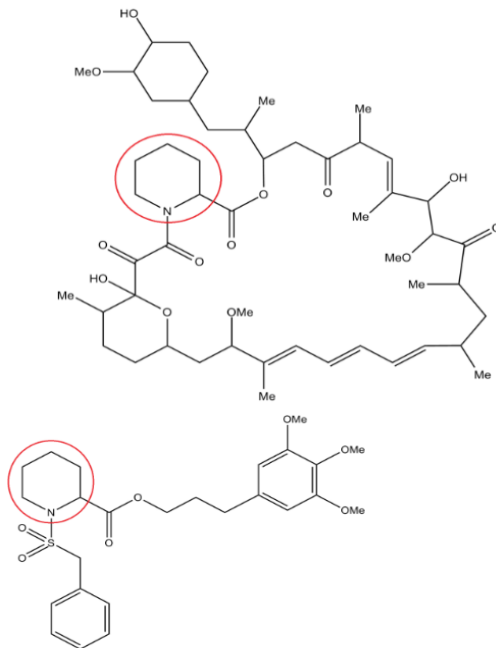
<sup>1)</sup>(Ceymann *et al.*, 2008); <sup>2)</sup>(Ceymann *et al.*, 2006); <sup>3)</sup>(Ribolli-Tunnicliffe *et al.*, 2001); <sup>4)</sup>(van-Duyne *et al.*, 1991); <sup>5)</sup>(Szep *et al.*, 2009)

<sup>6)</sup>(Michnick, 1991)

Struktur Mip apo dari NMR (M4, biru) memiliki RMSD tertinggi sebelum dengan RMSD di bawah 2 Å dan dari sinar X (M5, kuning) dengan RMSD sekitar 3 Å relatif tidak menunjukkan perubahan sebelum dan sesudah penambahan potensial *flooding* pada 20-30 ns. Penggantian rapamycin dengan ligan B (M2, merah) memang menunjukkan lonjakan RMSD yang cukup besar akibat penambahan potensial

*flooding*, tetapi setelah potensial *flooding* ditiadakan strukturnya kembali semula. Satu-satunya yang menunjukkan perubahan RMSD yang cukup signifikan sebelum dan setelah penambahan potensial *flooding* adalah struktur Mip apo (M3, hijau). Baik rapamycin maupun ligan B tidak terlalu berpengaruh pada fleksibilitas dari Mip. Fleksibilitas Mip yang relatif lebih tinggi dibandingkan FKBP12 menunjukkan

stabilitas yang lebih baik ketika sistem diberi gangguan berupa potensial tambahan.

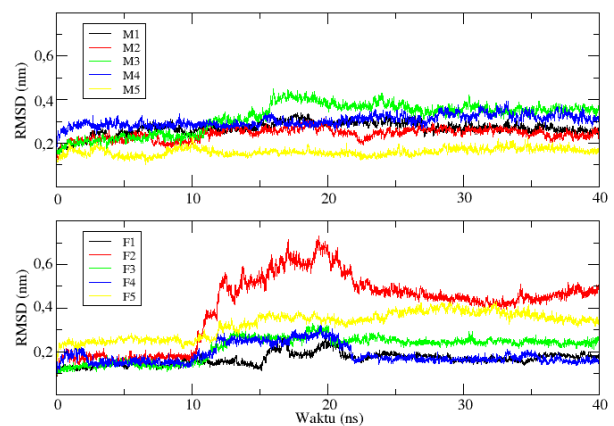


**Gambar 2.** Ligan rapamycin dan turunan asam pipekolat. Keduanya memiliki cincin pipekolat

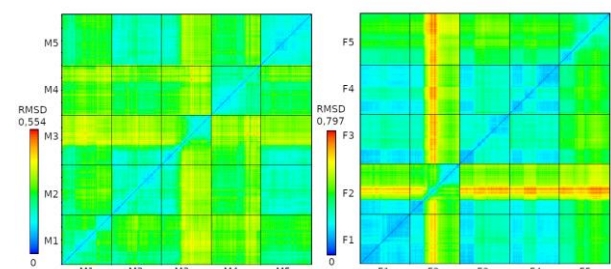
Pengamatan dilanjutkan dengan membandingkan kesepuluh struktur tersebut dengan perhitungan RMSD 2D seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. RMSD dengan struktur yang sama ditunjukkan pada kotak pada diagonal. Penyimpangan cukup besar dari struktur awal hanya terlihat pada struktur Mip apo (M3), yaitu dari sekitar 2 Å menjadi 4 Å. Struktur Mip kompleks dengan ligan B (M2) memiliki kemiripan yang cukup besar dengan M5 yaitu sekitar 1 Å. Struktur Mip apo (M3) menunjukkan perbedaan yang relatif lebih besar dibandingkan dengan struktur Mip lainnya. RMSD 2D untuk FKBP12 menunjukkan penyimpangan yang cukup besar, terutama FKBP12 yang membentuk kompleks dengan ligan B (F2) hingga hampir mencapai 8 Å dan hanya satu struktur yang penyimpangan sekitar 1 Å yaitu struktur FKBP12 yang membentuk kompleks dengan rapamycin (F1). Rapamycin berperan cukup besar dalam kestabilan struktur FKBP12 dibandingkan dengan Mip. Penggantian rapamycin dengan ligan B ataupun tanpa ligan berpengaruh cukup besar pada protein FKBP12 dibandingkan dengan Mip.

Analisa lebih lanjut dengan perhitungan RMSF (*root mean square fluctuation*) memperlihatkan bagian mana dari protein yang fleksibel (Gambar 4). Pada Mip, bagian 13 yang paling fleksibel dan pada bagian ini terdapat tiga residu yang terlibat pada sisi pengikatan yaitu Y109, P117, dan I118. Lonjakan RMSD dari M3 yang cukup tinggi disebabkan oleh keluarnya

ketiga residu tersebut dari sisi pengikatan akibat dari penambahan potensial. Dengan struktur awal yang sangat mirip antar M2 dan M5 diperoleh dinamika yang cukup mirip, tetapi fluktuasi residu yang cukup sedikit berbeda yaitu pada bagian sambungan *coil* 10 yang tidak memiliki residu yang terlibat dalam sisi pengikatan. Penggantian ligan rapamycin dengan ligan B tidak menunjukkan perubahan berarti. Namun ligan B tidak tetap tinggal pada lubang pengikatan, tetapi pada bibir pengikatan seperti pada Gambar 5. Hal ini dapat menjelaskan temuan Juli dkk (Juli *et al.*, 2011) bahwa meskipun berinteraksi dengan Mip tapi efek inhibisi terhadap replikasi Mip tidak terjadi.



**Gambar 3.** RMSD dari kesepuluh sistem selama waktu simulasi. Perhitungan RMSD dilakukan untuk semua atom setelah *fitting* pada atom tulang punggung. Untuk protein Mip, perhitungan dilakukan untuk residu 50-130 dan FKBP12 residu 20-100.

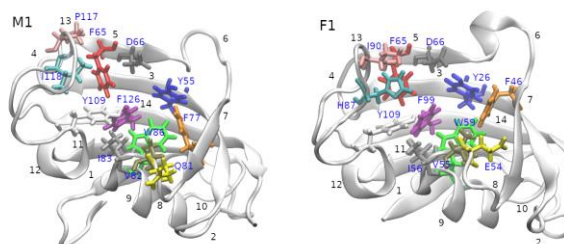
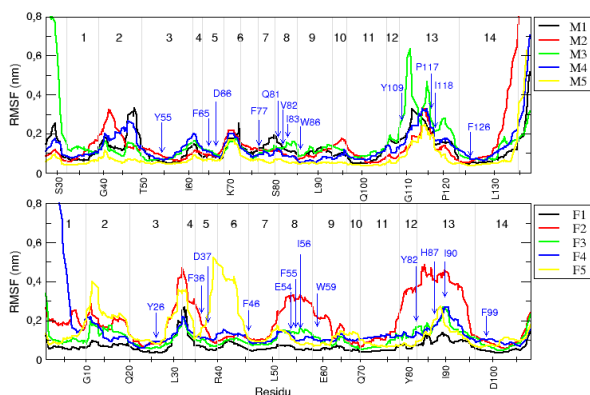


**Gambar 4.** RMSD 2-dimensi dengan total waktu simulasi 200 ns

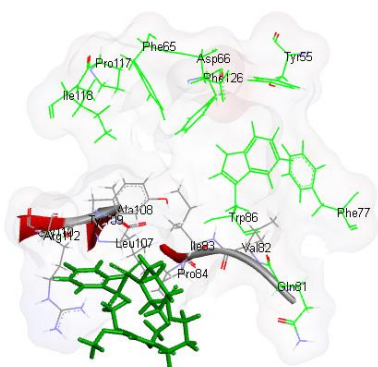
Di lain pihak, struktur asam amino pada sisi pengikatan dari FKBP12 menunjukkan perubahan besar akibat penggantian ligan rapamycin dengan ligan B (F2 pada Gambar 3, 4, dan 5). Lubang pada sisi pengikatan bertambah besar ketika ligan yang relatif lebih kecil ditempatkan pada sisi tersebut dengan pergeseran E54, V55, I56 pada bagian 8 dan 9, serta Y82, H87, W90 pada bagian 12 dan 13 (Gambar 5). Kemiripan sifat struktur dan dinamika ditunjukkan oleh F1, F3, dan F4, sedangkan F5 memperlihatkan sifat dinamika yang agak

berbeda. Asam amino yang menunjukkan perbedaan antara Mip dan FKBP12 adalah masing-masing pada W86 dan W59. Pada Mip, W86 merupakan bagian dasar dari lubang pengikatan dan posisinya tidak mengalami

perubahan akibat penambahan potensial, tetapi W59 dari FKBP12 berotasi pada sudut torsional dihedral  $\chi_1$  yang menghubungkan rantai samping dengan atom Ca.



**Gambar 5.** RMSF atom tulang punggung dari kesepuluh sistem yang disimulasikan selama 40 ns. Penomoran bagian-bagian dari molekul ditunjukkan pada gambar bagian bawah



**Gambar 6.** Struktur tiga dimensi kompleks Mip dan ligan B (M2). Ligan B berwarna hijau tebal, dengan asam amino berwarna hijau ada asam amino pada sisi pengikatan yang tidak berinteraksi dengan ligan B.

**DAFTAR PUSTAKA**

Abraham, M.J., van der Spoel, D., Lindahl, E., dan Hess, B., 2018, GROMACS User Manual version 2018.2, [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org).  
 Banaszynski, L.A., Liu, C.W., dan Wandless, T.J., 2005, Characterization of the FKBP, rapamycin, FRB ternary complex, *Journal of American Chemical Society*, 127:4715-4721.  
 BIOVIA, 2020, Discovery Studio Visualizer. Dassault Systèmes. <https://3ds.com/products-services/biovia/products>.  
 Bussi, G., Donadio, D., dan Parinello, M., 2007, Canonical sampling through velocity rescaling, *Journal of Chemical Physics*, 126:014101.  
 Case, D., Ben-Shalom, I., Brozell, S., Cerutti, D., Cheatham, T. I., Cruzeiro, V., Darden, T., Duke, R., Ghoreishi, D., Gilson, M. K., Gohlke, H., Goetz, A. W., Greene, D., Harris, R., Homeyer, N., Huang, Y., Izadi, S., Kovalenko, A., Kurtzman, T., Lee, T. S., LeGrand, S., Li, P., Lin, C., Liu, J., Luchko, T., Luo, R., Mermelstein, D. J., Merz, K. M., Miao, Y., Monard, G., Nguyen, C., Nguyen, H., Omelyan, I., Onufriev, A., Pan, F., Qi, R., Roe, D. R., Roitberg, A., Sagui, C., Schott-Verdugo, S., Shen, J., Simmerling, C. L., Smith, J., Salomon-Ferrer, R., Swails, J.,

**KESIMPULAN**

Simulasi dinamika molekul dengan potensial *flooding* memperlihatkan adanya perbedaan sifat dinamika pada Mip dan FKBP12. Perubahan struktur antara kedua protein tersebut yang paling jelas adalah ketika ligan rapamycin digantikan oleh ligan B. Posisi ligan B saat berinteraksi dengan Mip dapat menjelaskan mengapa efek inhibisi yang diinginkan tidak terjadi. Meskipun terjadi perubahan struktur pada pengikatan FKBP12 dengan ligan B, perlu ditentukan perubahan energi bebas dari kedua kompleks tersebut untuk memberi informasi tentang selektivitas ligan.

Walker, R.C., Wang, J., Wei, H., Wolf, R. M., Wu, X., Xiao, L., York, D.M., dan Kollman, P.A., 2018, Amber 2018, University of California, San Francisco.  
 Ceymann, A., Horstmann, M., Ehses, P., Schweimer, K., Paschke, A.-K., Steinert, M., dan Faber, C., 2008, Solution structure of the *Legionella pneumophila* Mip-rapamycin complex, *BMC Structural Biology*, 8:1-12.  
 Ceymann, A., Horstmann, M., Ehses, P., Schweimer, K., Steinert, M., Kamphausen, T., Fischer, G., Hacker, J., Rosch, P., dan Faber, C., 2006, Domain motion of the Mip protein from *Legionella pneumophila*, *Biochemistry*, 45:12303-12311.  
 Christner, C., Wyrwa, R., Marsch, S., Kullertz, G., Thiericke, R., Grabley, S., Schumann, D., dan Fischer, G., 1999, Synthesis and cytotoxic evaluation of cycloheximide derivatives as potential inhibitors of FKBP12 with neuroregenerative properties, *Journal of Medicinal Chemistry*, 42:3615-3622.  
 da Silva, A.S. dan Vranken, W., 2012, ACPYPE - AnteChamber PYthon Parser interfacE, *BMC Research Notes*, 5:367.

- Darden, T., York, D., Pedersen, L., 1993, Particle mesh Ewald: an N.log(N) method for Ewald sums in large systems, *Journal of Chemical Physics*, 98:10089-10092.
- Dunyak, B.M. dan Gestwicki, J.E., 2016, Peptidyl-proline isomerases (PPIases): Target for natural products and natural product-inspired compounds, *Journal of Medicinal Chemistry*, 59:9622-9644.
- Ghartey-Kwansah, G., Li, Z., Feng, R., Wang, L., Zhou, X., Chen, F. Z., Xu, M. M., Jones, O., Mu, Y., Chen, S., Bryant, J., Isaacs, W. B., Ma, J., dan Xu, X., 2018, Comparative analysis of FKBP family protein: evaluation, structure, and function in mammals and *Drosophila melanogaster*, *BMC Developmental Biology*, 18:1-12.
- Griffith, J. P., Kim, J. L., Kim, E. E., Sintchak, M. D., Thomson, J. A., Fitzgibbon, M. J., Fleming, M. A., Caron, P. R., Hsiao, K., dan Navia, M. A., 1995, X-ray structure of calcineurin inhibited by the immunophilin-immunosuppressant FKBP12-FK506 complex, *Cell*, 82:507-522.
- Haug, E., Arora, J. S., dan Matsui, K., 1976, A steepest-descent method for optimization of mechanical systems, *Journal of Optimization Theory and Applications*, 19:401-424.
- Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H. J. C., dan Fraaije, J. G. E. M., 1997, LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations, *Journal of Computational Chemistry*, 18:1463-1472.
- Grubmüller, H., 1995, Predicting slow structural transitions in macromolecular systems: conformational flooding, *Physical Review E*, 52:2893-2906.
- Humphrey, W., Dalke, A., dan Schulten, K., 1996, VMD: visual molecular dynamics, *Journal of Molecular Graphics*, 14:33-38.
- Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein, M.L., 1983, Comparison of simple potential functions for simulating liquid water, *Journal of Chemical Physics*, 79:926-935.
- Juli, C., Sippel, M., Jaeger, J., Thiele, A., Weiwad, M., Schweimer, K., Roesch, P., Steinert, M., Sotriffer, C. A., dan Holzgrabe, U., 2011, Pipecolic acid derivatives as small-molecule inhibitors of the *Legionella* MIP protein, *Journal of Medicinal Chemistry*, 54:277-283.
- Kang, C. B., Ye, H., Dhe-Paganon, S., dan Yoon, H. S., 2008, FKBP family protein: Immunophilins with versatile biological functions, *Neurosignals*, 16:318-325.
- Kolos, J. M., Voll, A. M., Bauder, M., dan Hausch, F., 2018, FKBP Ligands—Where We Are and Where to Go? *Frontiers in Pharmacology*, 9:1425.
- Lindorff-Larsen, K., Piana, S., Palmo, K., Maragakis, P., Klepeis, J. L., Dror, R. O., dan Shaw, D. E., 2010, Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field, *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 78:1950-1958.
- Michnick, S.W., Rosen, M.K., Wandless, T.J., Karplus, M., Schreiber, S.L., 1991, Solution structure of FKBP, a rotamase enzyme and receptor for FK506 and rapamycin, *Science*, 252:836-839.
- Parrinello, M., dan Rahman, A., 1981, Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method, *Journal of Applied Physics*, 52:7182-7190.
- Rasch, J., Ünal, C. M., Klages, A., Karsli, Ü., Heinsohn, N., Brouwer, R. M. H. J., Richter, M., Dellmann, A., dan Steinert, M., 2019, Peptidyl-prolyl-*cis/trans*-isomerases Mip and PpiB of *Legionella pneumophila* contribute to surface translocation, growth at suboptimal temperature, and infection, *Infection and Immunity*, 87:1-12.
- Ribolli-Tunncliffe, A., König, B., Jessen, S., Weiss, M. S., Rahfeld, J., Hacker, J., Fischer, G., dan Hilgenfeld, R., 2001, Crystal structure of Mip, a prolyl isomerase from *Legionella pneumophila*, *Natural Structural and Molecular Biology*, 8:7790783.
- Szep, S., Park, S., Boder, E. T., Duyne, G. D. V., dan Saven, J. G., 2009, Structural coupling between FKBP12 and buried water, *Proteins*, 74:603-611.
- Tong, M., dan Jiang, Y., 2015, FK506-binding proteins and their diverse functions, *Current Molecular Pharmacology*, 9:48-65.
- van-Duyne, G. D., Standaert, R. F., Schreiber, S. L., dan Clardy, J., 1991, Atomic structure of rapamycin human immunophilin FKBP-12 complex, *Journal of the American Chemical Society*, 113:7433-7434.
- Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., dan Case, D. A., 2004, Development and testing of a general amber force field, *Journal of Computational Chemistry*, 25:1157-1174.