

PROTEIN p21^{WAF1} A JEHO ÚLOHA V REGULACI BUNĚČNÉHO CYKLU

PROTEIN p21^{WAF1} AND ITS ROLE IN CELL CYCLE REGULATION

POSPÍŠILOVÁ Š., VOJTĚŠEK B.

ODDĚLENÍ BUNĚČNĚ A MOLEKULÁRNÍ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn: Vývoj lidských nádorů je spojen s inaktivací dvou nejvýznamnějších nádorově supresorových drah reprezentovaných proteiny Rb a p53. V procesu kontroly buněčného růstu je protein Rb zodpovědný za regulaci přechodu z G₁ do S-fáze buněčného cyklu, zatímco protein p53, indukovaný buněčným stresem, spouští v závislosti na míře poškození DNA buď mechanismy vedoucí k programované smrti buňky (apoptóze) nebo indukuje zastavení buněčného cyklu v G₁ fázi. Interakce mezi těmito regulačními drahami mohou být zprostředkovány inhibitory cyklin-dependentních kináz (CKI) proteinem p21^{WAF1}, který je transkripčně aktivován nemutovanou formou proteinu p53 a má schopnost ovlivňovat funkci aktivitu Rb proteinu. Protein p21^{WAF1} má velmi důležitou úlohu při kontrole buněčné proliferace díky schopnosti regulovat aktivitu komplexů cyklin/CDK v situacích, kdy buňky odpovídají na různé intracelulární a extracelulární signály.

Klíčová slova: p21/WAF1/CIP1, p53, pRb, buněčný cyklus, cyklin-dependentní kinázy (CDKs), inhibitory cyklin-dependentních kináz (CKIs)

Summary: The development of human cancers is frequently associated with the inactivation of two major tumour suppression pathways represented by the retinoblastoma protein (pRb) and by the p53 protein. Growth control in mammalian cells is accomplished largely by the Rb protein regulating exit from the G₁ phase and the p53 protein triggering growth arrest/apoptosis in response to cellular stress. Interactions between these two regulatory pathways may be mediated through the inhibitor of cyclin dependent kinases (CKI) protein p21^{WAF1}, which is a target of p53 transactivation, as well as a factor that influences the functional status of Rb protein. The CKI p21^{WAF1} also plays a critical role in the control of cell proliferation by modulating the activity of cyclin/CDK complexes in response to different intracellular and extracellular signals.

Key words: p21/WAF1/CIP1, p53, pRb, cell cycle, cyclin-dependent kinases (CDKs), cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs)

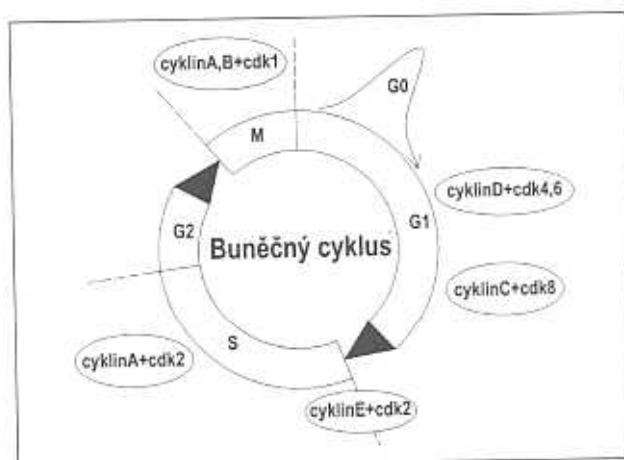
Buněčná proliferace je základní podmínkou růstu a diferenciace organismu a její realizace je vysoce organizovaný a přesně regulovaný proces známý jako buněčný cyklus. Kontrola buněčného cyklu je pro každou buňku stěžejní záležitostí a její narušení může mít za následek přeměnu normální buňky v buňku nádorovou, která nepodléhá regulačním mechanismům buňky a je schopna nekontrolovaného růstu. Přesné chápání mechanismů kontroly jednotlivých fází buněčného cyklu jak buněk normálních tak buněk nádorových a jejich vzájemné srovnávání umožňuje vývoj specifických protinádorových terapií cílených především proti abnormalitám vyskytujícím se u nádorových buněk.

Buněčný cyklus

Znalost fyziologických, biochemických a molekulárně-biologických mechanismů charakteristických pro jednotlivé fáze buněčného cyklu je významná nejen z teoretického hlediska, ale má i mnohá terapeutická využití. Detailní poznatky týkající se průběhu buněčného cyklu nacházejí čtená uplatnění v mnoha lékařských oborech a některé z nich jsou velmi intenzivně využívány. Mezi dosud nejvýznamnější využití poznatků získaných při studiu buněčného cyklu patří protinádorová terapie využívající antimetabolita a cytostatika (látky inhibující dělení nádorových buněk). Byla objevena celá řada nových proteinů, které se podílejí na regulaci buněčného cyklu, a je známo, že jejich inaktivace vede k poruchám v regulačních mechanismech buňky. Tyto poznatky základního výzkumu jsou stále více využívány v klinické praxi a stávají se základem pro tvorbu nových léčebných preparátů.

Savcí buňky se během svého života mohou nacházet v klido-

vém stádiu (tzv. fáze G₀), kdy udržují pouze bazální metabolismus a vykonávají své základní funkce, a nebo se aktivně účastní buněčného cyklu (s výjimkou populací terminálně diferenciovanych buněk, které tuto schopnost ztrácejí). Buněčný



Obrázek 1: Schéma buněčného cyklu. Buněčný cyklus je rozdělen do čtyř fází označovaných jako G₁, M, G₂ a S (jejich charakteristika je uvedena v textu), přičemž za určitých podmínek (např. při terminální diferenciaci) může buňka cyklus opustit a vstoupit do klidové G₀ fáze. K regulaci buněčného cyklu dochází ve dvou kontrolních bodech cyklu G₁/S a G₂/M (černé šipky) a je realizována především prostřednictvím různých komplexů cyklinů a cyklin-dependentních kináz, které se podílejí na fosforylaci dalších proteinů s regulační funkcí (viz text).

cyklus je rozdělen do čtyř fází (Obrázek 1): (a) G_1 -fáze, při níž se buňka připravuje na syntézu DNA, všech typů RNA a dochází k intenzivní syntéze proteinů, především histonů a enzymů; (b) S-fáze, vyznačující se replikací DNA a duplikací všech chromozómů v buňce (buňka se stává tetraploidní); (c) G_2 -fáze, ve které se buňka připravuje na mitózu a probíhá intenzivní proteosyntéza (jsou syntetizovány především proteiny potřebné k výstavbě mitotického aparátu); (d) M-fáze neboli mitóza, při které dochází k rozdělení chromozómů na dvě identické poloviny (karyokineze) a k následnému rozdělení celé buňky (cytokineze) za vzniku dvou dceřiných buněk s diploidním počtem chromozómů.

Ve specifických případech mohou buňky v G_1 -fázi cyklus opustit a vstoupit do klidové G_0 -fáze, ve které setrvávají různě dlouhou dobu a po stimulaci intracelulárními nebo extracelulárními faktory mohou opět vstoupit do G_1 -fáze buněčného cyklu (21, 31).

Regulace buněčného cyklu prostřednictvím cyklin-dependentních kináz

Průběh standardního buněčného cyklu a přechody mezi jeho jednotlivými fázemi jsou řízeny řadou kontrolních mechanismů, které regulují proliferační aktivitu buňky a v případě potřeby mohou buněčný cyklus zastavit v některém z jeho kontrolních bodů. Přerušení buněčného cyklu v těchto kontrolních bodech je velmi důležité, protože umožňuje regulaci systému buněčného dělení pomocí signálů vycházejících z prostředí. První kontrolní bod se nachází na konci G_1 fáze těsně před přechodem do S-fáze a je spojen s regulací iniciace syntézy DNA. Druhý kontrolní bod je v G_2 fázi před vstupem buňky do mitózy a vyznačuje se regulací iniciace mitózy (18, 32).

Kontrola buněčného cyklu je uskutečňována prostřednictvím dvou klíčových proteinových rodin. První je rodina enzymů nazývaných cyklin-dependentní kinázy (CDKs), druhou je rodina specifických aktivačních proteinů zvaných cykliny, které interagují s molekulami CDKs a kontrolují tak jejich schopnost fosforylovat specifické regulační proteiny na serinu a threoninu. Jde tedy o heterodimerní proteiny skládající se ze dvou podjednotek, u nichž katalytickou funkci plní kinázy, které však svoji kinázovou aktivitu vykazují až po asociaci s příslušným cyklinem. Cykliny, jejichž koncentrace se mění v závislosti na fázi buněčného cyklu (odtud jejich název), takto regulují aktivitu kináz. Za vazbu a aktivaci CDK odpovídá konzervativní doména cyklinu nazývaná „cyklin box“, která mění konformaci N-terminální oblasti partnerské kinázy a tím ji aktivuje. Jednotlivá CDK může asociovat s různými cykliny, přičemž typ navázaného cyklinu určuje, který cílový protein bude komplexem cyklin-CDK fosforylován. Každý takto vytvořený komplex cyklinu s CDK má v procesu regulace buněčného cyklu svoji specifickou úlohu. Tvorba aktivních komplexů mezi cykliny a CDKs je tedy stěžejním mechanismem podle kterého se na řízení buněčného cyklu (2, 8, 18, 32).

V současné době je známo devět typů cyklin-dependentních kináz (označených čísly 1 až 9, přičemž pro *cdk1* je užíváno také synonymum *cdc2*) a jedenáct různých typů cyklinů (označují se velkými písmeny abecedy A až J a T). Lze však předpokládat, že tyto počty zástupců obou proteinových rodin zatím nejsou zcela úplné. Cykliny se dále dělí podle fáze buněčného cyklu, ve které tvoří funkční komplexy s CDKs na „ G_1 cykliny“ podílející na regulaci přechodu z G_1 -fáze do S-fáze a na „mitotické cykliny“ regulující přechod z G_2 -fáze do mitózy. V G_1 -fázi buněčného cyklu působí především cykliny D (jsou známy tři podtypy označované D1, D2 a D3) tvořící funkční komplexy s *cdk4* a *cdk6* a dále cyklin C interagující s *cdk8*. Na stimulaci přechodu G_1/S buněčného cyklu se rovněž podílí cyklin E ve spojení s *cdk2*. Zvýšená exprese těchto cyklinů má za následek zkrácení G_1 -fáze buněčného cyklu a rychlejší přechod do S-fáze. Průběh S-fáze je pak kontrolován cyklinem A, vytvářejícím komplex s *cdk2*, která je uvolněna ze vzájemné interakce s cyklinem E po G_1/S přechodu.

Mezi mitotické cykliny patří především cykliny A a B působící v komplexu s *cdk1(cdc2)* (Obrázek 1). Takto vytvořené komplexy se podílejí na fosforylaci celé řady proteinů nezbytných pro G_2/M přechod včetně strukturálních proteinů potřebných k výstavbě mitotického aparátu (8).

Inhibitory cyklin-dependentních kináz

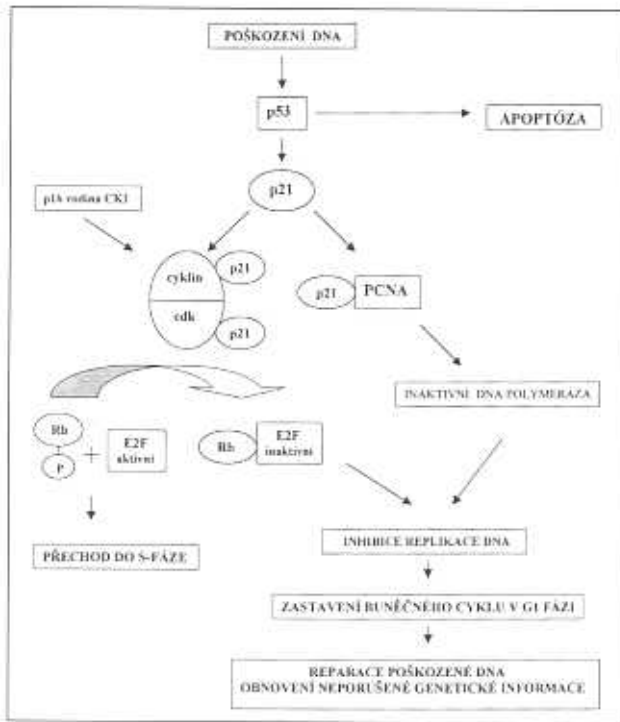
Aktivita cyklin-dependentních kináz je regulována řadou mechanismů, které ovlivňují jejich fosforylaci na specifických regulačních místech, intenzitu jejich syntézy a v neposlední řadě počasí rozpadu. Na regulaci CDKs se významně podílí skupina proteinů nazývaných jako inhibitory CDKs (zkratka CKIs), které mají schopnost inaktivovat cyklin/CDK komplexy a navodit zastavení buněčného cyklu v G_1/S kontrolním bodě. Tyto CKIs hrají klíčovou úlohu nejen v regulaci buněčného cyklu, ale i v mnoha dalších procesech v buňce, jako je diferenciace, stárnutí (senescence) nebo apoptóza (8, 22).

Inhibitory jsou rozdělovány do dvou skupin podle jejich aminokyselinové sekvence a biochemických mechanismů jejich účinku: do první, tzv. p16 rodiny CKIs, jsou zařazovány proteiny p16^{Ink4a}, p15^{Ink4b}, p18^{Ink4c} a p19^{Ink4d}, do druhé, tzv. p21 rodiny CKI, patří protein p21^{WAF1,CIP1,SDI1,MDA6} a s ním příbuzné proteiny p27^{Kip1} a p57^{Kip2} (2, 10, 35).

Proteiny patřící do p16 rodiny inhibují především aktivitu komplexu *cdk4* a *cdk6* s cykliny D, které se podílejí na fosforylaci nádorového supresoru Rb (protein retinoblastomu). Fosforylace proteinu Rb je kritickým krokem při regulaci jeho anti-onkogenního účinku a buňky, které jsou zablokovány v G_1 fázi buněčného cyklu, se vyznačují přítomností hypofosforylované formy tohoto proteinu. Tato forma proteinu Rb tvoří komplexy s celou řadou pozitivních transkripčních faktorů jako jsou proteiny rodiny E2F, kontroluje jejich funkci, brání transkripci DNA a tím vyvolává zastavení buněčného cyklu v G_1/S kontrolním bodě. Je-li protein Rb hyperfosforylován, jsou transkripční faktory E2F z tohoto komplexu uvolněny a je umožněno započítí transkripce a další průběh buněčného cyklu (18, 31).

Protein p21 (40) byl objeven v roce 1993 nezávisle několika laboratořemi, a to jako protein inhibující růst buněk indukovaný nádorovým supresorem p53 (byl označen jako „wild-type activated fragment 1“, ve zkratce *WAF1*) (12), jako přirozený inhibitor cyklin-dependentních kináz („cyklin-dependent kinase inhibitor protein 1“, ve zkratce *CIP1*) (16), jako protein hromadící se ve stárnoucích buňkách („senescence derived inhibitor of cell growth 1“, ve zkratce *SDI1*) (33) a jako protein mající úlohu při diferenciaci melanomu („melanoma differentiation-associated protein“, ve zkratce *MDA6*) (20). Studium proteinu p21^{WAF1} je neustále středem zájmu celé řady laboratoří, o čemž svědčí více než 700 původních prací zabývajících se problematikou proteinu p21 publikovaných za poslední tři roky, přičemž počet prací s danou tematikou i nadále narůstá (13).

Expresí proteinu p21 je indukována buněčnou diferenciací, senescencí nebo prostřednictvím zvýšené hladiny nemutovaného proteinu p53 (wt p53). Wt p53 protein (24, 25, 26, 28), jehož zvýšená exprese je regulována celou řadou buněčných stresů, má schopnost indukovat jak mechanismy způsobující zastavení buněčného cyklu v G_1 fázi, tak mechanismy vedoucí k programované buněčné smrti – apoptóze. Cílem zastavení buněčného cyklu v G_1 fázi zprostředkovaného proteinem p53 je získání dostatečně dlouhé doby k reparaci poškozené DNA před její další syntézou (S-fáze). Tento blok je zprostředkovan p53 závislou indukcí proteinu p21 (Obrázek 2). Existuje názor, že protein p21 se může přímo zapojit do p53-indukované apoptózy, ale jeho úloha v tomto procesu není zcela objasněna (1, 29, 43). Některé experimenty jednoznačně potvrzují, že protein p21 chrání buňky před poškozením jejich DNA a před prostaglandinem-indukovanou apoptózou. Jsou však známé i výsledky, které naopak naznačují, že primární úlohou proteinu p21 v apoptóze je indukce velkého počtu kli-



Obrázek 2: Úloha proteinu p21^{WAF1} v regulaci buněčného cyklu. Transkripce proteinu p21 je regulována antionkogenem p53 reagujícím na poškození DNA v důsledku buněčného stresu. V závislosti na stupni tohoto poškození jsou aktivovány buď biochemické dráhy vedoucí buňku k apoptóze nebo k zastavení buněčného cyklu v G₁ fázi, které je realizováno prostřednictvím proteinu p21. Hlavními funkcemi proteinu p21 je vazba různých typů komplexů cyklinu s cyklin-dependentní kinázou a proliferativního jaderného antigenu PCNA, což ve svém důsledku vede k inhibici replikace DNA a k zastavení buněčného cyklu v G₁ fázi.

dových buněk se zvýšenou tvorbou fragmentované DNA (13). Existuje celá řada na wt p53 nezávislých mechanismů, které jsou zodpovědné za indukci exprese proteinu p21 (30). Li a spol. (1995) (27) prokázali, že u p53-deficientních buněk (např. u nádorové buněčné linie tlustého střeva LS1034) dochází po indukci růstovým faktorem TGF- β k indukci proteinu p21. K indukci proteinu p21 dochází i po stimulaci klíčových buněk mitogenem signálem nebo v průběhu ontogeneze – příkladem je diferenciace myeloblastů, kdy je protein p21 aktivovaný svalově specifickým transkripčním faktorem MyoD (8, 15). Wt p53 nezávislá exprese proteinu p21 může být vyvolána i celou řadou chemických látek (např. adriamycinem) (29). Nová zjištění, že exprese proteinu p21 je zvýšena v některých plně diferencovaných tkáních (například ve svalů nebo v epitelových buňkách trávicího traktu), podporují názor, že protein p21 u těchto buněk napomáhá udržet blok buněčného cyklu (11, 13, 34).

Značnou strukturální podobnost s proteinem p21^{WAF1} vykazují příbuzné proteiny p27^{KIP1} a p57^{KIP2}. Přes tuto značnou homologii existují mezi těmito proteiny i určité funkční rozdíly. Příkladem je protein p27, jehož syntéza je stimulována především faktorem TGF a kontaktní inhibicí buněk (10, 17). Tento protein je akumulován v klíčových buňkách a při odpovědi na mitogenní stimulaci jeho hladina klesá, zatímco hladina proteinu p21 je v klíčových buňkách velmi nízká a vzrůstá teprve po aktivaci tímto mitogenem. Stejně jako protein p21 mají i proteiny p27 a p57 významnou úlohu v ontogenezi (11, 19, 35, 37, 41), kde se podílejí na ukončení buněčného cyklu při terminální diferenciaci buněk.

Struktura a funkce proteinu p21

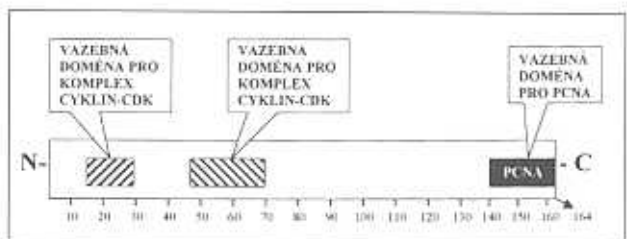
Lidský gen Waf1/CIP1 je tvořen třemi exony umístěnými na chromozómu 6p21.2, které kódují polypeptid o délce 164 ami-

nokyselín a hmotnosti 21 kDa lokalizovaný v jádře buňky. Homology lidského proteinu p21 byly prokázány u myši, krysy, kočky a pravděpodobně existují u hmyzu (např. u drosophil), rostlin a kvasinek (3, 13, 17, 22).

Za normálních fyziologických podmínek má protein p21 schopnost vytvářet komplexy s různými cyklin/CDK komplexy (N-koncová doména proteinu, aminokyseliny 1-80) a s proliferativním jaderným antigenem PCNA (C-koncová doména proteinu, aminokyseliny 142-163) (5, 6, 7, 9, 39) (Obrázek 3). Tento proliferativní jaderný antigen se účastní procesu replikace (jako součást DNA-polymerázy), rekombinace a reparace DNA. Interakce s proteinem p21 brání PCNA vytvářet aktivní komplex s DNA-polymerázou, jehož přítomnost je nezbytná pro správný průběh replikace, nenarušuje však reparační funkce PCNA (např. excize nukleotidů) (23, 36). Tímto mechanismem se tedy protein p21 podílí na inhibici syntézy DNA a navození zastavení buněčného cyklu v G₁/S kontrolním bodě cyklu. Aktivita C-koncové domény proteinu p21 interagující s PCNA však není sama o sobě pro zastavení růstu nádorových buněk dostačující. Naopak N-koncová doména proteinu p21, na níž se váží cyklin/CDK komplexy, je schopna inhibovat růst nádorových buněk a bylo prokázáno, že samotná tato vazebná doména je dokonce silnějším supresorem růstu nádorových buněk než celý wt p21 protein (5, 14, 35).

Interakce proteinu p21 s cyklin/CDK komplexy je tedy zodpovědná za inhibici cyklin-dependentních kináz specifických pro G₁/S přechod, které pak nejsou schopny fosforylovat celou řadu regulačních proteinů včetně pRb (17, 38), což se projeví zastavením buněčného cyklu v G₁ fázi. Protein p21 efektivně inhibuje s vysokou účinností kinázy *cdk2*, *cdk3*, *cdk4* a *cdk6* tvořící komplexy s cykliny A, B, D a E (35), s nižší účinností také komplexy *cdk1/cyklin B* a *cdk5/p35*, neasociuje s komplexem *cdk7/cyklin H* (13).

Poslední výzkumy zabývající se studiem mechanismu interakce proteinu p21 s CDKs ukazují, že komplexy cyklin-cdk-p21 mohou existovat jak v enzymaticky aktivním, tak v inaktivním stavu v závislosti na hladině proteinu p21 v buňce (5, 8, 42). V proliferujících buňkách s nízkou hladinou proteinu p21 si CDKs ponechávají svoji kinázovou aktivitu, která je však zrušena dalším zvýšením koncentrace proteinu p21. Změna aktivních komplexů na komplexy inaktivní zřejmě nastává změnou molárního poměru proteinu p21 a cyklin/CDK komplexů (aktivní komplexy obsahují pouze jednu molekulu p21, která pravděpodobně stimuluje enzymatickou aktivitu komplexu, zatímco inaktivní obsahují více p21 podjednotek). Tento mechanismus byl popsán jak u lidských nádorových buněk, tak u normálních diploidních fibroblastů. Protein p21, interagující jak s komplexy cyklinů a CDKs, tak s PCNA, koordinuje funkci CDKs v regulaci buněčného cyklu s procesy replikace a reparace DNA (8). Snížená exprese proteinu p21 byla detekována v mnoha typech nádorů, především v souvislosti s nefunkčním proteinem p53. V nádorech močového měchýře, prostaty a některých dalších byly nalezeny nefunkč-



Obrázek 3: Schéma proteinu p21^{WAF1}. Protein p21 je tvořen 164 aminokyselinami a má hmotnost 21 kDa. Pro jeho funkci jsou nejvýznamnější tři oblasti: dvě vazebné domény pro komplexy cyklinu s cyklin-dependentní kinázou v N-koncové části proteinu a vazebná doména pro proliferativní jaderný antigen PCNA na C-konci.

ní formy proteinu p21, které svoji funkci ztratily v důsledku mutace (13, 29).

p21^{WAF1} je tedy multifunkční protein, indukovaný mnoha intracelulárními a extracelulárními signály, který realizuje spojení mezi regulací buněčného cyklu a mechanismy regulujícími stárnutí a diferenciaci buněk. Absence funkčního proteinu p21 má za následek porušení regulace buněčného cyklu, abnormální diferenciaci buňky a silnou predispozici k transforma-

ci buňky onkogeny (jako např. *ras*) vedoucí k tvorbě nádoru. Z výše uvedených skutečností jednoznačně vyplývá, že nefunkční protein p21 se v poslední době stává stále častějším cílem prací zabývajících se vývojem protinádorové terapie (1, 4).

Tato práce byla podporována grantovými projekty GA ČR 312/99/1550, IGA MZ ČR 47 83-3 a MŠMT No. VS 96154.

Literatura:

- Ahmad N., Feyes D.K., Agarwal R., Mukhtar H.: Photodynamic therapy results in induction of WAF1/CIP1/p21 leading to cell cycle arrest and apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1998 Jun 9;95(12):6977-82.
- Baghdassarian N., Ffrench M.: Cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs) and hematological malignancies. *Hematol. Cell. Ther.* 1996 Aug;38(4):313-23.
- Ball K.L., Lane D.P.: Human and plant proliferating-cell nuclear antigen have a highly conserved binding site for the p53-inducible gene product p21/WAF1. *Eur. J. Biochem.* 1996 May 1;237(3):854-61.
- Ball K.L., Lain S., Fahrens R., Smythe C., Lane D.P.: Cell-cycle arrest and inhibition of Cdk4 activity by small peptides based on the carboxy-terminal domain of p21/WAF1. *Curr. Biol.* 1997 Jan 1;7(1):71-80.
- Cai K., Dynlacht B.D.: Activity and nature of p21(WAF1) complex during the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998 Oct 13;95(21):12254-9.
- Cayrol C., Knibiehler M., Ducommun B.: p21 binding to PCNA causes G1 and G2 cell cycle arrest in p53-deficient cells. *Oncogene* 1998 Jan 22;16(3):311-20.
- Cayrol C., Ducommun B.: Interaction with cyclin-dependent kinases and PCNA modulates proteasome-dependent degradation of p21. *Oncogene* 1998 Nov 12;17(19):2437-44.
- Chellappan S.P., Giordano A., Fisher P.B.: Role of cyclin-dependent kinases and their inhibitors in cellular differentiation and development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1998;227:57-103.
- Chen J., Jackson P.K., Kirschner M.W., Dutta A.: Separate domains of p21 involved in the inhibition of Cdk kinase and PCNA. *Nature* 1995 Mar 23;374(6520):386-8.
- Clurman B.E., Porter P.: New insights into the tumor suppression function of P27. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1998 Dec 22;95(26):15158-60.
- DiCunto F., Topley G., Calautti E., Hsiao J., Ong L., Seth P.K., Dotto G.P.: Inhibitory function of p21Cip1/WAF1 in differentiation of primary mouse keratinocytes independent of cell cycle control. *Science* 1998 May 15;280(5366):1069-72.
- el-Deiry W.S., Tokino T., Velculescu V.E., Levy D.B., Parsons R., Trent J.M., Lin D., Mercer W.E., Kinzler K.W., Vogelstein B.: WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 1993 Nov 19;75(4):817-25.
- el-Deiry W.S.: p21/p53, cellular growth control and genomic integrity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1998;227:121-37.
- Gulbis J.M., Kelman Z., Hurwitz J., O'Donnell M., Kuriyan J.: Structure of the C-terminal region of p21(WAF1/CIP1) complexed with human PCNA. *Cell* 1996 Oct 18;87(2):297-306.
- Halevy O., Novitsch B.G., Spicer D.B., Skapek S.X., Rhee J., Hannon G.J., Beach D., Lassar A.B.: Correlation of terminal cell cycle arrest of skeletal muscle with induction of p21 by MyoD. *Science* 1995 Feb 17;267(5200):1018-21.
- Harper J.W., Adami G.R., Wei N., Keyomarsi K., Elledge S.J.: The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 1993 Nov 19;75(4):805-16.
- Harper J.W., Elledge S.J., Keyomarsi K., Dynlacht B., Tsai L.H., Zhang P., Dobrowolski S., Bai C., Connell-Crowley L., Swindell E., Fox M.P., Wei N.: Inhibition of cyclin-dependent kinases by p21. *Mol. Biol. Cell* 1995 Apr;6(4):387-400.
- Harris E.E., Kao G.D., Muschel R.J., McKenna W.G.: Potential applications of cell cycle manipulation to clinical response. *Cancer Treat. Res.* 1998;93:169-90.
- Horký M., Kuchíčková S., Vojtěšek B., Kolář P.: Induction of cell-cycle inhibitor p21 in rat ventricular myocytes during early postnatal transition from hyperplasia to hypertrophy. *Physiol. Res.* 1997;46(3):233-5.
- Jiang H., Lin J., Su Z.Z., Herlyn M., Kerbel R.S., Weissman B.E., Welch D.R., Fisher P.B.: The melanoma differentiation-associated gene mda-6, which encodes the cyclin-dependent kinase inhibitor p21, is differentially expressed during growth, differentiation and progression in human melanoma cells. *Oncogene* 1995 May 4;10(9):1855-64.
- Kamb A.: Cell-cycle regulators and cancer. *Trends Genet.* 1995 Apr;11(4):136-40.
- Kamb A.: Cyclin-dependent kinase inhibitors and human cancer. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1998;227:139-48.
- Kelman Z.: PCNA: structure, functions and interactions. *Oncogene* 1997 Feb 13;14(6):629-40.
- Lane D.P., Crawford L.V.: T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979 Mar 15;278(5701):261-3.
- Lane D.P.: Cancer, p53, guardian of the genome. *Nature* 1992 Jul 2;358(6381):15-6.
- Levine A.J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997 Feb 7;88(3):323-31.
- Li C.Y., Suardet L., Little J.B.: Potential role of WAF1/Cip1/p21 as a mediator of TGF-beta cytoinhibitory effect. *J. Biol. Chem.* 1995 Mar 10;270(10):4971-4.
- Linzer D.I., Levine A.J.: Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 1979 May;17(1):43-52.
- Lu Y., Yamagishi N., Yagi T., Takebe H.: Mutated p21(WAF1/CIP1/SD1) lacking CDK-inhibitory activity fails to prevent apoptosis in human colorectal carcinoma cells. *Oncogene* 1998 Feb 12;16(6):705-12.
- Michieli P., Chedid M., Lin D., Pierce J.H., Mercer W.E., Givol D.: Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independent pathway. *Cancer Res.* 1994 Jul 1;54(13):3391-5.
- Morgan S.E., Kastan M.B.: p53 and ATM: cell cycle, cell death, and cancer. *Adv. Cancer Res.* 1997;71:1-25.
- Nigg E.A.: Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle. *Bioessays* 1995 Jun;17(6):471-80.
- Noda A., Ning Y., Venable S.F., Pereira-Smith O.M., Smith J.R.: Cloning of senescent cell-derived inhibitors of DNA synthesis using an expression screen. *Exp. Cell Res.* 1994 Mar;211(1):90-8.
- Parker S.B., Eichele G., Zhang P., Rawls A., Sands A.T., Bradley A., Olson E.N., Harper J.W., Elledge S.J.: p53-independent expression of p21Cip1 in muscle and other terminally differentiating cells. *Science* 1995 Feb 17;267(5200):1024-7.
- Sherr C.J., Roberts J.M.: Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev.* 1995 May 15;9(10):1149-63.
- Shivji M.K., Grey S.J., Strausfeld U.P., Wood R.D., Blow J.J.: Cip1 inhibits DNA replication but not PCNA-dependent nucleotide excision-repair. *Curr. Biol.* 1994 Dec 1;4(12):1062-8.
- Steinman R.A., Huang J., Yaroslavskiy B., Goff J.P., Ball E.D., Nguyen A.: Regulation of p21(WAF1) expression during normal myeloid differentiation. *Blood* 1998 Jun 15;91(12):4531-42.
- Velculescu V.E., El-Deiry W.S.: Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clin. Chem.* 1996 Jun;42(6 Pt 1):858-68.
- Warbrick E., Lane D.P., Glover D.M., Cox L.S.: A small peptide inhibitor of DNA replication defines the site of interaction between the cyclin-dependent kinase inhibitor p21WAF1 and proliferating cell nuclear antigen. *Curr. Biol.* 1995 Mar 1;5(3):275-82.
- Xiong Y., Hannon G.J., Zhang H., Casso D., Kobayashi R., Beach D.: p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 1993 Dec 16;366(6456):701-4.
- Yamamoto H., Soh J.W., Shirai H., Xing W.Q., Lim J.T., Yao Y., Slosberg E., Tomita N., Schieren I., Weinstein I.B.: Comparative effects of overexpression of p27/Kip1 and p21Cip1/Waf1 on growth and differentiation in human colon carcinoma cells. *Oncogene* 1999 Jan 7;18(1):103-15.
- Zhang H., Hannon G.J., Beach D.: p21-containing cyclin kinases exist in both active and inactive states. *Genes Dev.* 1994 Aug 1;8(15):1750-8.
- Zhang Y., Fujita N., Tsuruo T.: Caspase-mediated cleavage of p21/Waf1/Cip1 converts cancer cells from growth arrest to undergoing apoptosis. *Oncogene* 1999 Feb 4;18(5):1131-8.