دانشگاه تبریز

دانشکده علوم طبیعی

گروه زیست شناسی جانوری

پایاننامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.sc ) در رشته بیوشیمی

**عنوان:**

# بررسی مرگ سلولی در رده ی سلولی K562 در اثر تعدادی از مشتقات خانوادهی دی تیوکاربامات

**اساتید راهنما:**

دکتر مجید مهدوی

دکتر محمدعلی حسین پور فیضی

**پژوهشگر:**

رقیه فلاح ملک درق

زمستان 91

بسم الله الرحمن الرحیم

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

و تقدیم به تمامی خانواده ام که همواره مشوق و پشتیبان من بوده اند.

اقرا و ربک الاکرم

الذی علم بالقلم ❊ علم الانسان مالم یعلم

خداوند بزرگ را که آنچه را انسان نمی دانست به او آموخت ، سپاس می گویم بابت لطفی که بر من ارزانی فرمود تا بتوانم قدم در راه علم بردارم در اینجا وظیفه ی خود می دانم که از اساتید گرانقدرم سپاسگزاری کنم . از تمامی اساتید دانشکده ی علوم که در حضورشان کسب علم نمودم سپاسگزارم به خصوص دکتر سید محمد امین موسوی و دکتر سید مهدی بانان خجسته که همواره حضور پر روحیه ایشان در کلاس انگیزه ادامه تحصیل را در من بیدار می کرد. از تمامی اساتیدم در دوره ی کارشناسی ارشد سپاسگزارم به ویژه دکتر مجید مهدوی که با صبر و اخلاق نیکو راهنمایی پایان نامه اینجانب را به عهده گرفتند . از دکتر محمد علی حسین پور فیضی بابت تمام راهنمایی هایشان چه در زمینه تحصیل و چه در موارد دیگر تشکر می کنم . از دکتر پیمان زارع به خاطر در اختیار گذاشتن آزمایشگاه کشت سلولی و کمک های دیگر به اینجانب سپاسگزارم . از دکتر رضا صفر علیزاده که داوری این پایان نامه را پذیرفتند تشکر می کنم . از سرکار خانم فریده قنبروند که با دلسوزی کار در آزمایشگاه را به من آموخت کمال تشکر را دارم . از دوستان و اعضای خانواده ام که همواره پشتیبان من بوده اند سپاسگزارم و آرزوی توفیق و سربلندی از درگاه خداوند متعال برای ایشان دارم .

امیدوارم خداوند علیم پیمودن راه دانش را بر تمام شیفتگان آن هموار فرماید و در این راه آنها را از هدایت و یاری خود بی نصیب نگرداند.

**نام خانوادگی دانشجو**: فلاح ملک درق **نام**: رقیه

**عنوان پایاننامه** : بررسی مرگ سلولی در رده ی سلولی K562 در اثر تعدادی از مشتقات خانواده ی دی تیوکاربامات

**اساتید راهنما**:

دکتر مجید مهدوی

دکتر محمدعلی حسین پور فیضی

**مقطع تحصیلی**: کارشناسی ارشد **رشته**: زیست شناسی **گرایش**: بیوشیمی **دانشگاه**: تبریز

**دانشکده**: علوم طبیعی **تاریخ فارغ التحصیلی**: بهمن 91 **تعداد صفحه**: 65

**واژه های کلیدی**: لوسمی میلوئیدی مزمن، آپوپتوز، زیستایی، دی تیوکاربامات

**چکیده**:

لوسمی میلوئیدی مزمن یک ناهنجاری ژنتیکی است که باعث تکثیر سلول های میلوئیدی خون می شود. تمامی لوسمی‌ها از مغز استخوان، جایی که سلول‌های خونی در حال تکامل- معمولا گلبول‌های سفید- دچار یک تغییر سرطانی می‌گردند آغاز می‌شوند. نقصی که در بیش از 95٪ مبتلایان به این بیماری دیده می‌شود ساختاری به نام کروموزوم فیلادلفیا می‌باشد که در اثر جابه جایی بین دو بازوی بلند کروموزوم‌های ۹ و 22 ایجاد می‌شود. در اثر این جابه‌جایی ژن الحاقی*bcr/abl* ایجاد می‌شود که یک تیروزین کیناز غیرطبیعی را کد می‌کند. این تیروزین کیناز بدون نیاز به سیگنال به طور دائم فعال می‌باشد در نتیجه باعث تکثیر بی‌رویه‌ی سلول‌ها می‌گردد. درمان لوسمی بسته به نوع دقیق آن سن بیماران و سلامتی عمومی آنان متفاوت است.

درمان اصلی لوسمی شیمی درمانی با داروهایی مانند هیدروکسی اوره، ایماتینیب و بوسولفان می‌باشد اما به علت به وجود آمدن مقاومت دارویی در مبتلایان پژوهشگران در پی یافتن داروهای ضد سرطان جدیدمی‌باشند. در این میان مشتقات خانواده‌ی دی تیوکاربامات (Dithiocarbamate) مورد توجه قرار گرفته است.

دی تیوکاربامات ها ترکیباتی هستند که دارای گروه تیول می باشند و خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی پیچیده‌ای از خود نشان می دهند. این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدان ، ترکیبات ضد قارچ ، دارو وهمینطور مهارکننده‌ی فعال‌سازی رونویسی در بیولوژی مولکولی ، استفاده می‌شوند. بسیاری از اثرات بیولوژیکی دی تیوکاربامات‌ها به علت خواص شلاته کننده‌ی فلز در آنها می‌باشد. این ترکیبات سال‌ها در روش‌های تحلیلی برای تعیین فلزات سنگین به خصوص به علت ماهیت لیپوفیلیک آنها برای نمونه های آلی استفاده می‌شدند. اثرات تعدادی از مشتقات این خانواده روی مهار رشد و همینطور القای آپوپتوز در رده‌های سلولی سرطانی

به اثبات رسیده  است. دراین مطالعه اثرات تعدادی از مشتقات جدید خانواده  ی دی تیوکاربامات بر رده ی سلولی لوسمی انسانی(K562) مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون دفع رنگ تریپان بلو برای نشان دادن اثر مهار رشدی این ترکیبات استفاده شد و همینطور آزمون قطعه قطعه شدن  DNA نشان داد که این ترکیبات باعث آپوپتوز در رده‌ی سلولیK562 می‌شوند.

## فصل اول: بررسی منابع


۱-۱- چرخه‌ی سلولی..... 1

۱-۱-۱- کنترل چرخه ی سلولی..... 2

۱-۱-۱-۱-سیکلین ها و کینازهای وابسته به سیکلین..... 2

۱-۱-۱-۲- مهارکننده های Cdk..... 5

۱-۲-آپوپتوز..... 8

۱-۱-۲-۱- تعریف آپوپتوز..... 8

۱-۱-۲-۲- مکانیسم انجا م آپوپتوز ..... 9

۱-۱-۲-۲-۱- مسیر گیرنده های مرگ یا مسیر خارجی..... 9

۱-۱-۲-۲-۲- مسیر میتوکندریایی یا مسیر داخلی..... 12

۱-۱-۲-۳- مکانیسم های تنظیمی آپوپتوز..... 14

۱-۱-۲-۳-۱- خانواده ی Bcl-2..... 14

۱-۱-۲-۳-۱-۱- Bid رابطی بین مسیرهای خارجی و داخلی آپوپتوز..... 15

۱-۱-۲-۳-۲- تنظیم آپوپتوز توسط IAPs..... 15

۱-۱-۲-۳-۳- تنظیم آپوپتوز توسط p53..... 17

۱-۱-۲-۴- آپوپتوز و سرطان..... 18

۱-۱-۳- لوسمی..... 19

۱-۱-۳-۱- تعریف و طبقه بندی..... 19

۱-۱-۳-۱-۱- لوسمی میلوئیدی مزمن (CML)..... 20

۱-۱-۳-۱-۱-۱- راهکارهای درمانی لوسمی میلوئیدی مزمن.....21

۱-۱-۳-۱-۱-۱-۱- شیمی درمانی.....21

۱-۱-۳-۱-۱-۱-۲- هدف درمانی.....22

۱-۱-۳-۱-۱-۱-۳- پیوند آلوژنیک مغز استخوان.....24

۱-۱-۳-۱-۱-۱-۴- اینترفرون آلفا.....25

۱-۱-۳-۱-۱- ۱-۵- تمایز درمانی.....26

۱-۱-۴- دی تیوکاربامات ها.....27

۱-۱-۴-۱- دی تیوکاربامات ها خاصیت آنتی اکسیدانی دارند.....28

۱-۱-۴-۲- دی تیوکاربامات ها خاصیت پروآپوپتوز و آنتی آپوپتوزی دارند.....30

۱-۱-۴-۳- دی تیوکاربامات ها مهارکننده ی فاکتور هسته ای κB هستند.....31

۱-۱-۴-۳-۱- نقش فاکتور هسته ای κB در سرطانزایی.....31

۱-۱-۴-۳-۲- مسیر فاکتور هسته ای κB و مهار آن توسط دی تیوکاربامات ها.....31

۱-۱-۴-۳- دی تیوکاربامات ها مسیر یوبی کوئیتین - پروتئازوم را مهار می کنند.....34

۱-۲- هدف از مطالعه ی حاضر.....35

**فصل دوم: مواد و روش‌ها**

۲-۱- مواد و روش‌ها.....37

۲-۲- مواد.....37

۲-۳- کشت سلولی.....38

۲-۳-۱- وسایل و مواد لازم برای کشت سلولی.....38

۲-۳-۱-۱- انکوباتور ..... 38

۲-۳-۱-۲- اتوکلاو ..... 39

۲-۳-۱-۳- هود لامینار ..... 39

۲-۳-۲- تهیه ی سلول های سرطانی و کشت آنها ..... 39

۲-۳-۲-۱- روش کشت سلولی ..... 40

۲-۳-۲-۱- ۱- روش یخ زدایی از سلول ها ..... 40

۲-۳-۲-۱-۲- تعویض کشت سلولی(پاساژ) ..... 41

۲-۳-۳- ذخیره سازی سلول ها در بانک سلولی ..... 41

۲-۳-۳-۱- مواد لازم برای ذخیره سازی سلول ها در نیتروژن مایع ..... 41

۲-۳-۳-۲- روش ذخیره سازی سلول ها در نیتروژن مایع ..... 42

۲-۳-۴- تیمار سلول ها با دی تیوکاربامات ها ..... 43

۲-۳-۵- آزمون دفع رنگ تریپان بلو ..... 43

۲-۳-۵-۱- تهیه ی رنگ تریپان بلو ..... 43

۲-۳-۵-۲- روش شمارش سلولی ..... 44

۲-۳-۶- مطالعه ی آپوپتوز با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنت ..... 44

۲-۳-۷- آزمون قطعه قطعه شدن DNA ..... 45

۲-۳-۷-۱- الکتروفورز ژل آگارز ..... 45

**فصل سوم: نتایج و بحث**

۳-۱- نتایج ..... 47

۳-۱-۱- اثرات مشتقات دی تیوکاربامات بر رشد و زیستایی رده ی سلولیK562.....47

۳-۱-۱-۱- اثرات مهار رشدی دی تیوکاربامات ها بر رده ی سلولیK562 .....47

۳-۱-۱-۲- اثرات مشتقات دی تیوکاربامات بر زیستایی در رده ی سلولیK562.....49

۳-۱-۲- اثرات مشتقات دی تیوکاربامات بر شکل ظاهری رده ی سلولیK562 .....54

۳-۱-۳- بررسی القاء آپوپتوز توسط مشتقات دی تیوکاربامات در رده ی سلولیK562.....55

۳-۱-۳-۱- بررسی القاء آپوپتوز با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنت.....55

۳-۱-۳-۲- بررسی القاء آپاپتوز با استفاده از آزمون قطعه قطعه شدنDNA.....57

۳-۲- بحث .....58

۳-۳- نتیجه گیری.....60

۳-۴- پیشنهادها.....61

منابع .....62

**فهرست شکل‌ها**

فصل اول: بررسی منابع

شکل1-1 : مراحل مختلف چرخه ی سلولی..... 2

شکل 1- 2: تنظیم چرخه ی سلولی توسط کمپلکسcyclin /Cdk..... 5

شکل1-3: نقش مهارکننده های Cdk در چرخه ی سلولی..... 8

شکل1-4: مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز..... 13

شکل 1-5: مسیر فاکتور هسته ای κB..... 33

**فصل دوم: مواد و روش ها**

شکل2-1: انکوباتور $CO_2$ ..... 39

شکل2-2: هود لامینار..... 39

**فصل سوم: نتایج و بحث**

شکل ۳-۱: ساختار شیمیایی دی تیوکاربامات های مورد آزمایش..... 48

شکل۳-۲: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1a) بر رشد سلول های K562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی..... 51

شکل ۳-۳: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1a) بر زیستایی سلول هایK562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی..... 51

شکل۳-۴: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1b) بر رشد سلول های K562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی..... 52

شکل ۳–۵: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1b) بر زیستایی سلول های K562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی.....52

شکل ۳–٦: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1c) بر رشد سلول های K562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی.....53

شکل ۳–۷: بررسی اثر مشتقات دی تیوکاربامات (1c) بر زیستایی سلول های K562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی.....53

شکل۳–۸: اثرات مشتقات دی تیوکاربامات بر شکل ظاهری سلول هایK562 .....54

شکل ۳–۹: تصویر میکروسکوپ فلورسنت از سلول هایK562 جهت بررسی وقوع آپوپتوز.....56

شکل ۳ –۱۰: اثرات مشتقات دی تیوکاربامات بر قطعه قطعه شدنDNA در سلول های K562.....57

# فصل اول

# بررسی منابع

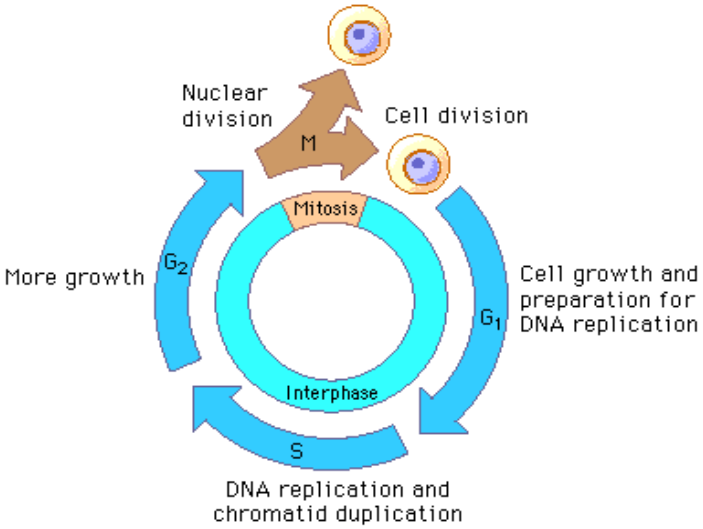
## ۱-۱- چرخه ی سلولی[۱]

چرخه ی سلولی فرایندی است که طی آن یک سلول رشد می کند ، DNA خود را همانندسازی می کند سپس تقسیم می شود تا دو سلول دختر به وجود آید. این فرایند به چهار مرحله ی متوالی تقسیم می شود شکل(۱-۱). اغلب دو مرحله از این مراحل مهم تر محسوب می شوند که عبارتند از مرحله ی S ؛ زمانی که همانندسازی DNA اتفاق می افتد و مرحله یM یا میتوز که در آن یک سلول به دو سلول دختر تقسیم می شود.

در حقیقت یک مفهوم کلیدی چرخه ی سلولی این است که تا زمانی که میتوز کامل نشده است نباید همانندسازی DNA آغاز شود و تا زمانی که همانندسازیDNA به اتمام نرسیده است نباید مرحله ی میتوز آغاز شود. بین مراحل S و M دو شکاف[۲] $G_1$ و $G_2$ وجود دارد. $G_1$ مرحله ای از چرخه ی سلولی است که در آن سلول پاسخگوی هم سیگنال های رشدی مثبت و هم سیگنال های رشدی منفی می باشد. $G_2$ شکافی بعد از مرحله یS می باشد که در آن سلول برای ورود به میتوز آماده می شود.

در نهایت مرحله ای به نام $G_0$ که خاموشی [۳] نیز نامیده می شود وجود دارد. در این مرحله ، سلولی که سیگنال های پیش برنده ی رشدی مناسبی را دریافت نمی کند ممکن است از مرحله ی $G_1$ خارج شده و وارد مرحله ی $G_0$ گردد.[۱]

[۱] Cell Cycle
[۲] Gap
[۳] Quiescence




شکل۱-۱ : مراحل مختلف چرخه ی سلولی

## ۱-۱-۱- کنترل چرخه ی سلولی

### ۱-۱-۱-۱- سیکلین ها[۱] و کینازهای وابسته به سیکلین[۲]

انتقال از یک مرحله ی چرخه ی سلولی به مرحله ی دیگر به وسیله ی کینازهای وابسته به سیکلین(Cdks) کنترل می شود. Cdks که خانواده ای از سرین/ترئونین پروتئین کیناز ها می باشند توسط فسفریله شدن/ دفسفریله شدن و اتصال به زیرواحدهای تنظیمی یا سیکلین ها و ایجاد هترودایمر فعال می شوند[۲]. پنج نوع از این کیناز ها در طی چرخه ی سلولی فعال می شوند. یعنی طی $G_1$ (Cdk4، Cdk6 و Cdk2)، S (Cdk2)، $G_2$ و M (Cdk1). هنگامی که کیناز وابسته به سیکلین فعال می شود با فسفریله کردن پروتئین های خاصی فرایند های پایین دست را القا می کند. سطح این پروتئین ها برخلاف پروتئین های فعال کننده ی آنها یعنی سیکلین ها در طی چرخه ی سلولی ثابت باقی می ماند. سطح پروتئین سیکلین ها در

[۱] Cyclins
[۲] Cyclin dependent kinases

طول چرخه ی سلولی کم و زیاد می شود و به این طریق آنها به طور دوره ای Cdk را فعال می کنند. سیکلین های مختلف در مراحل مختلف چرخه ی سلولی مورد نیاز هستند. سه نوع سیکلین D ( سیکلین D1، سیکلین D2 و سیکلین D3 ) به Cdk4 و به Cdk6 متصل می شوند و کمپلکس های Cdk – سیکلینD برای ورود به $G_1$ ضروری می باشند.

بر خلاف سیکلین های دیگر، سیکلین D به طور دوره ای بیان نمی شود بلکه تا زمانی که تحریک فاکتور رشد[1] وجود داشته باشد تولید می گردد. سیکلین دیگر مرحله ی $G_1$ سیکلین E می باشد که به Cdk2 متصل می گردد تا عبور از $G_1$ به مرحله ی S را تنظیم کند. سیکلین A به Cdk2 متصل می شود و این کمپلکس در طول مرحله ی S مورد نیاز است.

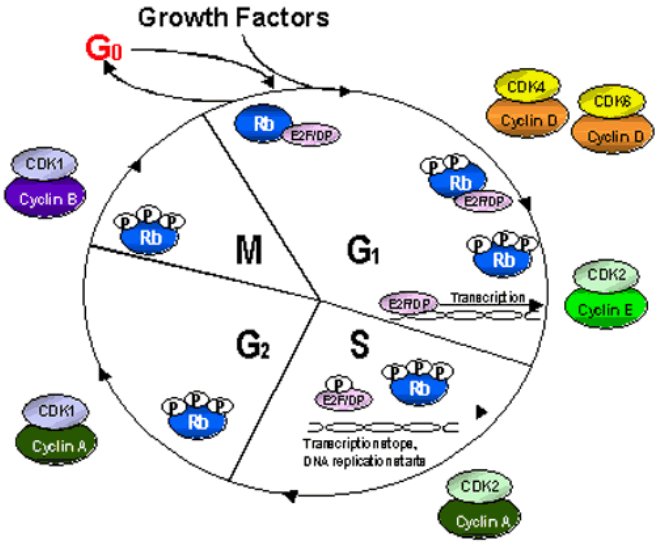
در اواخر $G_2$ و اوایل M سیکلین A به Cdk1 متصل می شود تا باعث ورود به مرحله ی M شود. میتوز توسط سیکلین B در کمپلکس با Cdk1 تنظیم می شود. علاوه براتصال به سیکلین ، فعالیت Cdk با فسفریلاسیون در ریشه[2] های حفظ شده ی ترئونین و تیروزین هم تنظیم می شود. فعالیت کامل Cdk1 به فسفریلاسیون در ترئونین 161 (ترئونین 172 در Cdk4 و ترئونین 160 در Cdk2) نیاز دارد. این فسفریلاسیون باعث تغییراتی در کانفورماسیون[3] می شود و اتصال سیکلین ه ا را تقویت می کند. کینازهای Wee1 و Cdk1، Myt1 را در تیروزین 14 یا ترئونین 15 فسفریله می کنند که کیناز را غیرفعال می کند. دفسفریلاسیون در این محل ها توسط cdc25 برای فعال کردن Cdk1 و پیشرفت بیشتر در چرخه ی سلولی ضروری می باشد. هنگامی که Cdk فعال می شود پروتئین های هدف را در محل هایی فسفریله می کند و این منجر به تغییراتی می شود که به طور فیزیولوژیکی مربوط به پیشرفت چرخه ی سلولی می باشد.

[1] Growth factor
[2] Residue
[3] Conformation

یکی از هدف هایی که بسیار مطالعه شده است سوبسترای Cdk4/6 – سیکلینD، یعنی محصول ژن سرکوبگر تومور[۱]، رتینوبلاستوما[۲] (pRb ) می باشد. در اوایل $G_1$، pRb فسفریله می شود و این منجر به شکسته شدن کمپلکس آن با فاکتور رونویسی E2F توسط پروتئین هیستون داستیلاز می شود که باعث آزاد شدن فاکتور رونویسی E2F می گردد.

این فاکتور به طور مثبت، رونویسی از ژن هایی را که محصول آنها برای پی‌شرفت مرحله ی S مورد نیاز هستند مانند سیکلین A، سیکلین E و Cdc25 را تنظیم می کند . pRb درباقیمانده ی چرخه ی سلولی هایپرفسفریله[۳] باقی می ماند و Cdk2 – سیکلینE در حفظ این حالت شرکت می کند.Cdk2 – سیکلین E هیستون H1 را فسفریله می کند این فعالیت برای تراکم[۴] کروموزوم که در طول همانندسازی DNA مورد نیاز است ممکن است مهم باشد. کیناز های وابسته به سیکلین A با فسفریله کردن DNA پلیمراز آلفا پریماز، آغاز همانندسازی DNA را تنظیم می کنند[۳].

[۱] Tumor suppressor
[۲] Retinoblastoma
[۳] Hyperphosphorylated
[۴] Condensation




شکل ۱ – ۲: تنظیم چرخه ی سلولی توسط کمپلکس cyclin - Cdk

### ۱ – ۱ – ۱ – ۲ – مهارکننده‌های Cdk[۱]

سیکلین ها و کینازهای وابسته به سیکلین اغلب به عنوان تنظیم کننده های مثبت چرخه ی سلولی یوکاریوتی محسوب می شوند یک خانواده از تنظیم کننده ها ی منفی هم وجود دارند یعنی مهارکننده های کینازهای وابسته به سیکلین (CDKIs). CDKIs شامل دو خانواده اند که از نظر ساختاری متمایز می باشند INK4 مهار کننده ی Cdk4 و خانواده ی CIP/KIP (پروتئین مهار کننده ی کیناز/پروتئین میان کنش دهنده با Cdk). خانواده ی INK4 شامل p14، p15 (INK4B)، p16 (INK4A)، p18 (INK4C) و P19 (INK4D) می باشند که به طور خاص کمپلکس های Cdk – سیکلین مرحله ی $G_1$ را مهار می کنند و در کنترل مرحله ی $G_1$ نقش دارند. خانواده ی CIP/KIP شامل p21 (CIP1/WAF1/SDI1)، p27 (KIP1) و p57 (KIP2) می باشد که ۳۸ تا ۴۴ درصد در اولین هفتاد آمینواسید ناحیه ی انتهای آمین خود– ناحیه ای که در

[۱] Cyclin dependent kinase inhibitors

اتصال به سیکلین و عملکرد مهار کردن کیناز نقش دارد – یکسان می باشند. خانواده ی CIP/KIP ویژگی[1] وسیع تری نسبت به خانواده ی INK4 دارند و به کمپلکس های Cdk2 – سیکلین E، Cdk4– سیکلینD، Cdk6 – سیکلینD، Cdk2 – سیکلینA و CDC2 – سیکلینB متصل می شوند و آنها را مهار می کنند.

اعضای دو خانواده ی CDKI با مکانیسم های متمایزی فعالیت Cdk را مهار می کنند. اعضای خانواده ی CIP/KIP به کل کمپلکس Cdk – سیکلین متصل می شوند و آن را مهار می کنند در حالی که اعضای خانواده ی INK4 به طور غیر مستقیم با ایجاد تغییرات آلوستریک[2] در Cdk که باعث تغییر در محل اتصال سیکلین می شود مانع از اتصال سیکلین می گردند آنها همچنین با تغییر محل اتصال ATP باعث کاهش تمایل به ATP می شوند.

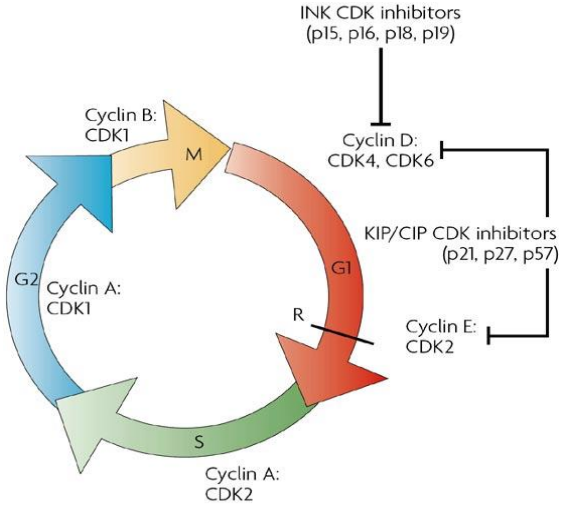
در مورد p21 نشان داده شده است که این مهار کننده هم در کمپلکس های Cdk – سیکلین فعال و هم در غیر فعال وجود دارد و پیشنهاد شده است که استوکیومتری اتصال p21 به کمپلکس Cdk – سیکلین، فعال شدن یا مهار شدن کمپلکس را کنترل می کند.

[1] Specificity
[2] Allosteric
[3] Central domain

پروتئین سرکوبگر تومور p53 هم نقش مهمی در توقف چرخه ی سلولی در نقاط وارسی $G_1$ و $G_2$ دارد که منجر به آپوپتوز می شود. پروتئین p53 دارای یک دمین مرکزی[1] برای اتصال به DNA و یک دمین فعال کننده‌ی رونویسی[4] در انتهای آمین خود می باشد که در پاسخ به آسیب DNA می تواند باعث القای رونویسی p21 شود که فعال شدن کمپلکس‌های گوناگون Cdk – سیکلین مرحله ی $G_1$ را مهار می‌کند[۴].

درباره ی استیوکیومتری پروتئین های CIP/KIP نسبت به پروتئین های سیکلین–Cdk و تاثیر این موضوع بر فعالیت کیناز بحث هایی وجود دارد. مطالعات پیشنهاد می کند که دومولکول p21 برای مهار یک کمپلکس سیکلین–Cdk مورد نیاز است در حالی که ساختار کریستالی p21 متصل شده به کمپلکس سیکلینA – Cdk2 پیشنهاد می کند که تنها یک مولکول مهارکننده برای مهار کردن کافی است.

پروتین های CIP/KIP در غلظت های کم با پایدار کردن کمپلکس های سیکلین D/ Cdk4 باعث تقویت فعالیت کینازی Cdk4 می شوند در حالی که در غلظت های بالاتر فعالیتCdk4 مهار می شود[۵].




شکل۱–۳: نقش مهارکننده های Cdk در چرخه ی سلولی

[4]Transcription activating domain