بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم جانوری

پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی

عنوان

بررسی استرس اکسیداتیو و سیکل سلولی در رده سلولی K562 تحت تاثیر مشتق فعالی از خانواده دی تیوکاربامات

استادان راهنما

دکتر مجید مهدوی

دکتر محمدرضا رشیدی

استاد مشاور

دکتر غلامرضا دهقان

پژوهشگر

لعیا خوش‌طبیعت

بهمن ماه ۱۳۹۳

تقدیم به:

با نهایت ادب و احترام، این پایان‌نامهٔ ناقابل را

تقدیم

محضر شریف پدر بزرگوارم

و

مادر مهربانم

می‌نمایم.

تقدیر و تشکر

پروردگار مهربان را شکر می گویم که بودنم، مرهون لطف رحیمانهٔ اوست و همواره، راهنمای شفیقی برای من است.

سپاس ویژه‌ای دارم از استاد راهنمای ارجمند و صبورم، **جناب آقای دکتر مجید مهدوی**، که شاگردی ایشان افتخاری بزرگ برایم است و در محضرشان درس‌های فراوانی از علم، اخلاق و وارستگی آموختم.

از استاد خردمندم، **جناب آقای دکتر غلامرضا دهقان** که با محبت فراوان و بی دریغ، دانش خود را در اختیارم گذاشتند، تشکر می نمایم.

از استاد ارجمندم، **جناب آقای دکتر رضا صفر علیزاده**، برای زحمت ایشان در استادی من و لطف فراوانشان در پذیرش داوری این پروژه سپاس گذارم. اطمینان دارم که نگاه نقادانهٔ ایشان در بهبود این کار، بسیار راهگشا خواهد بود.

سپاسی ویژه دارم از دوستان و همکاران عزیزم در آزمایشگاه کشت سلول که بودن در کنار آن‌ها، مایهٔ دلگرمی من بود و خاطره خوب همکاری و دوستی با آنان هرگز از ذهنم پاک نخواهد شد.

در نهایت، با فروتنی بسیار از خانوادهٔ مهربانم تشکر می کنم. از پدر و مادر مهربان و عزیزم که نخستین معلمان من هستند و دستان پرمهرشان همواره دعاگویم است. برای مهر فراوان و حمایت بی شائبهٔ آنان است که امروز، اینجا ایستاده‌ام. از برادر و خواهران عزیزم که وجودشان شادی بخش و صفایشان مایهٔ آرامش من است، ممنونم.

نام خانوادگی: خوش‌طبیعت **نام**: لعیا

عنوان پایان‌نامه: **بررسی استرس اکسیداتیو و سیکل سلولی در رده سلولی K562 تحت تاثیر مشتق فعالی از خانواده دی تیوکاربامات**

استادان راهنما: دکتر مجید مهدوی و دکتر محمدرضا رشیدی

استاد مشاور: دکتر غلامرضا دهقان

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: زیست شناسی – گرایش بیوشیمی

دانشگاه: تبریز **دانشکده**: علوم طبیعی **تاریخ فارغ التحصیلی**: بهمن ماه ۱۳۹۳ **تعداد صفحات**: ۹۳

کلید واژه‌ها: لوسمی، K562 ، آپوپتوز، استرس اکسیداتیو، دی تیوکاربامات

چکیده: لوسمی میلوئیدی مزمن (CML-Chronic myeloid leukemia) یک بیماری کلونال با منشأ سلولهای بنیادی خون است که نتیجه آن افزایش سلولهای میلوئیدی، اریتروئیدی و پلاکتها در خون محیطی و در مغز استخوان است. بیش از ۹۰ درصد از لوسمی میلوئیدی مزمن در نتیجه یک جابجایی دوطرفه بین کروموزوم ۹ و ۲۲ می‌باشد که کروموزوم کوتاه شده ۲۲ (فیلادلفیا) و کروموزوم طویل‌شده ۹ را تولید می‌کند. ژن حاصل از این جایجایی یک پروتئین ناکارامد به نام تیروزین کیناز Bcr-Abl تولید می‌کند. تیروزین کیناز Bcr-Abl منجر به رشد و تکثیر سلولی غیر نرمال می‌گردد که دلیلی برای توسعه CML است. برای درمان این بیماری تاکنون ترکیبات مختلفی برای القای تمایز و آپوپتوز ارائه شده است ولی به دلیل مقاومت دارویی سلولهای سرطانی و دیگر اثرات جانبی آنها این ترکیبات چندان موثر نبوده‌اند. بنابراین تلاش برای یافتن ترکیباتی که توانایی تومورکشی بیشتر و اثر جانبی کمتر داشته باشند ادامه دارد.

یکی از دلایل مهم آپوپتوز عدم تعادل اکسید-احیا درون سلول می‌باشد. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در طی متابولیسم‌های هوازی نرمال سلول تولید و توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حذف می‌گردند. اما هنگامی که تعادل از بین رفته باشد شرایط استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. در صورت ادامه یافتن استرس اکسیداتیو، آسیب‌های اکسیداتیو به بیومولکولهای حیاتی وارد آمده و تجمع این آسیب‌ها در نتیجه منجر به بروز بیماری‌هایی از جمله سرطان می‌گردد.

مولکول‌های دی‌تیوکاربامات (DTC) هر دو فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پرواکسیدانی را نشان می‌دهند. این ترکیبات، ترکیبات ارگانوفسفریک با ساختار عمومی (R1R2)N-(C=S)-SX می‌باشند که R می‌تواند با یک آلکیل، آلکیلن، آریل یا گروه‌های مشابه دیگر جایگزین شده و X معمولا می‌تواند با یک یون فلزی جایگزین شود. DTC در سال ۱۹۳۰ برای اولین بار به عنوان قارچ‌کش در جنگ جهانی II استفاده شد. آنیون دی‌تیوکاربامات با مولکول‌های دیگر دارای گروه SH واکنش داده و تشکیل شلاته‌های فلزی می‌کند. اتصالات متعدد DTC فعالیت بیولوژیکی پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهد. برخی از ترکیبات DTC دارای

کاربردهای کلینیکی هستند.

در مطالعه حاضر اثرات ترکیب فعالی از خانواده دی‌تیوکاربامات (2-NDC) بر مهار رشد و کشندگی سلولی مورد مطالعه قرار گرفت. در ابتدا قدرت ادامه حیات (viability) و مهار رشد سلول‌های K562 تیمار شده با ترکیب مورد نظر در غلظت ۱۲۰-۰ میکرو مولار در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه با استفاده از آزمون قطعه قطعه شدن DNA و دستگاه فلوسایتومتری القای آپوپتوز در این سلول‌ها، بررسی گردید. نتایج بدست آمده نشان دهنده کاهش زیستایی در مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در ۳۰-۱۰ میکرومولار و افزایش رشد و تکثیر در مدت ۷۲ ساعت می‌باشد. همچنین زیستایی سلولها در غلظت‌های بالاتر (۱۲۰-۴۰ میکرومولار) نسبت به غلظت IC_{50} (۳۰ میکرومولار) افزایش می یابد. برای مطالعه خاصیت اکسیداسیونی این ترکیب، در ابتدا سطح ROS درون سلولی با فلوسایتومتری سنجش گردید، و در نهایت سطح پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در استرس اکسیداتیو از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و تیول تام مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده گواهی بر خاصیت پرواکسیدانی ترکیب مورد نظر بود که موجب افزایش ROS درون سلولی در ۴۸ و ۷۲ ساعت می‌گردید.

فهرست منابع

۱. بررسی منابع

۱-۱ چرخه سلولی ۱

۱-۱-۲ تنظیم چرخه سلولی ۲

۱-۱-۳ مهارکننده‌های کیناز وابسته به سایکلین (CKI) ۵

۱-۱-۳-۱ خانواده *Cip/Kip* ۶

۱-۱-۳-۲ خانواده *INK4* ۷

۱-۲ آپوپتوز ۷

۱-۲-۱ مولکول‌های تنظیم کننده آپوپتوز ۸

۱-۲-۱-۱ پروتئین‌های خانواده B-cell ۸

۱-۲-۱-۲ پروتئین‌های مهار کننده آنتی‌آپوپتوزی ۹

۱-۲-۱-۳ کاسپازها ۱۰

۱-۲-۲ مسیرهای القا کننده آپوپتوز ۱۱

۱-۲-۲-۱ گیرنده‌های مرگ و مسیر خارجی آپوپتوز ۱۱

۱-۲-۲-۲ مسیر میتوکندریایی آپوپتوز ۱۳

۱-۳ سرطان ۱۴

۱-۳-۱ سرطان خون ۱۶
۱-۳-۱-۱ لوسمی میلوئیدی مزمن ۱۷
۱-۴ استرس اکسیداتیو و ارتباط آن با مرگ سلولی ۲۱
۱-۴-۱ گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن ۲۱
۱-۴-۲ منابع ROS و RNS ۲۲
۱-۴-۲-۱ رسپتور ۲۴
۱-۴-۲-۲ فاکتور رشد ۲۴
۱-۴-۲-۳ سیستم ایمنی ۲۵
۱-۴-۲-۴ مسیرهای متابولیکی و ROS ۲۵
۱-۴-۳ نقش ROS در فیزیولوژی طبیعی ۲۶
۱-۴-۳-۱ انتقال پیام و تنظیم تکثیر سلولی ۲۶
۱-۴-۳-۲ بیان ژن ۲۷
۱-۴-۳-۳ پاسخ ایمنی ۲۸
۱-۴-۳-۴ بیماری‌زایی و ایجاد سرطان ۲۹
۱-۴-۴ گونه‌های فعال اکسیژن و سرطان‌زایی ۲۹
۱-۴-۴-۱ عدم تعادل ROS ۲۹

۱-۴-۴-۲ تغییرات ژنتیکی و اهداف ژنی ۲۹
۱-۴-۴-۳ متابولیسم و ویژگی‌های فیزیکی تومور ۳۰
۱-۴-۴-۴ تاثیر بر چرخه سلولی ۳۰
۱-۴-۵ مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی ۳۱
۱-۴-۵-۱ سوپر اکسید دیسموتاز ۳۲
۱-۴-۵-۲ کاتالاز ۳۲
۱-۴-۵-۳ سیستم اکسید-احیا گلوتاتیون و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ۳۲
۱-۴-۵-۴ سیستم اکسید-احیا تیوردوکسین و آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز ۳۲
۱-۴-۵-۵ سیستم اکسید-احیا نکلئوتید پیریدینی NADPH ۳۳
۱-۴-۵-۶ NAD^+ و عملکرد پروتئین‌های Sirtuin ۳۳
۱-۴-۵-۷ Bcl-2 به عنوان یک آنتی اکسیدان ۳۳
۱-۴-۶ تنظیم آپوپتوز توسط RNS ۳۴
۱-۴-۷ تنظیم آپوپتوز توسط ROS ۳۵
۱-۵ روش‌های درمانی ۳۸
۱-۵-۱ شیمی درمانی ۳۸
۱-۵-۲ هدف درمانی ۳۸
۱-۵-۳ تمایز درمانی ۳۹

۱-۵-۴ پیوند مغز استخوان و سلول‌های بنیادی ۳۹

۱-۵-۵ درمان با اینترفرون آلفا ۴۰

۱-۶ دی‌تیوکاربامات ۴۱

۱-۶-۱ دی‌تیوکاربامات‌ها خاصیت پروآپوپتوزی و آنتی‌آپوپتوزی دارند ۴۲

۱-۶-۲ دی‌تیوکاربامات‌ها خاصیت پرواکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی دارند ۴۳

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد مورد نیاز ۴۴

۲-۲ روش کار ۴۵

۲-۲-۱ کشت سلول ۴۵

۲-۲-۱-۱ وسایل و مواد لازم برای کشت سلول ۴۵

۲-۲-۱-۱-۱ هود لامینار ۴۶

۲-۲-۱-۱-۲ انکوباتور ۴۶

۲-۲-۱-۱-۳ اتوکلاو ۴۷

۲-۲-۱-۲ مواد مورد نیاز کشت سلول ۴۷

۲-۲-۱-۲-۱ محیط کشت ۴۷

۲-۲-۱-۲-۱-۱ ترکیب کلی محیط کشت ۴۷

۲-۲-۱-۲-۱-۱-۱ محیط پایه ۴۷

۲-۲-۱-۲-۱-۲ سیستم بافری ۴۸

۲-۲-۱-۲-۲ سرم ۴۸
۲-۲-۱-۲-۳ آنتی‌بیوتیک‌ها ۴۹
۲-۲-۱-۳ روش تهیه محیط کشت RPMI-1640 ..... ۵۰
۲-۲-۱-۴ ذوب نمودن سلول‌های منجمد ۵۱
۲-۲-۱-۴-۱ روش کار ۵۱
۲-۲-۱-۵ پاساژ سلولی ۵۲
۲-۲-۱-۵-۱ روش کار ۵۲
۲-۲-۱-۶ منجمد کردن و نگه‌داری رده‌های سلولی ۵۳
۲-۲-۱-۶-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۵۳
۲-۲-۱-۶-۲ روش کار ۵۳
۲-۲-۲ شمارش سلولی توسط لام هموسایتومتر ۵۴
۲-۲-۲-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۵۴
۲-۲-۲-۲ روش کار ۵۴
۲-۲-۲-۱ تهیه رنگ تریپان بلو ۵۵
۲-۲-۲-۲ تهیه بافر فسفات PBS ۵۵
۲-۲-۳ تیمار سلولهای K562 با ترکیب 2-NDC ۵۶
۲-۲-۴ بررسی خاصیت سیتوتوکسیک با روش MTT ۵۶
۲-۲-۴-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۵۷
۲-۲-۴-۲ روش کار ۵۷

۲-۲-۴-۳ تهیه محلول MTT ۵۷

۲-۲-۵ آزمون قطعه قطعه شدن DNA ۵۸

۲-۲-۵-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۵۸

۲-۲-۵-۲ روش کار ۵۸

۲-۲-۵-۳ تهیه ژل آگارز ۶۰

۲-۲-۶ بررسی چرخه سلولی توسط دستگاه فلوسایتومتری ۶۰

۲-۲-۶-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۰

۲-۲-۶-۲ روش کار ۶۱

۲-۲-۷ بررسی سطح ROS درون سلولی ۶۱

۲-۲-۷-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۲

۲-۲-۷-۲ روش کار ۶۲

۲-۲-۸ سنجش آنزیمی ۶۳

۲-۲-۸-۱ سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۶۳

۲-۲-۸-۱-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۳

۲-۲-۸-۱-۲ روش کار ۶۴

۲-۲-۸-۱-۳ تهیه بافر تریس هیدروکلراید ۶۴

۲-۲-۸-۱-۴ تهیه محلول پیروگالول ۶۴

۲-۲-۸-۲ سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۶۴

۲-۲-۸-۲-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۵
۲-۲-۸-۲-۲ روش کار ۶۵
۲-۲-۸-۲-۳ تهیه بافر TS ۶۵
۲-۲-۸-۳ سنجش تیول تام ۶۶
۲-۲-۸-۳-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۶
۲-۲-۸-۳-۲ روش کار ۶۶
۲-۲-۷-۳-۱ تهیه معرف DTNB ۶۷
۲-۲-۹ روش لیز سلول و استخراج پروتئین ۶۷
۲-۲-۹-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۷
۲-۲-۹-۲ روش کار ۶۷
۲-۲-۱۰ سنجش پروتئین کل ۶۸
۲-۲-۱۰-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۶۸
۲-۲-۱۰-۲ روش کار ۶۸
۲-۲-۱۰-۳ تهیه معرف برادفورد ۶۸
۲-۲-۱۰-۴ تهیه محلول برادفورد ۶۹

۳. نتایج

۳-۱ اثرات سیتوتوکسیک مشتق فعالی از دی‌تیوکاربامات بر رده سلولی K562 ..... ۷۰
۳-۲ مطالعه ریخت شناسی سلول‌های آپوپتوزی ۷۲
۳-۳ بررسی القاء آپوپتوز با استفاده از آزمون قطعه قطعه شدن .....

۳-۴ بررسی اثر ترکیب 2-NDC بر چرخه سلولی ۷۴

۳-۵ بررسی میزان تولید ROS ۷۵

۳-۶ بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۷۶

۳-۷ بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز ۷۷

۳-۸ بررسی غلظت تیول تام Total thiol (-SH) ۷۸

۴. بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱ بحث ۷۹

۴-۲ نتیجه‌گیری ۸۳

۴-۳ پیشنهادات ۸۳

۵. منابع ۸۵

فهرست اشکال

شکل ۱-۱: مراحل چرخه سلولی و جایگاه فعالیت کمپلکس سایکلین/CDK ۲

شکل ۱-۲: تنظیم فعالیت رونویسی E_2F توسط چرخه سلولی ۴

شکل۱-۳ : ساختار دمین کاسپازهای انسانی ۱۱

شکل ۱-۴: مسیرهای میتوکندریایی و گیرنده مرگ القا کننده آپوپتوز ۱۲

شکل ۱-۵: توسعه سلول خون ۱۷

شکل ۱-۶: کروموزوم فیلادلفیا و تشکیل ژن bcr-abl روی کروموزوم ۲۲ ..... ۱۹

شکل ۱-۷: منابع درون سلولی تولید ROS و مکانیسم‌های دفاعی ۲۲

شکل ۱-۸: مکانیسم عمل فعال شدن MAPKs توسط ROS ۲۶

شکل ۱-۹: سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی ۳۱

شکل ۱-۱۰: القای سیگنالینگ ASK1/JNK و آپوپتوز توسط ROS ۳۷

شکل ۱-۱۱: ساختار عمومی دی‌تیوکاربامات ۴۲

شکل ۲-۱: لام نئوبار (سمت راست) محل شمارش در لام (سمت چپ) ۵۵

شکل ۳-۱: ساختار عمومی دی‌تیوکاربامات و ترکیب 2-NDC ۷۰

شکل ۳-۲: درصد زیستایی سلولهای K562 تیمار شده با ترکیب 2-NDC با استفاده از آزمون رنگ سنجی MTT ۷۱

شکل ۳-۳: بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های آپوپتوزی با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنس و نوری ۷۲

شکل ۳-۴: ژل الکتروفورز DNA استخراج شده از سلول‌های K562 تیمارشده با ۳۰ میکرومولار از ترکیب 2-NDC ۷۳

شکل ۳-۵: بررسی اثرات ترکیب 2-NDC بر چرخه سلولی سلولهای K562 توسط دستگاه فلوسایتومتر ۷۴

شکل ۳-۶: بررسی میزان تولید ROS در سلولهای K562 تیمار شده با ترکیب 2-NDC توسط دستگاه فلوسایتومتر ۷۵

شکل ۳-۷: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلولهای K562 تیمار شده با ترکیب 2-NDC. ۷۶

شکل ۳-۸: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلولهای K562 تیمار شده با ترکیب 2-NDC ۷۷

شکل ۳-۹: غلظت گروه تیول تام در سلولهای K562 تیمار شده با ترکیب ۷۸

فهرست جداول

جدول ۲-۱: نام و فرمول شیمیایی ترکیب مورد آزمایش ۴۴

جدول ۳-۱: درصد زیستایی سلول‌های K562 تیمار شده با ترکیب 2-NDC ۷۱

فصل اول

بررسی منابع

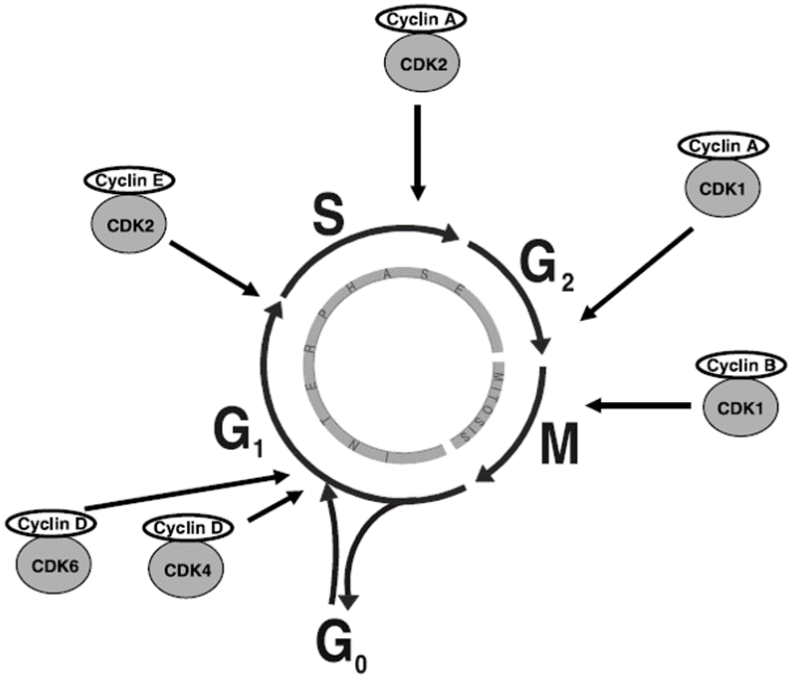
۱-۱ چرخه سلولی

چرخه سلولی شامل یک سری از وقایعی است که منجر به همانند سازی DNA و تقسیم سلولی می‌شود. در سلول‌های عادی و سالم این پروسه با دقت کنترل می‌گردد، اما در سلول‌های تومور که در ژن‌های مرتبط به چرخه سلولی دچار جهش شده‌اند، منجر به پیشروی سلول‌های آسیب دیده می‌گردد. چرخه سلولی به چهار فاز تقسیم می‌شود: فاز فاصله اول (G_1)، فاز همانندسازی DNA (S)، فاز فاصله دوم (G_2)، که این سه فاز با هم فاز میانی (اینترفاز) را تشکیل می‌دهند، و به دنبال آن فاز تقسیم هسته، که میتوز یا M نامیده می‌شود (شکل ۱-۱). طول چرخه سلولی از یک گونه و بافت تا دیگری از ۱۶ تا ۲۴ ساعت تغییر می‌کند که حدود ۹۰ درصد زندگی سلول در سه مرحله اول آن یعنی اینترفاز، می‌گذرد. در فاز G_1 سلول‌ها آماده سنتز DNA و بیوسنتز RNA و پروتئین هستند. در طی فازS، DNA همانندسازی شده و هیستون‌ها ساخته می‌شوند. در فاز G_2 سلول‌ها برای تقسیم آماده‌اند. در این مرحله DNA همانندسازی شده با پروتئین‌ها کمپلکس تشکیل می‌دهد و بیوسنتز همچنان ادامه می‌یابد. سرانجام در طی میتوز، هسته و سیتوپلاسم تقسیم شده و دو سلول دختر حاصل می‌شود که در صورت وجود شرایط مناسب برای رشد بیشتر سلول می‌توانند وارد مرحله اینترفاز چرخه سلولی جدیدی گردد و در غیاب میتوژن‌ها یا زمانی‌که موادغذایی رو به اتمام است، سلول‌ها می‌توانند وارد یک فاز استراحت که G_0 نامیده می‌شود گردند. همانند سلول‌هایی که در مرحله نهایی تمایز خود قرار دارند، برای مثال سلول‌های عصبی که در فاز G_0 متوقف شده‌اند. انتقال از یک مرحله به مرحله بعد در تعدادی نقاط بازرسی[1]، کنترل و تنظیم می‌شود تا از ورود ناقص به مرحله بعدی چرخه جلوگیری شود. سلول‌های پستانداران در ابتدا به محرک‌های خارجی مانند فاکتور رشد پاسخ می‌دهند تا وارد فاز G_1 شوند. هنگامی که سلول‌ها شروع به همانندسازی می‌کنند (که از انتهای G_1 آغاز می‌شود) نسبت به فاکتورهای رشد و مهارکننده‌های فاکتور رشد مقاوم شده و به عملکرد پروتئین‌های چرخه سلولی پاسخ می‌دهد [۱].

[1] Checkpoints

۱-۱-۲ تنظیم چرخه سلولی

پروسه عبور از یک مرحله به مرحله بعد به طور دقیق و با تشکیل، فعال شدن، تخریب و یا تغییرات برخی چرخه‌ها و پروتئین‌های همراه آن‌ها؛ کینازهای وابسته به سایکلین‌ها[1] (CDKs) کنترل می‌شود. به علاوه اخیرا گروه دیگری از پروتئین‌ها به نام مهارکننده‌های کینازهای وابسته به سایکلین‌ها[2] (CKIs) شناخته شده‌اند که برای انتقال پیام و هماهنگی هر مرحله از چرخه سلولی ضروری می‌باشند.



شکل ۱-۱: مراحل چرخه سلولی و جایگاه فعالیت کمپلکس سایکلین/CDK [۲]

تعدادی نقاط بازرسی شناخته شده که یکپارچگی DNA، تشکیل دوک و دوک‌های قطبی را بازرسی می‌کند. نقص در خود DNA منجر به بازآرایی کروموزومی و انتقال DNA آسیب دیده می‌شود. نقص در دوک منجر به جدا نشدن میتوزی می‌شود که منجر به بدست آوردن یا از دست دادن کل کروموزوم می‌شود. نقص در دوک

[1] Cyclin-dependent kinases
[2] Cyclin-dependent kinase inhibitors