بسم الله الرحمن الرحيم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

گرایش زیست شناسی سلولی و مولکولی

کشت سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه جدا شده از کره های چشم انسانی و مطالعه اثر مایع آمنیوتیک انسانی بر پدیده های رشد و دگرتمایز در این سلولها

نگارش

شیما قادری

استاد راهنما

دکتر زهرا سهیلا سهیلی

استاد مشاور

دکتر عبدالخالق دیزجی - دکتر حسن اکرمی

اردیبهشت ۱۳۸۹

تقدیم (Dedication)

تقدیم به دو وجود نازنین، پدر بزرگوار و مادر مهربانم

که دعای خیرشان همواره بدرقه راهم بوده است

تقدیم به همسر عزیزم که حامی و سنگ صبورم بوده است

و

تقدیم به خاک پاک میهنم که سربلندی نامش والاترین آرزویم بوده و خواهد بود

سپاسگزاری (Acknowledgment)

سپاسگزارم از پروردگار متعال که توفیق دانش آموزی را به من عطا نمود

سپاسگزارم از استاد فرزانه، دکتر زهرا سهیلی که پشتکار و صبوری را به من آموخت و
در لحظات ناامیدی، امید دوباره به من بخشید

سپاسگزارم از دوستان مهربانم، ملیحه داوری و فاطمه صنیع جهرمی که
بدون یاری و مدد ایشان، پیمودن این راه بسی دشوارتر می نمود

و

سپاسگزارم از کارشناسان محترم آزمایشگاه بیوشیمی که هیچگاه
تجارب و راهنمایی های خود را از من دریغ ننمودند

چکیده (Abstract)

هدف: ارزیابی اثر القایی مایع آمنیوتیک انسانی بر رشد و دگرتمایز سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه[1] به سلولهای گانگلیونی شبکیه و گیرنده های نوری استوانه ای شکل

روشها: سلولهای RPE از کره چشم اجساد انسانی جنینی و نوزاد زیر یک سال جدا شده و در محیط کشت DMEM/F12 غنی شده با ۱۰٪ سرم جنینی گوساله کشت داده شدند. پس از پر شدن ظرف کشت، سلولهای کشت داده شده تریپسینه شده مرتبا پاساژ داده شدند و در دو نوع محیط – کشت سرم دار و مایع آمنیوتیک دار مورد آزمایش قرار گرفتند.

جهت بررسی تاثیر مایع آمنیوتیک بر رشد سلولهای RPE ، تکثیر و مرگ این سلولها به کمک دو کیت الایزای تشخیص تکثیر سلولی و تشخیص آپوپتوز یا مرگ سلولی مطالعه شد.

همچنین دگرتمایز سلولهای RPE به سلولهای گانگلیونی شبکیه و گیرنده نوری استوانه ای با استفاده از دو تکنیک ایمونوسیتوشیمی و Real Time PCR بررسی گردید.

نتایج: کشت پرایمری سلولهای RPE با خلوص بالا تحت محیط های سرم دار و مایع آمنیوتیک دار انجام گردید و منجر به رشد و تکثیر سریع سلولها شد.

پس از انتقال RPE از محیط *in vivo* به *in vitro* سلولها شروع به از دست دادن رنگدانه هایشان کردند و پس از چندین پاساژ سلولی کلنی سلولهای بنیادی/ پروژنیتوری و همچنین سلولهای شبه عصبی از نظر مورفولوژی شناسایی شدند.

آنالیزایمونوسیتوشیمی بر روی سلولهای کشت داده شده در محیط ۳۰٪ مایع آمنیوتیک بیان قابل توجه

[1] Retinal Pigmented Epithelial (RPE)

مارکر رودوپسین (۳۰٪) را در این سلولها نشان داد که بیانگر دگرتمایز سلول RPE به سلول گیرنده نوری استوانه ای می باشد.

همچنین نتایج آنالیز Real Time PCR تاثیر شگفت انگیز فاکتورهای رشد مایع آمنیوتیک را بر بیان پروتئین ویژه و مارکر سلولهای گانگلیونی (Thy-1) نشان داد و مشخص ساخت که این تاثیر با نسبت مایع آمنیوتیک در محیط کشت رابطه مستقیم و تنگاتنگی دارد و به موازات افزایش غلظت مایع آمنیوتیک بطور چشمگیری افزایش می یابد.

نتیجه گیری : مایع آمنیوتیک انسانی منبع غنی بسیار ارزشمندی از انواع فاکتورهای رشد می باشد که تاثیر چشمگیری بر رشد و دگرتمایز سلولهای RPE از خود نشان می دهند و می تواند بعنوان یک جایگزین مناسب سرم در محیط های کشت مورد استفاده در تحقیقات بازتولید سلولهای شبکیه به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی: مایع آمنیوتیک انسانی ، سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه ، دگرتمایز ، سلولهای گانگلیونی شبکیه ، سلولهای گیرنده نوری استوانه ای

فهرست مطالب (Contents).....شماره صفحه

مقدمه.....۱

شبکیه.....۱

لایه پوششی رنگدانه دار شبکیه.....۱

ملانین.....۴

گیرنده نوری استوانه ای شکل.....۴

رودوپسین: پروتئین نشانگر سلولهای گیرنده نوری استوانه ای شکل.....۵

مکانیسم عملکرد رودوپسین در سلولهای استوانه ای شکل.....۶

سلولهای گانگلیونی شبکیه.....۷

Thy-1 یا CD90: پروتئین نشانگر سلولهای گانگلیونی شبکیه.....۸

عملکرد Thy-1.....۹

RPE65: پروتئین نشانگر سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه.....۹

سیتوکراتین.....۱۰

سیتوکراتین ۸/۱۸..: پروتئین نشانگر سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه ۱۲

مایع آمنیوتیک انسانی.....۱۲

مهمترین اعمال مایع آمنیوتیک.....۱۳

مایع آمنیوتیک به عنوان بخشی از سیستم ایمنی طبیعی.....۱۴

مایع آمنیوتیک به عنوان یک محیط تشخیصی.....۱۵

خواص تغذیه ای مایع آمنیوتیک.....۱۶

فاکتورهای رشد مایع آمنیوتیک.....۱۹

بررسی منابع..... ۲۴
مواد..... ۳۲
مواد مورد استفاده در تهیه محیط کشت سلولهای RPE..... ۳۲
مواد مورد استفاده در پاساژ سلولها..... ۳۲
مواد مورد استفاده در جداسازی سلولها..... ۳۲
مواد مورد استفاده در Cryopreservation..... ۳۳
مواد مورد استفاده در تکنیک ایمونوسیتوشیمی..... ۳۳
مواد مورد استفاده در استخراج RNA از سلولهای RPE..... ۳۳
کیت استفاده شده در بررسی میزان مرگ سلولهای RPE تحت تاثیر مایع آمنیوتیک انسانی..... ۳۴
کیت استفاده شده در بررسی میزان تکثیر سلولهای RPE تحت تاثیر مایع آمنیوتیک انسانی..... ۳۴
مواد مورد استفاده در تست PCR..... ۳۵
روش ها..... ۳۶
تهیه محلولها..... ۳۶
روش تهیه بافر فسفات نمکی..... ۳۶
روش تهیه محلول دیسپاز..... ۳۶
روش تهیه محلول Trypsin / EDTA..... ۳۶
روش تهیه محیط کشت DMEM/F12..... ۳۶
کشت پرایمری سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه..... ۳۷
جداسازی سلولهای RPE..... ۳۷
کشت سلولهای RPE..... ۳۸

آماده سازی مایع آمنیوتیک جهت استفاده..... ۳۸
الایزا..... ۳۸
الایزای تکثیر سلولی..... ۳۸
الایزای مرگ سلولی..... ۴۱
ایمونوسیتوشیمی..... ۴۳
واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)..... ۴۵
استخراج RNA از سلول RPE..... ۴۵
تهیه RNA عاری از DNA..... ۴۶
پاکسازی RNA..... ۴۷
سنتز cDNA با استفاده از پرایمر Oligo-dT..... ۴۹
سنتز cDNA با استفاده از پرایمر اختصاصی..... ۵۰
سنتز cDNA با استفاده از پرایمر شش تایی تصادفی..... ۵۱
تکثیر cDNA ساخته شده توسط پرایمر Oligo-dT یا اختصاصی به روش PCR مرسوم..... ۵۱
تکثیر cDNA ساخته شده توسط پرایمر شش تایی تصادفی به روش PCR مرسوم..... ۵۳
تکثیر cDNA به روش Real Time PCR..... ۵۴
نتایج..... ۵۶
نتایج حاصل از بررسی مورفولوژی سلولهای RPE جدا شده از اجساد انسانی زیر یک سال تحت
انواع محیط کشت حاوی سرم جنینی گوساله یا مایع آمنیوتیک انسانی..... ۵۶
تنوع مورفولوژی سلول RPE..... ۵۶
موقعیت رنگدانه های سلول RPE..... ۵۷

پیدایش کلنی سلولی..... ۵۸

برقراری ارتباط بین سلولهای RPE..... ۵۹

بررسی رشد (تکثیر و مرگ) سلولهای RPE در محیط کشت حاوی سرم جنینی گوساله و یا محیط کشت حاوی مایع آمنیوتیک انسانی..... ۶۰

نتایج تست ایمونوسیتوشیمی..... ۶۳

نتایج تست PCR مرسوم ۶۸

بررسی بیان ژن Thy-1 به روش Real Time PCR..... ۶۹

بحث..... ۷۲

نتیجه گیری..... ۷۸

پیشنهادات..... ۷۹

منابع..... ۸۰

فهرست نمودارها و اشکال (List of Figures).....شماره صفحه

شکل۱-۱-۱- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از سلولهای چهارماهه، پیش از پاساژ اول.....۵۶

شکل۱-۱-۲- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از سلولهای بیست روزه ، پاساژ اول.....۵۷

شکل ۱-۱-۳- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست ، مورفولوژی RPE شبیه سلول عصبی.....۵۷

شکل ۱-۱-۴- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از سلولهای ده روزه ، پاساژ پنجم.....۵۷

شکل ۱-۲-۱- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از موقعیت رنگدانه ها.....۵۸

شکل ۱-۲-۲- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از تجمع رنگدانه ها.....۵۸

شکل ۱-۳-۱- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از کلنی های سلولی.....۵۹

شکل ۱-۴- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ فاز کنتراست از ارتباطات سلولی.....۵۹

شکل۲-۱- نمودار الایزا حاصل از بررسی تکثیر سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و ده درصد مایع آمنیوتیک.....۶۱

شکل۲-۲- نمودار الایزا حاصل از بررسی مرگ سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و ده درصد مایع آمنیوتیک.....۶۱

شکل۲-۳- نمودار الایزا حاصل از بررسی تکثیر سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و بیست درصد مایع آمنیوتیک.....۶۲

شکل۲-۴- نمودار الایزا حاصل از بررسی مرگ سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و بیست درصد مایع آمنیوتیک.....۶۲

شکل۲-۵- نمودار الایزا حاصل از بررسی تکثیر سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و سی درصد مایع آمنیوتیک.....۶۲

شکل۲-۶- نمودار الایزا حاصل از بررسی مرگ سلولهای RPE تحت محیط کشت ده درصد سرم و سی درصد مایع آمنیوتیک.....۶۳

شکل ۳-۱- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین سیتوکراتین ۱۸/ ۸ در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۳۰٪ مایع آمنیوتیک.....۶۴

شکل۳-۲- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین سیتوکراتین ۱۸/ ۸ درسلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گوساله.....۶۴

شکل ۳-۳- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین RPE65 در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گوساله.....۶۵

شکل ۳-۴- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین RPE65 در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۳۰٪ مایع آمنیوتیک.....۶۵

شکل ۳-۵- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین Thy-1در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۳۰٪ مایع آمنیوتیک.....۶۶

شکل ۳-۶- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از بیان پروتئین Thy-1 در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گوساله.....۶۶

شکل ۳-۷- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از پروتئین رودوپسین در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گوساله.....۶۷

شکل ۳-۸- تصاویر میکروسکوپ فلورسانت ثبت شده از پروتئین رودوپسین در سلولهای RPE رشد یافته تحت محیط کشت حاوی ۳۰٪ مایع آمنیوتیک.....۶۷

شکل ۴-۱- تصاویر ژل الکتروفورز.....۶۸

شکل ۵-۱- نمودار استاندارد ژن GAPDH (چپ) و ژن Thy-1(راست).....۶۹
شکل ۵-۲- مقایسه سطح بیان Thy-1در سه غلظت متفاوت مایع آمنیوتیک و محیط ۱۰٪ سرم.....۷۰
شکل ۵-۳- مقایسه سطح بیان ژن Thy-1 بین غلظت های متفاوت مایع آمنیوتیک.....۷۰
شکل ۵-۴- مقایسه سطح بیان ژن Thy-1 بین غلظت های متفاوت مایع آمنیوتیک/ سرم و کنترلها....۷۱

Abbreviations **فهرست اختصارات**

Ab : Antibody

AF : Amniotic Fluid

ARMD : Age Related Macula Degeneration

BrdU : Brumo deoxy Uridine

BSA : Bovine Serum Albumin

cDNA : complementary DNA

DAPI : 4,6-DiAmidino-2-PhenylIndole dihydrochloride

DEPC : Di Ethyl Pyro Carbonate

DMEM : Dulbeccos Modified Eagles Medium

DMSO : Di Methyl SulfOxide

DTT : Di Thio Tritol

ECM : Extra Cellular Matrix

EDTA : Ethylene Diamine Tetra Acetic acid

EGF : Epidermal Growth Factor

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

EPO : ErythroPOietin

FBS : Fetal Bovine Serum

FGF : Fibroblast Growth Factor

GAPDH : Glycer Aldehyde Phospho DeHydrogenase

GCSF : Granulocyte Colony Stimulating Factor

HAF : Human Amniotic Fluid

HGF : Hepatocyte Growth Factor

ILGF : Insuline Like Growth Factor

ICC : ImmunoCytoChemistry

LF : LactoFerrin

MCSF : Macrophage Colony Stimulating Factor

MMLV : Moloney Murine Leukemia Virus

NGF : Nerve Growth Fcator

PBS : Phosphate Buffered Saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDGF : Platellet Derived Growth Factor

RBP : Retinol Binding Protein

RGC : Retinal Ganglion Cell

RPE : Retinal Pigmented Epithelium

TGF : Transforming Growth Factor

TMB : Tetra Methyl Benzidine

مقدمه

شبکیه[۲]

شبکیه نوعی ساختار سلولی حساس به نور است که در سطح داخلی چشم مهره داران از جمله انسان قرار دارد و از لایه های سلولی عصبی و غیر عصبی گوناگون تشکیل شده است . نوری که شبکیه را تحریک می کند، آبشار پیچیده ای از واکنشهای شیمیایی و الکتریکی را به راه می اندازد که در نهایت پیامهای عصبی را ایجاد می کنند. این پیامها از طریق اتصالات آکسونی سلولهای عصبی و رشته های عصب بینایی به مراکز مختلف بینایی در مغز فرستاده می شوند.

شبکیه مهره داران دارای سه لایه سلولی عصبی مشخص می باشد. این لایه ها به ترتیب از داخل به خارج عبارتند از :

لایه داخلی شامل هسته های سلولهای گانگلیونی ایجاد کننده رشته عصبی بینایی

لایه میانی شامل سلولهای دوقطبی، آماکراینی و افقی

لایه خارجی شامل گیرنده های نوری مخروطی شکل و استوانه ای شکل [۱و۳]

لایه پوششی رنگدانه دار شبکیه[۳]

لایه پوششی رنگدانه دار شبکیه یک لایه سلولی شش وجهی و رنگدانه دار می باشد که در خارجی-

[2] Retina

[3] Retinal Pigmented Epithelium (RPE)

ترین قسمت شبکیه قرار دارد و با اتصالات بسیار سخت به گیرنده های نوری رویی و رگهای کوروئید زیری چسبیده است. از آنجایی که سلولهای RPE مابین رگهای خونی کوروئیدی و بخش خارجی حساس به نور گیرنده های نوری قرار دارند، رابطه عملکردی بسیار نزدیکی با گیرنده های نوری جهت حفظ عملکرد بینایی برقرار می کنند.

این لایه پوششی رنگدانه دار، تک لایه ای است که قسمتی از مرز خون و شبکیه را ایجاد می کند. غشای رأسی RPE به طرف بخش خارجی گیرنده های نوری قرار دارد. میکروویلی های رأسی بلند، این بخش را دربر گرفته و بدین ترتیب یک ساختمان عملکردی پیچیده و تنگاتنگ را به وجود می آورند.

RPE یونها، آب و محصولات متابولیکی فضای تحت شبکیه ای را به داخل خون انتقال می دهد. این لایه سلولی مواد مغذی مانند گلوکز، آمینو اسیدها، رتینول و اسیدهای چرب را از خون جذب کرده و به گیرنده های نوری تحویل می دهد. قابل ذکر است که رتینال دائما بین RPE و گیرنده های نوری در حال تبادل می باشد. گیرنده های نوری قادر به ایزومریزه کردن مجدد رتینال تمام ترانس(که پس از جذب فوتون تشکیل می شود) به رتینال ۱۱- سیس نیستند. جهت حفظ قابلیت تحریک گیرنده های نوری، رتینال وارد سلولهای RPE شده، به ۱۱- سیس رتینال ایزومریزه می شود و سپس به گیرنده های نوری برمی گردد. این روند، چرخه رتینال نامیده می شود.

علاوه بر این، هدایت وابسته به ولتاژ یونها در غشای راسی، RPE را قادر می سازد ترکیب یونی فضای تحت شبکیه را که برای حفظ قابلیت تحریک گیرنده های نوری ضروری است، ثابت نگه دارد. عملکرد دیگر سلولهای RPE برای حفظ قابلیت تحریک گیرنده های نوری، فاگوسیتوز قسمتهای خارجی این گیرنده ها است . قسمتهای خارجی تجزیه می شوند، مواد ضروری آن از جمله رتینال بازیافت می شوند و سپس جهت ساخت مجدد قسمتهای خارجی حساس به نور گیرنده های نوری، به آنها بازگردانده می شوند.

ضمنا RPE قادر به ترشح انواع فاکتورهای رشد می باشد که به حفظ تمامیت ساختمانی اندوتلیوم مویرگهای کوروئیدی و گیرنده های نوری کمک می کند. عملکرد ترشحی سلول RPE با ترشح فاکتورهای ایمنی مهار کننده در برقراری حالت ایمونیزه چشم نیز نقش مهمی دارد.

آنزیم های خاصی مانند سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در سلولهای RPE وجود دارند که تجزیه مولکولهای بالقوه خطرناک مانند مولکول های سمی، رادیکال های آزادی که توسط عملکرد نور ایجاد می شوند، سوپراکسیدها و هیدروژن پراکسیدها را کاتالیز می کنند. آنتی اکسیدانهایی مانند ویتامین C و E نیز در این سلولها حضور دارند که سطح آسیب اکسیداتیو را کاهش می دهند.

با توجه به این اعمال متنوع و پیچیده، نقش RPE در عملکرد بینایی ضروری به نظر می رسد به طوریکه نقص در هریک از این عملکردها، می تواند منجر به تخریب شبکیه و از دست رفتن بینایی

گردد [۳].

ملانین[۴] : رنگدانه سلولهای پوششی رنگدانه دار شبکیه

سلولهای RPE سرشار از رنگدانه های ملانین هستند. ملانین، شبکه ای تشکیل شده از پیش سازهای فنولیک است که نور اضافی و پخش شده را جذب کرده و صحت بینایی را افزایش می دهد.

منظور از صحت بینایی ، توانایی درک دو نقطه بسیار نزدیک به هم به صورت مشخص و جدا از هم می باشد . ۲۵ الی ۳۳ درصد نوری که وارد چشم می شود، توسط رنگدانه های کوروئید و سلولهای RPE جذب می شود. جذب نور توسط ملانین با کاهش طول موج نور، افزایش می یابد.

بنابراین ملانین گیرنده های نوری را از صدمات حاصل از فوتونها به خصوص طول موجهای کوتاهتر و حاوی انرژی بیشتر، محافظت می کند. علاوه بر این رنگدانه ملانین موجود در سلولهای RPE، گیرنده های نوری را در مقابل نوری که از طریق اسکلرا وارد چشم می شود، می پوشاند. [۲]

این پلی رادیکال پایدار باعث تجمع رادیکال های اکسیژنی، فرم های فعال اکسیژن، ترکیبات الکترون دوست سمی و فلزات سنگین می شود. این ویژگی فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضدسمی، ضد اشعه – ای و ضدتوموری ملانین را مشخص می سازد. [۴و۵]

گیرنده نوری استوانه ای شکل[۵]

[4] melanin

سلولهای استوانه ای نوعی از گیرنده های نوری هستند که با داشتن حساسیت زیاد به نور، حتی در نور کم هم دارای عملکرد بوده و به همین علت مسئول دید در شب می باشند. دهها تا صدها فوتون لازم است تا یک سلول مخروطی فعال شود، در حالیکه تنها یک فوتون می تواند پاسخ را در سلول استوانه ای شکل ایجاد کند.

بخش خارجی استوانه ای شکل سلول استوانه ای که همان بخش حساس به نور می باشد، دارای تعداد زیادی کیسه های پهن و واحدهای غشایی موازی است که با زاویه نود درجه، نسبت به طول سلول قرار گرفته اند. این بخش در دوره جنینی از یک تاژک به وجود آمده و ویژگی ساختاری ۹+۲ فیبریلی خود را حفظ کرده است. پاسخ به نور وابسته به وجود رنگدانه رودوپسین در این سلولهاست که به آن بنفش بینایی[۶] نیز گفته می شود.(۵)

رودوپسین[۷] : پروتئین نشانگر سلولهای گیرنده نوری استوانه ای شکل

رودوپسین که یک رنگدانه حساس به نور می باشد، شامل یک مولکول پروتئینی به نام اپسین و یک گروه پروستتیک به نام رتینال است که ویتامین A پیش ساز ضروری آن به شمار می آید.

سلول استوانه ای در مهره داران شامل یک بخش خارجی است که از طریق یک زایده تاژکی به یک

---

[5] rod photoreceptor

[6] visual purple

[7] rhodopsin

بخش داخلی متصل است و دسته ای از غشاهای دیسکی شکل حاوی رودوپسین دارد.

رودوپسین در شبکه اندوپلاسمیک ساخته می شود و سپس وارد غشاهای گلژی می شود تا در آنجا گلیکوزیله گردد. وزیکول های حاوی رودوپسین از دستگاه گلژی به طرف بخش خارجی سلول استوانه ای حرکت کرده و با سایر غشاهای پلاسمایی بخش خارجی ترکیب می شوند. از نظر مورفولوژیکی غشاهای دیسکی شکل از پشت و رو شدن و به داخل رفتن[8] غشای پلاسمایی به وجود می آیند. بیشتر از نود درصد محتوای پروتئینی غشاهای دیسکی شکل را رودوپسین تشکیل می دهد. این پروتئین عضوی از خانواده گیرنده های جفت شده با G- پروتئینهاست که به طور قابل توجهی حساس به نور بوده و به همین علت در شرایط نور کم، بینایی را امکانپذیر می سازد(۶).

مکانیسم عملکرد رودوپسین در سلولهای استوانه ای شکل :

زمانی که نور به یک مولکول رودوپسین در سلول استوانه ای برخورد می کند، یک فوتون جذب می شود که باعث ایزومریزه شدن۱۱- سیس رتینال به ایزومر تمام ترانس آن می شود. پس از آبشار فوتوایزومریزاسیون که از طریق پنج واسطه مولکولی با طول عمر کوتاه اتفاق می افتد، ایزومر تمام- ترانس رتینال به خارج رانده شده و قبل از ورود مجدد به چرخه به فرم ۱۱- سیس رتینال تبدیل می شود. این تبدیل به واسطه احیای فرم تمام ترانس به دنبال اکسیداسیون و ایزومریزاسیون آن در

[8] evagination and piching off