بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اراک

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی

(گرایش سلولی -تکوینی)

بررسی اثر تیمار همزمان ویتامین E و بیسفنول A بر تمایز آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت بالغ به استئوبلاست

پژوهشگر

آتناسادات عظیمی

اساتید راهنما

دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی

دکتر مجید مهدیه نجف آبادی

استاد مشاور

دکتر سید محمد علی شریعت زاده

شهریور ۹۲

بسم الله الرحمن الرحیم

بررسی اثر تیمار همزمان ویتامین E و بیسفنول A بر تمایز آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت بالغ به استئوبلاست

توسط:

آتنا سادات عظیمی

پایان نامه

ارائه شده به مدیریت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی (گرایش سلولی-تکوینی)

از

دانشگاه اراک

اراک-ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: .....عالی.....

دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی (استاد راهنمای اول).....دانشیار

دکتر مجید مهدیه نجف آبادی(استاد راهنمای دوم)..... استادیار

دکتر سیدمحمدعلی شریعت زاده(استاد مشاور).....استاد

بارالها....

در هر مرحله از زندگی لطف و عنایت خود را بر من ارزانی داشتی، راه را بر من هموار ساخته و هدایتم نمودی

پروردگارا کامم را به علم حقیقی و مورد رضایت خود مشتاق کن

مبادا عمری ندانم که ندانم

خداوندا مرا در راه علمی قرار ده که همواره بر خشیتم افزون شود.

اعتراف می کنم که نه زبان شکر تو را دارم و نه توان تشکر از بندگان تو

این پایان نامه را به اعتبار بی بازگشت ترین لحظات زندگیم که در کسوت مقدس دانش آموزی گذشته است

تقدیم می کنم به استاد گرانقدر و بزرگوارم؛

جناب آقای دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی

تندیس های پرشکوه مهر و فرشته های بی همتایی، که نامشان دلیلی است بر بودنم؛

همان پر معناترین واژه های خلقت؛

پدر صبور و بزرگوارم و مادر دلسوز و مهربانم

که در وجودشان تجلی عظیم آفریدگار پرتو می افکنند؛

و عظمت و فداکاری هایشان شکوه کوه را به زنجیر حقارت می کشاند؛

و مهر گردون از فروغ جاودانشان نور می گیرد.

تقدیم به

بهار وجودم، **خواهر عزیزم کیانا سادات**

که وجودش گرانبهاترین و زیباترین هدیه خداوندی در زندگی بوده است...

من لم یشکر مخلوق لم یشکر الخالق اعز و جل

برترین و بی شائبه ترین سپاس مخصوص **یگانه** ایست که شعله عشق به تحصیل را در فانوس سینه ی پر مهر صاحبان علم و طالبان عمل روشن نمود و حمد و ثنای کردگاری را سزاست که رخصت کسب علم و دانش را به ما عطا فرموده است تا ظلمت جهل و نادانی را به روشنایی فهم و کمال بیاراییم.

بالاترین سپاس صمیمانه ام را نثار همسفران همیشه بیدار و دلسوزم

پدر و مادر عزیز و مهربانم

می نمایم. آن ها که نخستین گام ها و سخن گفتن ها و آغازین دانسته هایم را در مکتب معرفتشان آموختم و باران محبتشان، طراوت بخش زندگی ام است و با نگاه پر مهرشان، همواره مشوق و همراهم بوده اند و اکنون واژه های برای سپاس و جبران این همه محبت و فداکاری نمی یابم.

فراوان ترین گلواژه های سپاس را نثار

خواهر عزیز و دست داشتنی ام می کنم که همچون شمعی روشنی بخش زندگی ام است و چشمانش امید را بر دلم می نشاند.

خالصانه‌ترین ارادت قلبیم، با شایسته‌ترین مراتب سپاس و قدردانی خود را تقدیم به استاد راهنمای ارجمندم

جناب آقای دکتر سلیمانی

میکنم که با علم و بردباری فراوانش هدایتم نمود. استاد فرهیخته‌ای که به من آموخت به جای استفاده از اندیشه دیگران، خود

بیاندیشم . باشد که در پناه مهر یزدان همواره شاد و سلامت و پیروز باشد.

از استاد بزرگوارم **جناب آقای دکتر مهدیه**

سپاسگزارم که در تمامی مراحل تحصیل همواره مشوق و پشتیبان من بوده و بار، نمودهای گرانقدرشان راهگشای اینجانب بوده‌اند.

همچنین از استاد ارجمندم **جناب آقای دکتر شریعت‌زاده**

که همیشه از محضر ایشان درس‌های فراوانی آموخته‌ام و با قبول مشاوره این پایان نامه لطف خود را شامل حالم نموده‌اند، کمال

تشکر و سپاس را دارم.

از استاد گرانقدرم **جناب آقای دکتر مومنی**

که با راهنمایی های کارساز مرا در ارائه بهتر این پایان نامه کمک کرده و زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند، بسیار

سپاسگزارم.

از **اساتید گرانقدر و محترم گروه زیست شناسی** که از تجربیات ارزنده شان استفاده نمودم سپاسگزارم.

چکیده:

بررسی اثر تیمار همزمان ویتامینE و بیسفنولA بر تمایز آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت بالغ به استئوبلاست

سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان (MSCs) سلول‌های چندتوانی هستند که توانایی تمایز به رده‌های مختلف سلولی را دارند. بیسفنولA، به عنوان یک شبه‌استروژن شناخته شده است که در صنعت استفاده وسیعی دارد و علاوه بر مشکلات زیست محیطی، برای سلامتی انسان نیز مضر می‌باشد.. ویتامینE یک آنتی‌اکسیدانت محلول در چربی است که با اختلال در واکنش‌های زنجیری رادیکال‌های آزاد از پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌ها جلوگیری می‌کند. با توجه به وجود بیسفنولA به عنوان یک آلاینده زیست محیطی بخصوص در جوامع صنعتی و همچنین وجود ویتامینE به عنوان اولین خط دفاعی سلول‌ها برای جلوگیری از پراکسیداسیون، اثر همزمان این دو ماده بر تمایز MSCs به استئوبلاست مورد بررسی قرار گرفت. پس از استخراج و کشت MSCs، سلول‌های پاساژ ۳، طی ۲۱ روز در معرض دوزهای مختلف ویتامین E و بیسفنولA قرار گرفتند. سپس توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی ارزیابی شد. برای ادامه مطالعه، دوز ۱۵ میکرومولار ویتامینE و ۲۵۰ نانومولار بیسفنولA انتخاب گردید و اثر همزمان ویتامینE و بیسفنولA بر میزان تمایز استئوژنیک MSCs از طریق تست‌های MTT ، آلیزارین‌رد، سنجش میزان رسوب کلسیم داخل سلولی و خارج سلولی، میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، مورفولوژی سلول‌های تمایزیافته توسط رنگ‌های فلورسنس و میزان شکستگی DNA توسط تست کامت و میزان سنتز پروتئین‌های استئوکلسین و استئوپونتین توسط تکنیک ایمینوسیتوشیمی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بیسفنولA، طی۲۱ روز موجب کاهش میزان تمایز MSCs به استئوبلاست و ویتامینE هم باعث جبران اثر توکسیک بیسفنول Aمی‌گردد و همچنین در گروه تیمار شده با ویتامینE افزایش میزان تمایز MSCs به استئوبلاست مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: ویتامینE، بیسفنولA، سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان، تمایز، رت

فهرست مطالب

فصل اول ۱

مقدمه ۱

۱-۱. تعریف سلول‌های بنیادی ۲

۱-۲. تقسیم‌بندی سلول‌های بنیادی براساس توان تمایزی و برگشت‌پذیری ۴

۱-۲-۱. همه‌توان: ۵

۱-۲-۲. پرتوان: ۶

۱-۲-۳. چندتوان: ۶

۱-۲-۴. یکتوان: ۶

۱-۳. تقسیم بندی سلول‌های بنیادی براساس منشاء: ۷

۱-۳-۱. سلول‌های بنیادی رویانی: ۷

۱-۳-۲. سلول‌های بنیادی جنینی : ۸

۱-۳-۳. سلول‌های بنیادی بند ناف: ۹

۱-۳-۴. سلول‌های بنیادی بالغ: ۱۰

۱-۴. تاریخچه‌ی سلول‌های بنیادی مزانشیم: ۱۵

۱-۵. ویژگی‌های زیست شناختی سلول‌های بنیادی مزانشیم: ۱۶

۱-۵-۱. خودتجدیدی سلول‌های بنیادی مزانشیمی: ۱۸

۱-۵-۲. مارکرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۲۱

۱-۵-۳. مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۲۲

۱-۵-۴. کنام سلول‌های بنیادی مزانشیم در مغز استخوان: ۲۲

۱-۵-۵. ویژگی‌های ایمونولوژیک سلول‌های بنیادی مزانشیم: ۲۳

۱-۶. منابع مختلف دسترسی به سلول‌های بنیادی مزانشیم: ۲۴

۱-۷. جداسازی و تعیین هویت سلول‌های بنیادی مزانشیم: ۲۶

۱-۸. سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت: ۲۹

۱-۱۰. عوامل مؤثر برتمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی درشرایط آزمایشگاه: ۳۳

۱-۱۰-۱. محرک‌های شیمیایی: ۳۳

۱-۱۰-۲. اتصال سلول به ماتریکس خارج سلولی: ۳۳

۱-۱۰-۳. همکشتی با سلول‌های دیگر : ۳۴

۱-۱۱. تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی و فرآیند استخوانسازی: ۳۴
۱-۱۲. کاربرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان بیماری‌ها و ترمیم بافت : ۳۵
۱-۱۳. بیسفنولA ۳۸
۱-۱۴. آنتیاکسیدانت‌ها ۴۰
۱-۱۴-۱. ویتامینE ۴۱
۱-۱۴-۲. اشکال مختلف ویتامینE ۴۳
۱-۱۴-۳. نقش ویتامینE ۴۴
۱-۱۵. مروری بر مطالعات گذشته ۴۵
۱-۱۶. هدف از این مطالعه : ۵۰
فصل دوم ۵۲
مواد و روش‌ها ۵۲
۲-۱. انتخاب حیوان ۵۳
۲-۲. جداسازی وکشت سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت ۵۳
۲-۲-۱. اجرای پاساژ ۵۵
۲-۳. اثبات مزانشیم بودن سلول‌های استخراج شده: ۵۶
۲-۳-۱. تمایز به استخوان ۵۷
۲-۳-۱-۱. مراحل رنگآمیزی آلیزارین رد ۵۷
۲-۴. دوزیابی: ۵۸
۲-۴-۱. بررسی حیات سلول بر پایه‌ی رنگ‌سنجی تترازولیوم (MTT) در مرحله دوزیابی: ۵۹
۲-۴-۱-۱. ترسیم منحنی استاندارد با استفاده از سنجش تترازولیوم ۶۱
۲-۴-۲. بررسی میزان رسوب ماتریکس معدنی در نمونه های تیمار شده به کمک استخراج رنگ آلیزارینرد در مرحله دوز یابی: ۶۲
۲-۴-۲-۱. مراحل رنگ‌آمیزی آلیزارینرد ۶۲
۲-۴-۳. انتخاب دوز مؤثر: ۶۳
۲-۴-۴. انتخاب دوز موثر ویتامینE ۶۴
۲-۴-۴-۱. اثرهمزمان ویتامینE و بیسفنولA بر توانایی زیستی سلول‌های بنیادی مزانشیم ۶۴
۲-۴-۴-۲. اثرهمزمان ویتامینE و بیسفنولA بر میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم ۶۵
۲-۵. بررسی شاخص‌های تمایز استئوژنیک ۶۵

۲-۵-۱. سنجش میزان رسوب ماتریکس معدنی به کمک استخراج رنگ آلیزارین‌رد ۶۵
۲-۵-۲. بررسی میزان کلسیم داخل سلولی با استفاده از کیت کلسیم به روش رنگ‌سنجی: ۶۶
۲-۵-۳. بررسی میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز: ۶۸
۲-۵-۳-۱. طرز تهیه منحنی استاندارد: ۶۹
۲-۵-۳-۲. بررسی میزان فعالیت آنزیم در سلول‌های تیمار شده: ۷۰
۲-۵-۴. سنجش میزان رسوب ماتریکس معدنی به کمک رنگ‌آمیزی Von Kossa: ۷۱
۲-۵-۵. ایمونوسیتوشیمی ۷۲
۲-۵-۵-۱. مراحل انجام تست ایمنوسیتوشیمی: ۷۴
۲-۶. بررسی آپوپتوزیسیس ۷۵
۲-۶-۱. بررسی تغییرات مورفولوژیکی با استفاده از رنگ‌آمیزی فلورسنس ۷۵
۲-۶-۲. آزمون کامت: ۷۷
۲-۶-۲-۱. آماده سازی لام‌ها: ۷۸
۲-۶-۲-۲. لیز کردن سلول‌ها: ۷۹
۲-۶-۲-۳. تیمار قلیایی سلول‌ها: ۷۹
۲-۶-۲-۴. الکتروفورز سلول‌ها: ۷۹
۲-۶-۲-۵. خنثیسازی و تثبیت: ۷۹
۲-۶-۲-۵. رنگ‌آمیزی: ۸۰
۲-۶-۳. تست TUNEL ۸۱
فصل سوم ۸۵
نتایج ۸۵
۳-۱. استخراج سلول‌ها وانتخاب دوز مؤثر ۸۷
۳-۱-۱. رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیم ۸۷
۳-۲. دوزیابی: ۸۸
۳-۲-۱. اثر بیسفنولA بر توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان ۸۸
۳-۲-۱-۱. توانایی زیستی سلول‌های مزانشیم بر پایه روش MTT (رنگ‌سنجی) ۸۸
۳-۲-۱-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین‌رد: ۸۹
۳-۲-۲. انتخاب دوز موثر بیسفنولA ۹۲

۳-۲-۳. اثر همزمان ویتامینE و بیسفنولA بر توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان ۹۲
۳-۲-۳-۱. توانایی زیستی سلول‌های بنیادی مزانشیم بر پایه روشMTT (رنگ‌سنجی) ۹۲
۳-۲-۳-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین‌رد: ۹۳
۳-۲-۴. انتخاب دوز موثر ویتامینE و بیسفنولA ۹۵
۳-۳. نتایج اثر دوزهای انتخابی ویتامینE و بیسفنولA بر میزان توانایی زیستی و میزان تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیم ۹۶
۳-۳-۱. سنجش توانایی زیستی سلول‌ها توسط رنگ‌سنجی MTT : ۹۶
۳-۳-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین‌رد ۹۷
۳-۳-۳. نتایج حاصل از مطالعه کیفی توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت بالغ: ۹۹
۳-۳-۴. میزان کلسیم داخل سلولی ۱۰۱
۳-۳-۵. میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز ۱۰۲
۳-۳-۶. بررسی رسوب کلسیم به روش وانکوزا (Von Kossa) : ۱۰۴
۳-۳-۷. بررسی میزان سنتز پروتئین‌های استئوکلسین و استئوپونتین به روش ایمونوسیتوشیمی ۱۰۵
۳-۳-۹. بررسی تغییرات مورفولوژیک با استفاده از رنگ‌آمیزیفلورسنس ۱۱۱
۳-۳-۱۰. تست تانل ۱۱۴
فصل چهارم ۱۱۶
بحث ۱۱۶
۴-۱. بررسی قدرت زیستی و توان تکثیری سلول‌ها ۱۱۷
۴-۲. بررسی شاخص‌های تمایز استئوژنیک ۱۲۴
۴-۳. بررسی میزان شکستگی DNA ۱۳۰
۴-۴. تغییرات مورفولوژیکی سلول‌ها ۱۳۳
فصل پنجم ۱۳۷
ضمیمه ۱۳۷
۵-۱. روش تهیه محیط کشت ۱۳۸
۵-۲. تهیه‌ی فسفات بافر سالین PBS^- ۱۳۸
۵-۳. روش تهیه محیط تمایزی استئوژنیک ۱۳۹
۵-۴. آماده سازی آلیزارین‌رد ۱۴۰

۵-۵. روش تهیه محلول MTT ۱۴۰
۵-۶. بافر استخراج آنزیم آلکالین‌فسفاتاز ۱۴۰
۵-۷. روش تهیه محلول آگارز با نقطه ذوب معمولی: ۱۴۰
۵-۸. روش تهیه محلول آگارز با نقطه ذوب پائین ۱۴۱
۵-۹. محلول لیز کننده ۱۴۱
۵-۱۰. بافر الکتروفورز ۱۴۱
۵-۱۱. بافر خنثی ۱۴۲
۵-۱۲. آماده سازی پارا فرمالدهید ۴٪ ۱۴۲
۵-۱۳. روش تهیه محلول BSA ۱۴۲
فصل ششم ۱۴۳
منابع ۱۴۳
منابع ۱۴۴

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۲-۱.	۶۹
جدول ۳-۱	**Error! Bookmark not defined.**
جدول ۳-۲	۹۱
جدول ۳-۳	۹۴
جدول ۳-۴	۹۸
جدول ۳-۵	۱۰۳
جدول ۳-۶	۱۰۹
جدول ۳-۷	**Error! Bookmark not defined.**
جدول ۵-۱	۱۳۹

فهرست نمودارها

عنوان صفحه

نمودار ۲-۱. نمودار استاندارد MTT ۶۱

نمودار ۲-۲. نمودار گراف استاندارد آلکالین‌فسفاتاز ۷۰

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱	۵
شکل۱-۲	۹
شکل ۱-۳	۱۱
شکل۱-۴	۱۹
شکل ۱-۵	۲۵
شکل ۱-۷	۳۷
شکل ۱-۸	۳۸
شکل ۱-۹	۴۳
شکل ۲-۱	۵۳
شکل ۲-۲	۵۴
شکل ۲-۳,	۵۶
شکل۲-۴,	۵۸
شکل ۲-۵,	۶۰
شکل۲-۶.	۶۰
شکل ۲-۷,	۷۶
شکل۲-۸,	۷۷
شکل ۲-۹,	۷۸
شکل ۲-۱۰	۸۰
شکل ۲-۱۱,	۸۱
شکل ۲-۱۲,	۸۳
شکل۳-۱	۸۷
شکل۳-۳	۱۰۰
شکل۳-۲	۱۰۱
شکل۳-۴	۱۰۵

شکل۳-۵ ..... ۱۰۶
شکل۳-۶ ..... ۱۰۷
شکل۳-۷ ..... ۱۱۰
شکل۳-۹ ..... ۱۱۳
شکل۳-۱۰ ..... ۱۱۴
شکل۳-۱۱ ..... ۱۱۵

فصل اول

مقدمه

۱-۱. تعریف سلول‌های بنیادی[1]

سلول‌های بنیادی، که به عنوان یکی از زیربناهای اساسی زیست‌شناسی بافت‌ها معرفی می‌شوند، سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که توانایی تقسیم و تجدید خود را به مدت طولانی دارند و قادرند تحت شرایط خاص به یکی از انواع سلول‌های بالغ و یا کاملا تمایز یافته تبدیل شوند. این سلول‌ها امکان نوسازی و جایگزینی سلول‌های خونی، استخوانی، جنسی، سلول‌های بافت پوششی، عصبی، عضلانی و بافت‌های متنوع دیگر را با سلول‌های جدید در تمام طول حیات فراهم می‌کنند (۵و۶) .

برای کامل‌تر شدن تعریف سلول‌های بنیادی، می‌توان به چند ویژگی قابل توجه و بارز آن‌ها نیز اشاره کرد:

۱- این سلول‌ها، فاقد ساختارهای ویژه بافتی هستند و در نتیجه فاقد اعمال ویژه بافتی نیز می‌باشند.

۲- سلول‌های بنیادی می‌توانند با تقسیمات کاملاً مشابه که شرط لازم برای پشتیبانی و نگه‌داری جمعیت سلول‌های بنیادی است، خودتجدیدی[2] داشته باشند (۱).

۳- سلول‌های دختری به وجود آمده از تقسیم یک سلول بنیادی، توانایی لازم برای تمایز به انواع سلول‌های بالغ را دارند. به عنوان مثال، سلول‌های بنیادی عصبی می‌توانند به سلول‌های آستروسیت و سلول‌های الیگودندریتی تمایز یابند (۷). سلول‌های بنیادی رده‌ی خونساز، قادرند انواع سلول‌های خونی را تولید کنند (۸) و یا سلول‌های بنیادی مزانشیم که می‌توانند انواع سلول‌های بافت مزانشیمی از جمله فیبروبلاست، استئوسیت، کندروسیت و آدیپوسیت را تولید کنند (۹).

1 - Stem cells
2- Self renewal

۴- سلول‌های بنیادی خاصیت کلون‌زایی دارند و هر سلول می‌تواند تعداد زیادی کلون تولید کند (۱۰).

۵- سلول‌های بنیادی پس از تقسیمات متوالی و متعدد نیز کاریوتیپ طبیعی خود را حفظ می‌کنند، در حالی که سلول‌های دیگر چنین نیستند و پس از چند تقسیم در کاریوتیپ آن‌ها تغییراتی صورت می‌گیرد.

۶- سلول‌های بنیادی برخلاف دیگر سلول‌ها که برای رشد نیازمند عوامل و فاکتورهای سرمی هستند، می‌توانند در غیاب سرم نیز تکثیر شوند (۱).

۷- این سلول‌ها دارای سطح بالایی از آنزیم تلومراز می‌باشند. تلومراز برای جلوگیری از کوتاه شدن طول تلومر، طی تقسیمات متوالی ضروری می‌باشد و طول تلومر عامل محدودکننده تقسیم سلولی است (۱۱).

۸- ژن‌های Oct4، c-Myc، Klf4، Sox2 تنها در سلول‌های بنیادی بیان می‌شوند و در دیگر سلول‌ها خاموش می‌باشند. بیان این ژن‌ها به حفظ حالت بنیادینگی سلول کمک می‌کند.

۹- سلول‌های بنیادی فاقد کروموزوم x غیر فعال یا همان جسم بار[1] هستند.

۱۰- این سلول‌ها فاقد عوامل و فاکتورهای کنترل‌کننده‌ی مرحله‌ی G1 تقسیم سلولی می‌باشند. فاکتورهای کنترل‌کننده‌ی این مرحله، در تنظیم طول چرخه سلول وجلوگیری از ورود به تقسیم نقش دارد.

۱۱- در سلول‌های بنیادی ژن connex بیان نمی‌شود. این ژن در تشکیل اتصالات محکم سلولی[2] نقش دارد و البته سلول‌های سرطانی نیز فاقد این اتصالات می‌باشند (۱).

1- Bar body
2 - Gap junction