

İleri Hücre Biyolojisi

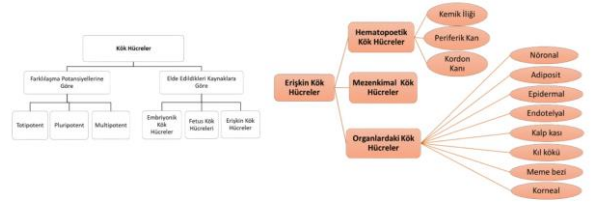
56902001

Öğr. Gör. Dr. Mahmut PARMAKSIZ

Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü

Kök Hücrelerin Sınıflandırılması

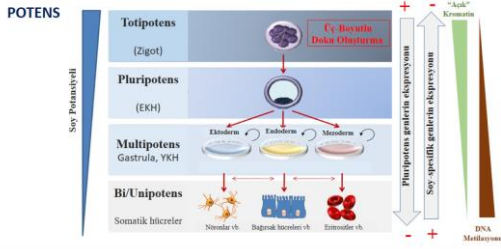
Kaynak – Potens - Doku



M. Parmaksiz

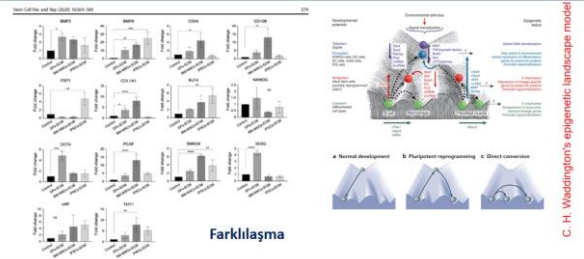
22

Kök hücre sınıfları



23

Kök hücre sınıfları

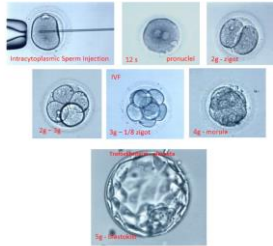


M. Parmaksiz

24

Totipotent Kök Hücreler

- Her yönlü farklılaşma yeteneği olan embriyonun erken evresindeki hücreleridir.
- Fertilizasyon ile spermium ve ovumun birleşmesi ile oluşan zigot, vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahiptir. Bu hücreye her şeyi yapabilen anlamında "totipotent hücre" denir.



M. Parmaksiz

25

Embriyonik Kök Hücreler ---- Pluripotent Kök Hücreler



M. Parmaksiz

Pluripotent Kök Hücreler

Embriyonik Kök Hücreler

In Vitro Fertilizasyon Klinikleri
Somatik Hücre Çekirdek Transferi (SCNT)



M. Pirmaklız

Pluripotent Kök Hücreler

Embriyonik Kök Hücreler

- 1- *In vitro*da kontrol edilmeleri zordur
- 2- Oosit ve embriyo kullanma zorunluluğu
- **Embrionun yaşama hakkı !**
- 3- Türkiye dahil pek çok ülkede insanlarda EKH çalışmak yasal değil
- Eide edilen hücrelerin bireye/hastaya özgü değil
- **Doku reddi !**
- 5- Hastaya özgü olması için
- **Klonlama gerekli !**



M. Pirmaklız

Pluripotent Kök Hücreler

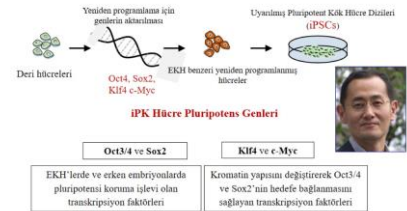
Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs)



M. Pirmaklız

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs)

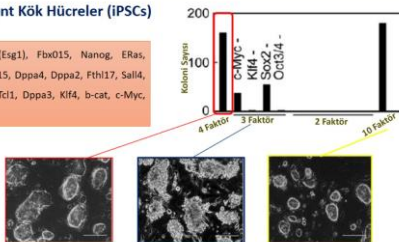


M. Pirmaklız

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs)

Adaylar: Eccl1, Dpp5(Esg1), Fbx015, Nanog, ERas, Dnmt3l, Eccl8, Gdf3, Sox15, Dppa4, Dppa2, Fhl17, Sal14, Oct4, Sox2, Rex1, Uxf1, Tc11, Dppa3, Klf4, b-cat, c-Myc, Stat3, Grb2



M. Pirmaklız

31

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs)

Oct4 (Oct3/4, octamer-binding transcription factor 4)

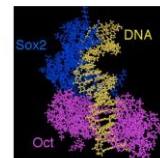
(Nichols ve ark., 1998; Niwa ve ark., 2000)

- ❑ Seküli -ATTGCAAT- motifini tanıyıp bağlayan bir faktördür.
- ❑ Sox2 ile DNA üzerinde trimer bir kompleks oluşturur ve embriyonik gelişime katılan YES1, FGF4, UTF1 ve ZFP206 gibi bir dizi genin ifadelerinin düzenlenmesinden sorumludur.
- ❑ **Görevi:** Hücrenin pluripotent özelliklerini ve kendini yenilerini korumak.

Sox2 (Sex determining region Y-box 2)

(Avilion ve ark., 2003)

- ❑ 3. kromozom üzerinde bulunur.
- ❑ Oct4 ile oluşturduktan heterodimerin EKH'lerde yüzlerce genin aktivitesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir.
- ❑ **Görevi:** Oct3/4 ile benzer şekilde fakat sağlamış embriyonik kök hücrelerde pluripotent ve kendilerini yenileyebilme özelliklerini korumak.



M. Pirmaklız

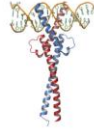
32

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs)

c-Myc

(Cartwright ve ark., 2005)

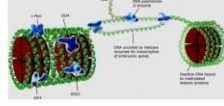


- c-Myc'in fare embriyonik kök hücrelerinin kendilerini yenilemesi ve pluripotensitliklerinde önemli rol üstlendikleri bilinmektedir.
- c-Myc hücre döngüsünde, apoptoziste, gelişimde, sinyal iletiminde, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenleyici mekanizmalarda, kök hücre biyolojisinde ve kanserin moleküler kaynağında önemli rolü bulunmaktadır.

Klf4 (Kruppel Like Factor 4)

(Li ve ark., 2005)

- En önemli görevlerinden biri p53 transkripsiyonu baskılamaktır → Antiapoptotik
- Aynı zamanda p21'i aktive ederek proto-onkogen özelliği de vardır bunu da hücrenin G1 evresinde kalmasını da tetikler.
- Embriyoda ekstreembriyonik dokularda, sindirim kanalında ve gelişen deri tabakalarında sentezi görülür. Yetkinlerde ayrıca nöral kök hücrelerde sentezi belirlenmiştir.



M. Permakci

33

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs) – Beklenmedik sonuçlar

Nanog

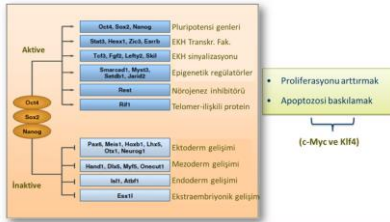
- Fare ve insan embriyonik kök hücrelerinde ve embriyonik germinal hücrelerinde ifadesi gözlenir.
- Görevi: Oct4 ve Nanog birlikte hücrelerin farklılaşmamış düzeye kalmalarını sağlarlar.
- Nanog'un pluripotensitliliğin korunmasında görevi olmasına rağmen (Chambers ve ark., 2003; Mitsui ve ark., 2003) yapılan çalışmada vazgeçilebilir olduğu gözlenmiştir.

M. Permakci

34

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs) – Faktör mekanizmaları



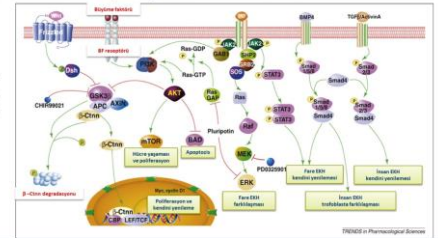
M. Permakci

35

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs) – Faktörleri azaltmak

Hücre proliferasyonu ile bir şekilde etkileşen molekülleri aktive/inhibe etmek



M. Permakci

36

Pluripotent Kök Hücreler

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (iPSCs) – Faktörleri azaltmak

- Son yapılan çalışmalarla küçük kimyasal moleküller kullanarak transkripsiyon faktörlerinin kullanımını azaltma ve/veya yeniden programlamanın verimliliğini artırabileceği ispatlanmıştır.

- Shi Y. ve ark. (2008)

BIX-01294 ↔ Oct4

- Lyssiotis CA. ve ark. (2009)

Kennapaullin ↔ Klf4

- Woltjen K. Ve ark. (2009)

ALK5 ve RepSox ↔ Sox2

Kullanılan molekül	Etki
Vajprok Asit (VPA)	Histon deasetilaz inhibitörleri
Butirat	Histon deasetilaz inhibitörleri
5-azasilidin (5-AZA)	DNA metil transferaz inhibitörleri
CHR99021	GSK3-β inhibitörü
PD032501	MEK/ERK inhibitörü
BIX-01294	Histon metil transferaz inhibitörü
ALK5 ve RepSox	TGF-β inhibitörü
BayR8644	L-tip Ca kanal blokörü
Kennapaullin	GSK3/CDK inhibitörü

M. Permakci

37

ORIGINAL ARTICLE
Cell Research (2010) 21:190–204
© 2010 SCSS, ICMR, CAS, All rights reserved 1591-9621/10 \$ 22.00
www.nature.com/cr

Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules

Yingqi Li¹, Qiang Zhang^{1,2,3}, Xinke Yu^{1,3}, Wofang Yang^{1,3}, Yanyan Du¹, Pingping Hou¹, Jun Gu^{1,3}, Chao Liu^{1,3}, Song Zhang^{1,3}, Xu Zhang^{1,3}, Tetso Wu^{1,3}, Honggang Li¹, Kang Liu¹, Chen Wu¹, Zhiluo Song^{1,3}, Yong Zhao^{1,3}, Yan Su¹, Hongbin Deng¹

VPA (HDA)
CHR99021 (GSK3β)
616452 (TGF-β)

Oct4
UPKH

A, B, C: Bar charts showing cell number over time for different conditions.

D: Micrographs showing cell morphology.

E: RT-PCR gel image showing expression of Oct4, Sox2, c-Myc, Klf4, and Gapdh.

