

İleri Hücre Biyolojisi

56902001

Öğr. Gör. Dr. Mahmut PARMAKSIZ

Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü

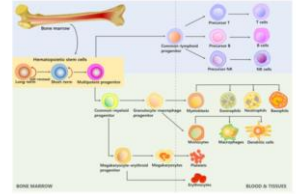
Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Hemato + **poiesis/poietic**
KAN + **ÜRETİM**

Sitemi oluşturan çok sayıda (10'dan fazla) olgun kan hücresi Yaşam süreleri oldukça kısa-süreklili üretim (hemapoetik homeostasis)

Oksijen taşınması, bağışıklık sisteminin sürdürülmesi, kanamanın kontrolü vb.



M. Parmaksiz

Yetişkin Kök Hücreleri

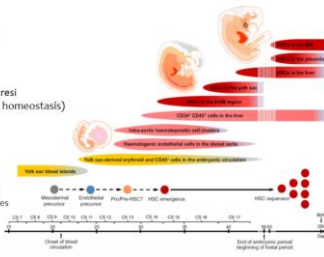
Hematopoietik Kök Hücreler

Hemato + **poiesis/poietic**
KAN + **ÜRETİM**

Sitemi oluşturan çok sayıda (10'dan fazla) olgun kan hücresi Yaşam süreleri oldukça kısa-süreklili üretim (hemapoetik homeostasis)

Oksijen taşınması, bağışıklık sisteminin sürdürülmesi, kanamanın kontrolü vb.

16-18 gün - **Yolk kesesi** – Eritroid hücreleri, monosit/makrofa
21. gün – Kalp kasılma/dolaşım ile hematopoietik hücre yayılma
27. gün - CD34 + CD45 + hücreler arter ve aort duvarında izlenmes



M. Parmaksiz

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Hematopoezi hücresel bir hiyerarşi sonucu ortak öncül (prokürsor) hücreden

"Hematopoietik Kök Hücre"den oluştuğunu ve kemik iliğinde matürasyonun akabinde sistemik dolaşıma dahil olduklarını iddia etmiştir

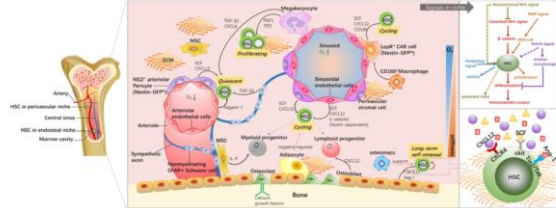


1909
Alexander Maximow

M. Parmaksiz

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler



Zhang et al. Stem Cell Research & Therapy (2019) 10:327

M. Parmaksiz

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

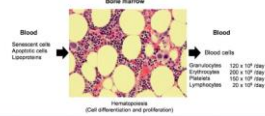
Kemik iliği

Kan hücrelerinin üretimi

- 175 milyar kırmızı küre/gün
- 70 milyar beyaz küre/gün (nötrofil, eozinofil, bazofil)
- 175 milyar kırmızı küre/gün
- Üretim kapasitesini ihtiyaç halinde 10 katı artırabilir...

Ancak;

Hücrelerin %1-0.1'i Kök hücre ve öncülleridir.

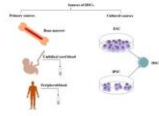


M. Parmaksiz

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Kaynaklar



Periferik kan, kemik iliği ve umbilikal kord kanı

In-utero	Ex-utero
Plasenta hala uterodayken, plasental venden kan aspire edilir.	Doğum sonrası
Başarısız bir toplama olasılığını ortadan kaldırır	Göbek kordonunun güçlü bir şekilde temizlenmesi ve plasental venden kan aspirasyonu.
Haciminde artış ve pıhtılaşmış toplama görülme sıklığı azdır	Doğum odasının dışındaki özel bir alanda eğitimli UCB banka personeli tarafından idare edilir
Eğitilmiş kadın doğum uzmanları tarafından yapılır	

M. Parmaksız

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Toplama/İzolasyon

- Daha yeni ve daha iyi mobilize edici ajanların ortaya çıkması nedeniyle günümüzde en yaygın yöntem
- Minimum yan etki ile ayakta tedavi bazında yapılır
- Gerekli minimum doz $2-5 \times 10^6 / \text{kg}$
- Zayıf mobilizasyon, toplamadaki sınırlayıcı faktörlerden biridir, mix mobilizasyon rejimi (kemoterapi ile G-CSF veya CXCR4 antagonisti) kullanılarak azaltılabilir.



M. Parmaksız

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Mobilizasyon= Kİ'den PK'a kök hücre geçişi sağlamak

Toplama/İzolasyon

Kök Hücre Mobilizasyonunda Kullanılan Hematopoietik Büyüme Faktörleri

Sitokinler	Kemokinler
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)	Interleukin-8
Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*	Stromal-derived-factor 1
Stem cell factor	AMD3100 (PLERIXAFOR)
Interleukin-3	
Fit 3 ligand	
Erythropoietin*	
Interleukin-6	

M. Parmaksız

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

İzolasyon Yöntemleri

Rutin yaklaşımlar

– Santifüj temelli: plazma reduksiyon, RBC reduksiyon, buffy coat hazırlama

– Filtrasyon

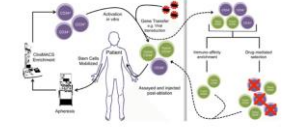
– Çözme/yıkama

Özelleşmiş yaklaşımlar

– Eütrasyon

– Hücre seçimi

– Hücre ekspansiyonu



M. Parmaksız

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

İzolasyon Yöntemleri

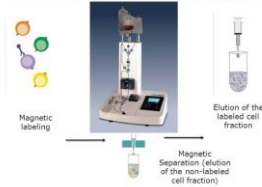
Seleksiyon sistemi

- İmmünoyenetik ve monoklonal antikorlara dayalı
- Clini- MACS (Miltenyi Biotec Bergisch,Almanya)
- Pozitif / negatif seçim (zenginleştirme / tükenme)
- CD34 + / CD38- daha fazla sayıda HSC

Pozitif seleksiyon : CD34 poz hücreler korunmakta

Negatif seleksiyon : Tümör hücreleri korunmakta

The Principle of the CliniMACS® CD34 Reagent System



M. Parmaksız

A CD34+ Cell Enrichment Protocol of Hematopoietic Stem Cells in a Well-Established Quality Management System

Pelin Kılıç^a, Meltem Bay^b, Yasın Yıldırım^b, Özmur Coşkun^a
Sukran Seker^a, Pinar Baydın^a, Özge Lalegül Ülker^a, Mahmut Parmaksız^a
Gursel Cübükcüoğlu Deniz^a, Aysel Yılmaz^a, Klaus Döber^a
Ayşe Esir Ercin^a, Kamil Can Akcağ^b, Osman İhan^{b,c}, Günhan Gorman^{a,c}

Table 2. Characteristics of apheresis and end products

Characteristic	Value
Apheresis products	
Total CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.405 (2.01-8.01)
TNC ($\times 10^6/\text{L}$)	47.3 (31.1-128.6-43.6)
End products	
Total CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	62.3 (41.2-101-88.8)
CD34+ purity (%)	99.6 (91.1-100.0)
CD34+ cell recovery (%)	91.4 (81.1-100.0)
R cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0 (0.0-0.0-0.0)
NK cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0 (0.0-0.0-0.0)
CD3+ T cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0 (0.0-0.0-0.0)

Table 1. Product values

Process cycle No.	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		
	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	Volume (mL)	CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	
Volume (mL)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CD34+ cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405	0.405
TNC ($\times 10^6/\text{L}$)	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3	47.3
Total CD34+ cells ($\times 10^6$)	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5
CD34+ purity (%)	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6	99.6
CD34+ cell recovery (%)	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4
R cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NK cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CD3+ T cells ($\times 10^6/\text{L}$)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CD34+ cell recovery (%)	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4
CD34+ cell recovery (%)	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4
CD34+ cell recovery (%)	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4
CD34+ cell recovery (%)	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4	91.4

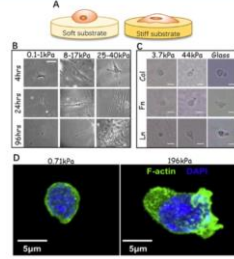
TNC, total nucleated cells.

Yetişkin Kök Hücreleri

Hematopoietik Kök Hücreler

Substrat sertliğine yanıt olarak HSC'lerin ve MSC'lerin mekanosensitivitesi

ECM sertliği, hücre yapışmasını ve morfolojisini etkileyen 2D substratın değişen sertliği ile taklit edilebilir. Daha sert alt tabakada hücre daha açık bir şekilde yayılır.



M. Permaköz

Yetişkin Kök Hücreleri

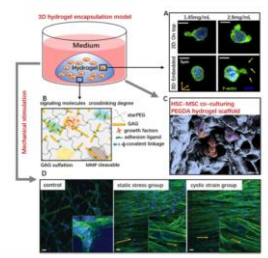
Hematopoietik Kök Hücreler

HSC költürü için hidrojel kapsülleme sistemlerinin tasarım stratejileri.

(a) HSPC'nin 2D / 3D kollajen üzerinde konfokal mikroskopi görüntüleri

(b) GAG bakımından zengin 3D starPEG-heparin hidrojel sistemi.

c) Gözenekli PEG hidrojelinde birlikte költürlenmiş MSC-BM (mor) ve HSPC'lerin elektron mikrogaf görüntüsünün taranması.



M. Permaköz