

A genetikai újraprogramozás rejtelmei: hogyan csinálhatunk bőrsejtekből idegsejtet?

Dr. Kobolák Julianna

Mit jelent a genetikai újraprogramozás?

Genetikai kód

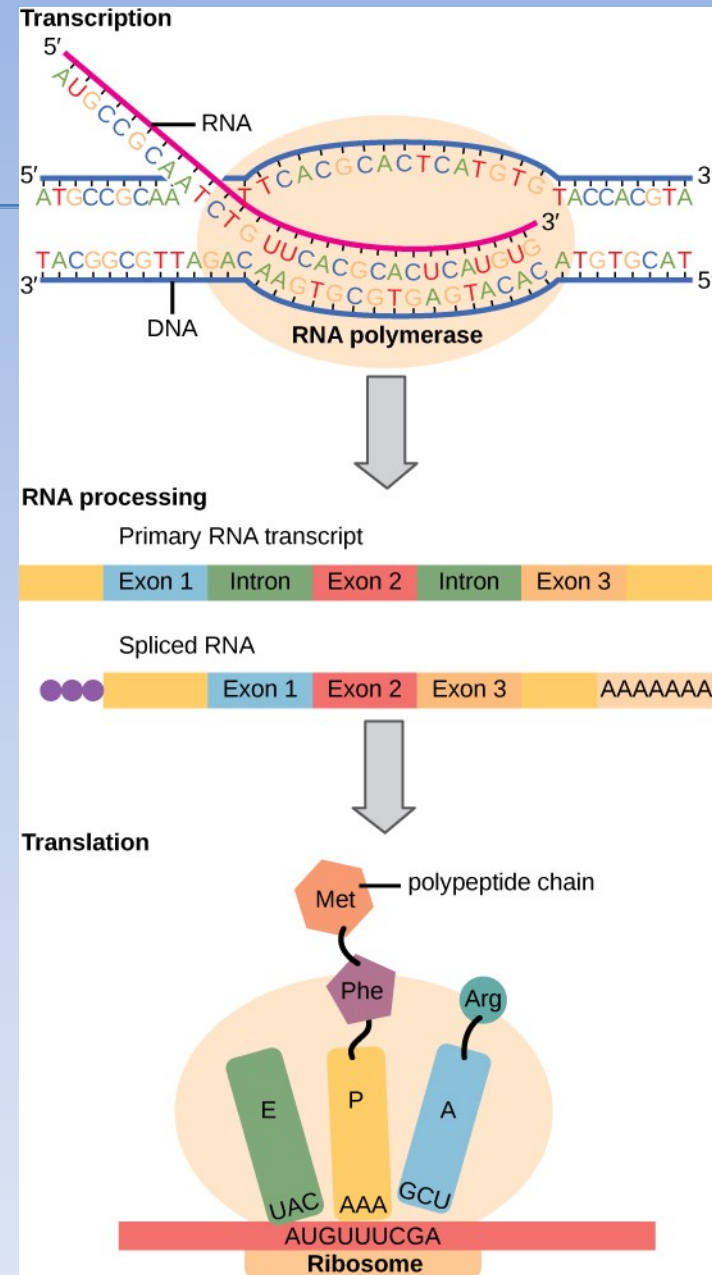
- alapvetően a fehérjék aminosav sorrendjét határozza meg, DNS-ben szekvenciális szinten kódolt információ

Epigenetikai kód

- Meghatározza a génkifejeződést, több szintje van:
 - DNS metiláció/demetiláció
 - Hisztin modifikáció

Genetikai kód

- nukleotid sorrend határozza meg
- kódoló (exon) és nem kódoló (intron) szekvenciák a géneken belül
- mRNS érés
- transzláció: elsődleges aminosav (polipeptid) lánc

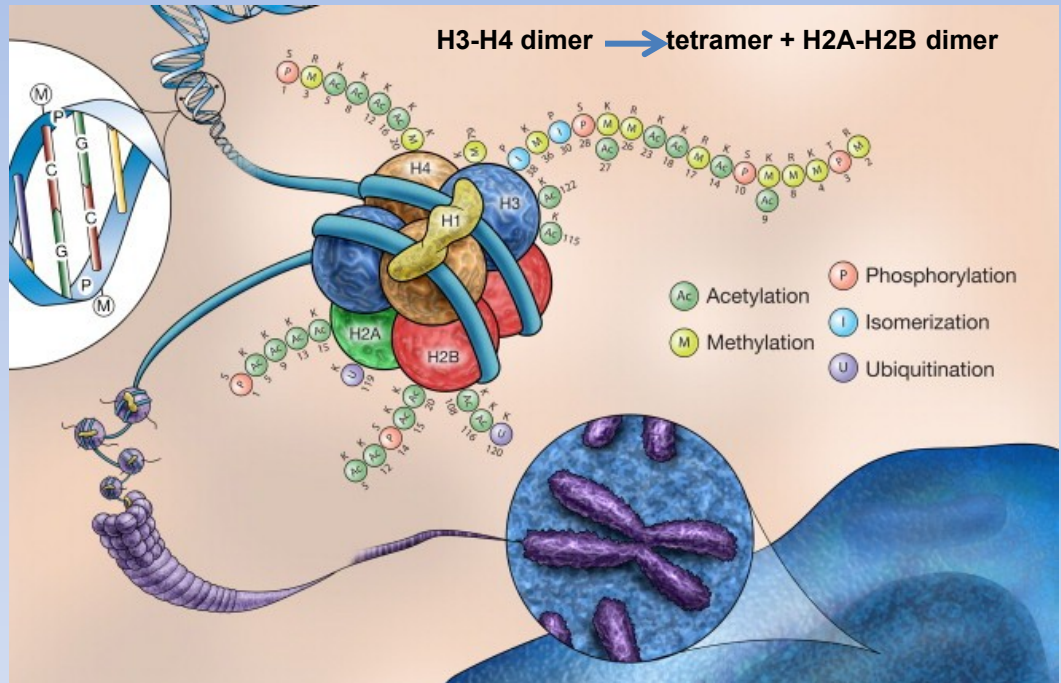


Epigenetikai kód

DNS metiláció

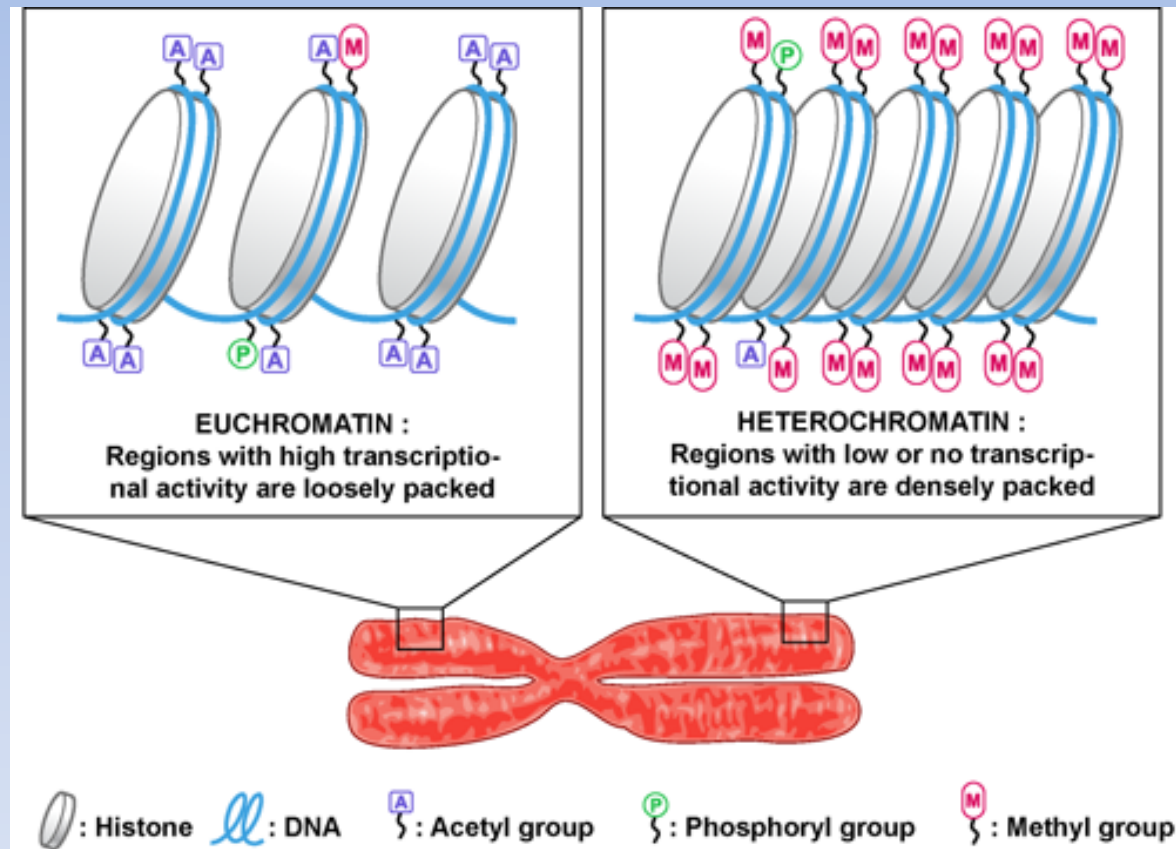
Hisztion

- **Acetiláció (Lys)**
 - hiszton acetyl transferáz (HAT)
 - Hiszton deacetyláz (HDAC)
- **Metiláció (Arg; Lys)**
 - hiszton metil-transferázok (HMT)
- **Foszforiláció**
 - kinázok
- **Citrullináció**
 - Arginin oldallánc deiminálódik citrullinná
- **Ubiquitináció**
- **ADP-riboziláció**



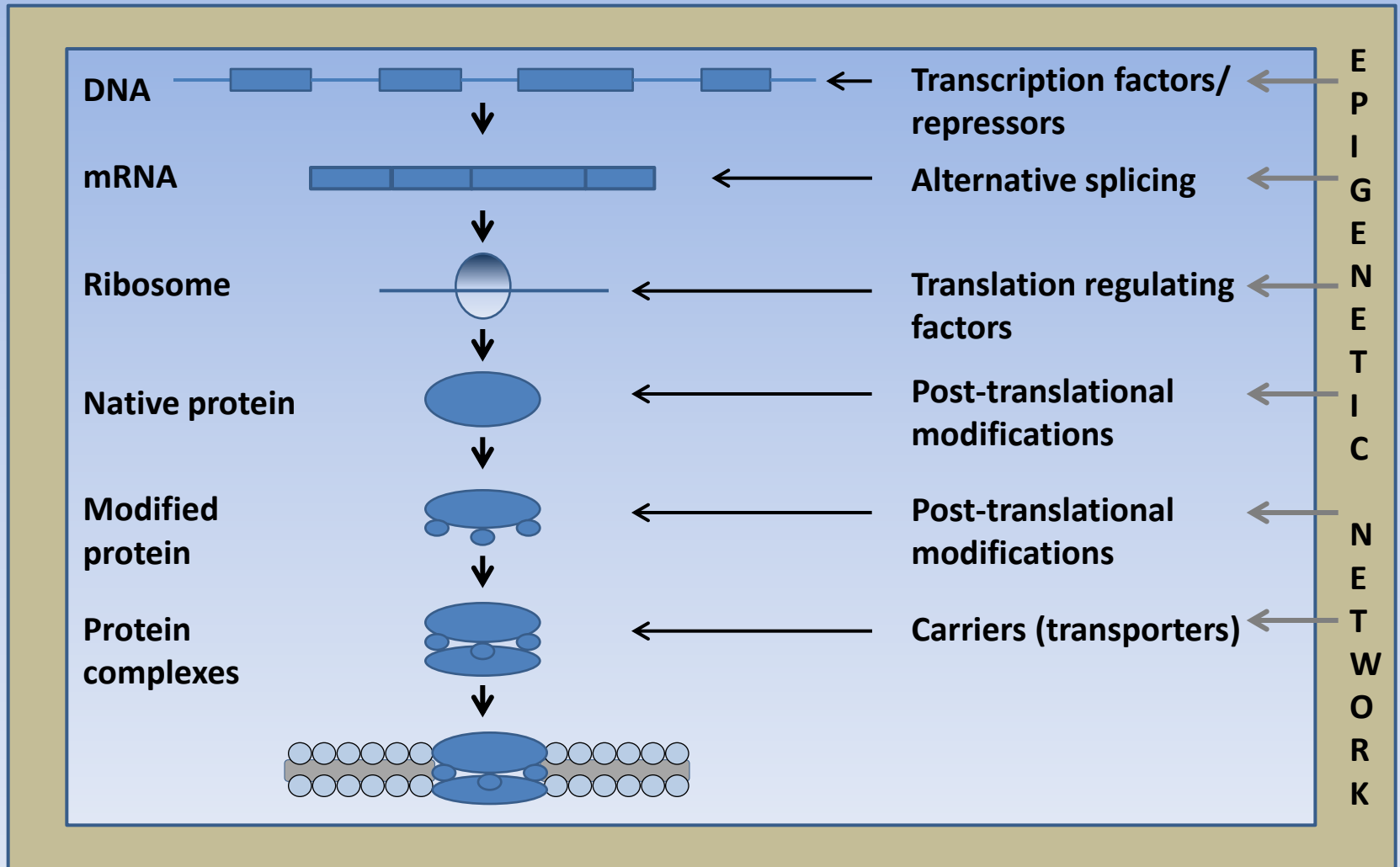
doi:10.1016/j.aanat.2010.07.009

Mi az epigenetikai szabályozás lényege?



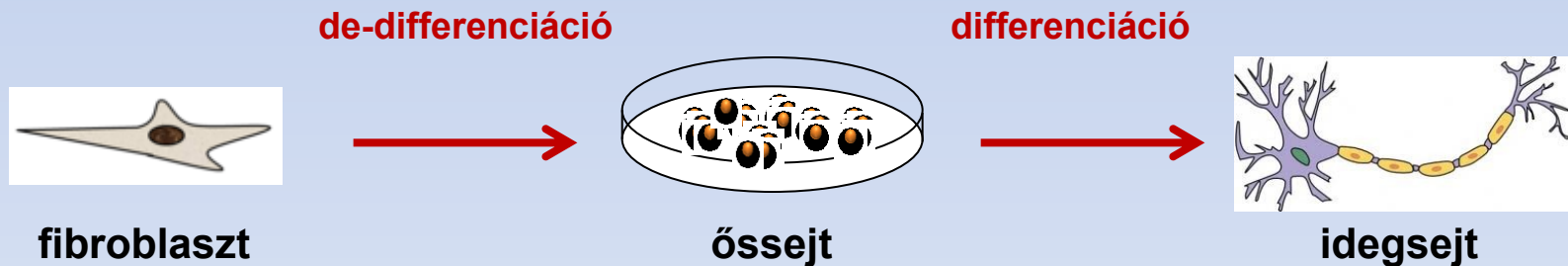
<http://www.shmoop.com/dna/dna-packaging.html>

Mi az epigenetikai szabályozás lényege?



Mit jelent a genetikai újraprogramozás?

Újraprogramozás vagy átprogramozás alatt azt a folyamatot értjük, amikor egy sejt DNS állománya korábban, az egyedfejlődés során kialakult és rögzült, ún. **epigenetikai kódot „elveszíti”** – teljes egészében vagy túlnyomó részben. Ennek eredményeként a létrejövő, immár **újraprogramozott sejt fejlődési potenciálja kitágul**, egy olyan stádiumba kerül, amelyből – eredeti programjától eltérően- **számos fejlődési irányba képes alakulni**.



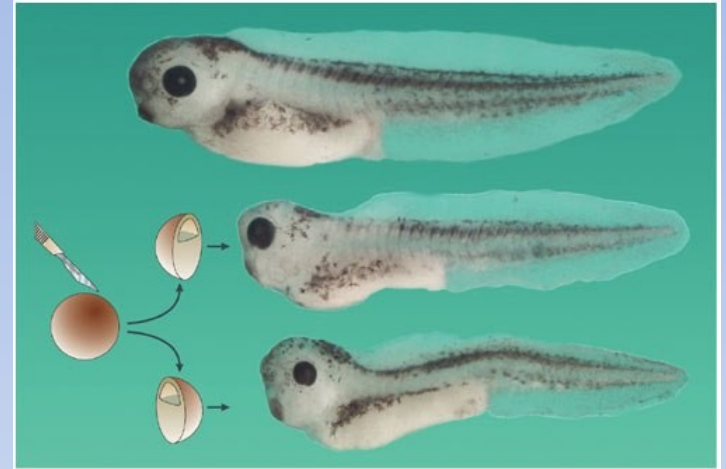
Hogyan lehet genetikailag újraprogramozni egy sejtet?

- Sejtmagátültetési klónozás
- Sejtfúzió
- Őssejt kivonatokkal történő kezelés
- Transzdifferenciáció
- Exogén faktorok hozzáadása

Sejtmagátültetési klónozás Dolly előtt 1.



Hans Spemann
német biológus



doi:10.1016/j.mod.2009.08.004,

1902: Identikus egyedek

Göte embriók darabolása során identikus egyedeket hozott létre.

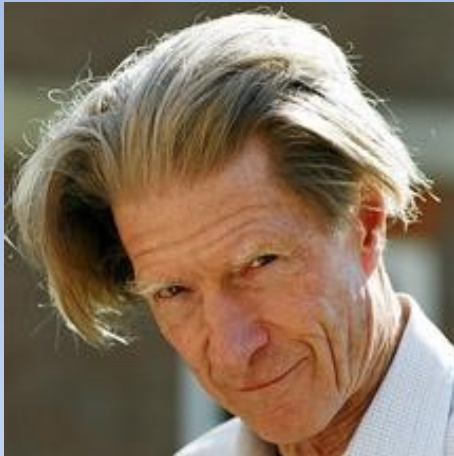
1928: Az első sejtmagátültetés

16-sejtes göte embrió egyik sejtjének sejtmagját helyezte egy sejtmagjától megfosztott, még egy-sejtes göte „embrióba”, amely azután normális gőtévé fejlődött.

1935: Élettudományi Nobel díj

Az embrionális indukció és az ún. organizátorok felfedezéséért.

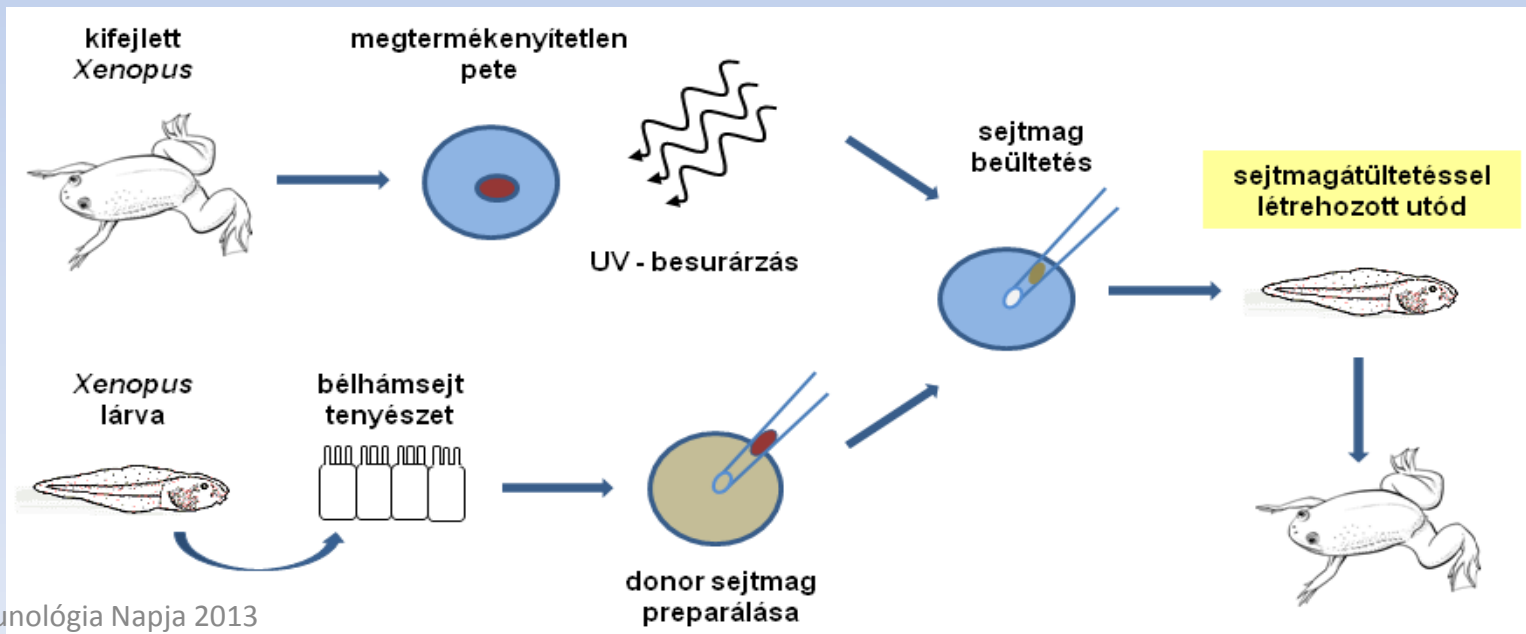
Sejtmagátültetési klónozás Dolly előtt 2.



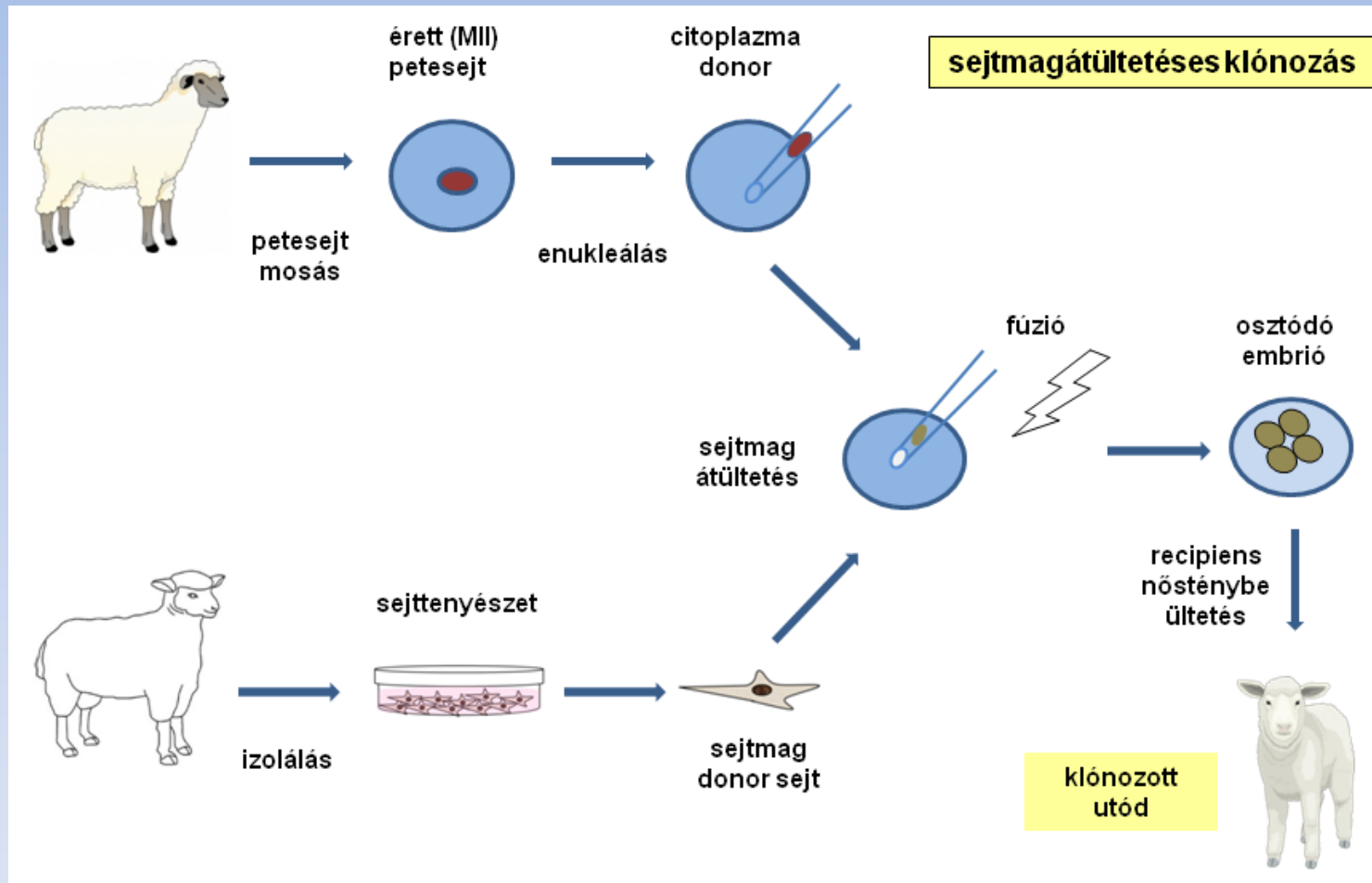
John B. Gurdon
angol zoológus,
biológus



Gurdon et al. (1962) PNAS



Sejtmagátültetési klónozás lépései



Sejtmagátültetési klónozás „elsői”



1997 február: Dolly



1997 október: Cumulina

Klónozott fajok



Az első hazai klónozott állatok

2006 November: Klonilla



Prof. Dinnyés András
Dr. Qinggang Meng
Dr. Jun Liu
Dr. Polgár Zsuzsanna



2007 Május: Tapsilla

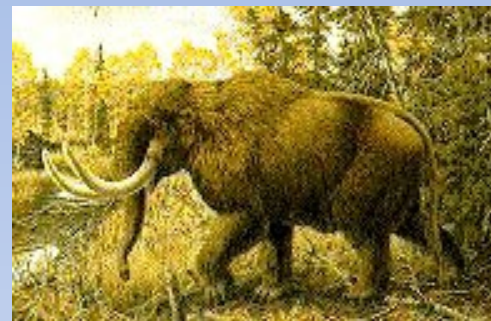
Meng et al, Cloning and Stem Cells, 2008,10:429-434
Meng et al, Cloning Stem Cells 2009,1:203-208

Sejtmagátültetési klónozás jelentősége

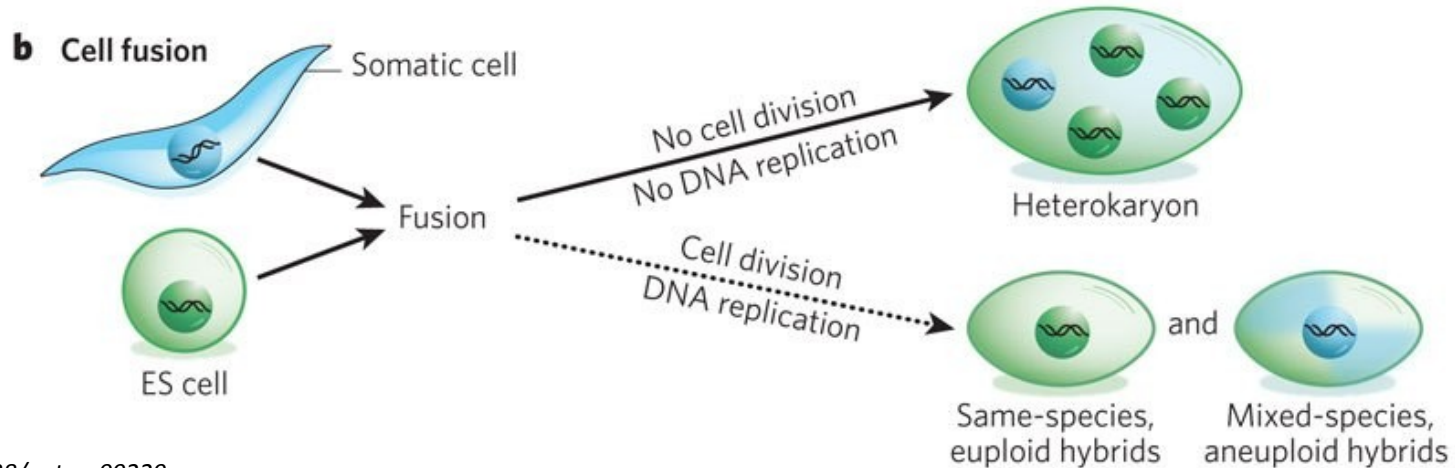
- Alapkutatói modell
 - Genetikai újraprogramozás
 - Epigenetikai kód
 - Funkcionális genomika
- Gyógyászati célú állatmodellek létrehozása
- Humán terápiás célú klónozás (őssejt forrás létrehozása)
- Veszélyeztetett fajok védelme (génbank)
- Állattenyésztésben kiegészítő eljárás

Mire **nem** alkalmazható a sejtmagátültetéses klónozás?

- Humán **reproduktív** klónozás
- Kihalt fajok „újrateremtése” (pl.: mamut, erszényes farkas, kvagga)
- Forradalmi előrehaladás az állattenyésztésben



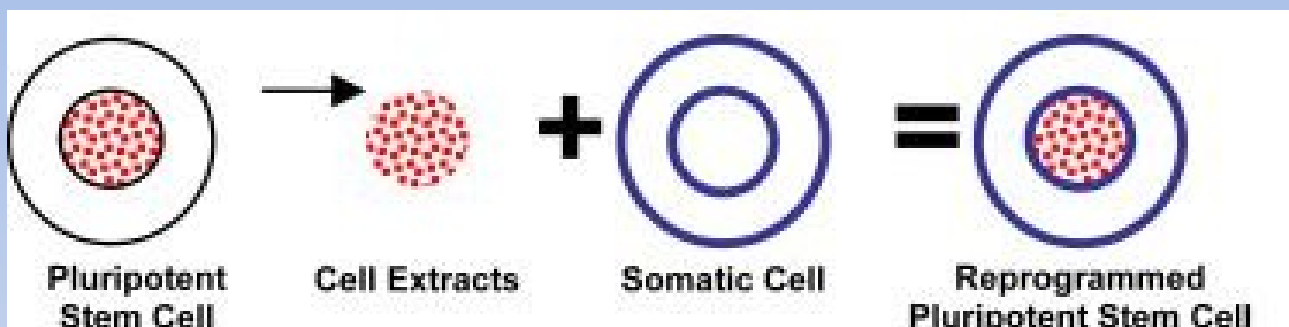
Genetikai újraprogramozás: sejtfúzió



doi:10.1038/nature09229

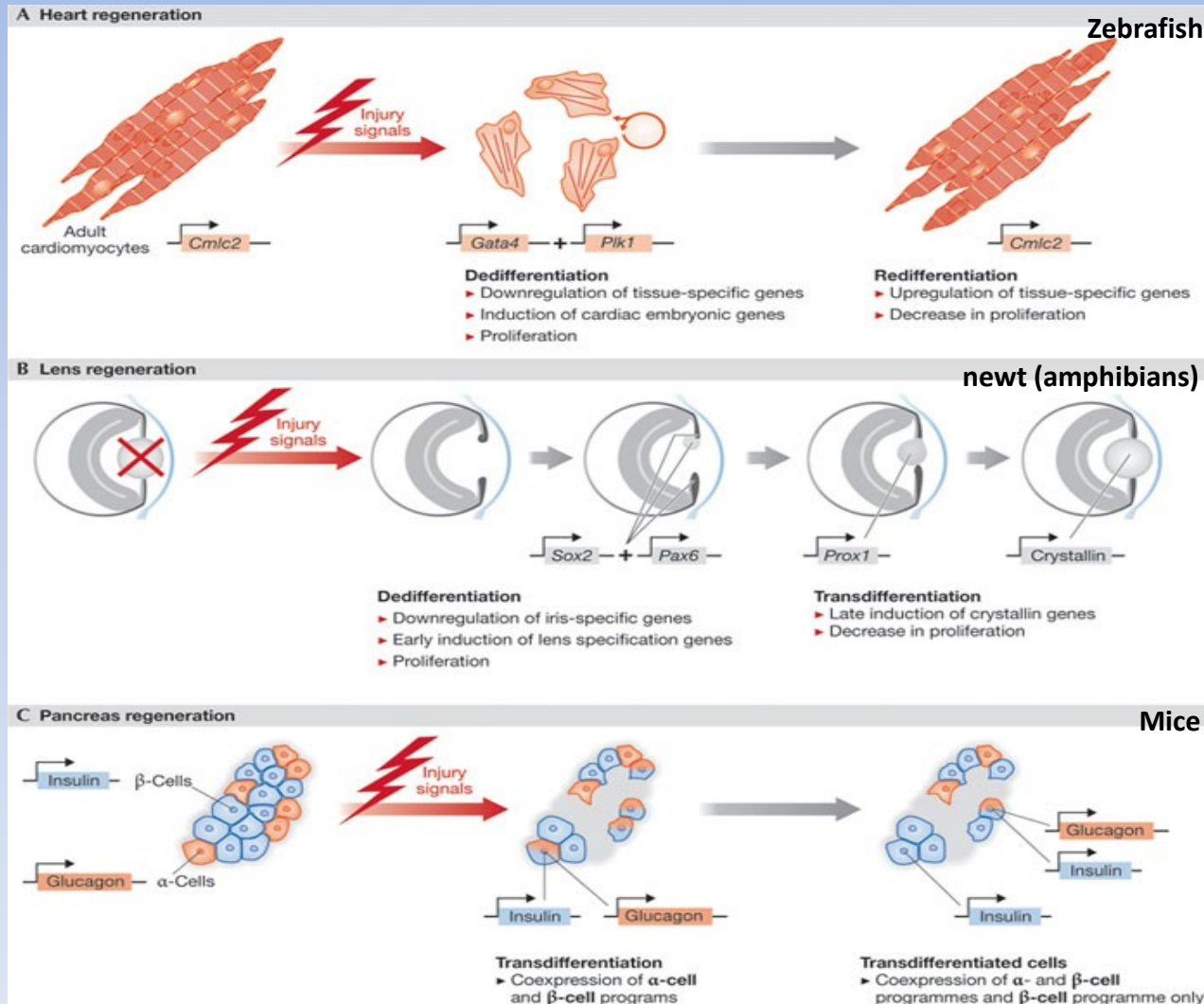
- $4n$ kromoszómaszerelvény
- Heterokaryon állapot instabil, magok nem fuzionálnak
- Ha osztódás következik be a végeredmény egy vegyes populáció:
 - azonos fajok esetén euploid
 - különböző fajok esetén aneuploid, kromoszóma veszteséssel

Genetikai újraprogramozás: sejt kivonatok

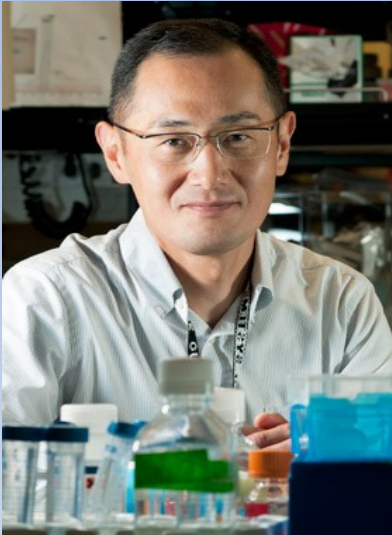


- Nehezen meghatározható, nem jól definiált
- Sejtvonalról-sejtvonalra változik
- Bonyolult és költséges a kivitelezése
- Kétséges és változó a nukleáris átprogramozás eredménye
- Nincs független igazolása a hatékonyságának

Genetikai újraprogramozás: *In vivo* transzdifferentiáció



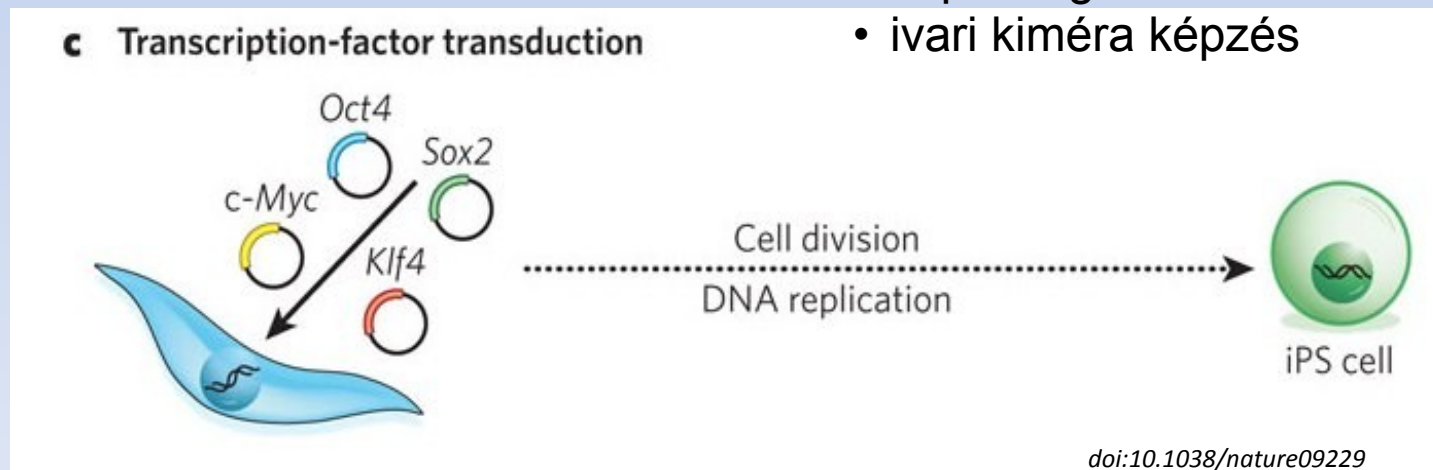
Indukált genetikai újraprogramozás 1.



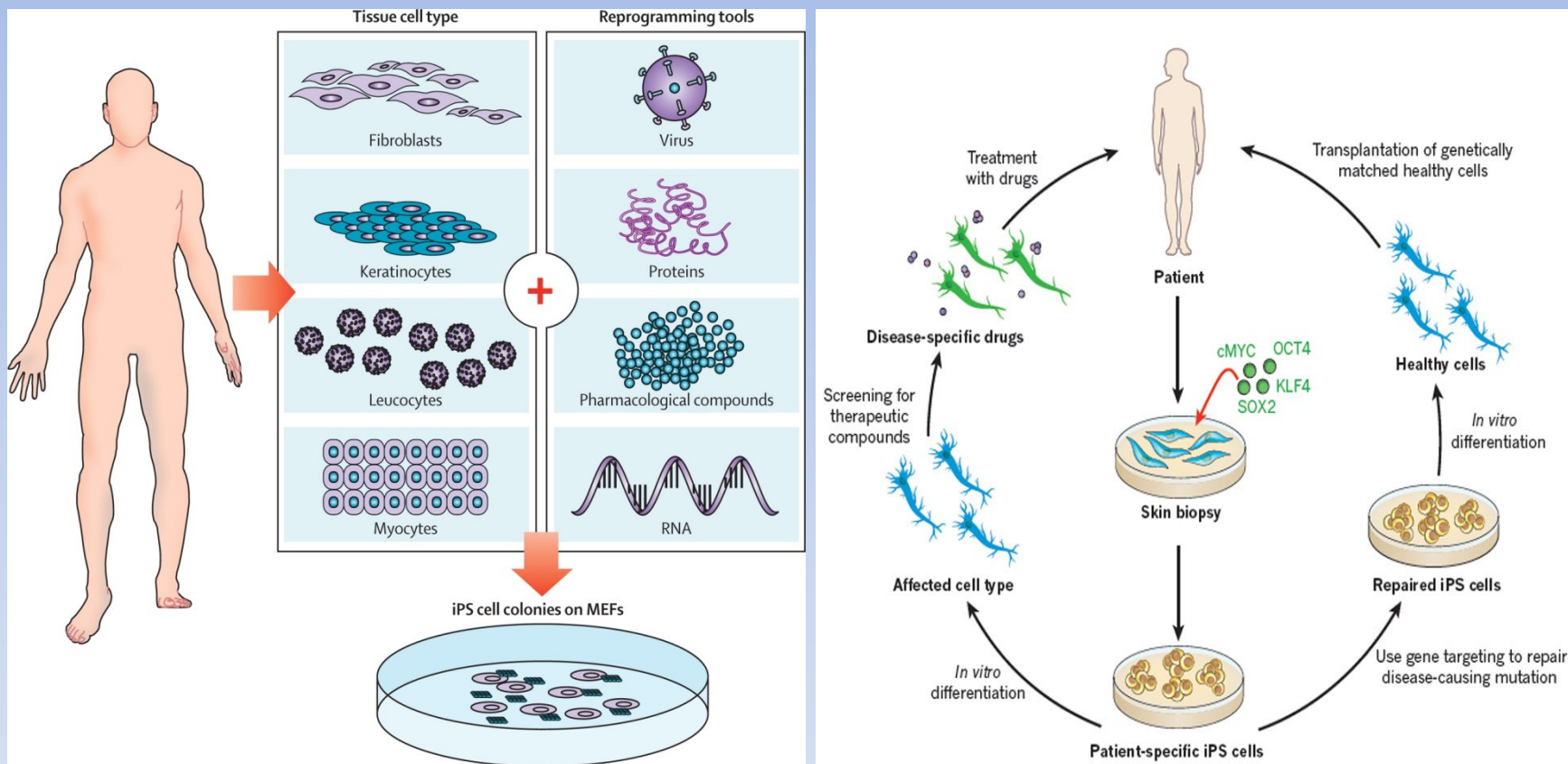
Shinya Yamanaka
japán biológus

Pluripotencia kialakításában fő szerepet játszó transzkripciós faktorok és onkogének génjeit juttatva differenciálódott sejtekbe (fibroblaszt) azok újraprogramozódtak és a pluripotens sejtekre jellemző tulajdonságokat mutattak, úgymint:

- korlátlan osztódás
- korlátlan differenciációs képesség
- ivari kiméra képzés



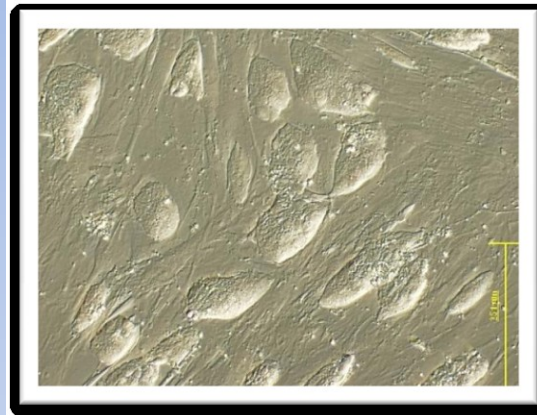
Indukált Pluripotens Őssejtek jelentősége



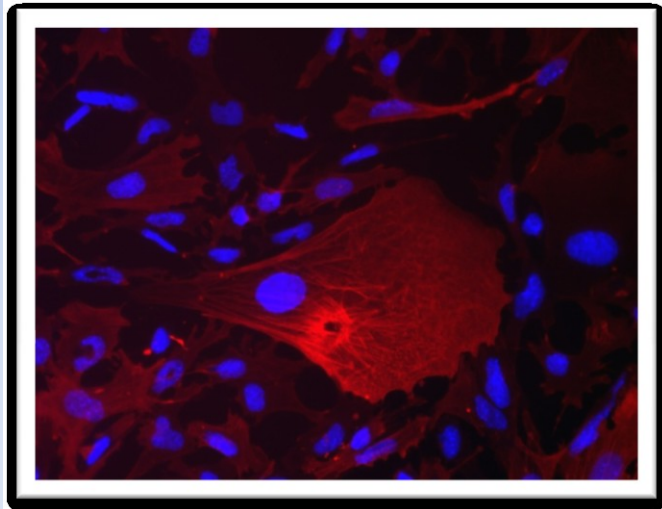
doi:10.1016/S1474-4422(11)70022-91

doi:10.1038/nature10761

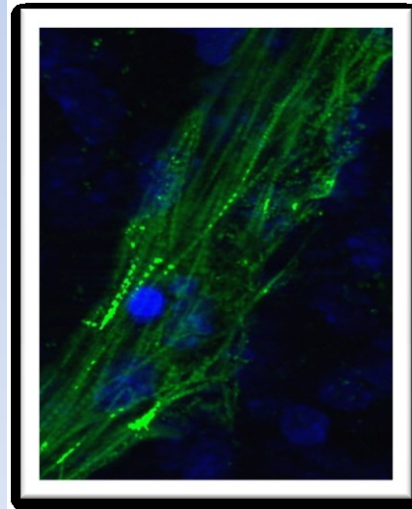
Indukált őssejtek differenciálata



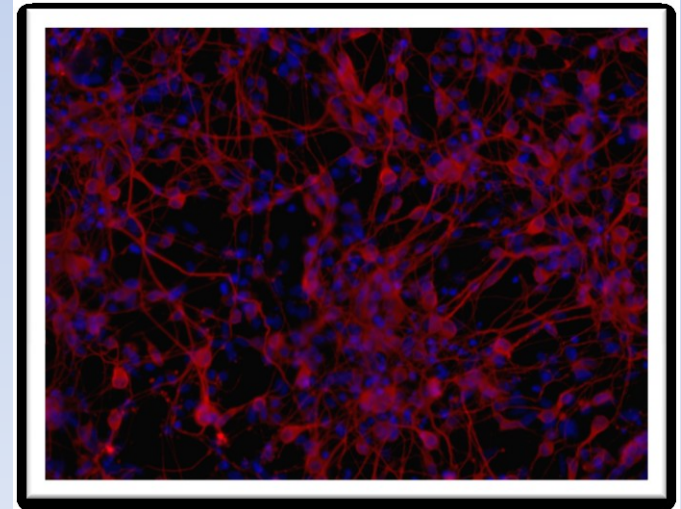
iPS cells (mouse, human)



Smooth muscle



Cardiomyocytes

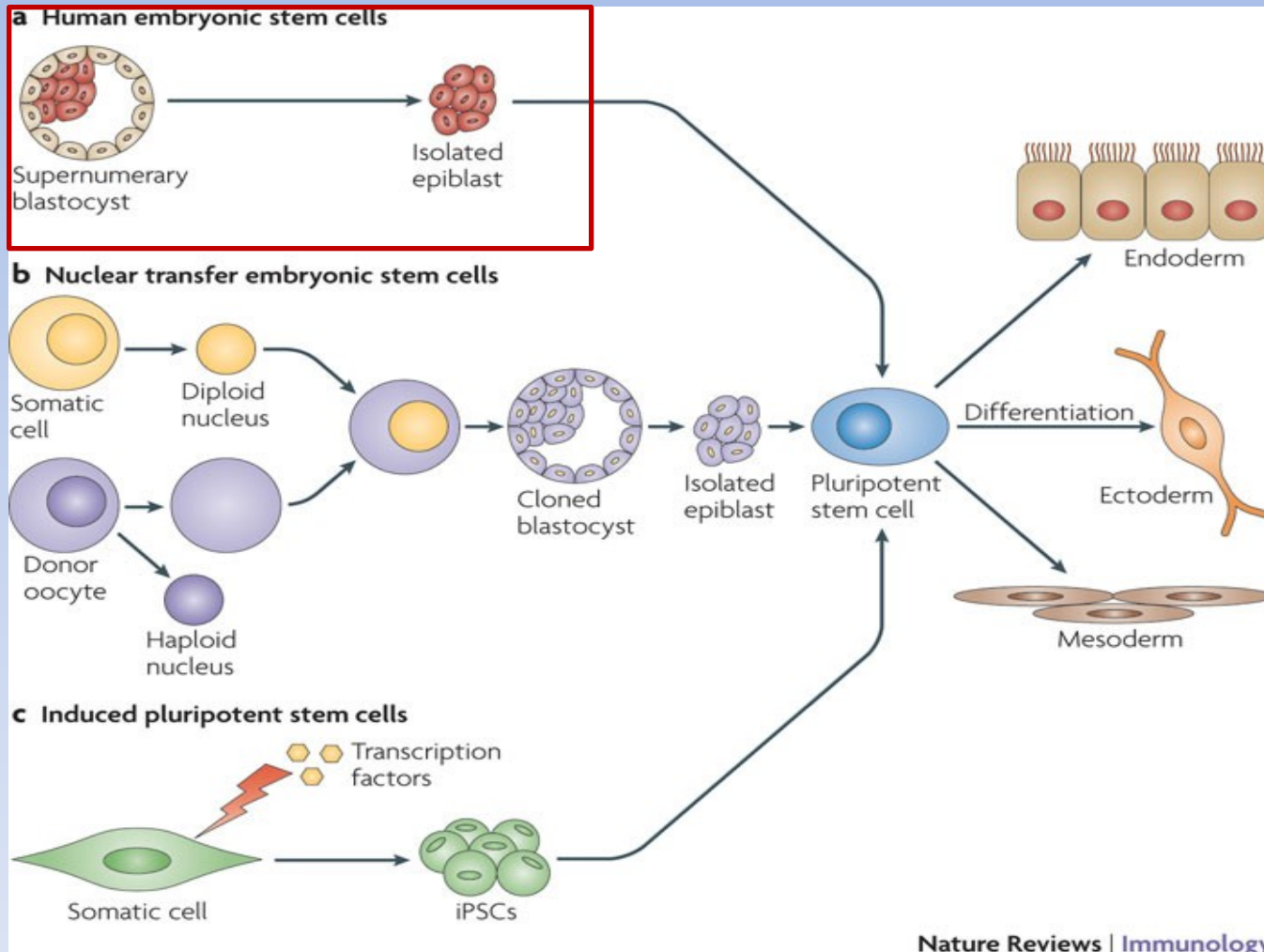


Neuronal cells

Indukált Pluripotens Őssejtek (iPS) felhasználhatósága

- **Fő-sejtforrás:**
 - fibroblasztok
 - elméletben: minden sejtípus (pl. vér)
- **Előnyük:**
 - nagyfokú plaszticitás
 - könnyű hozzáférhetőség
 - etikailag nem kifogásolhatók
 - Immunológiailag azonos a pácienssel
- **Felhasználhatóság:**
 - **Betegség modellezés**
(pl: Szklerózis, Anémia, Szívbetegség, Autizmus, Májbetegségek, Neurodegeneratív betegség)
 - **Kutatási célok:**
 - Patomechanizmus vizsgálat
 - A sejt-differenciáltatás mechanizmusának megértése
 - Drog-teszt terápiás célokra
 - Sejtterápia
 - Génterápia (személyre szabott orvoslás)

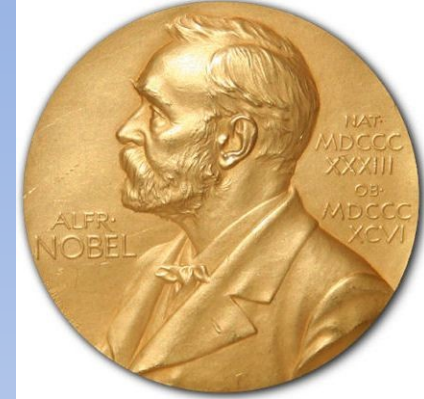
Őssejt terápia immunológiai vonatkozásai



doi:10.1038/nri2878

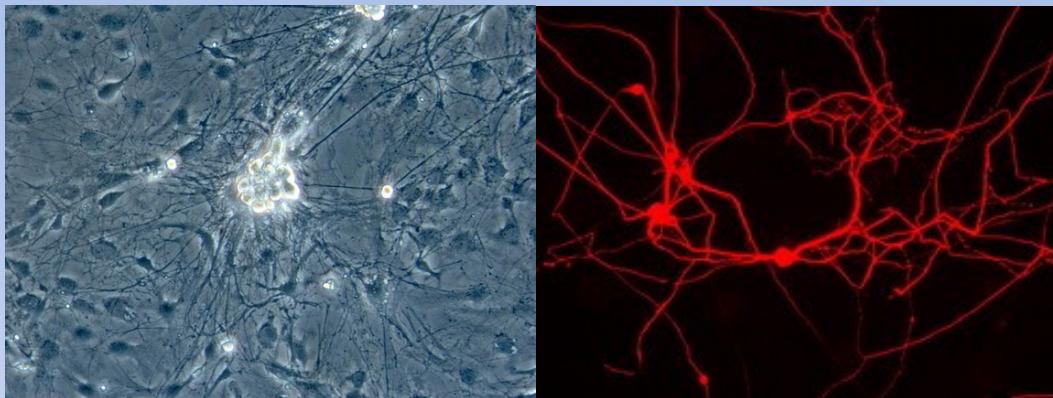
2012-es Orvosi Nobel díj:

"revolutionized our understanding of how cells and organisms develop."



(Photo by AP Photo/Kyodo News)

Transzdifferenciáció, egy új fejezet: Indukált neuronok (iN)



Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors

T. Vierbuchen, A. Ostermeier, Z.P. Pang, Y. Kokubu, T.C. Südhof & M. Wernig *Nature* **2010**

„...a combination of **only three factors**, *Ascl1*, *Brn2* (also called *Pou3f2*) and *Myt1l*, that suffice to rapidly and efficiently convert mouse embryonic and postnatal fibroblasts into functional neurons *in vitro*. These **induced neuronal (iN) cells express multiple neuron-specific proteins, generate action potentials and form functional synapses.**”

Direct Conversion of Fibroblasts to Neurons by Reprogramming PTB-Regulated MicroRNA Circuits.
Cell, Volume 152, Issue 1, 82-96, 10 January 2013 (10.1016/j.cell.2012.11.045)