

İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler ve Uygulamaları

Induced Pluripotent Stem Cells and Their Applications

Handan SEVİM, Özer Aylin GÜRPINAR

Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Özet

Pluripotent özellik, organizmanın bütün dokularındaki hücreleri oluşturabilme özelliğidir ve sadece embriyonik kök hücre (EKH)'ler bu özelliğe sahiptir. İlk olarak 2006 yılında Takahashi ve Yamanaka isimli araştırmacıların çalışmaları ile somatik bir hücreye gen aktarılması sonucu pluripotent özellikte hücreler elde edilmiştir ve bu hücrelere indüklenmiş pluripotent kök hücre (İPKH) adı verilmiştir. İPKH'ler oluşturulurken pluripotent özelliği sağlamak amacıyla c-Myc, Sox-2, Oct 3/4 ve Klf-4 genleri transfeksiyonla somatik hücrelere aktarılmaktadır. Gen aktarımı işlemi sonucunda aktif genleri içeren hücre kolonilerinin seçimi ile İPKH'ler elde edilmektedir. Pluripotent özellikteki EKH'lerde karakteristik olan; kültür ortamındaki gelişim evreleri, DNA metilasyon modeli, teratom oluşturabilme yeteneği, üç germ tabakasına ait hücrelere farklılaşabilme potansiyeli ve kimerik canlılar oluşturabilme özellikleri İPKH'lerde de bulunmaktadır. Bunun yanında, etik olarak çalışılmasında sorunlar yaşanan EKH'ler yerine kullanılabilir tek kaynaktır. Organizmadaki bütün hücrelere farklılaşabilme özellikleri ile geri dönüşümsüz hücre hasarlarının olduğu bütün hastalık modellerinde hücre tedavisi amaçlı kullanılabilir. Ayrıca bu hücreler elde edildiği organizmaya olog implante edilebilme şansına da sahiptir ve böylece implantasyonlarda yaşanan immun cevap riski ortadan kalkmaktadır. Bu nedenle, İPKH ile hücre tedavileri, ilaç araştırmaları ve hastalık modellerinin araştırılmasına olanak sağlayabilecek en uygun kaynaktır. Bu derlemede, günümüzde yeni bir araştırma alanı olan İPKH'lerin elde edilmesi ve kullanım alanları ile ilgili yakın zamanda yapılan araştırmalar hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır. (*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2012;25:5-9)

Anahtar Kelimeler: Pluripotent kök hücre, Embriyonik kök hücre, Doku tedavisi, Transfeksiyon, Oktamer transkripsiyon faktörü-3, SoxB1 transkripsiyon faktörleri.

Abstract

Pluripotency is a property of a cell that allows it to develop as any of the cell types of the body. Embryonic stem cells (ESCs) are unique cells in the organism and they have a pluripotent capacity. Induced pluripotent stem cells (IPSCs) is a term that describes somatic cells having a pluripotent capacity induced by the viral transfection of special genes. This term was firstly used in 2006 by Takahashi and Yamanaka in their experimental work. c-Myc, Sox-2, Oct 3/4 and Klf-4 genes are used for the transfection of somatic cells in order to obtain IPSCs. IPSC colonies are produced by using a successful transfection process. IPSCs have pluripotent stem cell specialities like growing potential in a culture system, having a DNA methylation pattern, an ability to form teratomas, to generate three germ line components and to generate chimeric organisms which pluripotent ESCs have. Concerning the ethical problems of working with the ESCs, IPSCs can be a unique source for pluripotency studies. IPSCs with their pluripotent capacity can be used for cell therapies in diseases which have irreversible cell defects. IPSCs can also be used to form autologous implants with no immune response. Therefore, IPSCs can be used for cell therapies, drug research or disease models. In this review, we give some information about obtaining IPSCs and today's research areas that have been opened by the use of these cells. (*Marmara Medical Journal* 2012;25:5-9)

Key Words: Pluripotent stem cell, Embryonic stem cell, Tissue therapy, Transfection, Octamer transcription factor-3, SOXB1 transcription factors.

Giriş

İndüklenmiş pluripotent kök hücre (İPKH), tanım olarak pluripotent özellik kazanmış somatik hücrelere denir. Bu terim ilk

olarak 2006 yılında Takahashi ve Yamanaka isimli bilim adamlarının çalışmaları ile gündeme gelmiştir¹. Pluripotent özellik organizmadaki üç germ tabakasından köken alan bütün hücreleri oluşturabilme özelliğidir ve embriyonik kök hücre (EKH)'ler bu

özelliğe sahiptir. EKH'ler blastosist aşamasındaki embriyonun iç hücre kitlesinden elde edilir. Hücre kültürlerinde uygun koşullarda üretilen EKH'ler, kalp hücresinden yağ hücresine vücuttaki bütün hücreleri oluşturabilme yeteneğindedir^{2,3}. EKH'ler, bilimsel çalışmalar için istenilen hücre tipinin elde edilmesi ve geri dönüşümsüz hücre hasarların olduğu hastalıklarda hücre tedavisi için kaynak olarak kullanılmaları açısından oldukça önemlidir⁴. Ancak EKH'ler elde edilirken blastosiste müdahale edilmesi, insan kaynaklı çalışmaların yapılmasında etik sorunları ortaya çıkarmıştır. Geçerli olan etik kurallar dahilinde kök hücre transplantasyonu ile ilgili hematopoitik kök hücrelerin otolog olarak tedaviye yönelik kullanımı olmasına rağmen EKH'ler ile yapılan çalışmalar etik sorunlar nedeniyle yapılamamaktadır. Ülkemizde 2006 yılı itibarı ile Sağlık Bakanlığı tarafından alınan kararla EKH'ler ile yapılacak çalışmalar durdurulmuştur^{5,6}. Bu nedenle İPKH'ler blastosiste müdahale edilmeden elde edilebilen pluripotent kök hücreler olarak kullanılmasında sorun yaşanan EKH'ler için tasarlanan bilimsel çalışmaların gerçekleştirilmesine yönelik yeni bir fırsat oluşturmaktadır.

İPKH'lerin Oluşturulmasında Seçilen Hücre Tipleri ve Genler

İPKH'lerin eldesinde somatik hücrenin yeniden programlanarak pluripotent özellikte bir hücreye dönüşmesi söz konusudur^{1,7,8}. Hücrelerin yeniden programlanması çeşitli yollarla olmaktadır. Bunlar; hücre füzyonu, somatik hücre çekirdek aktarımı ve gen aktarımıdır. İPKH'ler oluşturulurken somatik hücreye pluripotent özellik sağlayan genler aktarılmaktadır.

Somatik hücre kaynağı olarak seçilen hücreler genellikle fibroblast kökenli hücreler olmaktadır. Fare hücrelerinden İPKH'ler elde edilirken kaynak olarak kullanılan hücreler; dermal fibroblastlar, dermal papilla hücreleri, pankreas β hücreleri, ince barsak epitelyum hücreleri, kuyruk kökü fibroblastları, nöral kök hücreler, kemik iliği kök hücreleri, B lenfositler ve mononükleer hücrelerden başarılı olarak İPKH'ler elde edilmiştir^{1,9-16}. İnsan çalışmalarında, dermal fibroblastlar, amniyotik sıvıdan elde edilen hücreler, embriyo kökenli fibroblastlar, hematopoitik oldukları tespit edilmiş CD34 pozitif kan hücreleri¹⁷, mezenşimal kök hücreler, yağ doku kök hücreleri ve oral mukoza hücrelerinden İPKH'ler üretilmiştir¹⁶⁻²³.

Seçilen somatik hücrelerin programlanması amacıyla Takahashi ve Yamanaka tarafından yapılan çalışmada, öncelikle pluripotent özelliği sağlayan 24 adet gen tanımlanmış ve bu genler içinde 4 adet genin pluripotent özelliklerin sağlanmasında yeterli olduğu gösterilmiştir. Oct $\frac{3}{4}$, Sox2, c-Myc ve Klf4 genlerini bu amaçla seçilip kullanılmıştır¹. Ayrıca Takahashi ve Yamanaka'nın çalışmasından bir yıl sonra Yu ve arkadaşları Oct $\frac{3}{4}$, Sox2, Nanog ve Lin28 genlerini indüklenmiş pluripotent kök hücre eldesinde kullanmışlardır²⁴.

Oct $\frac{3}{4}$; DNA'da ATTTGCAT oktomerini tanıma özelliği olan oktomer bağlanma transkripsiyon faktörüdür. İlk olarak döllenen yumurtada bulunan bir protein olarak tanımlanmıştır²⁵. Embriyonun iç hücre kitlesi hücrelerinin gelişimi için ifade olması gerekmektedir. Ayrıca embriyonik kök hücrelerin

gelişiminde bu faktörün seviyesinin 3 önemli etkisi gözlemlenmekte; düşük seviyede ifade edildiğinde hücreler pluripotent özellikte kalmakta ve farklılaşma olmamakta; ifadesindeki 2 kat artış hücrelerin primitif endoderm ve mezoderm yönünde farklılaşmasına; ifadesinin baskılanması durumunda ise hücrelerin pluripotent özelliğini kaybedip tropoekdoderm yönünde farklılaşmasına neden olmaktadır^{8,26}.

Sox2; SRY ilişkili, DNA'da küçük oluğa bağlanan transkripsiyon faktörleri ailesindedir. EKH'ler in kendi kendini yenileme özelliği için gereklidir. Erken embriyoda, germ hücrelerinde ve epiblastta ifade edilir. İfadesinin baskılanması durumunda embriyo gelişiminde epiblast oluşumunda sorun olduğundan embriyolar yok olur. Sox2'nin önemli görevlerinden birisi de Oct $\frac{3}{4}$ ifadesini düzenlemesidir. Yapılan çalışmalarda Sox2 ve Oct $\frac{3}{4}$ birbirinin ifadesini etkileyerek kök hücrelerin pluripotent özelliğini etkiledikleri gösterilmiştir²⁷.

c-Myc; tümörlerde yüksek aktivasyona sahip bir onkogendir. Histon asetilasyonunda rol aldığı için kromatin yapısının düzenlenmesinde etkilidir²⁸. Hücre döngüsü, apoptoz, sinyal iletimi, transkripsiyon ve posttranskripsiyonel düzenleme mekanizmaları, kök hücre biyolojisi ve kanser moleküler biyolojisinde önemli olan faktörlerdendir^{29,30}. EKH'ler de kendi kendini yenileme ve pluripotent özelliğin devamı için gerekli bir faktördür.

Klf4; yapısı Drosophiladaki Krüppel proteininin yapısına benzediği için Krüppel benzeri faktör 4 (Klf4) adını alan, epitelden bağırsağa, böbrek ve deriye kadar bir çok dokuda bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. Etkilediği gen ve ürünlerin durumuna göre transkripsiyonu aktive edebilir ya da baskılayabilir. Ayrıca yüksek seviyede ifade edildiğinde hücre bölünmesini baskılar ve hücrenin G1-S fazında kalmasını sağlar³¹. EKH'lerin kendi kendini yenileme özelliği için gerekli bir faktördür.

Nanog ve Lin-28; İPKH'ler programlanmasında kullanılan diğer transkripsiyon faktörleridir. Nanog EKH'lerde kök hücre olarak kalma özelliğini ve pluripotent özelliğini etkileyen önemli bir faktördür. Yapılan çalışmalarda Nanog geni hasarlı EKH'lerin kendi kendini yenileme özelliğini kaybettiği ve ekstraembriyonik doku hücrelerine farklılaştığı görülmüştür³². Lin-28 erken embriyonik dönemde ifade edilen proteindir ve EKH'lerin işaretleyicisi olarak da kullanılmaktadır.

Bütün bu transkripsiyon faktörleri bir hücrenin pluripotent özelliğe sahip olması için yeterli olan faktörlerdir¹. Fibroblast gibi somatik bir hücrenin bu genleri ifade etmesi pluripotent hücre yönünde programlandığını göstermektedir. Ayrıca c-Myc'nin bir onkogen olması nedeniyle bazı çalışmalarda c-Myc geni aktarılmadan hücrelerin farklılaştırılması yönünde çalışmalar da yapılmıştır³³.

İPKH'lerin Elde Edilmesi

Hücrelere gen aktarımı amacıyla retrovirüsler ve adenovirüsler gibi vektör sistemleri kullanılmaktadır^{1,34}. Virüsler kullanılarak yapılan gen aktarımında viral vektörün genetik materyaline aktarılmak istenen gen bölgesi yerleştirilir ayrıca gen aktarımının doğru yapıldığının anlaşılmasını sağlayan özel bölgeler, antibiyotik direnç özelliği gibi, viral genetik materyale eklenir. Gen aktarımı

işlemi gerçekleştiğinde viral genetik materyal hücrenin DNA'sına entegre olur ve devam eden hücre bölünmeleri süresince hücre DNA'sı ile bölünür. Virüs genetik materyalinde seçim sağlayan bölgelerin özellikleri kullanılarak genetik olarak istenilen özellikteki hücrelerin seçilimi yapılır. Vektör sistemlerinin yanı sıra proteinlerin hücrelerin içine hedeflenmesi yöntemi yani protein transdüksiyonu ile hücrelerin yeniden programlanması için çalışmalar devam etmektedir³⁵.

İPKH'lerin Karakterizasyonu

Gen aktarımı ile elde edilen İPKH'lerin, pluripotent hücre özelliklerine sahip olduğunu analiz etmek için çeşitli testler uygulanmaktadır. Bu analizlerde hedeflenen İPKH'lerin pluripotent özellikteki hücreler olan EKH'lere benzerliğinin gösterilmesidir. Analizlerde İPKH'lerin hücre kültür sistemlerinde EKH'lere benzer gelişim göstermesi, EKH'lerde olan aktif gen profiline sahip olması, hücre kültüründe embrioid cisimcikleri oluşturabilmesi, hücre kültüründe üç germ tabakasına ait hücreleri oluşturabilmesi, in vivo deneylerde teratom oluşturabilmesi ve son olarak da gelişmekte olan embriyoya aktarıldıklarında kimerik canlılar oluşturabilmeleri araştırılmıştır. Araştırmalarda İPKH'ler, hücre kültüründe EKH'ler ile paralel olarak takip edilmiş ve hücrelerin büyüme eğrilerinin benzerlikleri görülmüştür. İPKH'lere eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) analizi yapılarak EKH'lere özgü genleri ifade ettikleri gösterilmiştir. İPKH'lerin immün sistemi baskılanmış hayvanlara implantasyonu sonucu oluşan teratomlar histolojik olarak incelenmiş ve üç germ tabakasına ait hücreler histolojik boyamalarla gösterilmiştir. Histolojik yöntemle ek olarak İPKH'ler, immunofloresan yöntemlerle de analiz edilmiştir. Ayrıca İPKH'lerin epigenetik olarak da EKH'lere olan benzerlikleri de araştırılmıştır. Bu amaçla telomeraz aktiviteleri, DNA metilasyon modelleri ve histon asetilasyonları analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile İPKH'lerin bütün bu testlerde EKH'lere benzer sonuçlar verdiği görülmüş ve böylece bu hücrelerin pluripotent özellikte olduğu gösterilmiştir^{1,7,36}.

İPKH'lerin Farklılaştırılması ve Kullanım Alanları

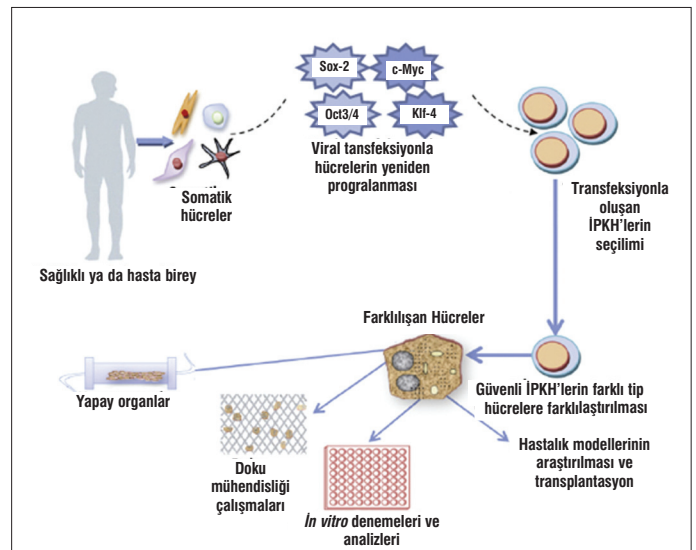
İPKH'lerin elde edilmesindeki amaç; olog pluripotent kök hücrelerin hastalıkların tedavisinde kullanılmasına olanak sağlamak, hasta kişilerin İPKH'leri ile hastalığın genetik alt yapısını ve gelişimini incelemektir. Bu amaçlarla İPKH'ler çeşitli hastalık modellerinin tedavisine yönelik araştırmalarda, in vitro ve in vivo deneylerde, kullanılmıştır (Şekil 1)³⁴. Son zamanlarda İPKH'lerin kullanıldığı çalışmalar Parkinson hastalığından karaciğer yetmezliğine, orak hücreli anemiden kalp kası hasarlarına kadar geniş bir alanda devam etmektedir^{11,15,37,39,45,47-49}.

İleri düzeydeki karaciğer hastalıklarının tedavisinde son çare karaciğer transplantasyonudur. Ancak verici azlığı ve doku reddi söz konusu olduğundan alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. İPKH'lerin hepatositlere farklılaşması amacıyla ilk olarak Sullivan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, dişi ve erkek bireylerden elde edilen İPKH'lerin hepatosit benzeri

hücrelere farklılaşması %70 ve %90 oranında gerçekleşmiştir. Ayrıca elde edilen bu hücrelerin hepatosit morfolojisinde olduğu, alfa-fetoprotein, albumin hepatik proteinleri ürettikleri, gilkojen depolama ve üre oluşturma özelliklerinin de olduğu gösterilmiştir^{15,37,38}. Farklılaşan hücreler sadece morfolojik olarak değil fonksiyonel olarak da hepatosit hücresi özellikleri taşıdığından elde edilen hücreler; yapay organ oluşumu, doku mühendisliği çalışmaları, hepatik hastalık modelleri ve in vitro deneyler için oldukça iyi bir kaynak oluşturmaktadır³⁸.

Parkinson ve ALS (amyotrophic lateral sclerosis) gibi geri dönüşümsüz hücresel hasarların olduğu sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde hastalığın ilerlemesini önlemenin yanında kaybedilen hücrelerin telafisi amacıyla hücresel tedavi çalışmaları yapılmaktadır. Parkinson hastalığında hücresel tedavi ile amaç in vitro ortamda elde edilen dopaminerjik nöronların hasarlı alana transplantasyonu ile hasarlı alandaki dopaminerjik nöron sayısının artırılmasıdır. Bu amaçlarla İPKH'lerden dopaminerjik hücreler, motor nöronlar, oligodendrositler gibi nöronal hücrelerinin farklılaşması gerçekleştirilmiştir³⁹⁻⁴³. Parkinson hastalığı ile ilgili yapılan bir çalışmada Parkinson hastalıklı hayvan modelinden elde edilen fibroblastlardan İPKH'ler oluşturulmuş ve bu hücreler dopaminerjik nöronlara farklılaştırılmıştır. Nöronlara farklılaşan İPKH'ler yetişkin fare beynine transplante edilmiş ve bu hücrelerin hasarlı alana entegre oldukları ve fonksiyonel olarak yetişkin nöronların özelliklerine sahip oldukları görülmüştür⁴⁰. 82 yaşındaki bir ALS hastasının hücrelerinden elde edilen İPKH'lerle yapılan bir çalışmada ise İPKH'lerin motor nöronlara farklılaşması gerçekleşmiş ve bu motor nöronların ALS hastalarının genetik yapılarının ve hücresel patolojilerinin araştırılmasında büyük olanaklar sağlayacağı gösterilmiştir³⁹.

Kalp krizi ve musküler distrofi gibi kas hücresi kaybının olduğu hastalıklarda kullanılmak üzere İPKH'lerden kas hücresi farklılaşmasına yönelik olarak da çeşitli çalışmalar yapılmıştır⁴⁴⁻⁴⁶. Kalp krizi sonucu oluşan kaybedilen kalp kası hücrelerinin yeniden



Şekil 1. İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerin oluşturulması ve kullanım alanları. Asgari S, Pourmasr B, Salekdeh GH, Ghodsizadeh A, Ott M, Baharvand H. Induced pluripotent stem cells: a new era for hepatology. J Hepatol 2010;53:738-51'den değiştirilerek şematize edilmiştir

elde edilmesine yönelik yapılan çalışmalarda İPKH'lerden kalp kası hücrelerinin farklılaşması gerçekleştirilmiştir^{45,46}. İPKH'lerden farklılaşan kalp kası hücrelerin %55'i spontan olarak kasılıp gevsemekte ve bu hücrelerin gen ifadeleri incelendiğinde embriyonik dönemden itibaren ifade edilen kardiyak özgül faktörleri ifade edebilmektedir⁴⁵. Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda ise İPKH'lerden farklılaşan kalp kası hücrelerinin aksiyon potansiyeli karakterizasyonlarına göre atriyal ve ventriküler hücrelerle benzer özelliklerde oldukları ve elektrofizyolojik ölçümlerinin de bu bulguları desteklediği görülmüştür⁴⁶. Musküler distrofide oluşan kas kaybını telafi etmek amacıyla İPKH'ler iskelet kası hücreleri farklılaştırılmıştır. Elde edilen bu hücreler musküler distrofi fare modeline intramusküler olarak transplante edilmiştir. 24 haftalık takipte yetişkin miyojenik hücreler hasarlı alanda tespit edilmiş, uzun dönemde kas sisteminin desteklediği yeni kas yıkımının olmadığı görülmüştür⁴⁴.

Genetik hasar nedeniyle oluşan kan hastalıklarının tedavisine yönelik çalışmalarda da İPKH'lerin kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda hastanın kendi hücrelerinin genetik hasarının düzeltilerek hastaya verilmesi ile doku reddi mekanizmasının engellenmesi ve hasta kişiden elde edilen hücrelerle hastalığın gelişimi, ilaç etkileşimlerinin incelenmesine yönelik deneyler yapılmaktadır^{9,47,49}. İPKH'lerden T lenfositlerin farklılaştırılması Lei ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Farklılaşan T lenfositlerin interlökin-2 ve Interferon gamma salgıladığı ve bu hücrelerin genetik olarak immün sistemi hasarlı fareye intravenöz olarak verilmesi sonucu farelerdeki T lenfosit havuzunun yenilendiği gösterilmiştir⁴⁷. Orak hücreli anemi ve Falkoni anemisi üzerinde yapılan çalışmalarda ise anemik kişilere ait İPKH'lerden hematopoietik öncül hücreler elde edilmiştir^{10,48}. Orak hücre anemili hastadan elde edilen İPKH'lerde hasarlı gen düzeltilerek hematopoietik hücreler farklılaştırılmıştır. Farklılaşan hematopoietik hücreler hasarlı orak hücre anemili fare modeline transplante edilmiştir. Transplantasyon sonrasında farede hematolojik bulgularda kontrollere göre iyileşme olduğu gösterilmiştir⁹. Falkoni anemisi ile ilgili Raya ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda ise Falkon anemili hastadan elde edilen İPKH'lerden miyeloid ve eritroit kökenli fenotipik olarak normal öncül hücrelerin farklılaşması gerçekleştirilmiştir⁴⁸.

Sonuç olarak, İPKH'ler hücre tedavileri için çok yeni bir kaynak olarak günümüzde popülerliğini korumaktadır. İPKH'lerin elde edilmesi şuanki çalışmalar için öncelik teşkil etmekle beraber devam eden aşamalarda virüslerden faydalanmadan ve onkogenler kullanılmadan İPKH'lerin elde edilmesine denemeler yapılmaya devam edilmektedir^{32,34,49}. Kişiyi özgü pluripotent özellikte hücre elde edilmesine olanak sağlayan bu yöntem sayesinde doku reddi olmadan hücre tedavileri gerçekleştirilebilir. Ayrıca çeşitli genetik hastalık modeline sahip hücrelerden de İPKH'lerin elde edilmesi ile genetik hastalıklarının gelişiminin ve dokulara özgü hücre mekanizmalarının takibi gerçekleştirilebilir⁵⁰. Bütün bunların yanında EKH'lerin insandan elde edilmesinde yaşanan etik sorunlar düşünüldüğünde, İPKH'ler günümüzde pluripotent hücrelerle yapılacak in vitro ve in vivo çalışmalar için tek kaynaktır. Bu nedenlerle günümüz araştırmacıları için İPKH'lerin elde edilmesi ve farklılaşması geniş bir araştırma alanı oluşturmaktadır.

Kaynaklar

1. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-76. doi 10.1016/j.cell.2006.07.024
2. Keller GM. In vitro differentiation of embryonic stem cells. *Curr Opin. Cell Biol.* 1995;7:862-9.
3. Gardner RL, Brook FA. Reflections on the biology of embryonic stem cells. *Int J Dev Biol* 1997;41:235-43.
4. Özel HB, Ozan E, Dabak DÖ. Embriyonik kök Hücreler. *Review. Türkiye Klinikleri* 2008, 28:333-41.
5. Can A. A concise review on the classification and nomenclature of stem cells. *Turk J Hematol* 2008;25: 57-9.
6. Kaygusuz I, Kantarcıoğlu B, Toptaş T, et al. Factors Affecting Stem Cell Mobilization in Patients Treated With Hematopoietic Peripheral Stem Cell Transplantation, *Marmara Med J* 2011; 24 :31-7. doi:10.5472/MMJ.2010.01763.1
7. Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 2007 ;448:260-2. doi:10.1038/nature05944.
8. Saigal S, Bhargava A. Stem Cell - Is There Any Role in Tumorigenic Activity, *Turk Patoloji Derg. Cilt/Vol. 27,2011; Sayfa/Page 93-97.* doi: 10.5146/tjpath.2011.01055.
9. Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science* 2008;321:699-702. doi:10.1126/science.1154884
10. Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, et al. Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell* 2008;133:250-64. doi 10.1016/j.cell.2008.03.028
11. Stadtfeld M, Brennand K, Hochedlinger K. Reprogramming of pancreatic beta cells into induced pluripotent stem cells. *Curr Biol* 2008;18:890-4. doi 10.1016/j.cub.2008.05.010
12. Kim JB, Sebastiano V, Wu G, et al. Oct4-induced pluripotency in adult neural stem cells. *Cell* 2009;136:411-9. doi 10.1016/j.cell.2009.01.023
13. Kunisato A, Wakatsuki M, Kodama Y, et al. Generation of induced pluripotent stem (iPS) cells by efficient reprogramming of adult bone marrow cells. *Stem Cells Dev* 2010;19:229-38. doi:10.1089/scd.2009.0149.
14. Tsai S-Y, Clavel C, Kim S, et al. Oct4 and Klf4 reprogram dermal papilla cells into induced pluripotent stem cells. *Stem Cells* 2010;28:221-8. doi: 10.1002/stem.281
15. Sancho-Bru P, Roelandt P, Narain N, et al. Directed differentiation of murine-induced pluripotent stem cells to functional hepatocyte-like cells. *J Hepatol.* 2011;54:98-107. doi:10.1016/j.jhep.2010.06.014
16. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-72. doi:10.1016/j.cell.2007.11.019
17. Yanıkaya Demirel G, Budak-Alpdoğan T, Aktaş S, Bayık M. Kısıtlı dilüsyon yöntemi ile CD34+ kordon kanı hücrelerinden uzun dönemli kültür-başlatan hücreler (UDK-BH) üretimi. *Turk J Hematol* 2010; 24: 234-41. doi: 10.5152/tjh.2010.44
18. Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134:877-86. doi:10.1016/j.cell.2008.07.041
19. Li C, Zhou J, Shi G, et al. Pluripotency can be rapidly and efficiently induced in human amniotic fluid-derived cells. *Hum Mol Genet* 2009;18:4340-9. doi:10.1093/hmg/ddp386
20. Loh YH, Agarwal S, Park IH, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human blood. *Blood* 2009;113:5476-9. doi:10.1182/blood-2009-02-204800
21. Sun N, Panetta NJ, Gupta DM, et al. Feeder-free derivation of induced pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:15720-5. doi:10.1073/pnas.0908450106
22. Miyoshi K, Tsuji D, Kudoh K, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from oral mucosa. *J Biosci Bioeng* 2010;110: 345-50. doi:10.1016/j.jbiosc.2010.03.004
23. Yan X, Qin H, Qu C, et al. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev* 2010;19:469-80. doi:10.1089/scd.2009.0314.
24. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007;318:1917-20. doi:10.1126/science.1151526

25. Schöler HR, Hatzopoulos AK, Balling R, Suzuki N, Gruss P. A family octamer-specific proteins present during Mouse embryogenesis; evidence for germline-specific expression of an Oct factor. *EMBO J* 1989;8:2543-50.
26. Amabile G, Meissner A. Induced pluripotent stem cells: current progress and potentials for regenerative medicine. *Trends Mol Med.* 2009;15:59-68. doi:10.1016/j.molmed.2008.12.003
27. Rizzino A. Sox2 and Oct-3/4: A versatile pair of master regulators that orchestrate the self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2009;1:228-36. doi:10.1002/wsbm.12
28. Zeller KI, Jegga AG, Aronow BJ, O'Donnell KA, Dang CV: An integrated database of genes responsive to the Myc oncogenic transcription factor: identification of direct genomic targets. *Genome Biol.* 2003;4:Article R69. doi:10.1186/gb-2003-4-10-r69
29. Dang CV. c-Myc Target Genes Involved in Cell Growth, Apoptosis, and Metabolism. *Molecular And Cellular Biology* 1999;19:1-11.
30. Köse O, Özdoğan S. Epidermal Kök Hücreler ve Klinik Kullanımları, *Türkiye Klinikleri J Dermatol* 2010;20:74-80
31. Zhao W, Hisamuddin IF, Nandan MO, et al. Identification of Kruppel-like factor 4 as a potential tumor suppressorgene in colorectal cancer: *Oncogene* 2004;23:395-402. doi:10.1038/sj.onc.1207067
32. Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 2003;113:643-55. doi:10.1016/S0092-8674(03)00392-1
33. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 2008;26:101-6. doi:10.1038/nbt1374
34. Asgari S, Pournasr B, Salekdeh GH, et al. Induced pluripotent stem cells: a new era for hepatology. *J Hepatol* 2010;53:738-51. doi:10.1016/j.jhep.2010.05.009
35. Zhou H, Wu S, Joo JY, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell.* 2000;4:581-4. doi:10.1016/j.stem.2009.04.005
36. Maherali N, Sridharan R, Xie W, et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell.* 2007;1:367-8. doi:10.1016/j.stem.2007.05.014
37. Sullivan GJ, Hay DC, Park IH, et al. Generation of functional human hepatic endoderm from human induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2010; 51:329-35. doi:10.1002/hep.23335
38. Gallicano IG, Mishra L. Hepatocytes from induced pluripotent stem cells: a giant leap forward for hepatology. *Hepatology* 2010;51:20-2. doi:10.1002/hep.23474.
39. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 2008;321:1169-70. doi:10.1126/science.1158799
40. Wernig M, Zha JP, Pruszak J, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105:5856-61. doi:10.1073/pnas.0801677105
41. Tokumoto Y, Ogawa S, Nagamune T, Miyake J. Comparison of efficiency of terminal differentiation of oligodendrocytes from induced pluripotent stem cells versus embryonic stem cells in vitro. *J Biosci Bioeng* 2010;109: 622-8. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.11.013
42. Sasaki N, Hirano T, Kobayashi K, et al. Chemical inhibition of sulfation accelerates neural differentiation of mouse embryonic stem cells and human induced pluripotent stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;401:480-6. doi:10.1016/j.bbrc.2010.09.085
43. Onorati M, Camnasio S, Binetti M, Jung CB, Moretti A, Cattaneo E. Neuropotent self-renewing neural stem (NS) cells derived from mouse induced pluripotent stem (iPS) cells. *Mol Cell Neurosci* 2010;43:287-95. doi:10.1016/j.mcn.2009.12.002
44. Mizuno Y, Chang H, Umeda K, et al. Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J* 2010; 24:2245-53. doi:10.1096/fj.09-137174
45. Mauritz C, Schwanke K, Reppel M, et al. Generation of functional murine cardiac myocytes from induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2008;118:472-5. doi:10.1161/circulationaha.108.778795
46. Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res.* 2009;104:e30-41. doi:10.1161/circresaha.108.192237
47. Lei F, Haque R, Weiler L, Vrana KE, Song J. T lineage differentiation from induced pluripotent stem cells; *Cell Immunol.* 2009;260:1-5. doi:10.1016/j.cellimm.2009.09.005
48. Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, et al. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009;460:53-9. doi:10.1038/nature08129
49. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 2009;136:964-77. doi:10.1016/j.cell.2009.02.013.
50. Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors: *Nature* 2008;451:141-6. doi:10.1038/nature06534.