



İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler (iPSC)

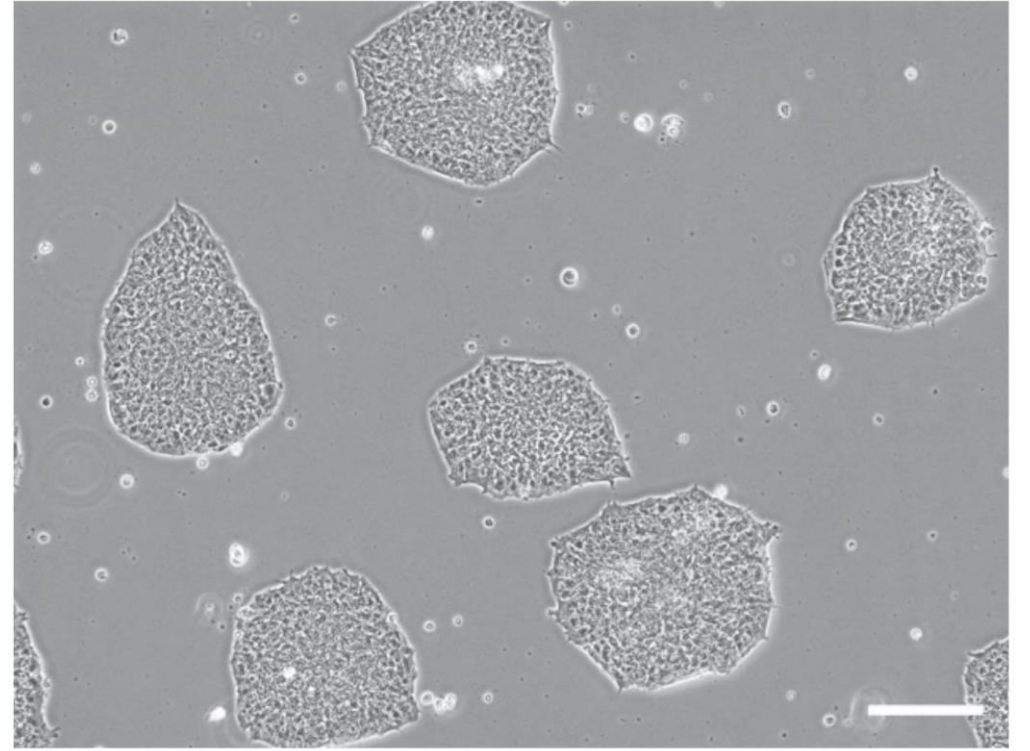
Prof. Dr. Feyzan ÖZDAL KURT

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Biyoloji Bölümü

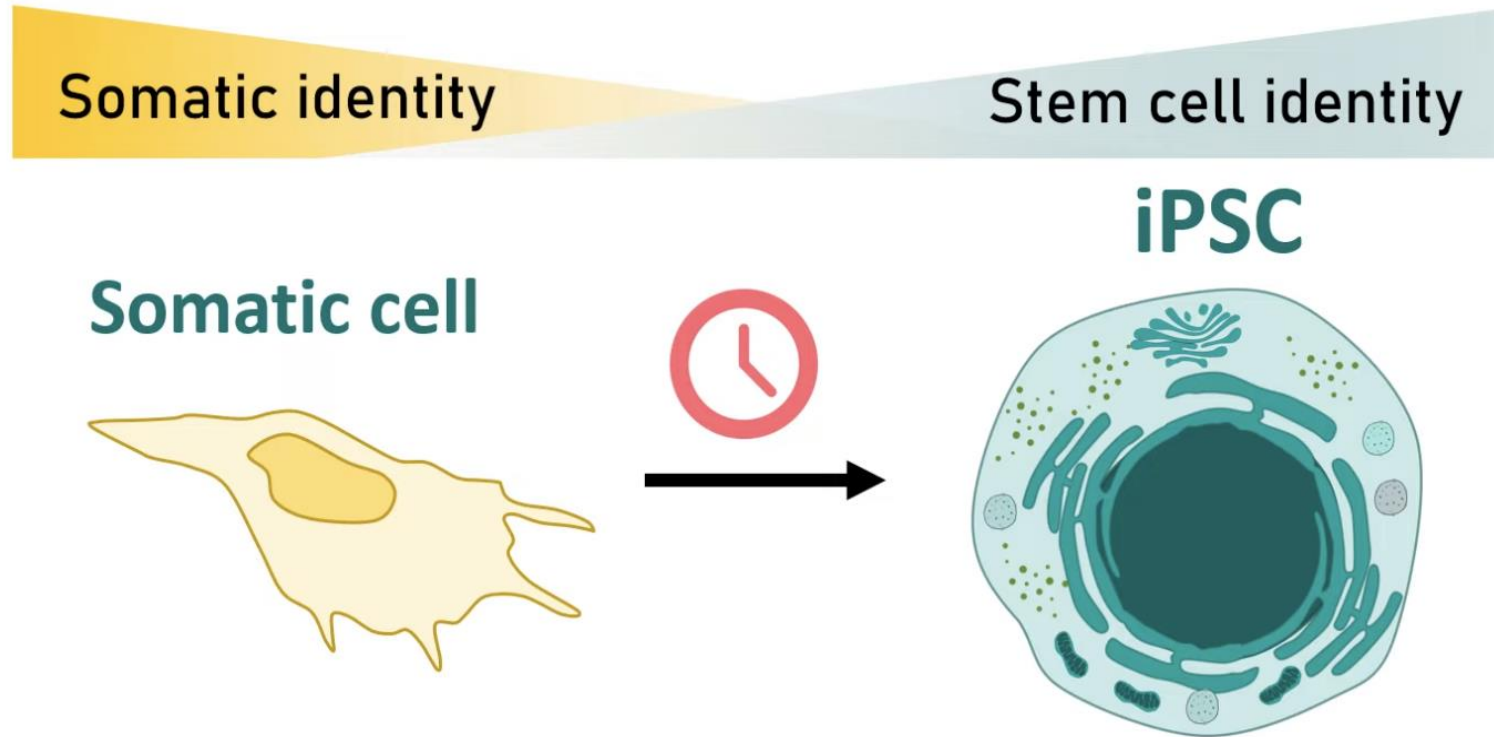


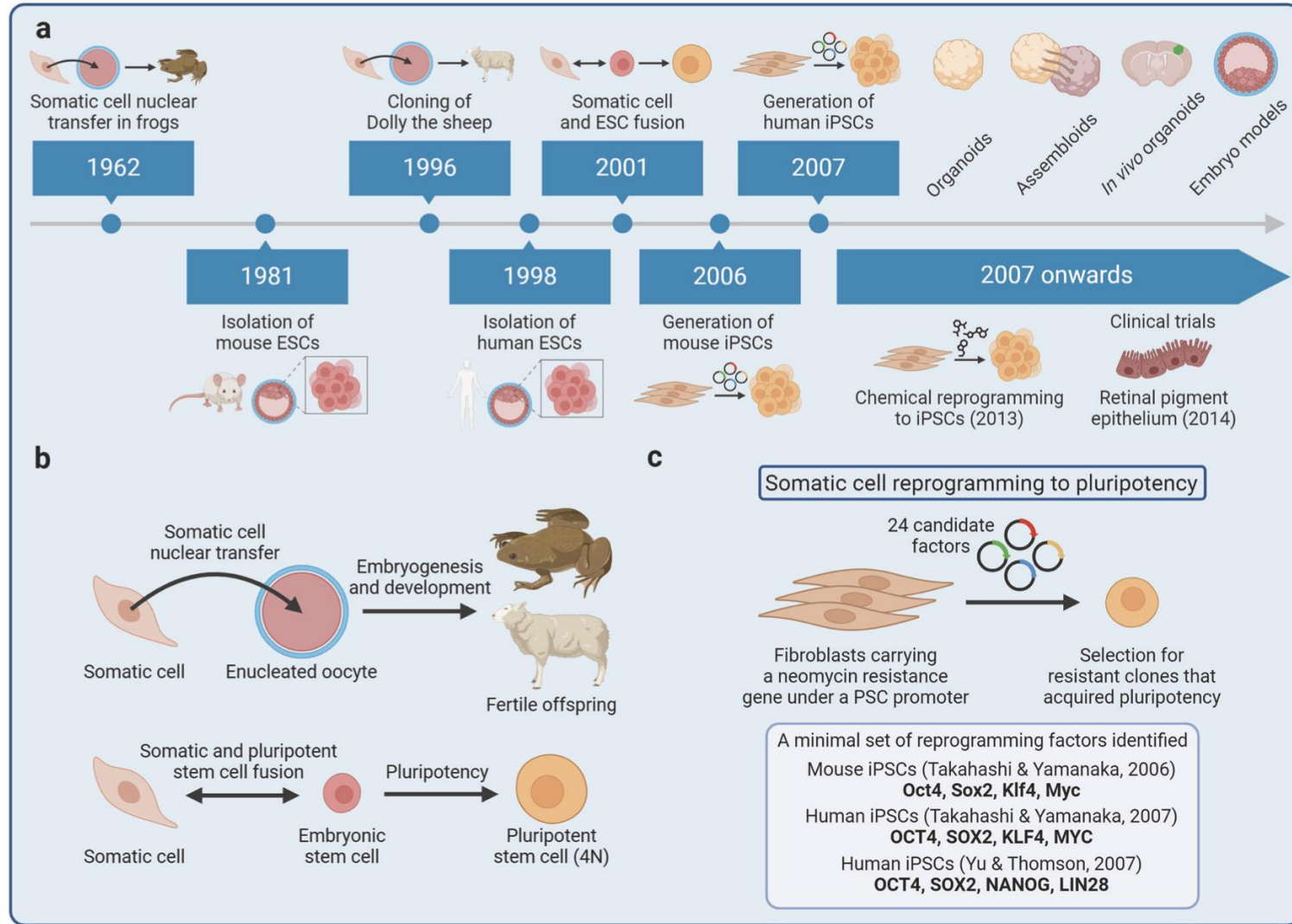
İndüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPKH)

Farklılaşmış somatik hücrelerin belirli transkripsiyon faktörleri aracılığıyla yeniden programlanarak embriyonik kök hücrelere benzer bir pluripotent duruma geri döndürülmesiyle elde edilen hücrelerdir.



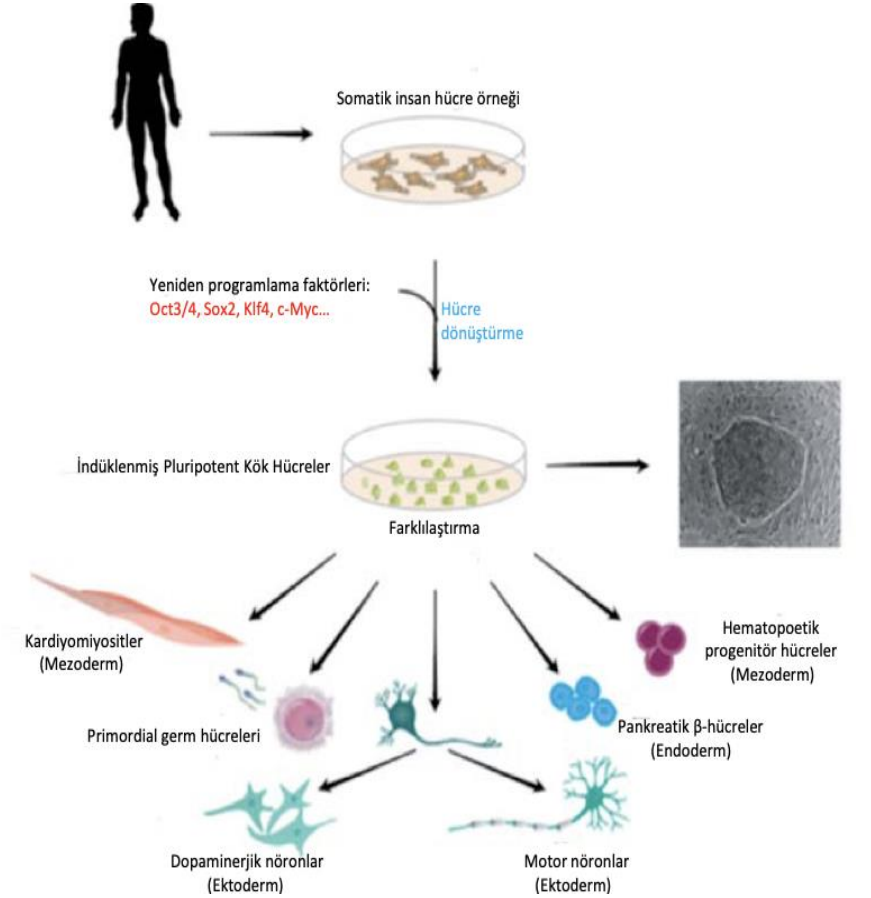
- Fare fibroblastlarından elde edilen fare iPK hücreleri ilk olarak 2006 yılında Kyoto Üniversitesi'ndeki Yamanaka laboratuvarı tarafından bildirilmiştir.
- İnsan iPK hücreleri ilk olarak 2007 sonlarında Yamanaka ve arkadaşları tarafından insan fibroblastlarından bağımsız olarak üretilmiştir.
- 2012 Nobel Tıp Ödülü Sir John B.Gurdon ile Shinya Yamanaka'ya verilmiştir.





iPSC Teknolojisinin Geliştirilmesi

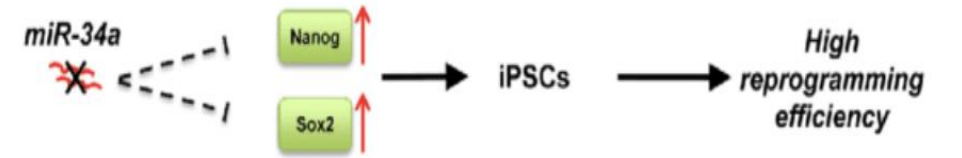
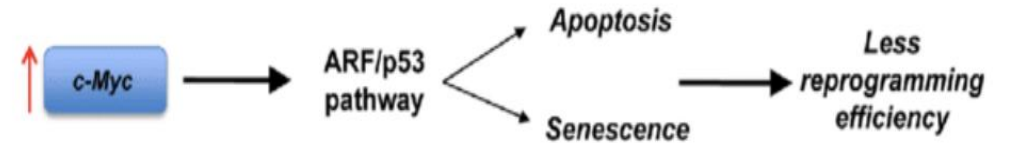
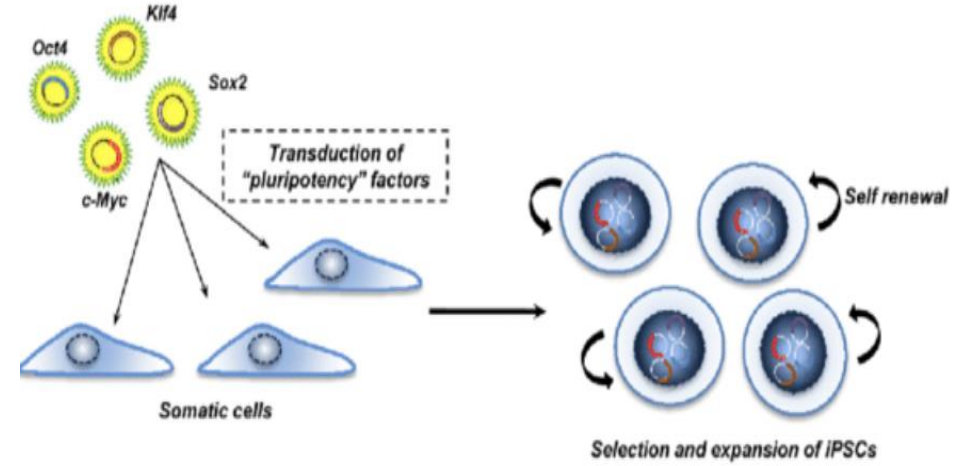
- Takahashi ve Yamanaka'nın geliştirdiği bu teknikte, embriyonik kök hücre karakterinin oluşumu üzerinde rol oynadığı düşünülen 24 gen seçilmiş ve bu aday genlerden 4 tanesinin hem fare hem de insan somatik hücrelerindeki ektopik ekspresyonu ile farklılaşmış hücrelerin pluripotent özellik kazandığı görülmüştür.
- Bu buluşun ardından, aralarında fare, insan, sıçan, tavşan, köpek, domuz ve primatların da bulunduğu birçok farklı organizmadan elde edilen terminal farklılaşmasını tamamlamış hücrelerin gen ifadesinin değiştirilmesi ile iPK hücrelere dönüşebildiği gösterilmiştir.
- Sonraki çalışmalar, kullanılan transkripsiyon faktörlerinin (Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc) sayısının azaltılması, onkojenik karakterdeki transkripsiyon faktörlerinin (Klf-4 ve c-Myc) kullanımının sınırlandırılması ile bu faktörlerin hücreye transfer edilme metodunun değiştirilerek iPK hücrelere viral genomun entegrasyon riskinin azaltılması yönünde olmuştur.



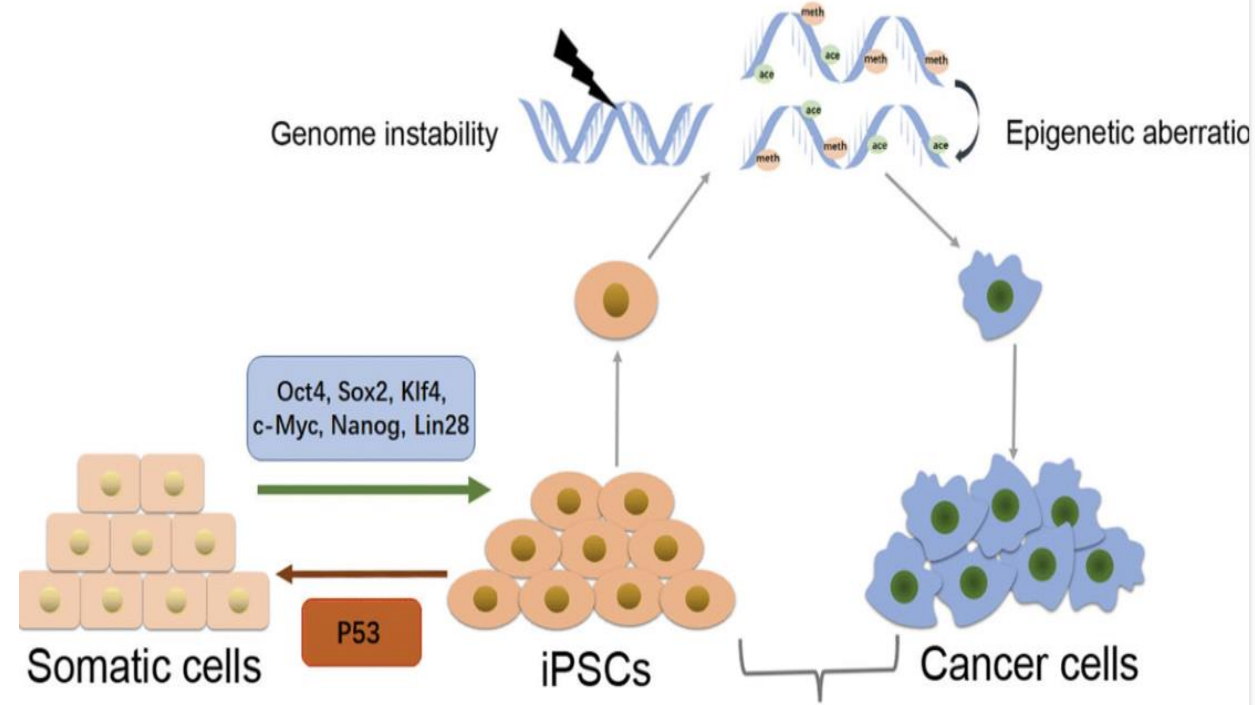
- iPK hücrelerin üretiminde şimdiye kadar lentiviral, retroviral, epizomal vektörler, entegre olmayan adeno ve sendai virüsleri, piggyBac transpozon sistemleri, plazmit, küçük kimyasal bileşenler, rekombinant proteinler kullanılmış, ve oluşturulan tüm hücrelerin kullanılan metot farklılıklarına bakılmaksızın embriyonik hücre karakteri kazandıkları gösterilmiştir.
- Yamanaka'nın belirlediği 4 transkripsiyon faktörü dışında, Nanog ve Lin28 de insan ve fare hücrelerinin yeniden programlanması sırasında kullanılmıştır.
- Bu faktörlerden Oct-4, Sox-2 ve Nanog zaten embriyo ve embriyonik kök hücrelerdeki pluripotent özelliğin sağlanması için üretilen proteinleri kodlarlar .



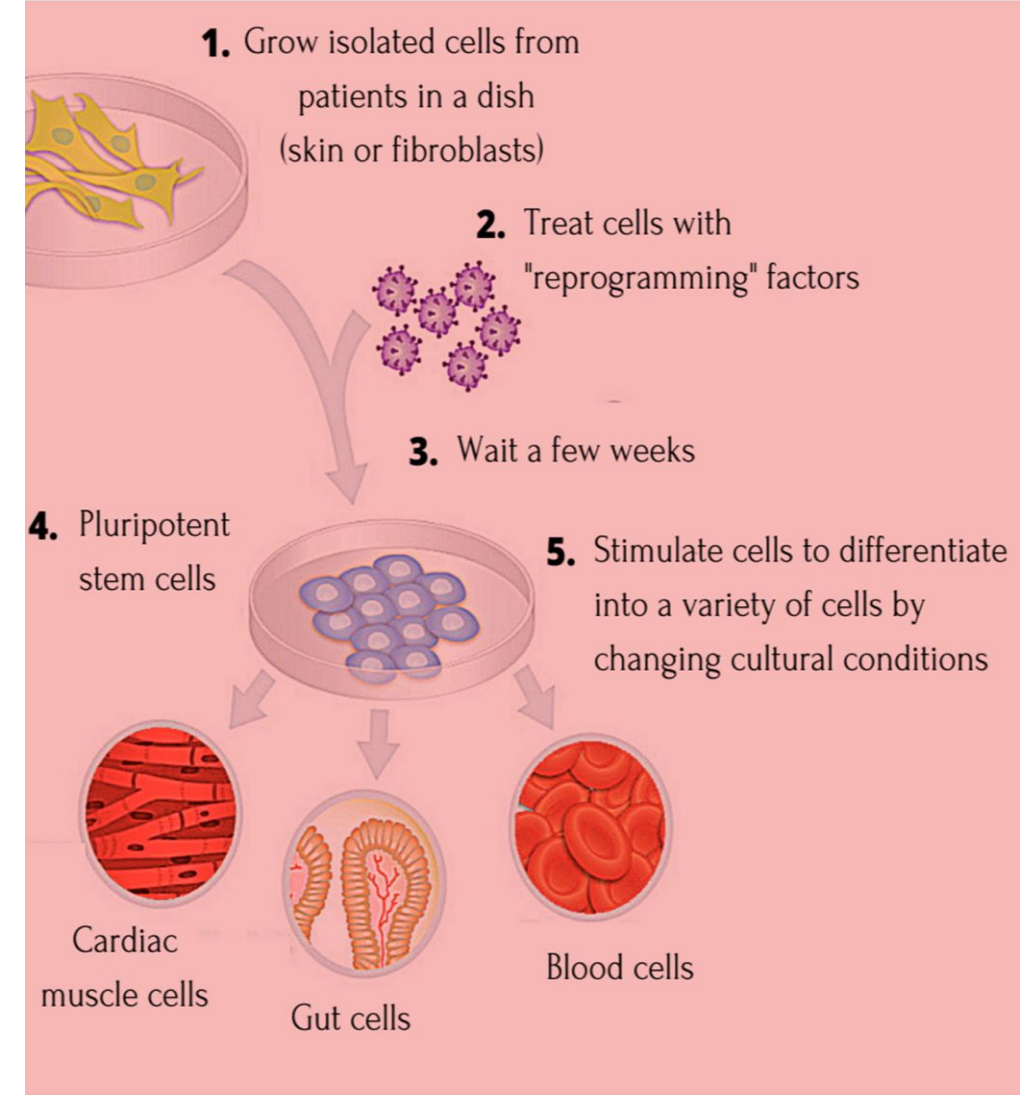
- c-Myc ve Klf-4'ün yeniden programlama sırasında hücre çoğalması ile senesens ve apoptoz arasındaki dengeyi sağladığı ve Oct-4 ile Sox-2'nin kontrol ettikleri gen gruplarını baskılamaları ya da aktive etmelerine yardımcı,
- Klf-4 ve c-Myc'nin embriyonik kök hücre fenotipinin oluşumuna katkıda bulunmalarının yanında özellikle tümör hücrelerinde yoğun bir şekilde eksprese edildikleri,
- Ancak onkojenik potansiyelleri olan bu iki transkripsiyon faktörünün yerine Lin28 ve Nanog'un kullanımı ile de iPK hücrelerin oluşturulabildiği bilinmektedir.



- 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 görülmüştür.
- Lin-28 erken embriyonik dönemde ifade edilen proteindir ve EKH'lerin işaretleyicisi olarak da kullanılmaktadır.

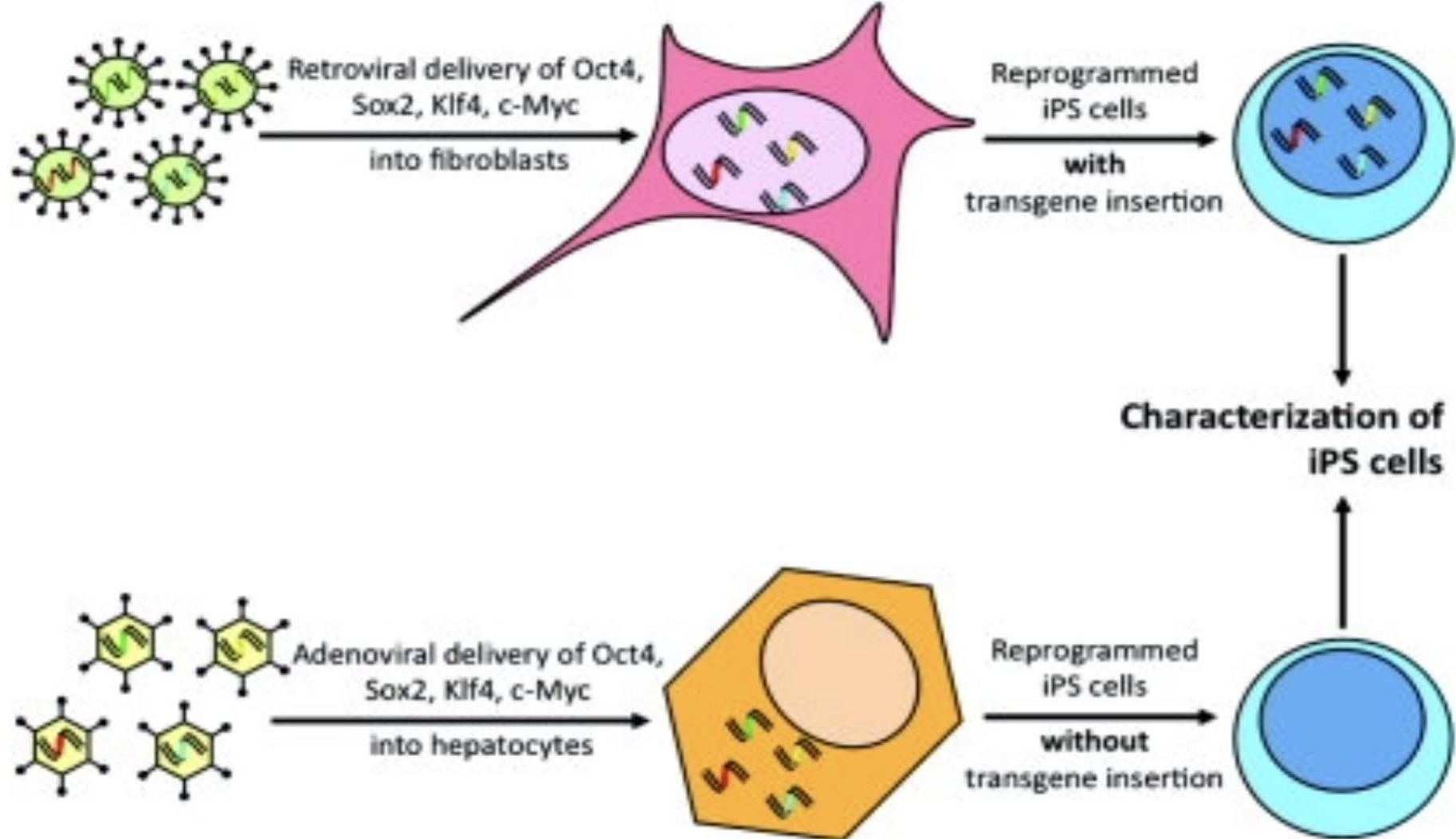


- iPK hücre üretiminin etkinliği, kullanılan transkripsiyon faktörlerine ve tekniğe göre değişmektedir.
- Örneğin; özellikle Nanog ve Oct-4'ün aktivasyonu ve kontrol ettikleri gen ekspresyonu sonrasında oluşturulan iPK hücrelerin, embriyonik kök hücrelere hem epigenetik profilleri hem de farklılaşma potansiyelleri açısından daha çok benzedikleri görülmüştür .
- Bu durum, her transkripsiyon faktörü tarafından kontrol edilen alternatif moleküler mekanizmaların çekirdeğin yeniden programlanmasını sağladığı ya da kullanılan faktörlerin birbirine benzer etkilerinin pluripotent özelliğin kazanılmasında rol aldığını düşündürmektedir.



- Fare ve insan embriyonik kök hücrelerinin pluripotent özelliğini sağlayan mekanizmalar birbirinden çok farklı olduğu bilinse de, fare ve insan somatik hücrelerinin yeniden programlanmasında kullanılan transkripsiyon faktörleri ve yöntemler pluripotent özelliğin ortak bir mekanizma ile kontrol edildiği fikrini gündeme getirmiştir.
- Bugüne kadar iPK hücre üretiminde umut vadeden gelişmeler olsa da, somatik hücrelere embriyonik karakter kazandırılması ve bu hücrelerin yönlendirilmiş, farklılaştırılması halen çok yeni ve olası hücre tedavi uygulamaları için geliştirilmesi gereken bir teknoloji gibi görünmektedir.
- Bu amaçla pluripotent özelliğin ve bu özelliği kontrol eden sinyal yollarının iyi anlaşılması gereklidir.

Günümüzde, çoğu somatik hücrenin tüm bir organizmanın gelişimi için gereken tüm genetik bilgiyi barındırdığı, fenotipik çeşitliliğin ise her hücredeki gen ifade potansiyelini tanımlayan epigenetik mekanizmalar tarafından sağlandığı iyi bilinmektedir.



iPSC Teknolojisinin Geliştirilmesi

1962

•John Gurdon

•Kurbağa hücrelerinde çekirdek transferi deneyleriyle farklılaşmış hücre çekirdeğinin embriyonik gelişimi yönlendirebildiğini gösterdi. Bu, hücreler farklılaşmanın geri döndürülebileceğinin ilk kanıtıydı.

2006

•Fare iPSC'lerinin Elde Edilmesi (Yamanaka)

•Fare fibroblastlarına dört transkripsiyon faktörünün (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc – OSKM) aktarılmasıyla indüklenmiş pluripotent kök hücreler üretilmiştir.

2007

•İnsan iPSC'lerinin Üretimi (Yamanaka & Thomson)

•İnsan fibroblastlarından iPSC üretimi başarıldı. Embriyonik kök hücrelere etik bir alternatif oluşturdu.

2012

•Nobel Ödülü □

•John Gurdon ve Shinya Yamanaka, hücrelerin yeniden programlama konusundaki öncü çalışmaları nedeniyle Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazandılar.

2014

•İlk Klinik Uygulama (Japonya)

•iPSC kaynaklı retina hücreleriyle ilk klinik tedavi gerçekleştirildi.

2020'ler

•2020'ler – Yeni Teknolojiler

•iPSC teknolojisi CRISPR gen düzenleme, organoid sistemleri ve “naive iPSC” yaklaşımlarıyla birleşerek ileri düzey modelleme ve terapötik uygulamalara zemin hazırladı.



iPSC Oluşumunun Temel Mantığı



iPSC oluşumunun temel mantığı, farklılaşmış bir somatik hücrenin embriyonik benzeri bir duruma geri döndürülmesi, yani hücresel kaderin yeniden programlanmasıdır.

Bu süreçte;



Somatik hücelere belirli transkripsiyon faktörleri (OSKM: Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) aktarılır.



Bu faktörler, hücredeki somatik gen ifadelerini baskılar ve pluripotensiye özgü genleri yeniden aktive eder.



Hücre çekirdeğindeki epigenetik işaretler ve kromatin yapısı yeniden düzenlenir.



Sonuçta hücre, pluripotent kök hücre özelliklerini yeniden kazanır; yani farklı hücre tiplerine dönüşebilme kapasitesine sahip hale gelir.

iPSC Oluşum Sürecindeki Temel Moleküler Mekanizmalar

1. OSM Faktörlerinin Aktivasyonu

- Somatik genlerin baskılanması, pluripotensi genlerinin açılması.

2. Kromatin ve Epigenetik Yeniden Düzenleme

- Histon modifikasyonları ve DNA metilasyon desenlerinin değişmesi → kromatin açılması.

3. İki Aşamalı Transkripsiyonel Dalga

- Erken (stokastik) ve geç (deterministik) evrelerle pluripotent ağı kurulması.

4. Mezenşimal–Epitelyal Geçiş (MET)

- Fibroblastlarda epitel fenotipe geçiş, pluripotensi kazanımında kritik basamak.

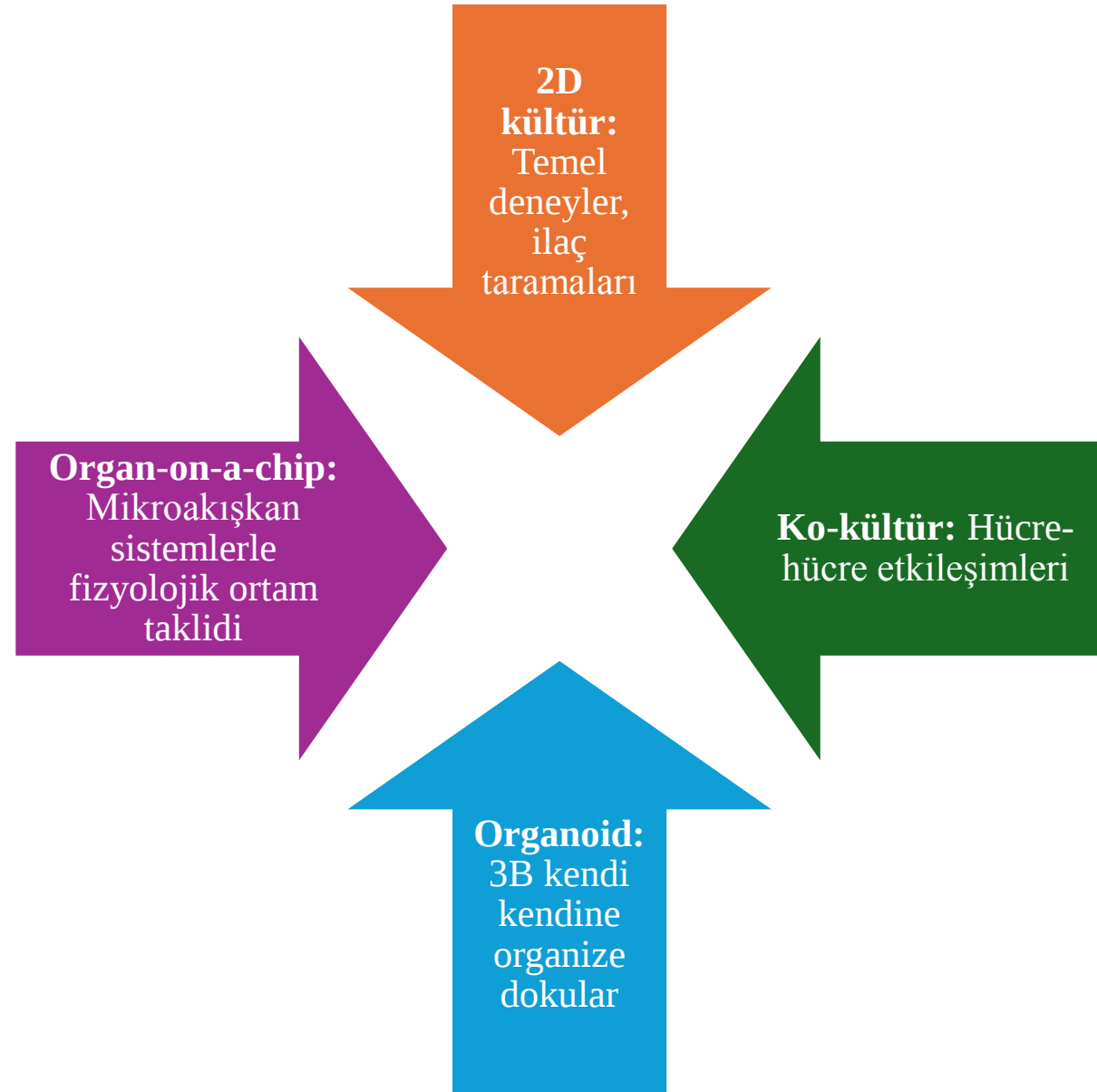
5. Hücresel Yeniden Yapılanma

- Sinyal yollarının yeniden düzenlenmesi.

iPSC Üretim Yöntemleri

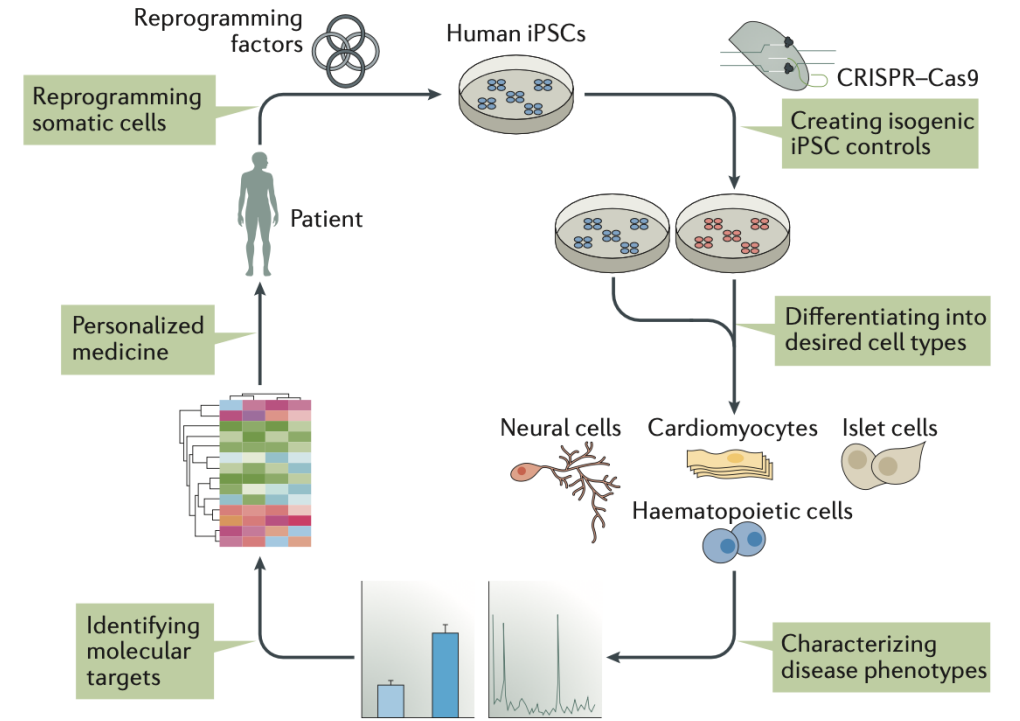
Yöntem	Avantaj	Sınırlılıklar / Riskler
Retroviral/Lentiviral	Yüksek verim, kolay uygulanabilir	Genetik entegrasyon → mutasyon / tümör riski
Sendai virüsü, Adenovirüs	Klinik uygulamalar için güvenli	Genetik entegrasyon yok, Maliyetli, süreç daha uzun olabilir
Plazmid (Episomal)	Ucuz, entegrasyon riski yok	Verim düşüktür, tekrarlama gerekebilir
mRNA / Protein	Genetik değişiklik yok, güvenli	Teknik olarak hassas, tekrarlı uygulama gerekebilir
Kimyasal Reprogramlama	Genetik materyal kullanılmaz, mutasyon riski düşüktür	Verim düşük, süreç uzun
Kombine Yöntemler	Verimi artırma, riski azaltma potansiyeli	Karmaşık süreçler

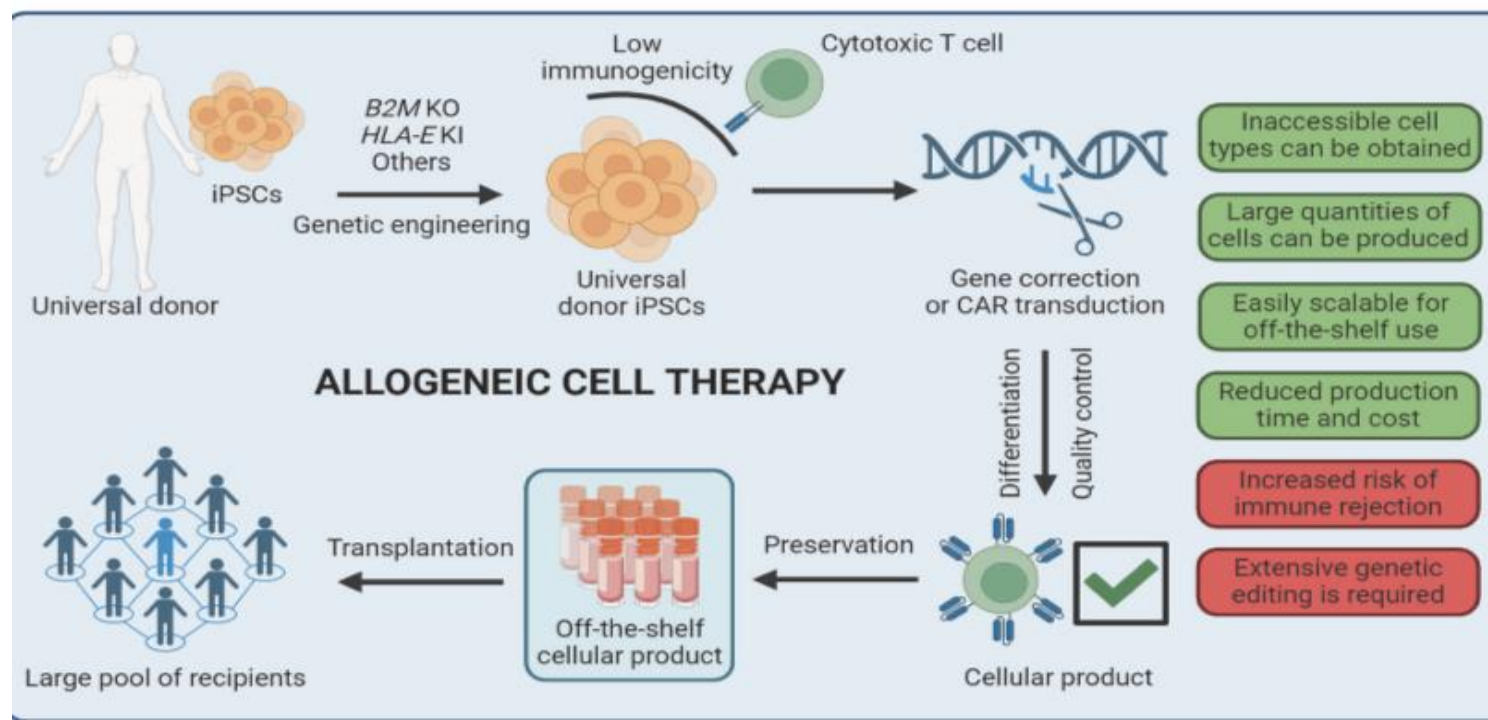
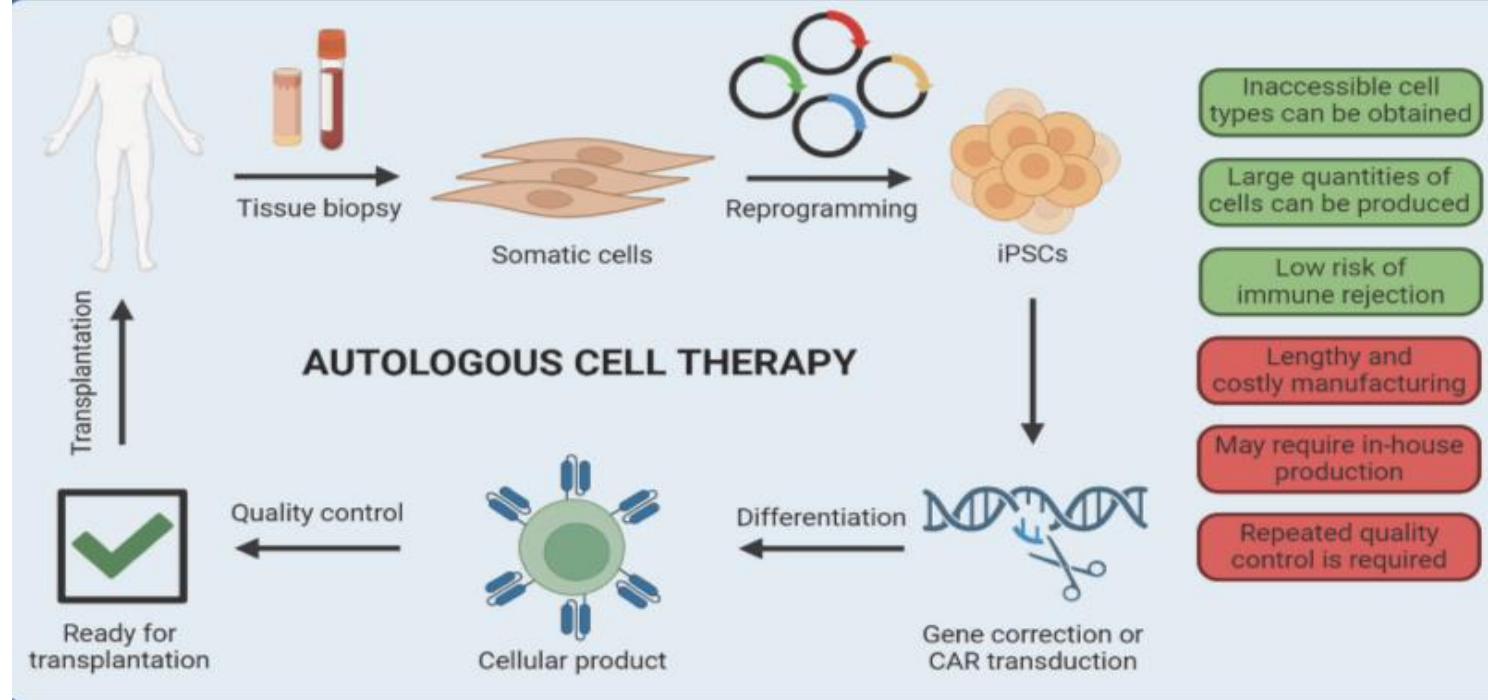
iPSC Türevli Modeller



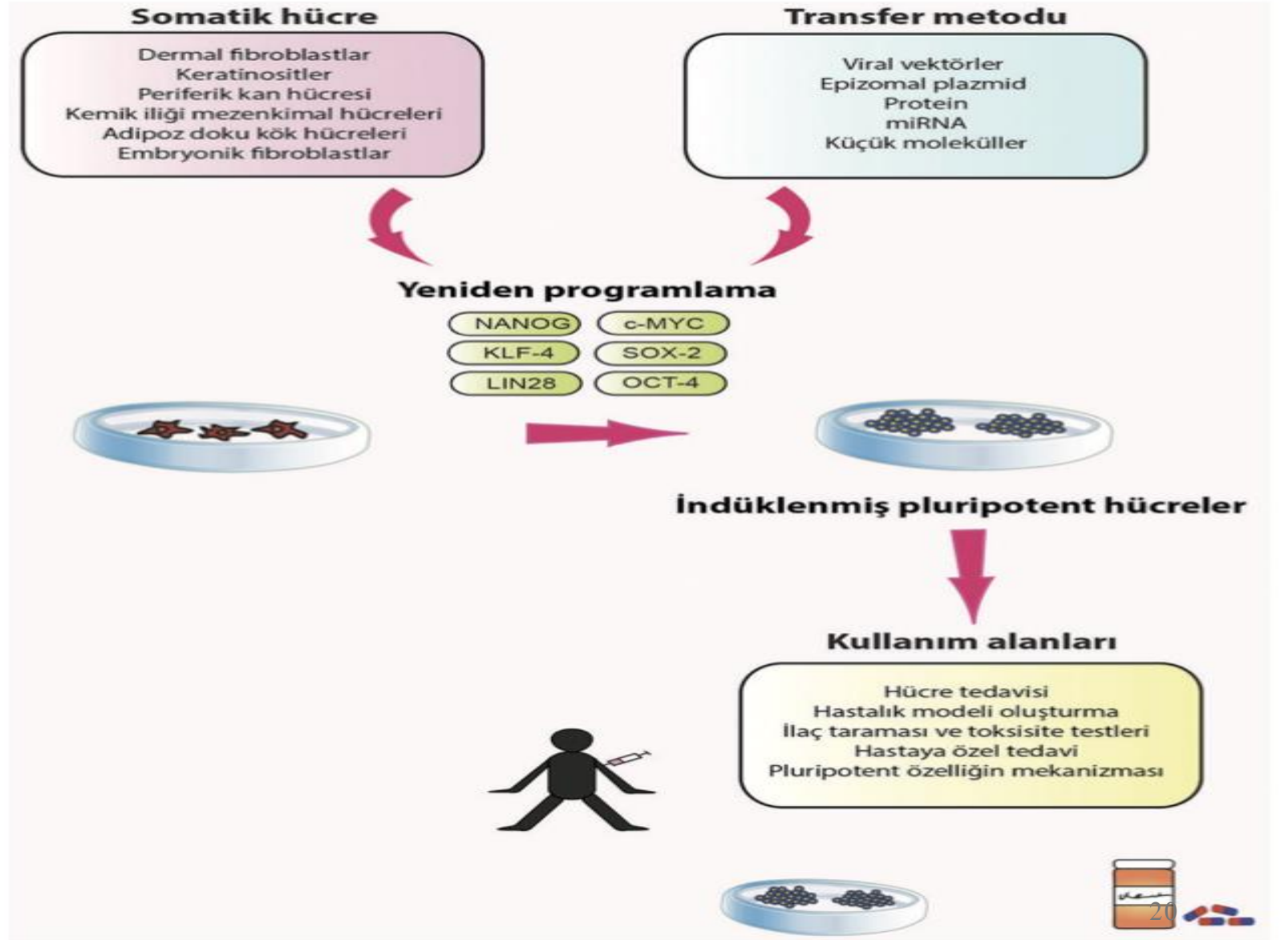
İnsan iPSC Tabanlı Hastalık Modellemesi

- İlk olarak, iPSC'ler bireysel hastalardan türetilir ve CRISPR-Cas9 gibi gen düzenleme teknolojileri kullanılarak izogenik kontroller oluşturulur.
- iPSC'ler daha sonra sinir hücreleri gibi belirli hücre tiplerine farklılaştırılır ve elde edilen hücreler, hastalığa özgü fenotipleri belirlemek için incelenir.
- Bu fenotiplerin moleküler düzeyde araştırılması, yeni patolojik mekanizmaların tanımlanmasına olanak tanıyarak ilaç keşfi ve kişiselleştirilmiş tıp için fırsatlar sunar.





Klinik Uygulamalar ve Araştırma Alanları



- Hücre ve Doku Replasman Tedavileri
- Hastalık Modelleri (geri dönüşümsüz hücre hasarlarının olduğu bütün hastalık modellerinde)
- İlaç Keşfi ve Toksisite Testleri
- Organoid Teknolojileri
- Kişiyeye özel tedaviler

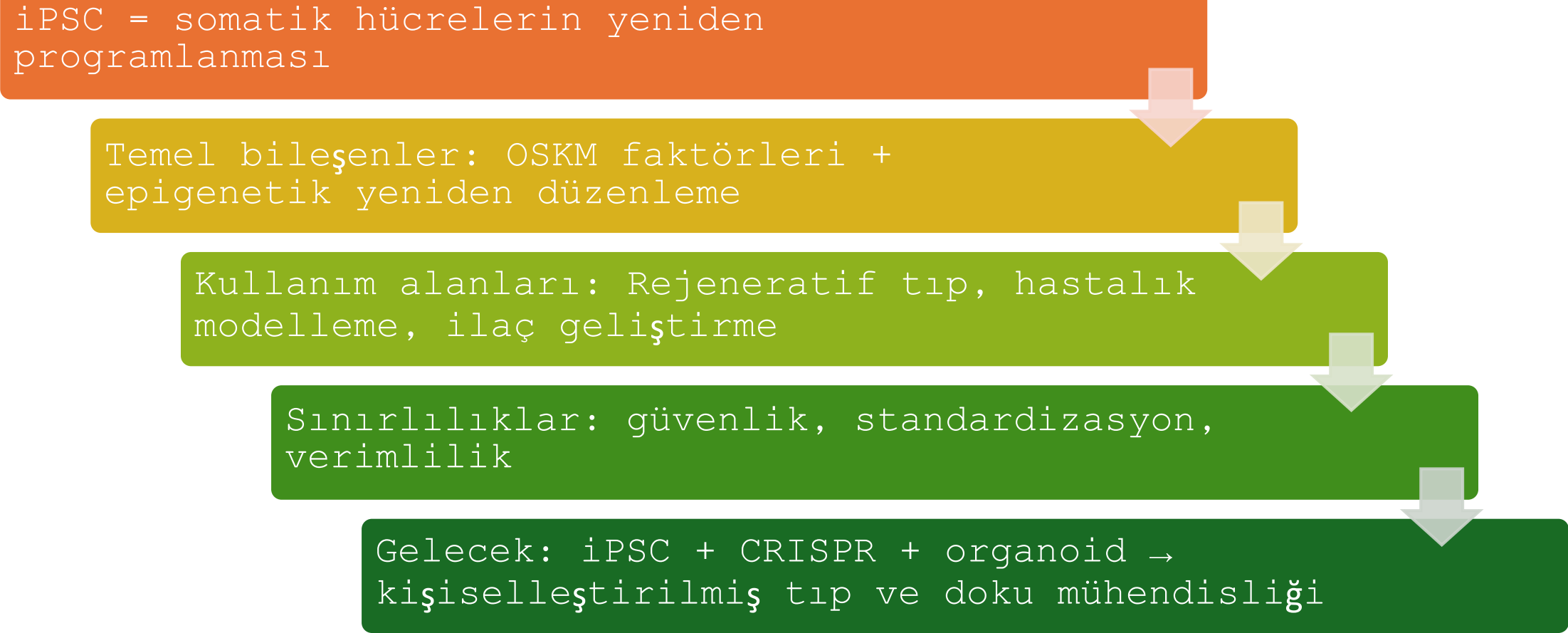


Sınırlılıklar

- Genetik ve epigenetik stabilite sorunları
- Tümörleşme potansiyeli (özellikle c-Myc kullanımı sonrası)
- Düşük verimlilik ve standart eksikliği
- Hedef hücre tipine tam farklılaşmada zorluklar
- Klinik uygulamalarda regülasyon ve maliyet engelleri

Özet

iPSC = somatik hücrelerin yeniden programlanması

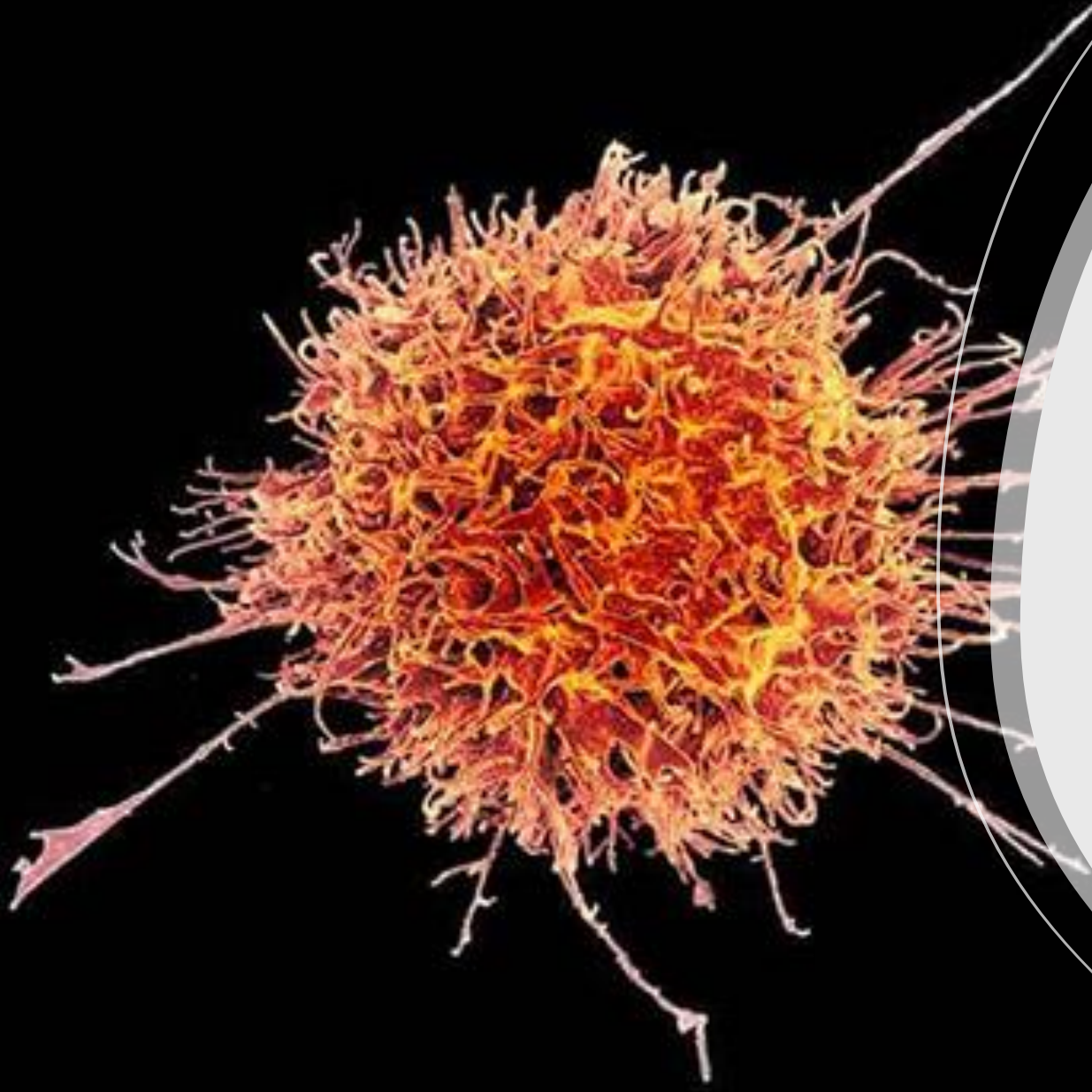


Temel bileşenler: OSKM faktörleri + epigenetik yeniden düzenleme

Kullanım alanları: Rejeneratif tıp, hastalık modelleme, ilaç geliştirme

Sınırlılıklar: güvenlik, standardizasyon, verimlilik

Gelecek: iPSC + CRISPR + organoid → kişiselleştirilmiş tıp ve doku mühendisliği



**DİNLEDİĞİNİZ
İÇİN
TEŞEKKÜRLER**

KAYNAKÇA

- Cerneckis, J., Cai, H., & Shi, Y. (2024). Induced pluripotent stem cells (iPSCs): Molecular mechanisms of induction and applications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(112). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01809-0>
- Ohnuki, M., & Takahashi, K. (2015). Present and future challenges of induced pluripotent stem cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1661), 20140367. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0367>
- Seki, T., & Fukuda, K. (2015). Methods of induced pluripotent stem cells. *Cells*, 10(2319). <https://doi.org/10.3390/cells10092319>
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), 861–872. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>
- Kim KS. Induced pluripotent stem (iPS) cells and their future in psychiatry. *Neuropsychopharmacology*. 2010 Jan;35(1):346-8. doi: 10.1038/npp.2009.108.