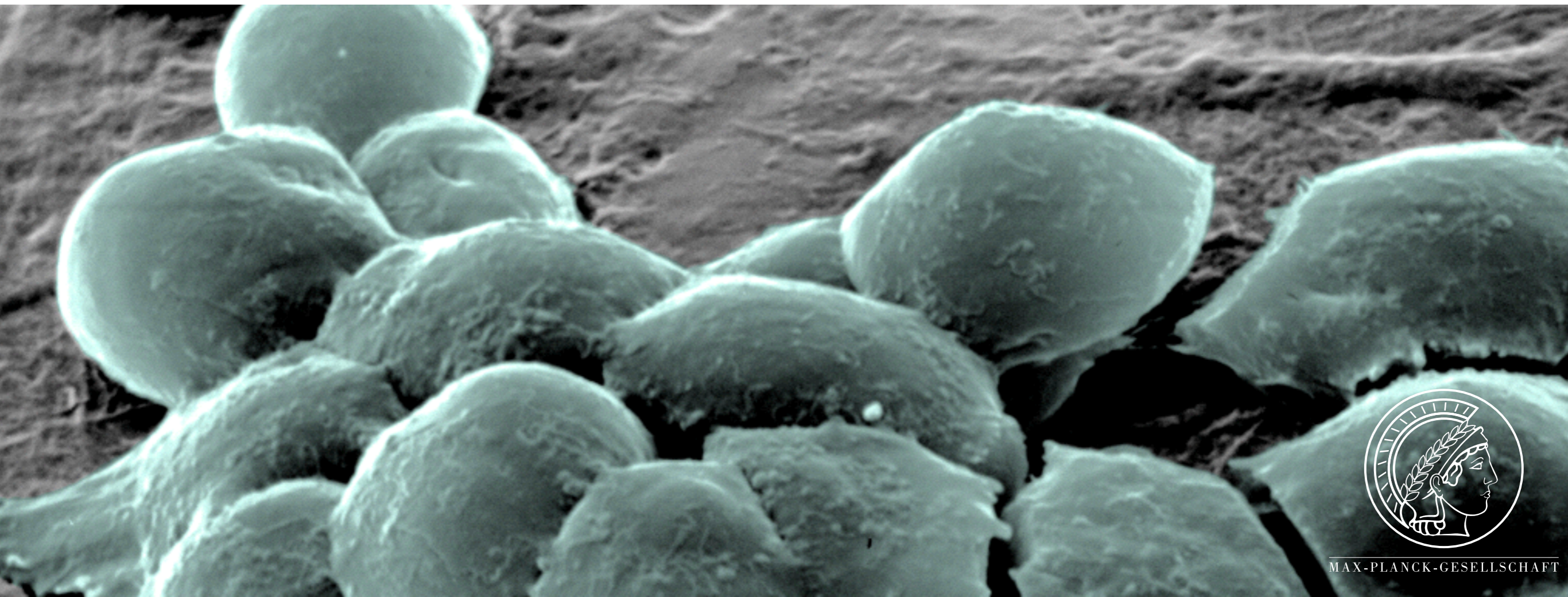


Forschung an iPS-Zellen und an hES-Zellen, die durch Zellkerntransfer hergestellt wurden - biologische Aspekte -

Hans R. Schöler

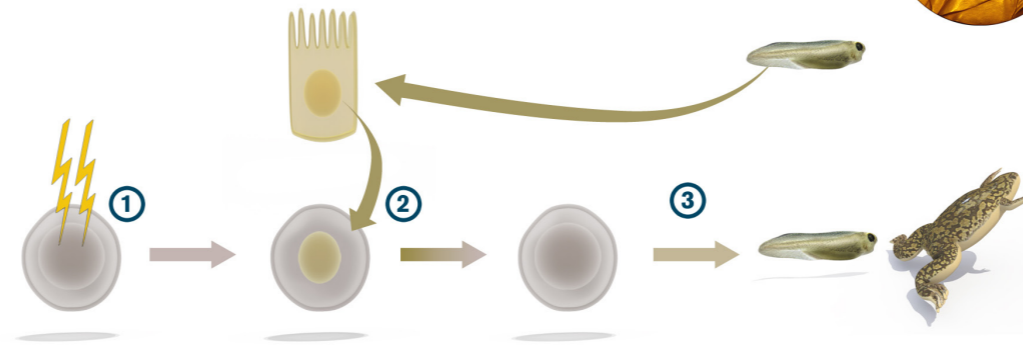
Max Planck Institute for Molecular Biomedicine
Department of Cell and Developmental Biology
Münster, Germany



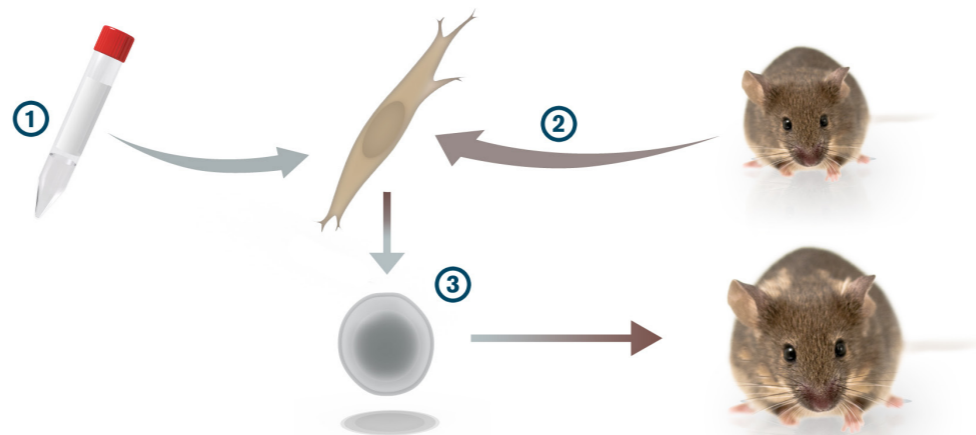
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012



John B. Gurdon

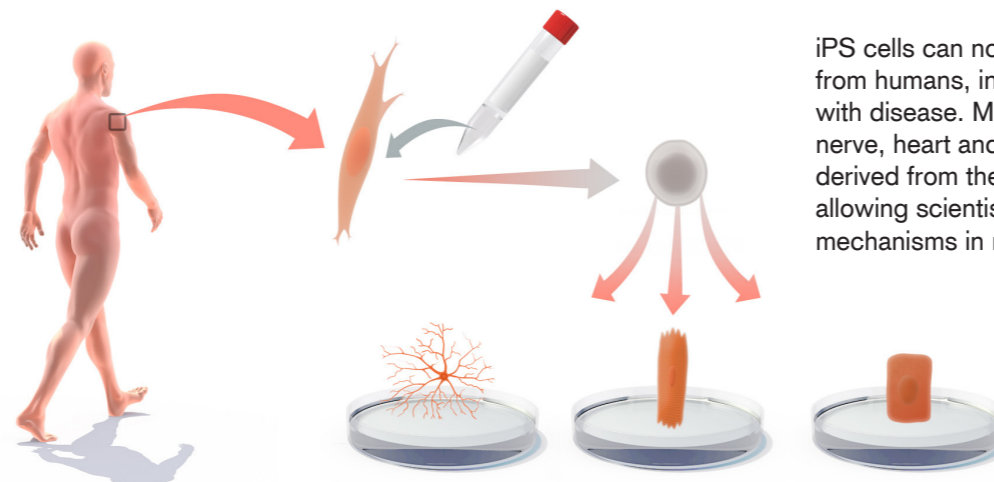


John B. Gurdon eliminated the nucleus of a frog egg cell (1) and replaced it with the nucleus from a specialised cell taken from a tadpole (2). The modified egg developed into a normal tadpole (3). Subsequent nuclear transfer experiments have generated cloned mammals (4).



Shinya Yamanaka

Shinya Yamanaka studied genes that are important for stem cell function. When he transferred four such genes (1) into cells taken from the skin (2), they were reprogrammed into pluripotent stem cells (3) that could develop into all cell types of an adult mouse. He named these cells induced pluripotent stem (iPS) cells.

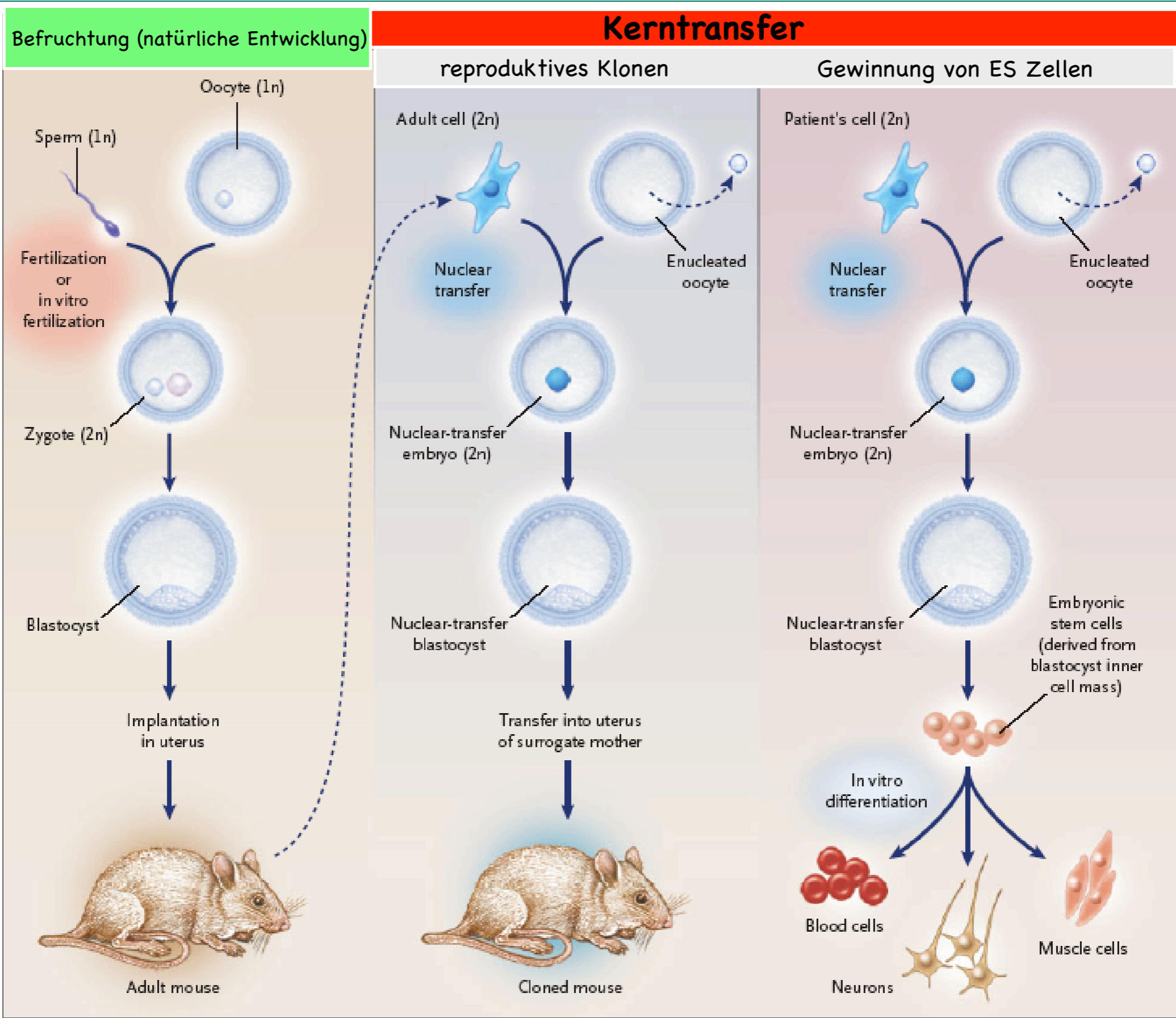


iPS cells can now be generated from humans, including patients with disease. Mature cells including nerve, heart and liver cells can be derived from these iPS cells, thereby allowing scientists to study disease mechanisms in new ways.

Chromosomen der Eizelle werden entnommen und durch einen Zellkern aus dem Körper ersetzt



Kerntransfer und Totipotenz



Das therapeutische Klonen beim Menschen rückt näher

Cell

6. Juni 2013

Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer

Masahito Tachibana,¹ Paula Amato,² Michelle Sparman,¹ Nuria Marti Gutierrez,¹ Rebecca Tippner-Hedges,¹ Hong Ma,¹ Eunju Kang,¹ Alimujiang Fulati,¹ Hyo-Sang Lee,^{1,6} Hathaitip Sritanaudomchai,³ Keith Masterson,² Janine Larson,² Deborah Eaton,² Karen Sadler-Fredd,² David Battaglia,² David Lee,² Diana Wu,² Jeffrey Jensen,^{1,4} Phillip Patton,² Sumita Gokhale,⁵ Richard L. Stouffer,^{1,2} Don Wolf,¹ and Shoukhrat Mitalipov^{1,2,*}

¹Division of Reproductive & Developmental Sciences, Oregon National Primate Research Center, Oregon Health & Science University, 505 NW 185th Avenue, Beaverton, OR 97006, USA

²Division of Reproductive Endocrinology, Department of Obstetrics and Gynecology, Oregon Health & Science University, 3181 SW Sam Jackson Park Road, Portland, OR 97239, USA

³Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

⁴Women's Health Research Unit, Oregon Health & Science University, 3303 SW Bond Avenue, Portland, OR 97239, USA

⁵Boston University School of Medicine, 72 East Concord Street, Boston, MA 02118, USA

⁶Present address: Laboratory Animal Center, Osong Medical Innovation Foundation, Chungbuk 363-951, Republic of Korea

*Correspondence: mitalipov@ohsu.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.006>

Cell Stem Cell
Brief Report

Cell Stem Cell

15. April 2014

Human Somatic Cell Nuclear Transfer Using Adult Cells

Young Gie Chung,^{1,2,9,*} Jin Hee Eum,^{2,9} Jeoung Eun Lee,² Sung Han Shim,³ Vicken Sepilian,⁴ Seung Wook Hong,⁴ Yumie Lee,¹ Nathan R. Treff,⁵ Young Ho Choi,⁶ Erin A. Kimbrel,⁷ Ralph E. Dittman,⁸ Robert Lanza,⁷ and Dong Ryul Lee^{1,2,3,*}

¹Research Institute for Stem Cell Research, CHA Health Systems, Los Angeles, CA 90036, USA

²CHA Stem Cell Institute, CHA University, Seoul 135-081, Korea

³Department of Biomedical Science, CHA University 135-081, Seoul 135-081, Korea

⁴CHA Fertility Center, Los Angeles, CA 90036, USA

⁵Reproductive Medicine Associates of New Jersey, Basking Ridge, NJ 07920, USA

⁶Department of Veterinary Physiology & Pharmacology, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843, USA

⁷Advanced Cell Technology, Marlborough, MA 01752, USA

⁸Stem Cell Source LLC, Houston, TX 77056, USA

⁹Co-first author

ahealthsystems.com (Y.G.C.), driedr@cha.ac.kr (D.R.L.)
m.2014.03.015

doi:10.1038/nature13287

28. April 2014

nature

Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells

Mitsutoshi Yamada^{1*}, Bjarki Johannesson^{1*}, Ido Sagl², Lisa Cole Burnett³, Daniel H. Kort^{4,5}, Robert W. Prosser^{4,5}, Daniel Paull¹, Michael W. Nestor¹, Matthew Freeby³, Ellen Greenberg³, Robin S. Goland³, Rudolph L. Leibel³, Susan L. Solomon¹, Nissim Benvenisty², Mark V. Sauer^{4,5} & Dieter Egli³

Pluripotent Stem Cells from Cloned Human Embryos: Success at Long Last

Alan Trounson^{1,2,*} and Natalie D. DeWitt^{1,*}

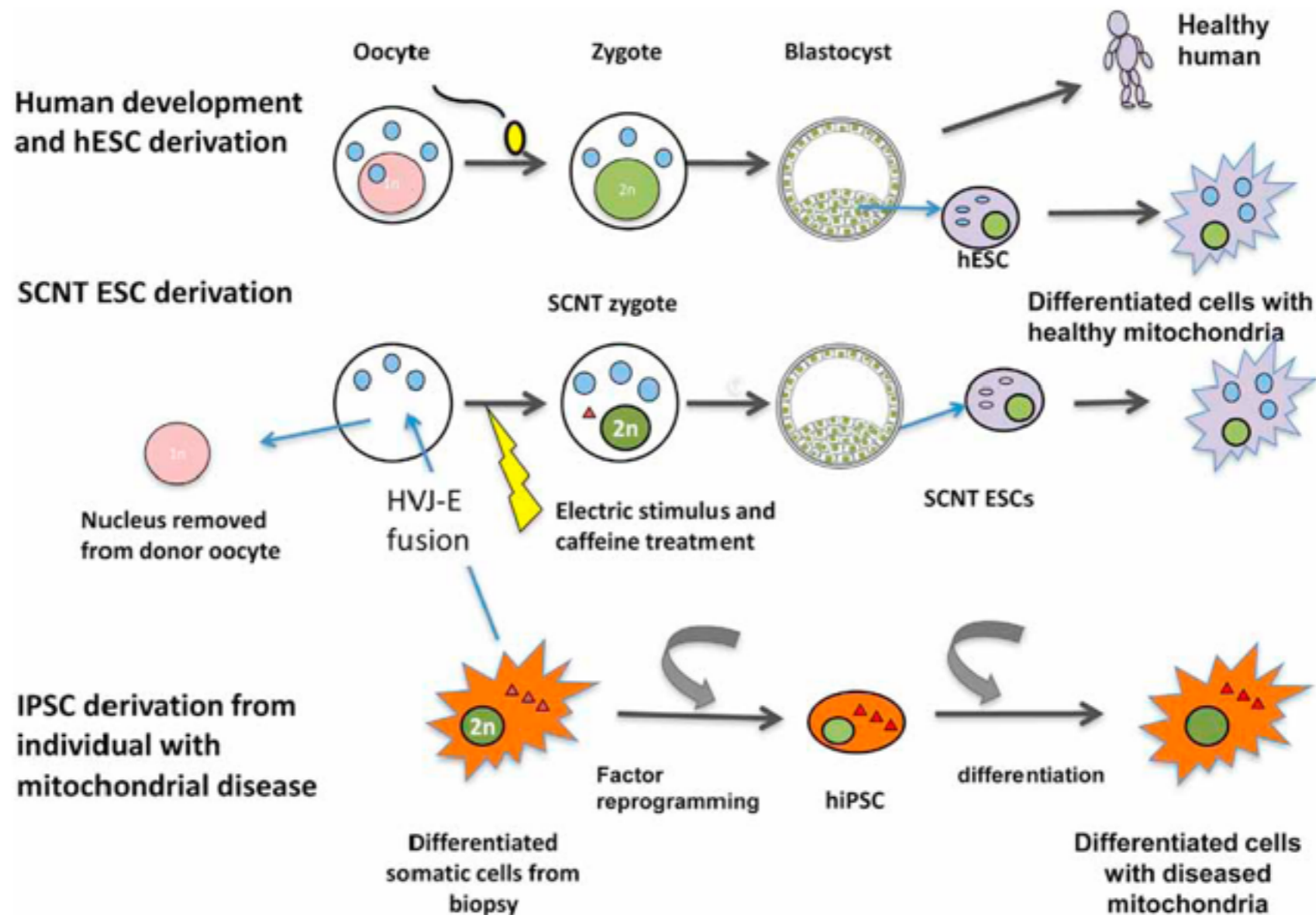
¹California Institute for Regenerative Medicine, 210 King Street, San Francisco, CA 94107, USA

²Ritchie Centre, Monash Medical Research Institute, Clayton, 3168 VIC, Australia

*Correspondence: atrounson@cirm.ca.gov (A.T.), ndewitt@cirm.ca.gov (N.D.D.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.022>

Recently in *Cell*, Mitalipov and colleagues report an advance that has eluded scientists for over a decade—the successful derivation of embryonic stem cell lines using somatic cell nuclear transfer, or SCNT (Tachibana et al., 2013).



In den USA schlägt die öffentliche Diskussion um

The Washington Post

21. April 2014

wp OPINIONS

The Post's View

In stem-cell research, health benefits outweigh the risks of copying humans

By Editorial Board, Published: April 21

CONTROVERSIES OVER stem-cell research are so last decade — or so it seemed until last week.

Some ethical worries are reasonable, but they are not enough reason to hold back this research.



Körper-DNA

**ist zum reproduktiven Klonen
ungeeignet**

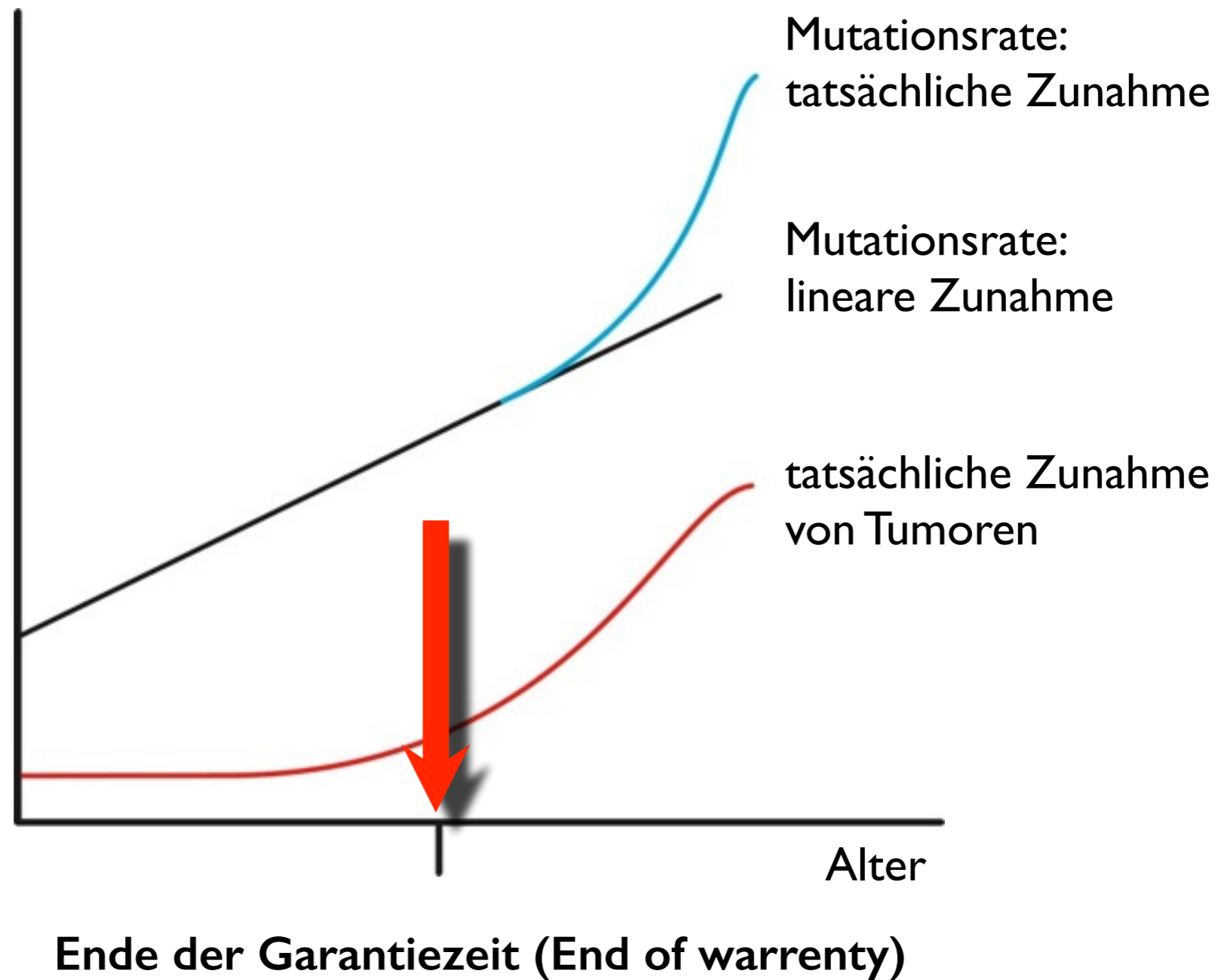


Altes Gesicht - Junge DNA ?





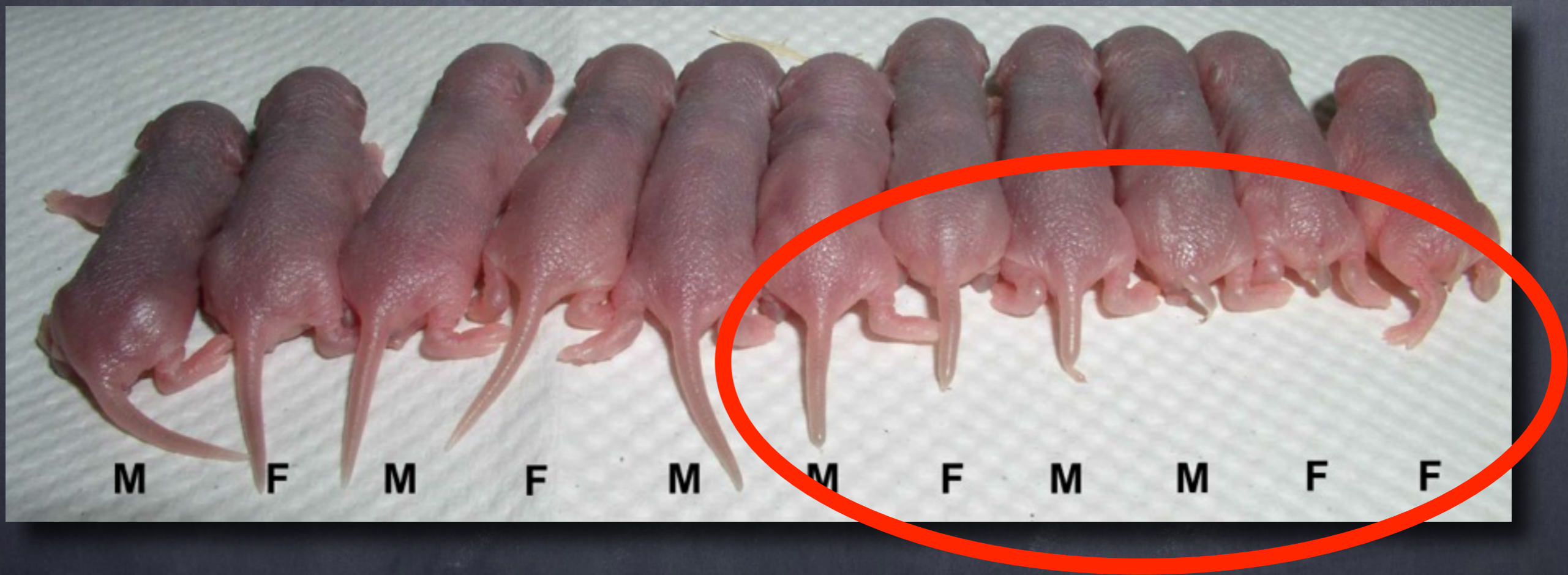
Die DNA unserer Körper altert



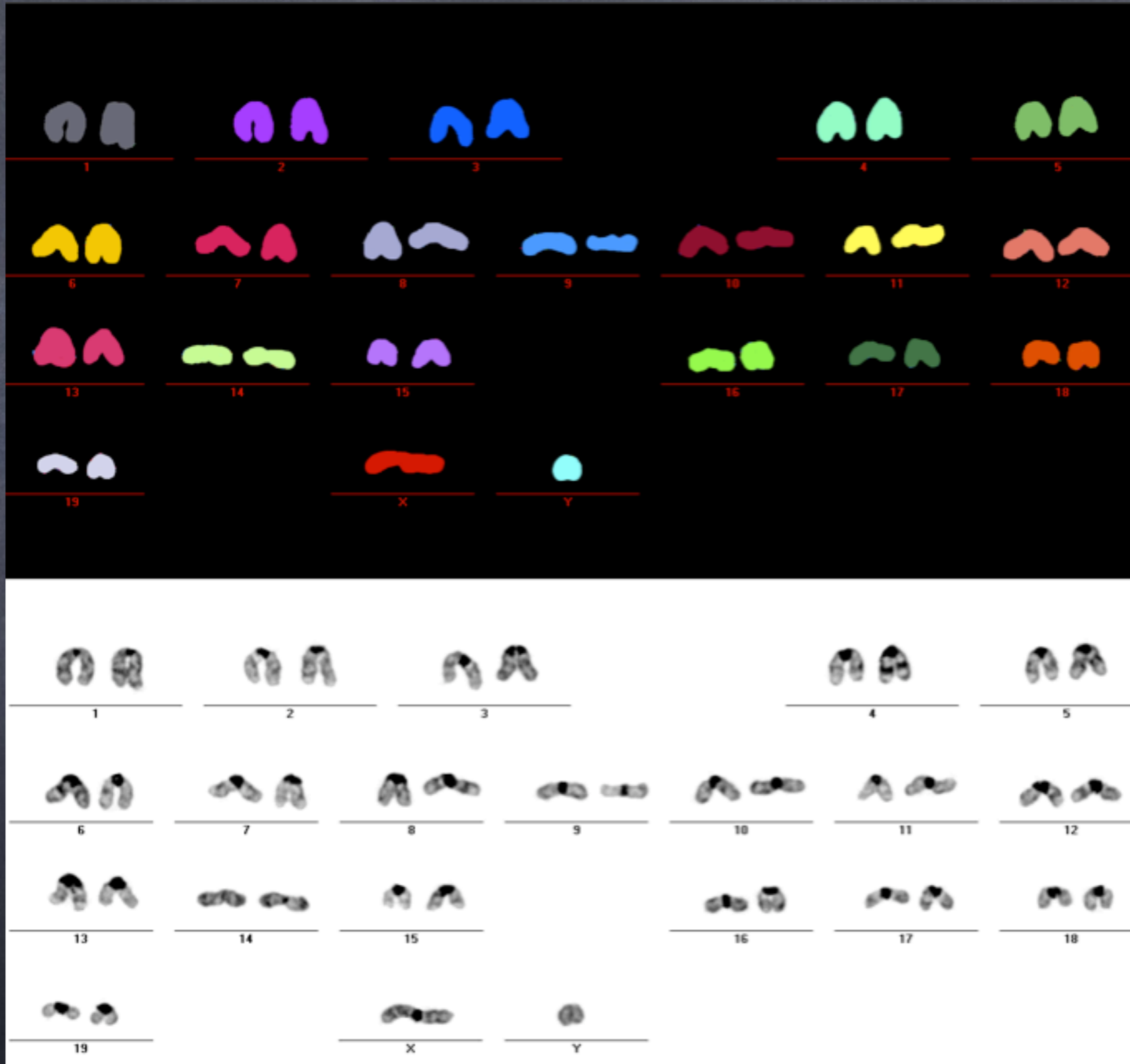
Genetische Probleme: Ein Beispiel



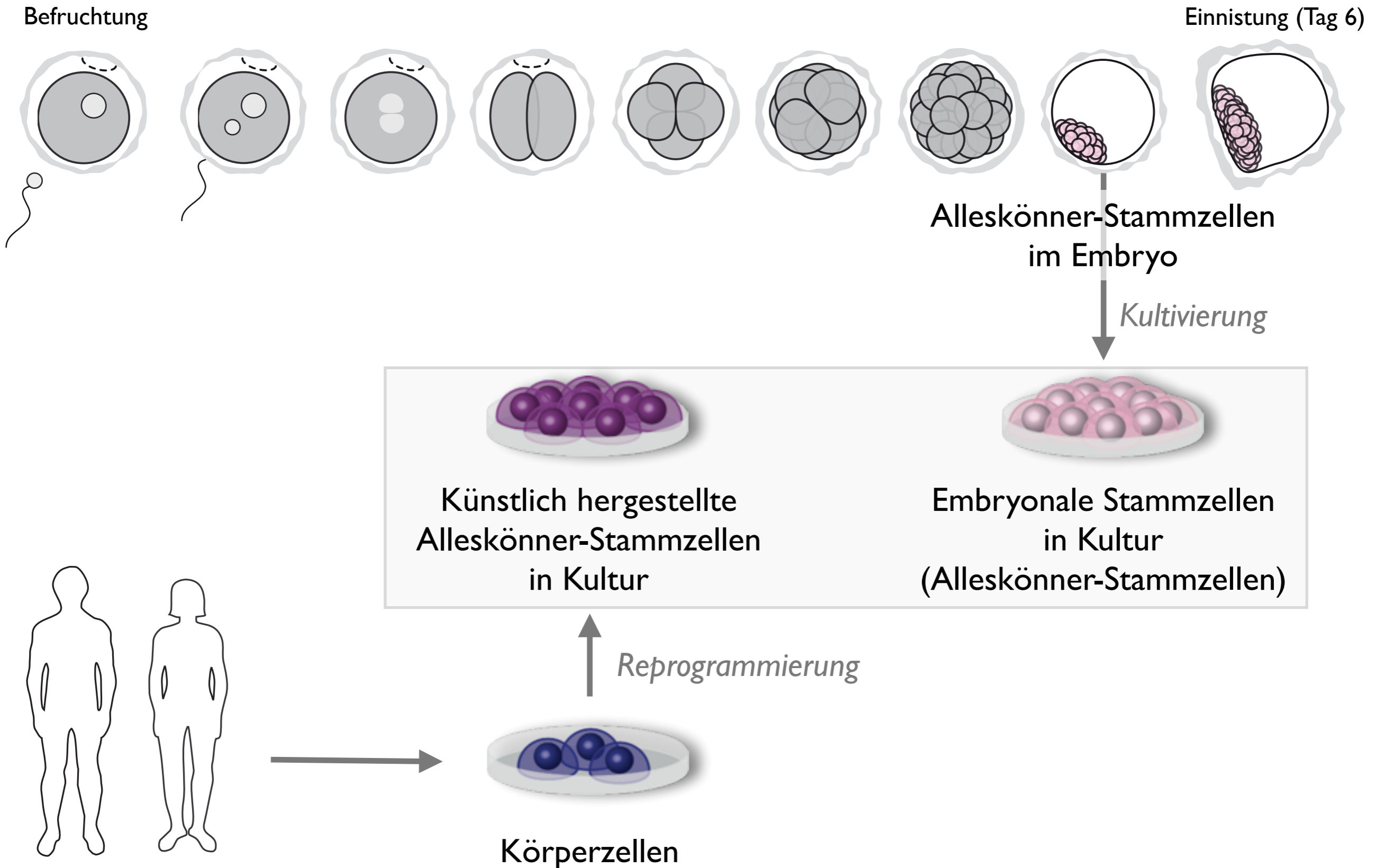
2 Klone derselben Mutter



Die Chromosomen der Maus mit dem kurzen Schwanz haben keine offensichtlichen Veränderungen



Embryonale Stammzellen und reprogrammierte Zellen im Vergleich



Unsere Erbsubstanz altert

Körperzelle

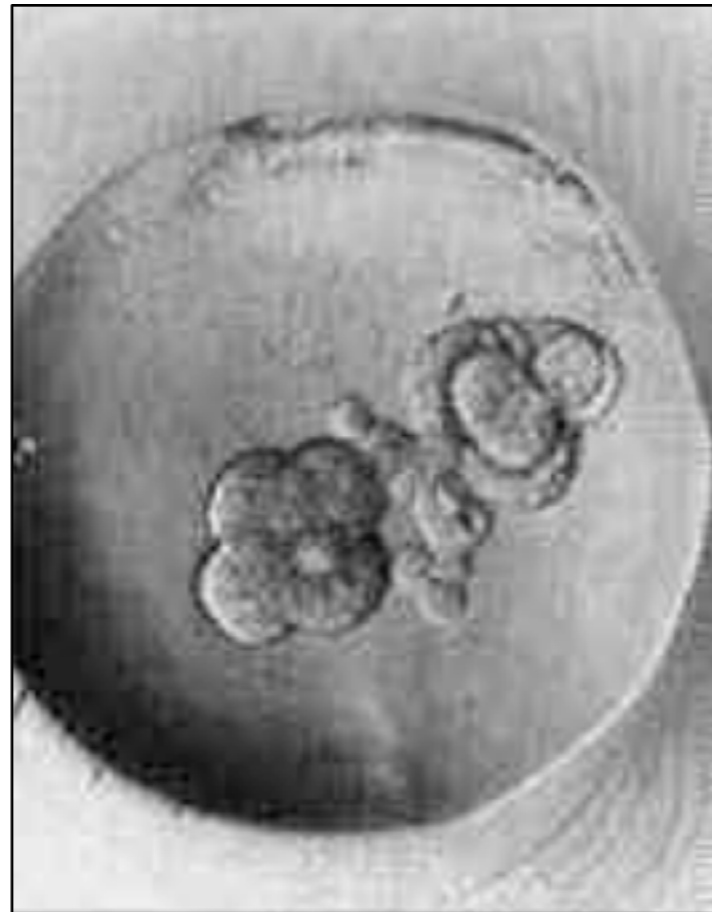
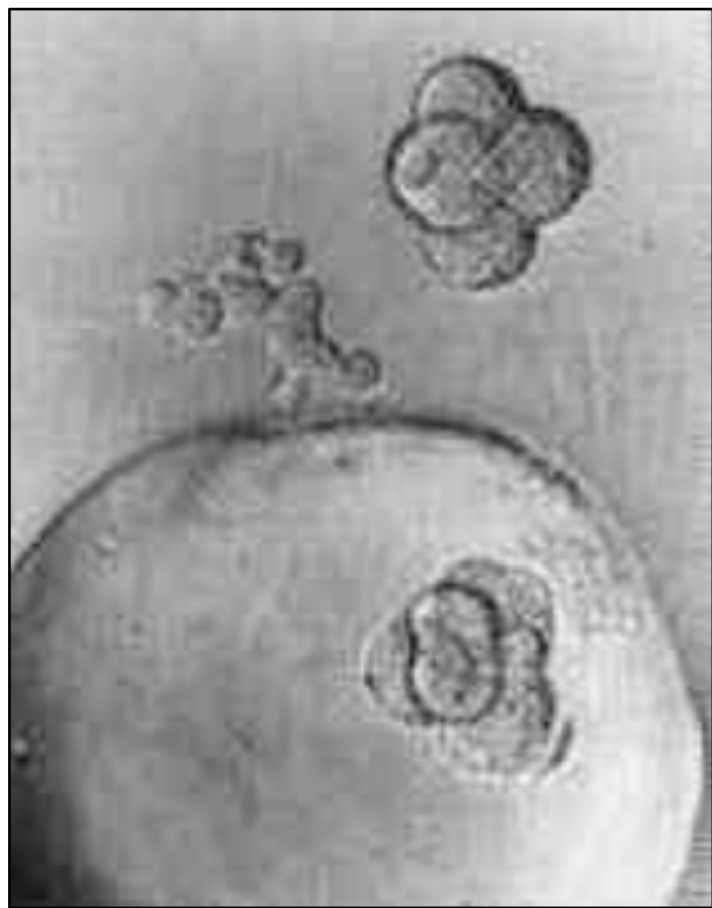
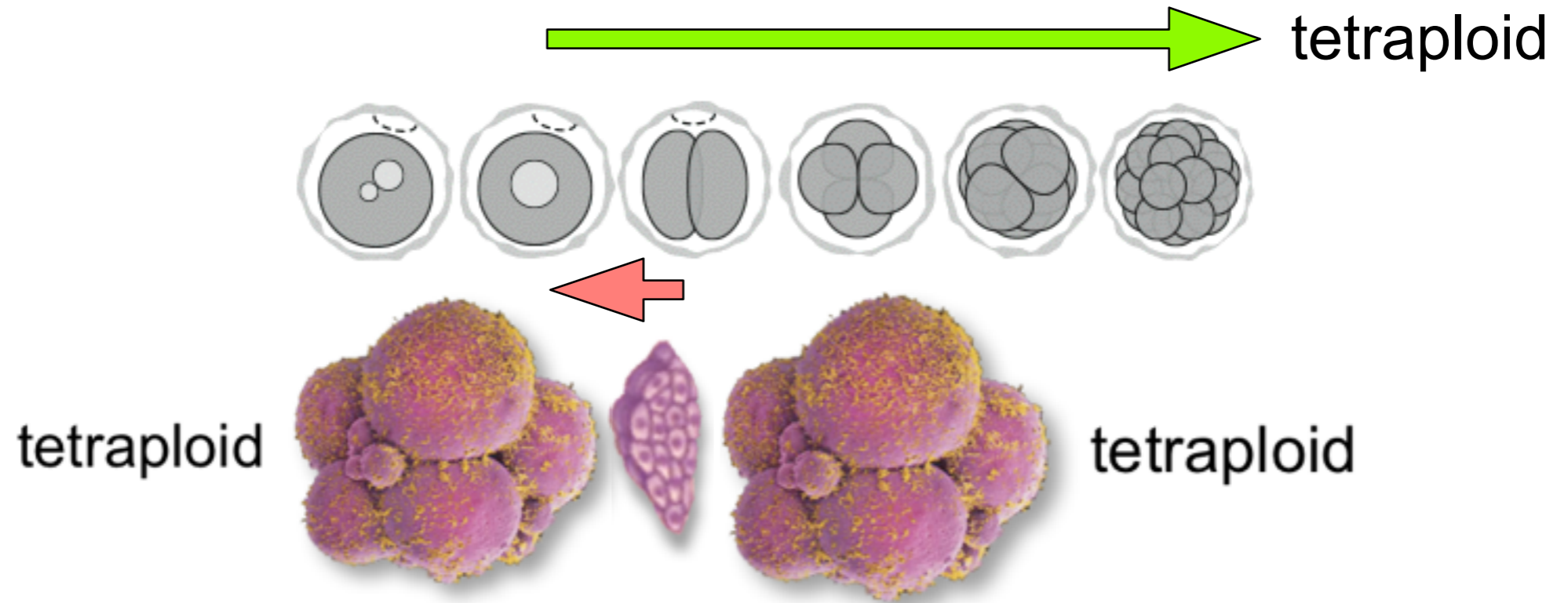


iPS-Zelle



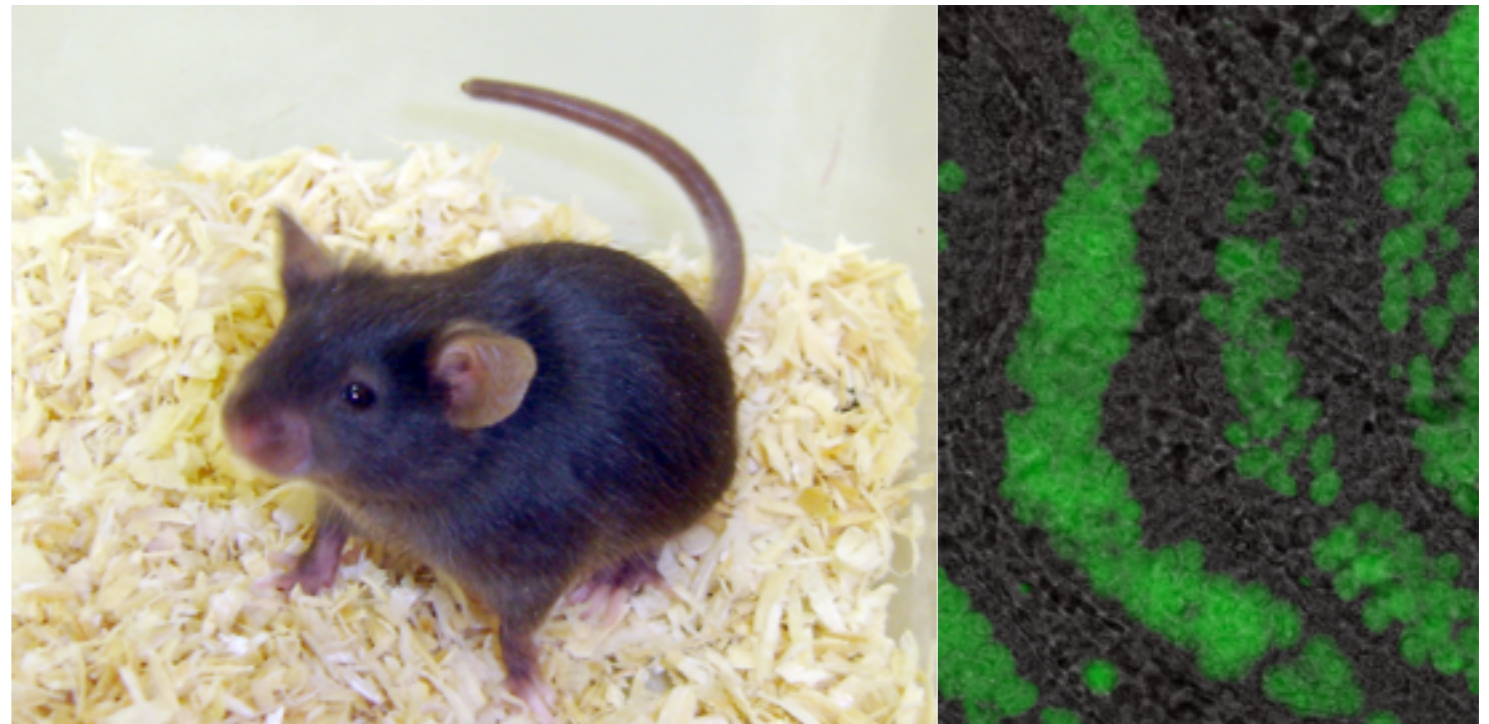
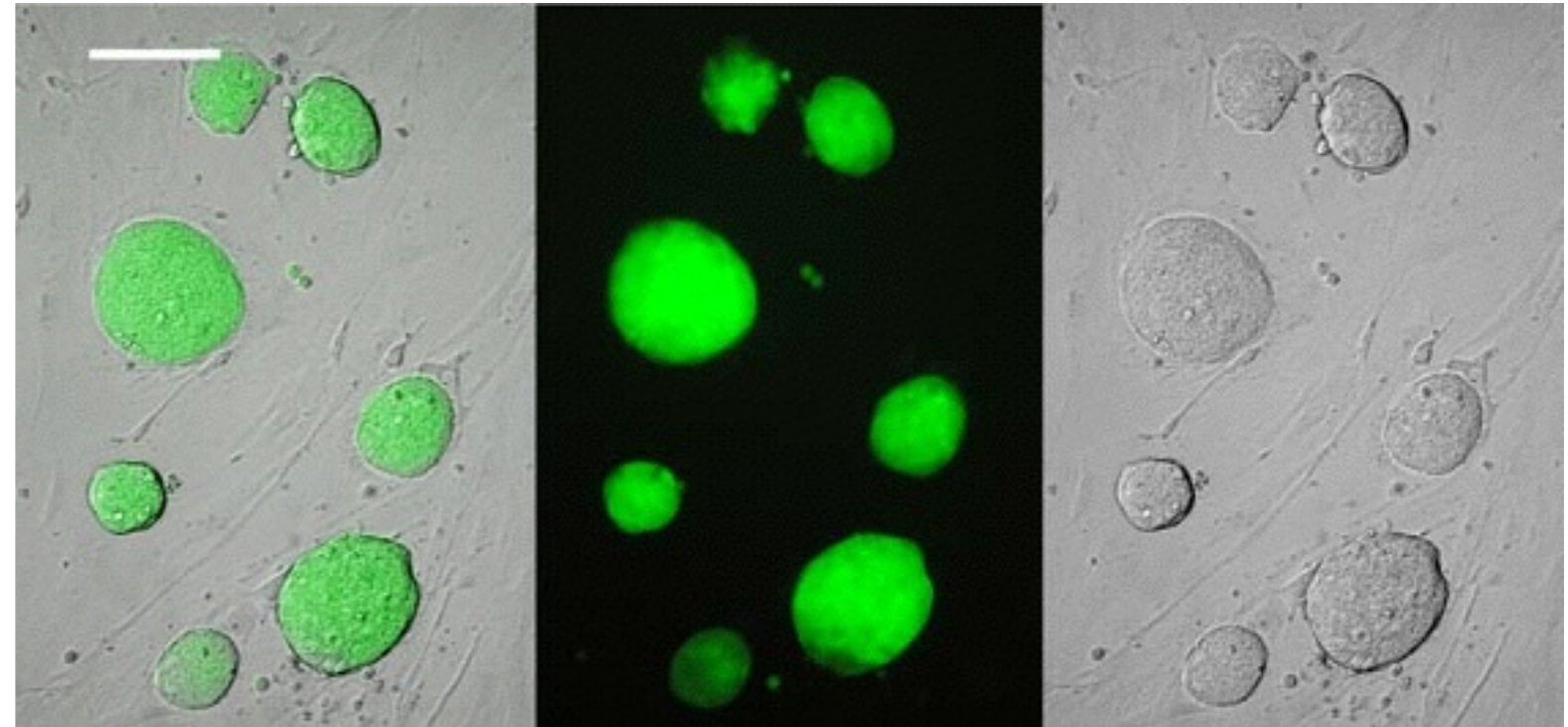
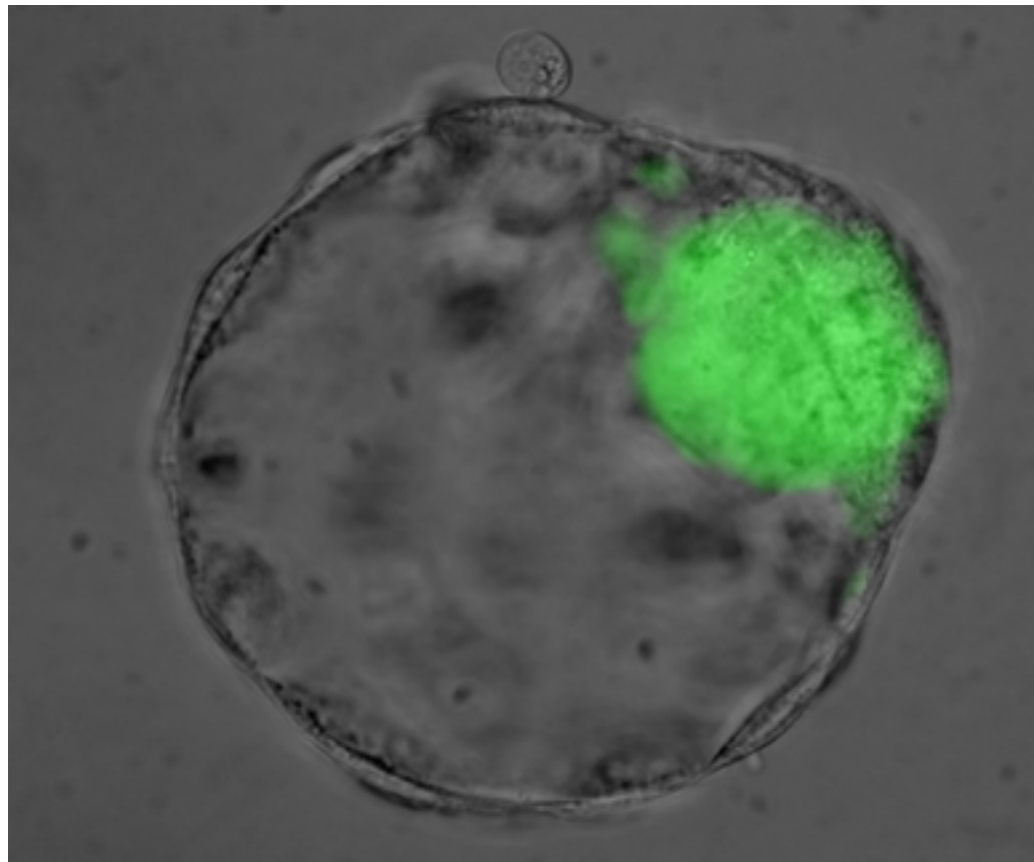
Daher hätten die iPS-Zellen 'alte' DNA

Pluripotency: The gold standard

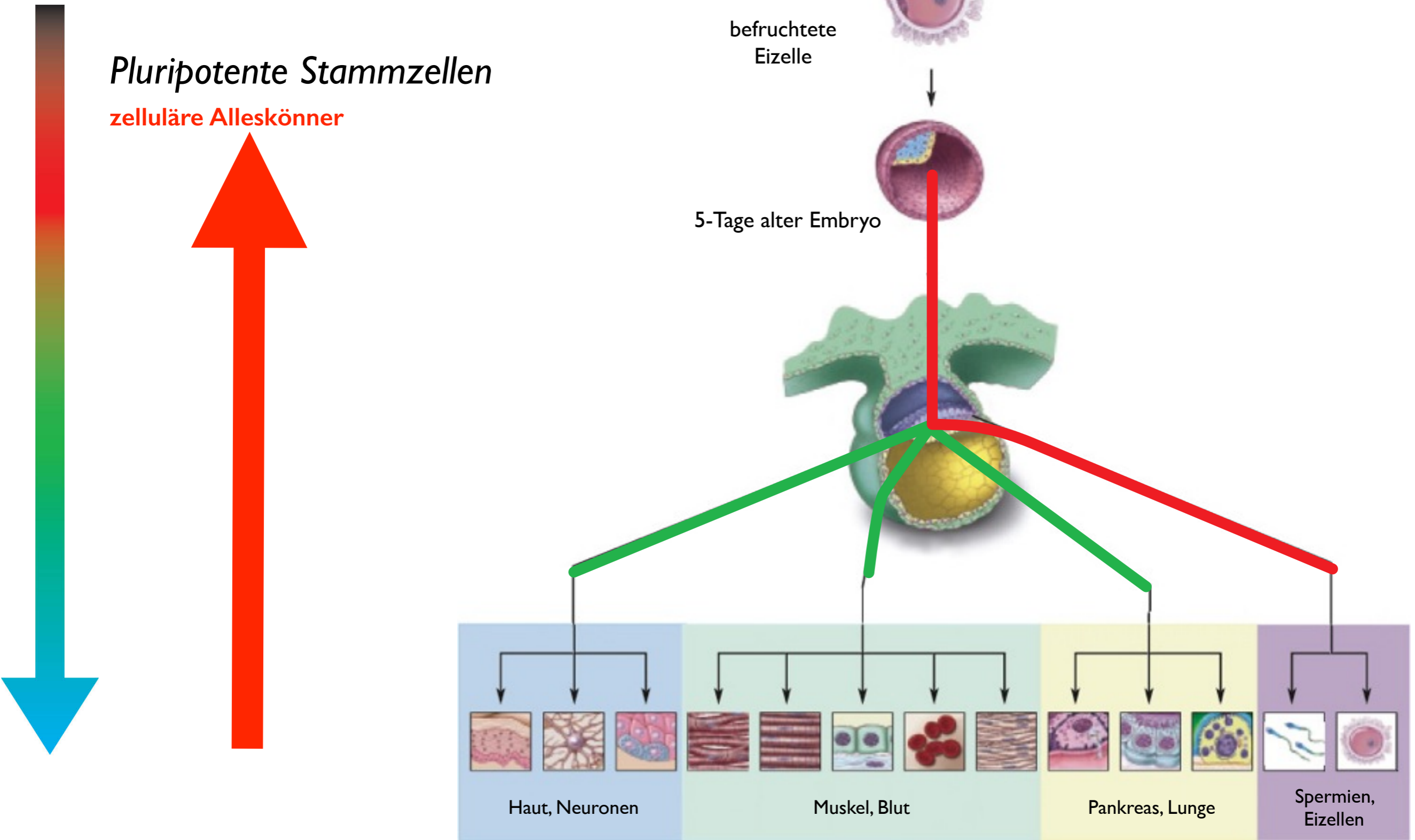


Procedure to generate mice from ES cells in one step

iPS/ES + 4n embryo complementation: offspring without reproduction



Die "Umkehr" von Entwicklungspotenz



Induktion von Pluripotenz induziert keine Totipotenz

Entwicklungsbiologie: eine Zelle ist dann totipotent, wenn sie sich aus sich selbst heraus in geeigneter Umgebung zu einem kompletten Organismus entwickeln kann.

Wieso wird nicht Totipotenz induziert?

Die Eizelle muss im Vergleich zu pluripotenten Zellen groß sein, sonst wäre eine embryonale Entwicklung nicht möglich

Ohne Nährzellen keine funktionsfähige Eizelle

Das Zytoplasma von pluripotenten Zellen ist "klein", das von Eizellen ist dagegen "riesig".

Oct4 wird nicht zur Totipotenz benötigt, ist aber essentiell zur Induktion von Pluripotenz

Die Kulturbedingungen bestimmen welche Pluripotenz ("naive" bzw. "vorbestimmte" Pluripotenz) induziert wird

Embryonale Entwicklung - Embryonale Stammzellen

Zellteilung - aber kein embryonales Wachstum →

Befruchtung

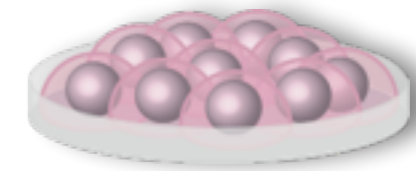


Einnistung (Tag 6)

Die Eizelle muss im Vergleich zu pluripotenten Zellen groß sein,
sonst wäre eine embryonale Entwicklung nicht möglich

Alleskönner-Stammzellen
im Embryo

Kultivierung

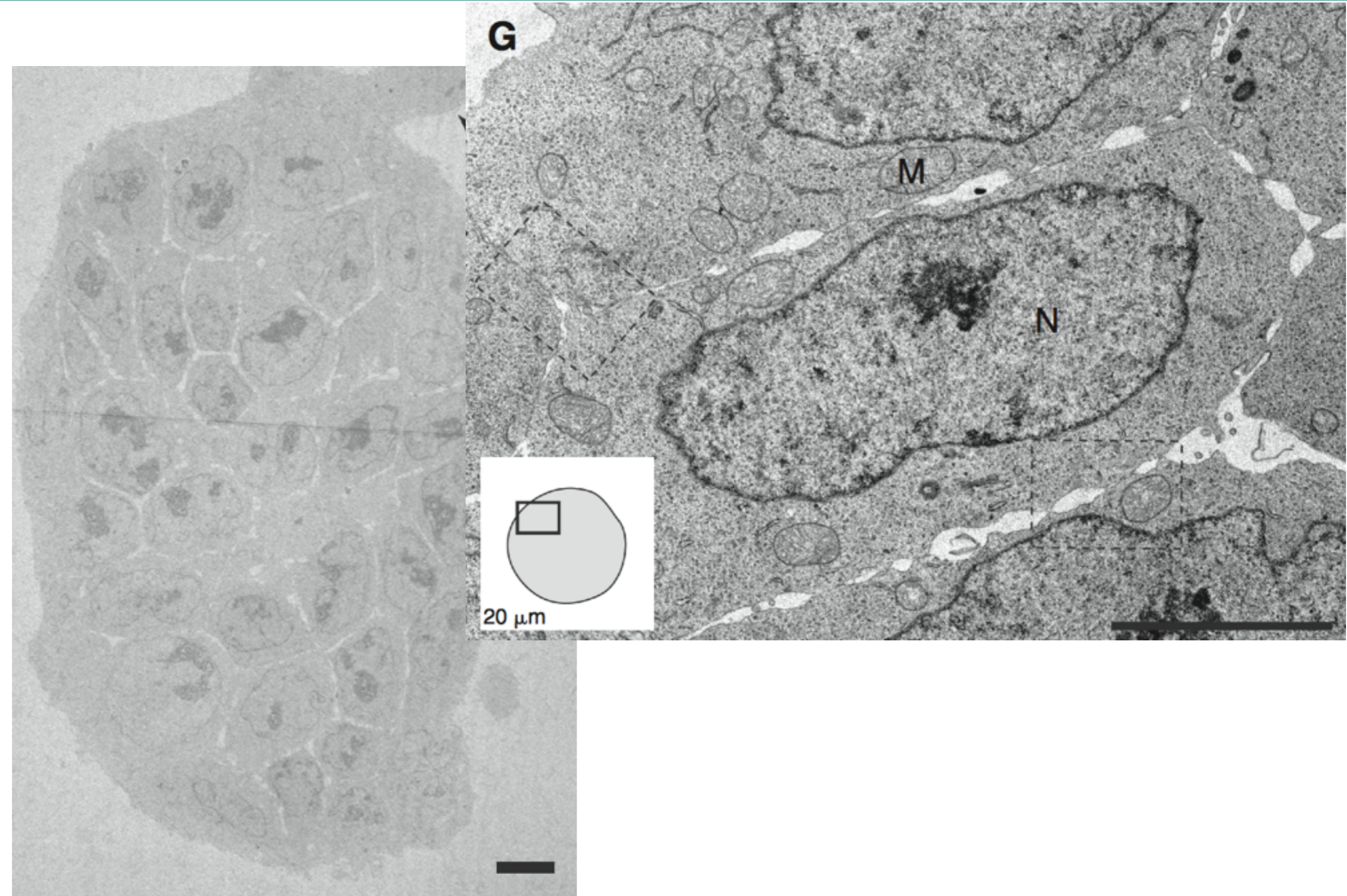


Embryonale Stammzellen
in Kultur
(Alleskönner-Stammzellen)

Das Zytoplasma von Eizellen ist "riesig"

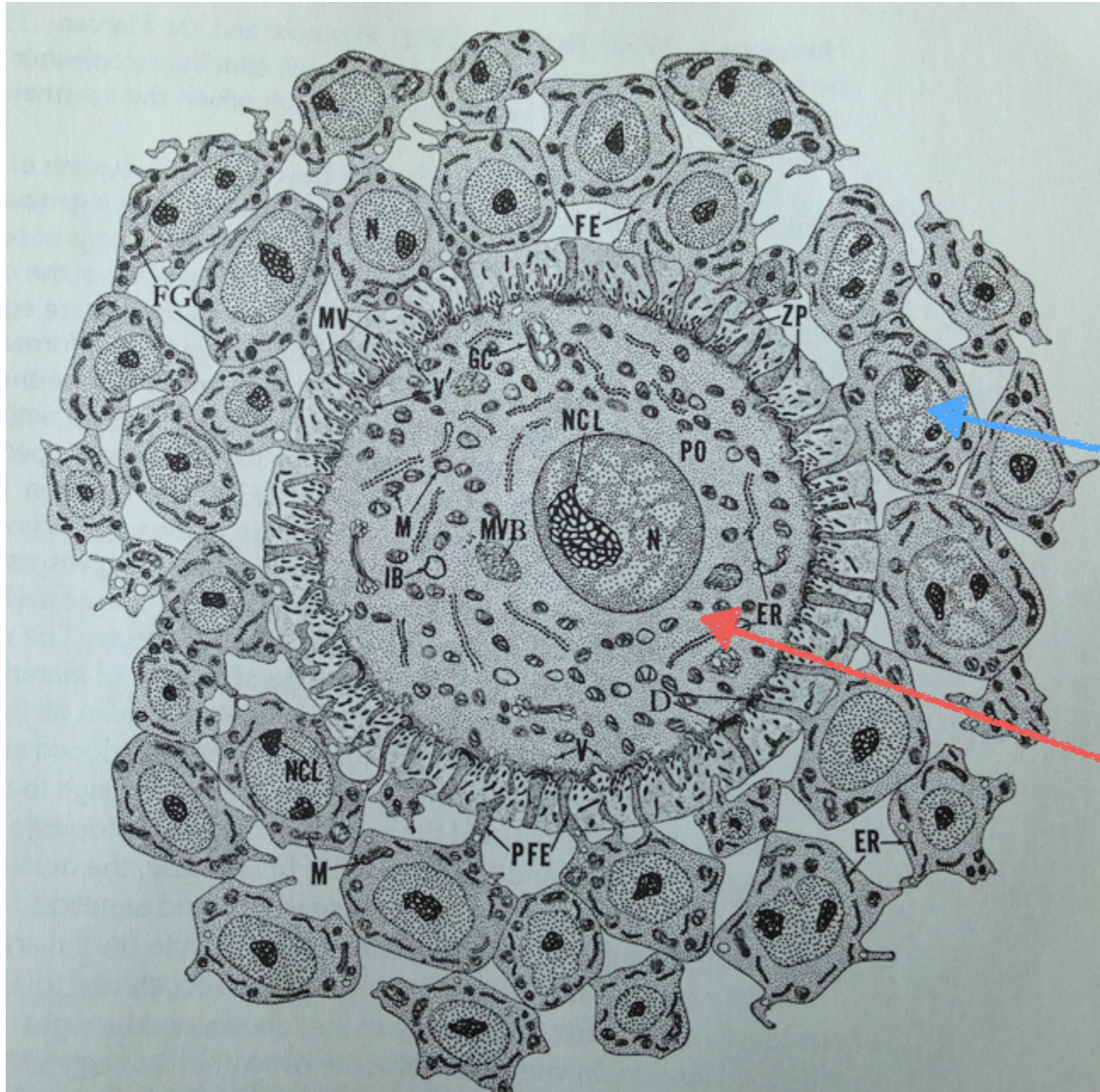


Das Zytoplasma von pluripotenten Zellen ist dagegen "klein"



Zur Eizellbildung werden Nährzellen benötigt

Wo sollen all die Nährstoffe während der Reprogrammierung denn herkommen?



Nährzelle

Eizelle

Ohne Oct4 keine Pluripotenz und keine Reprogrammierung zur Pluripotenz

Februar 2009

Jeong Beom Kim
Holm Zaehres



Nervenzell der Maus

induzierte pluripotente Stammzelle

iPS

FRANKFURTER ALLGEMEINE ZEITUNG

Biosuppe westfälisch

Bei den Stammzellen rückt die saubere Lösung näher

Es ist, als hätten die Stammzellforscher ein zweites Leben. Das erste war vor allem Kampf und Krampf. Mit Moraldebatten um embryonale Stammzellen draußen, und drinnen im Labor ein zähes Ringen um die widerspenstigen Körperstammzellen. Das ist alles vergessen, wenn die „Ipse“ ins Spiel kommen, die sogenannten induzierten Stammzellen. Dann scheint alles wunderbar einfach. Schnurstracks programmiert man mit einem kleinen Gencocktail beliebige Zellen des Körpers in den embryonalen Zustand zurück und hat damit quasi unbegrenzt vermehr- und wandelbare Stammzellen in der Hand. Der ideale Rohstoff, wenn ein Organ versagt.

Als im Februar dieses Jahres eine Kali-

Der Stammzellen-Coup

Münsterischen Forschern gelingt Durchbruch bei der Zell-Rückwandlung



Stammzellforschern des Max-Planck-Instituts für molekulare Biomedizin in Münster gelang ein spektakulärer Fortschritt. Münster. Die münsterischen Forscher des Max-Planck-Instituts für molekulare Biomedizin sind in der Stammzellforschung erneut einen gewaltigen Schritt vorangetrieben. Sie haben es geschafft, aus Nervenzellen des Menschen induzierte pluripotente Stammzellen zu erzeugen. Die Forscher aus Münster schlossen in Nervenzellen das Gen „Oct4“ ein. Die Gefahr, dass bei den nachgezüchteten Zellen das Wachstum außer Kontrolle gerät und sich Tumore bilden, ist durch die Verwendung der...

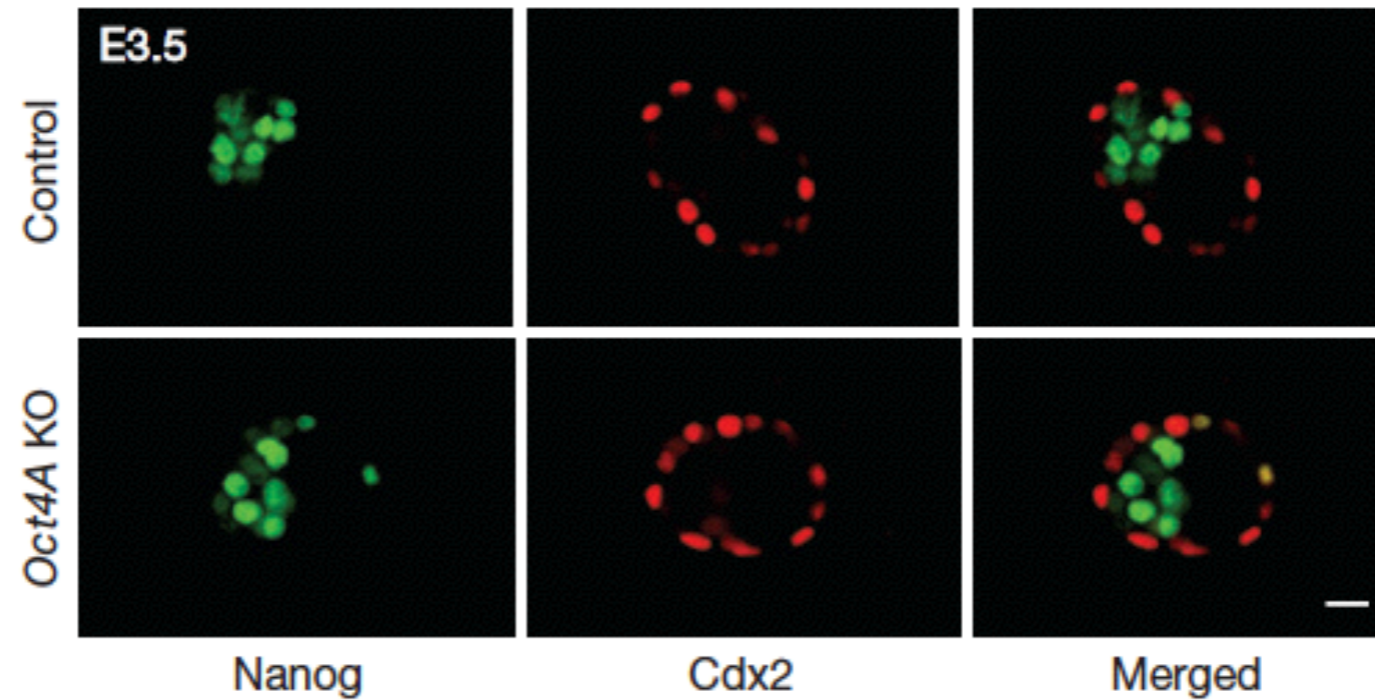
WN

Kim et al., *Nature* 454, 2008

Kim et al., *Cell* 136, 2009

Kim et al., *Nature* 461, 2009

Oct4 wird dagegen **nicht** zur Totipotenz benötigt

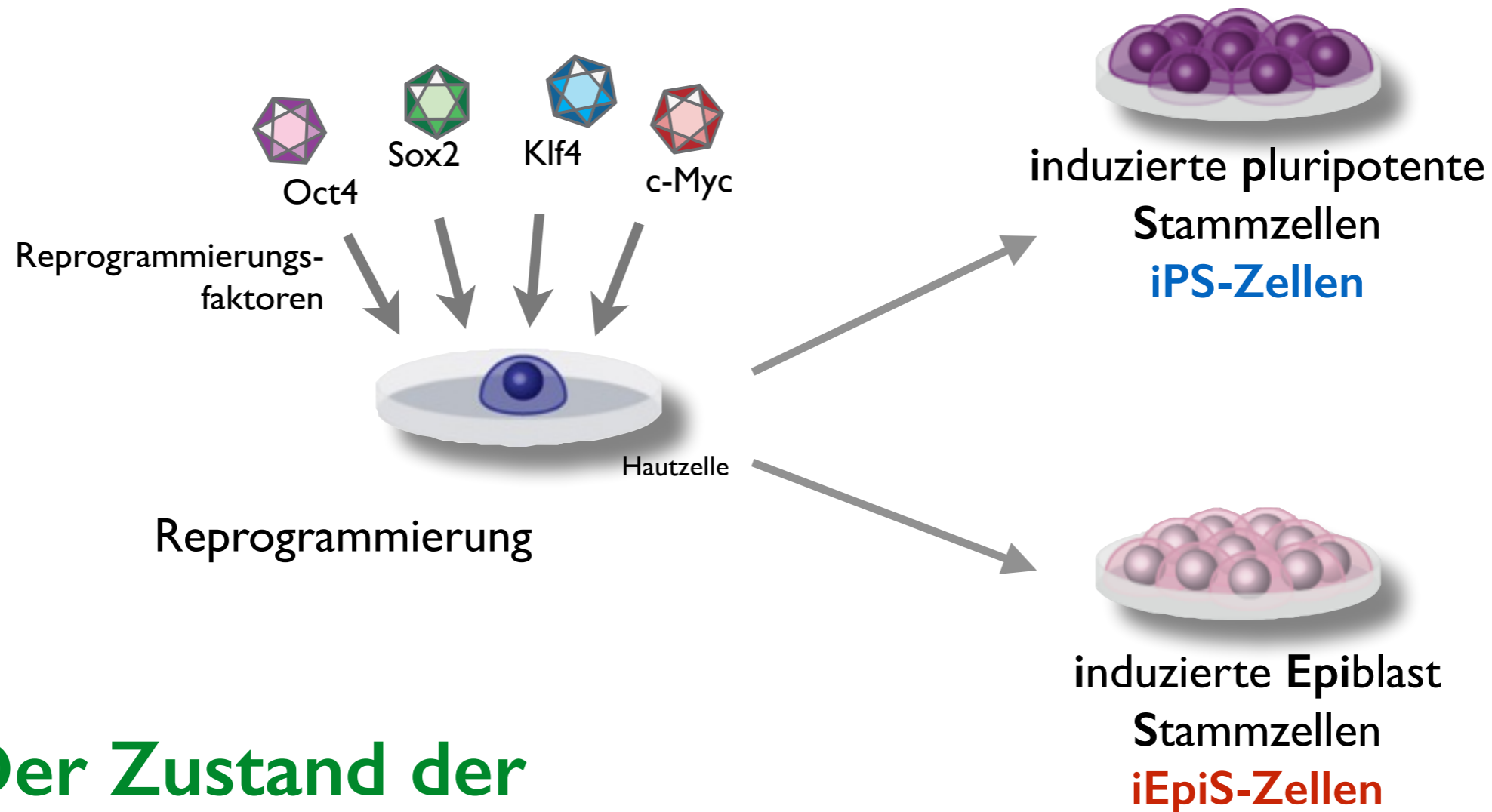


nature
cell biology

Establishment of totipotency does not depend
on Oct4A

Guangming Wu¹, Dong Han¹, Yu Gong¹, Vittorio Sebastiano^{1,4}, Luca Gentile¹, Nishant Singhal^{1,4}, Kenjiro Adachi¹, Gerrit Fishedick¹, Claudia Ortmeier¹, Martina Sinn¹, Martina Radstaak¹, Alexey Tomilin² and Hans R. Schöler^{1,3,5}

Die Kulturbedingungen bestimmen welche Pluripotenz induziert wird



Der Zustand der Pluripotenz wird gleichsam “eingefroren”

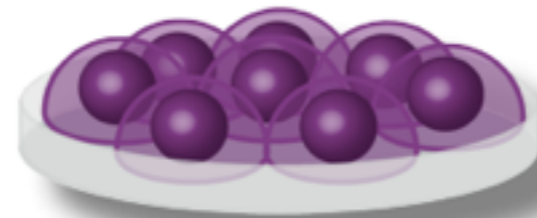
Direct reprogramming of fibroblasts into epiblast stem cells

Dong Wook Han¹, Boris Greber¹, Guangming Wu¹, Natalia Tapia¹, Marcos J. Araúzo-Bravo¹, Kinarm Ko^{2,3}, Christof Bernemann¹, Martin Stehling¹ and Hans R. Schöler^{1,4,5}

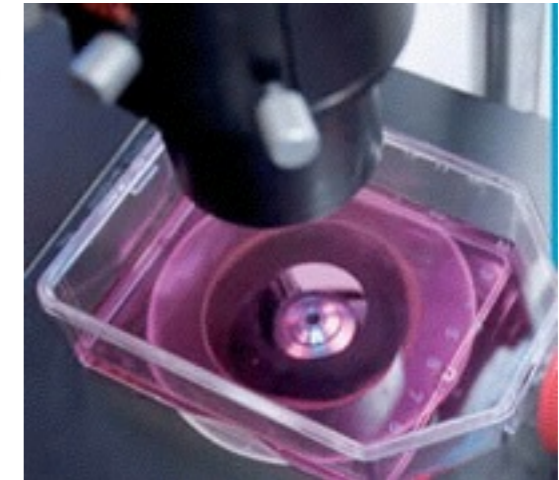
Mögliche Anwendungen für iPS-Zellen

Dies ist möglich
mit iPS-Zellen, eher
nicht mit ES-Zellen

Erforschung von
Krankheitsaspekten
in Kultur



iPS-Zellen



Entwicklung neuer Medikamente
mit Krankheitsmodellen





Parkinson in the Dish



Cell Stem Cell
Article

Genetic Correction of a LRRK2 Mutation in Human iPSCs Links Parkinsonian Neurodegeneration to ERK-Dependent Changes in Gene Expression

Peter Reinhardt,^{1,10} Benjamin Schmid,^{2,10} Lena F. Burbulla,² David C. Schöndorf,^{2,4} Lydia Wagner,¹ Michael Glatza,¹ Susanne Höing,¹ Gunnar Hargus,^{1,4} Susanna A. Heck,² Ashutosh Dhingra,^{2,5} Guangming Wu,¹ Stephan Müller,³ Kathrin Brockmann,² Torsten Kluba,⁶ Martina Maisel,² Rejko Krüger,² Daniela Berg,² Yaroslav Tsytsyura,⁷ Cora S. Thiel,⁷ Olympia-Ekaterini Psathaki,¹ Jürgen Klingauf,⁷ Tanja Kuhlmann,⁴ Marlene Klewin,⁸ Heiko Müller,⁸ Thomas Gasser,^{2,*} Hans R. Schöler,^{1,9,*} and Jared Sternebeck¹



Peter Reinhardt

March 2013

Es ist möglich das Stadium der Pluripotenz zu umgehen, um Stammzellen zu erhalten

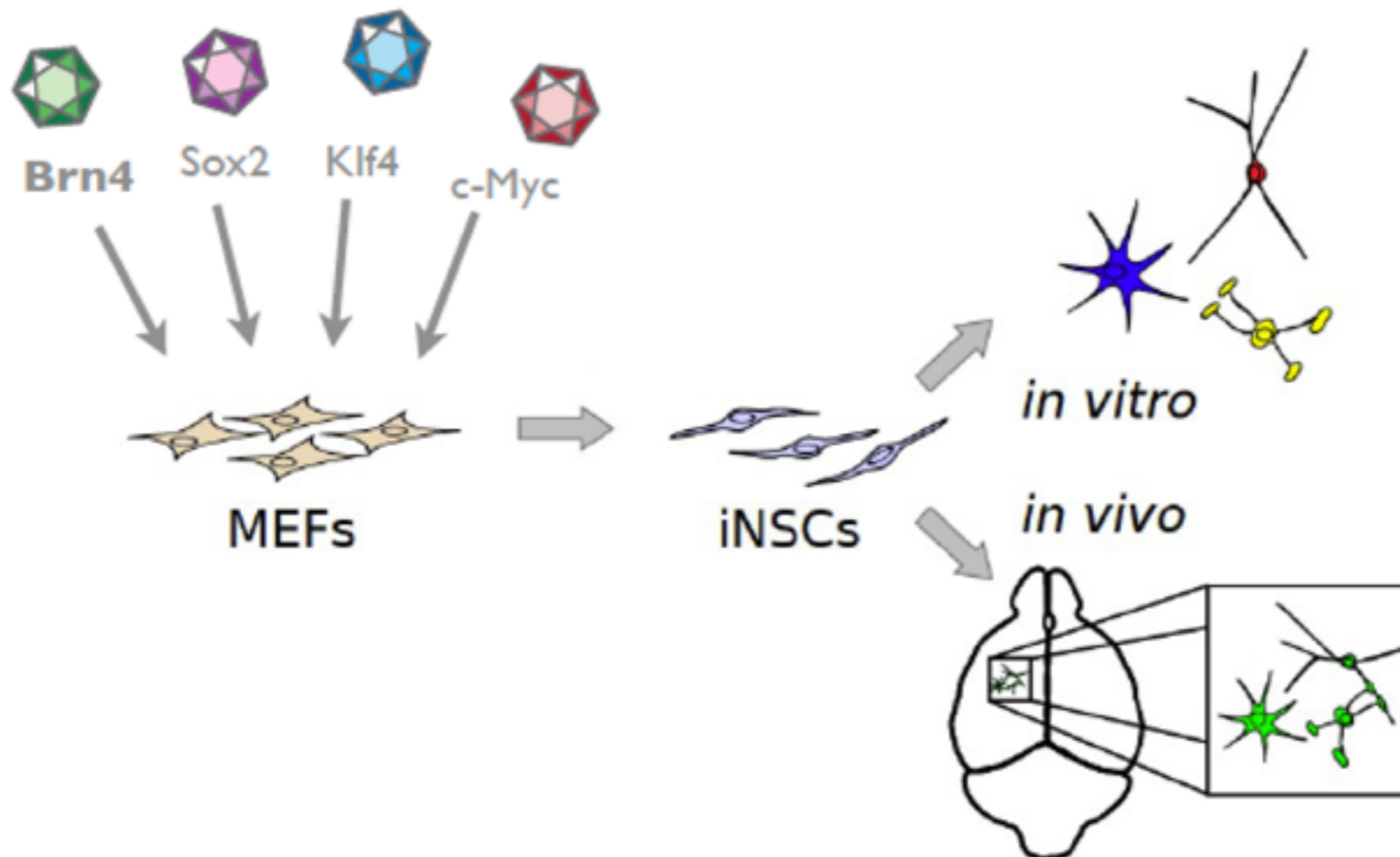
Direkte Reprogrammierung von Hautzellen in Neurale Stammzellen

Cell Stem Cell
Short Article

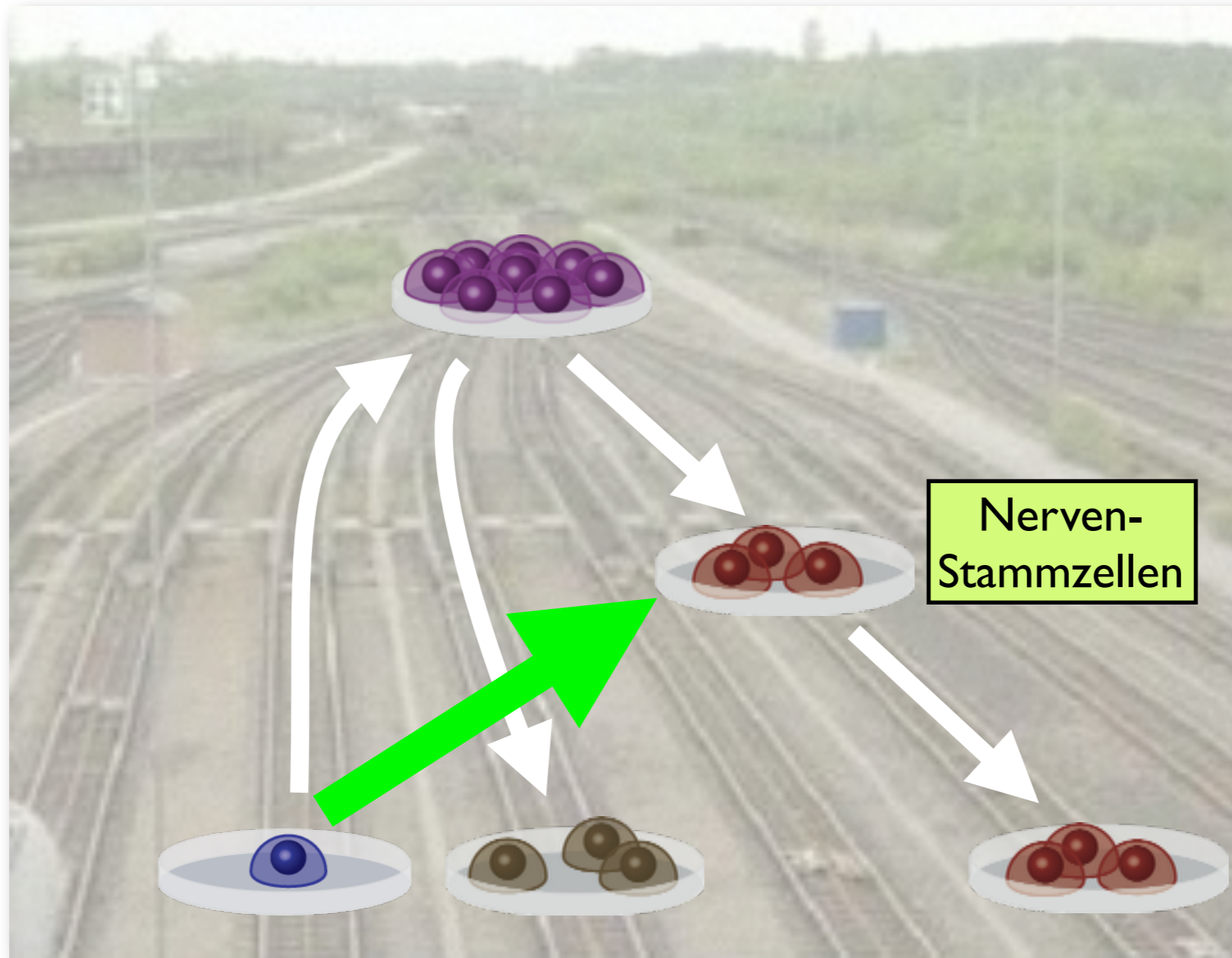
Cell
PRESS

Direct Reprogramming of Fibroblasts into Neural Stem Cells by Defined Factors

Dong Wook Han,^{1,2,7,*} Natalia Tapia,^{1,7} Andreas Hermann,^{3,4} Kathrin Hemmer,⁵ Susanne Höing,¹ Marcos J. Araúzo-Bravo,¹ Holm Zaehres,¹ Guangming Wu,¹ Stefan Frank,¹ Sören Moritz,¹ Boris Greber,¹ Ji Hun Yang,¹ Hoon Taek Lee,² Jens C. Schwamborn,⁵ Alexander Storch,^{3,4} and Hans R. Schöler^{1,6,*}



Die abnehmende Potenz der Zellen ist nun überwunden



Allesköner-Stammzellen

Vielköner-Stammzellen

Ausgereifte Zellen

Hautzellen

Leberzellen

Nervenzellen

OFFENE FRAGEN

*Was, glauben Sie, ist wahr,
auch wenn Sie es
nicht beweisen können?*

Ich bin davon überzeugt, dass man aus fast jeder Zelle unseres Körpers jeden Zelltyp bilden kann. Man wird wie auf einem Verschiebebahnhof Zellen hin und her schieben, aus einer Muskelzelle etwa Nerven, Blut oder Eizellen oder aus differenzierten Zellen Stammzellen gewinnen, die man dann therapeutisch nutzen kann. Zwischen dem Vorgehen beim Klonschaf Dolly und meiner Annahme gibt es einen wesentlichen Unterschied: Im Falle von Dolly musste ein Zellkern in eine Eizelle überführt werden, um sich zu entwickeln, im zweiten Fall ist es die Zelle selber, die sich entwickelt. Eigentlich bin ich sogar davon überzeugt, dass sich jede Körperzelle eines Säugers unter geeigneten Bedingungen in einen Organismus entwickeln kann. Sicher sind die Hürden bei Säugern ungleich höher als bei Pflanzen. Ohne es beweisen zu können, bin ich davon

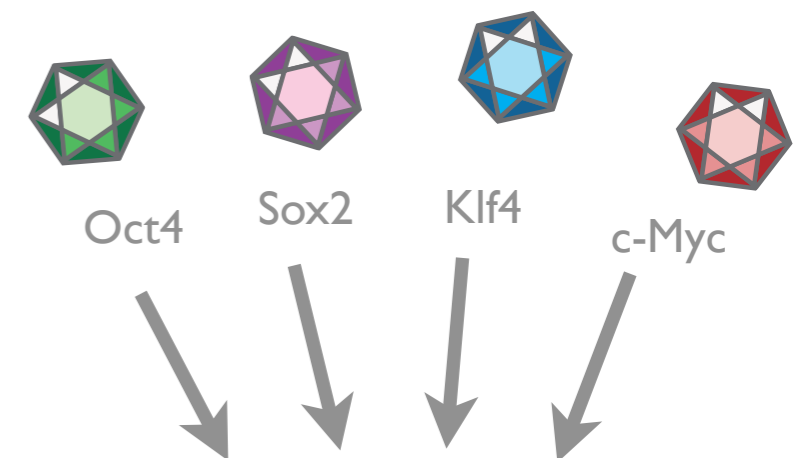


überzeugt, dass man einen Cocktail an Faktoren finden wird, mit dem dies gelingt.

Hans Schöler, Direktor am Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin in Münster, ist einer der führenden Stammzellenforscher.

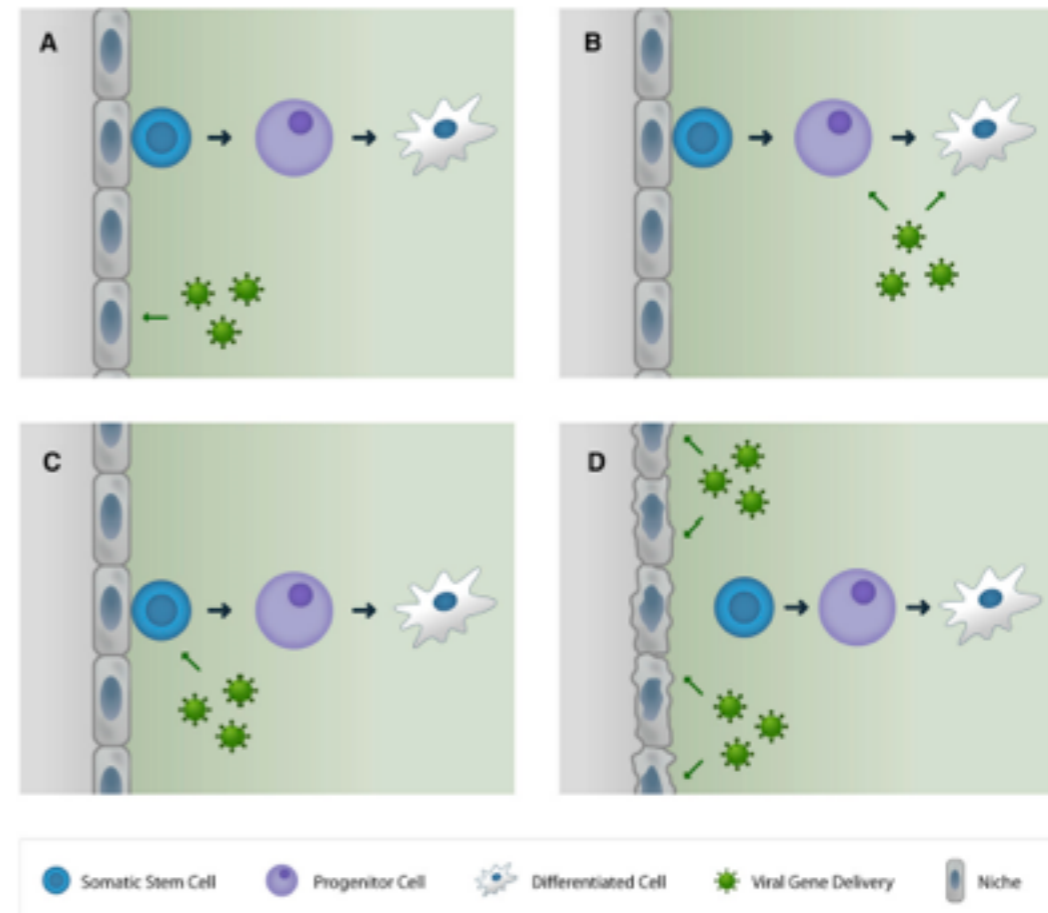
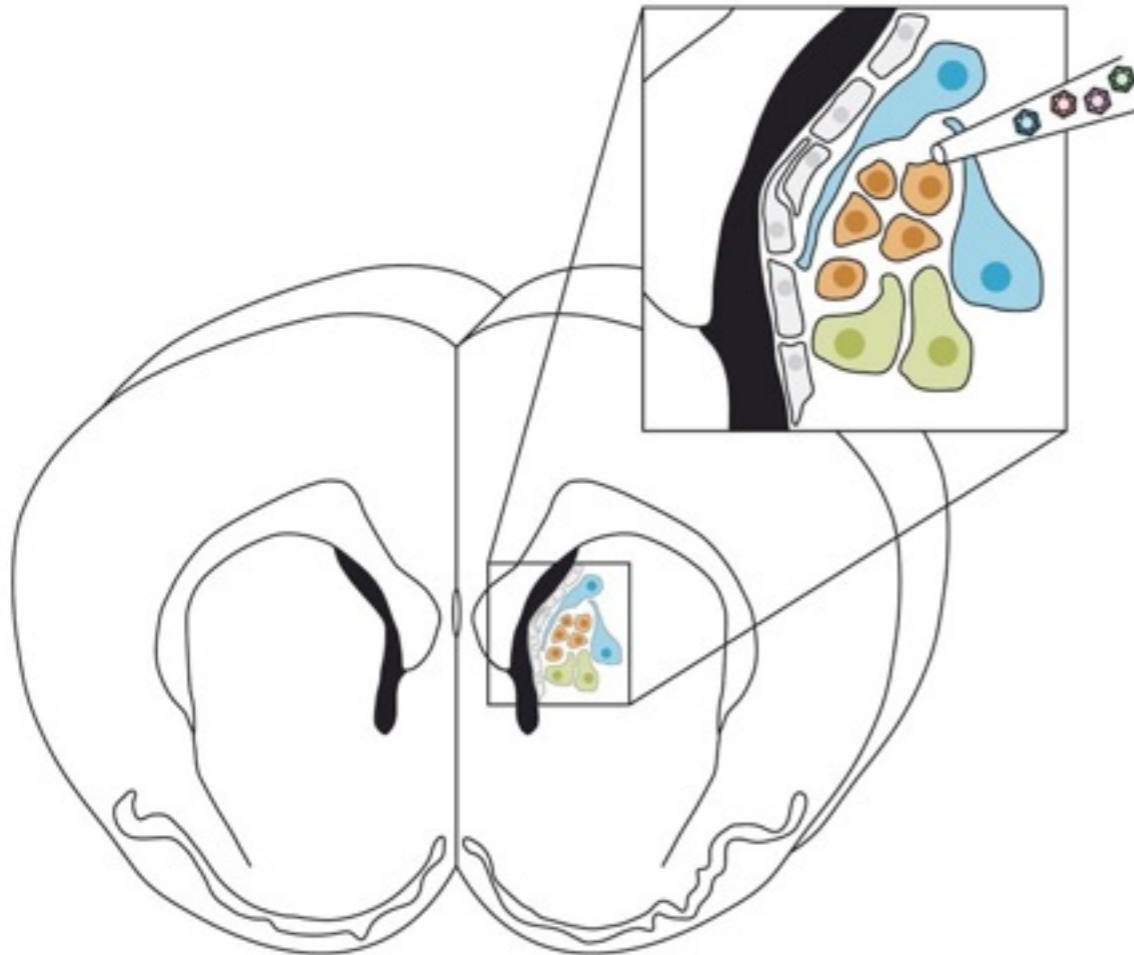


“Yamanaka Cocktail” **August 2006**



Restoring Stem Cell Function in Aged Tissues by Direct Reprogramming?

Natalia Tapia,¹ Dong Wook Han,² and Hans R. Schöler^{1,3,*}



Frankfurter Allgemeine

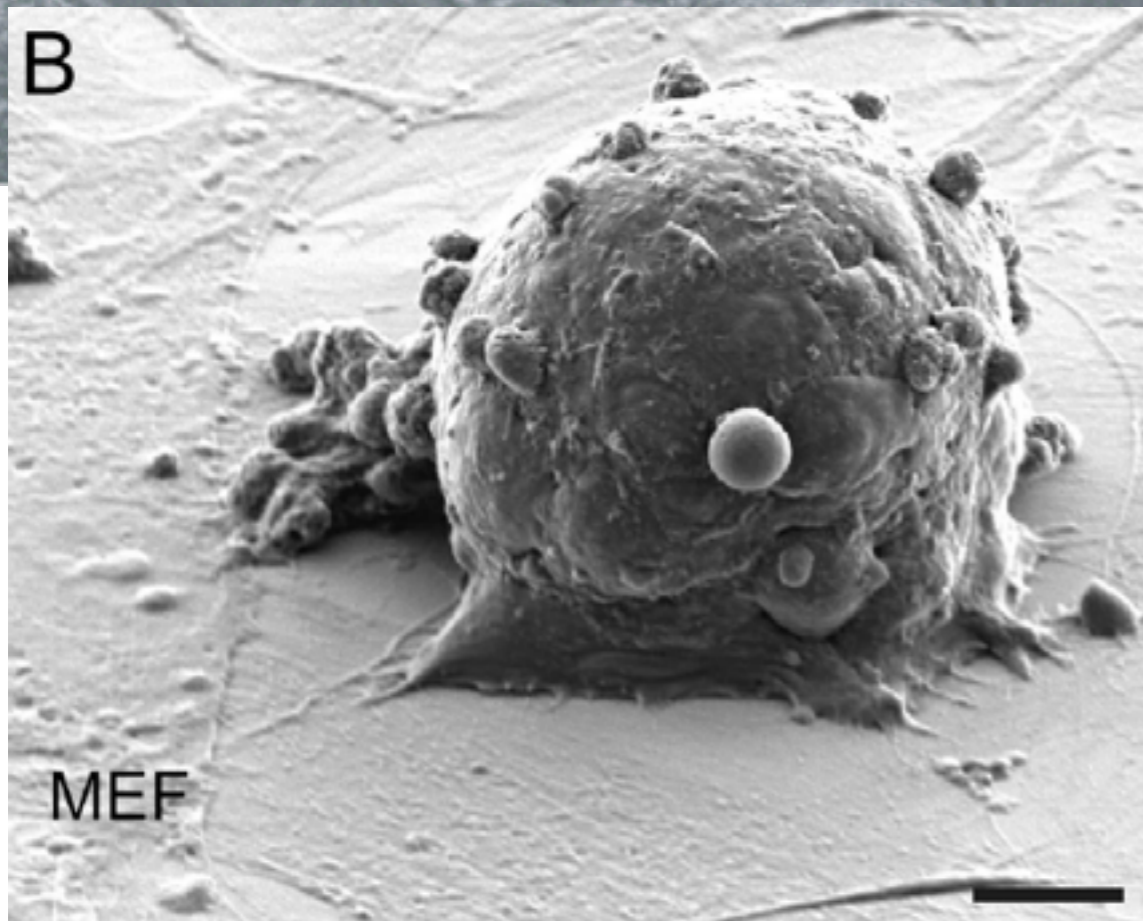
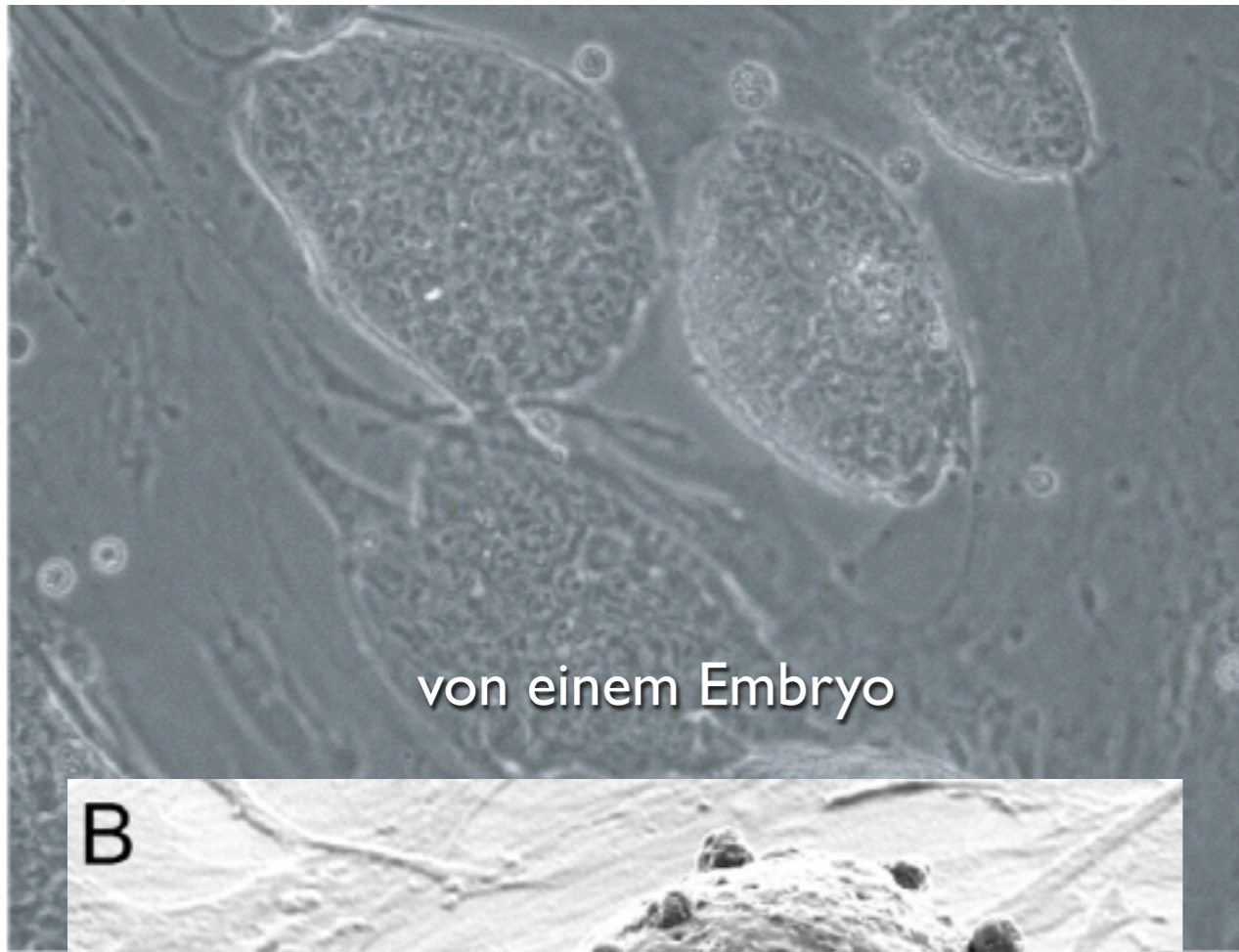
ZEITUNG FÜR DEUTSCHLAND

Freitag, 8. Juni 2007, Nr. 130 / Seite 33

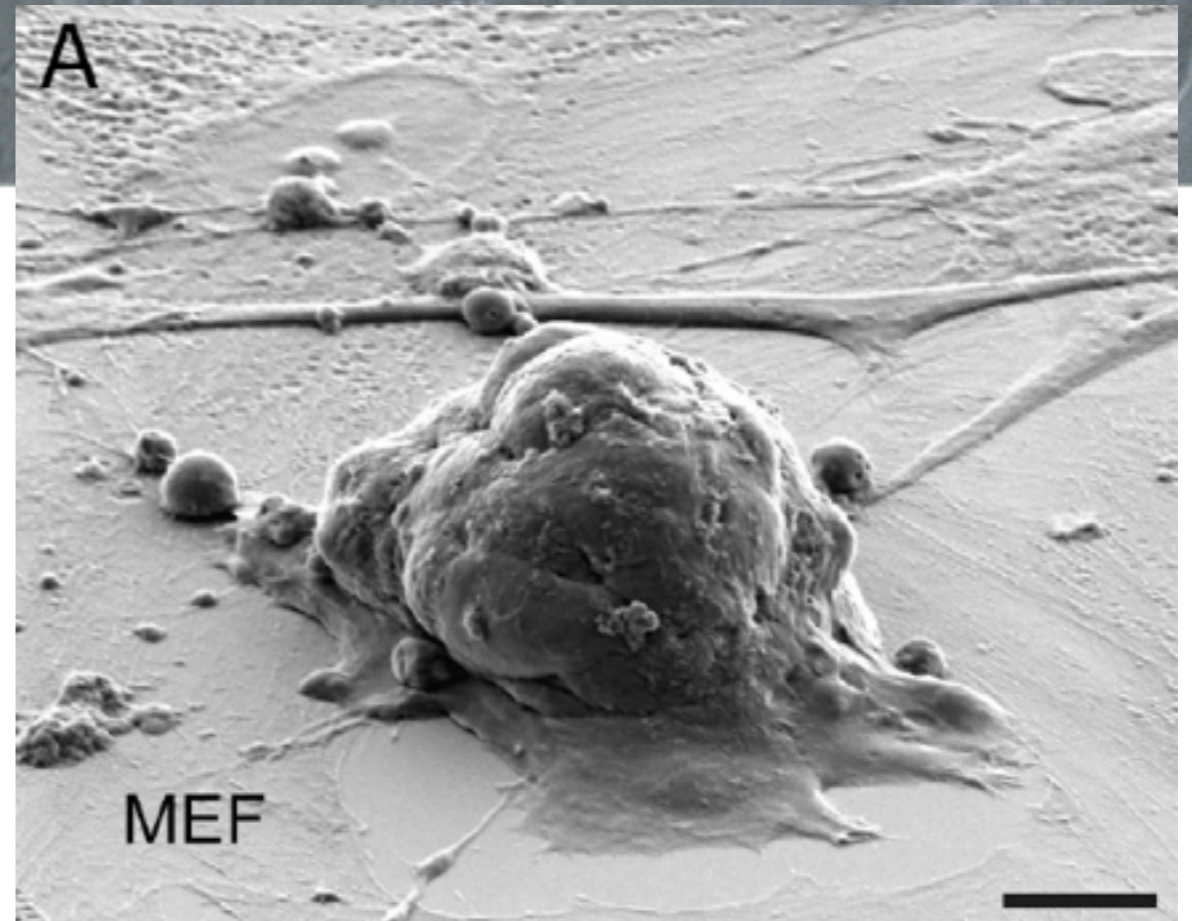
Entspannt euch!

Wir brauchen keine Embryofabriken / Von Hans Schöler

Morphologie von pluripotenten Stammzellen



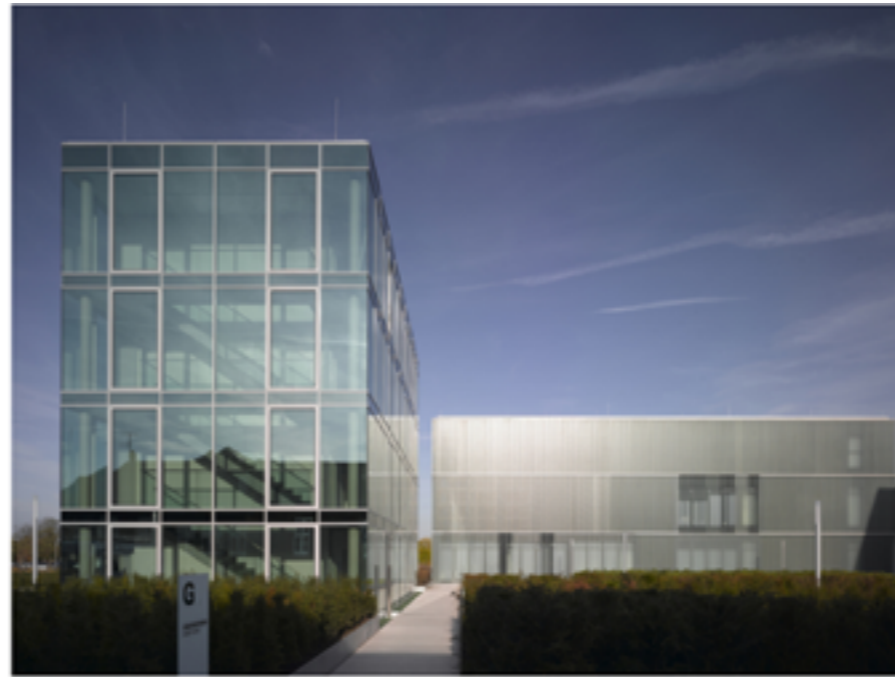
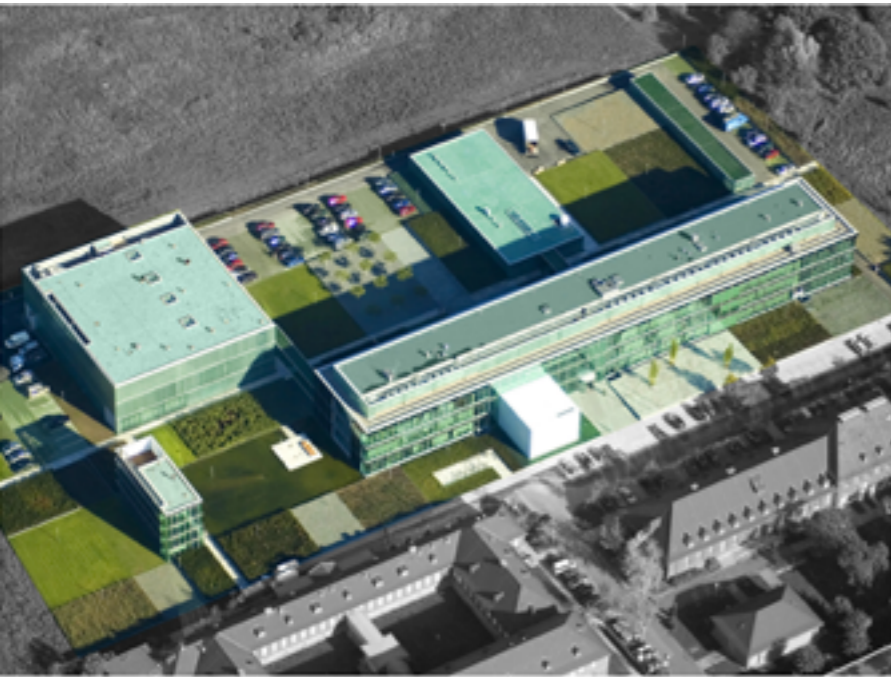
ES Kolonie



iPS Zell-Kolonie



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT



Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin

Münster