ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 33
Ocak-Şubat-Mart 2020

Editör'den

Alp Can

KHB'nin **33. sayı**sıyla hepinize tekrar merhaba. Yeni bir yıla girdiğimiz şu günlerde **KHB** de 7. yayın yılına girmiş oldu. Geçtiğimiz 32 sayı, ilk günkü çıkış noktamızın doğru bir nokta olduğunu geçen yıllar içinde artarak kanıtladı.

Bu sayıya ilk olarak "kök hücre endüstrisi"nden bir haberle başlamak istedik. Bilindiği üzere Amerika Birleşik Devletlerin'de bir yandan hücre üretim firmaları çoğalırken öte yandan kanıta dayalı olmayan girişimlerin önü Gıda ve İlaç Ajansının (FDA) çabalarıyla kesilmeye çalışılıyor. Bunun bir dengede tutulması gerekiyor, kuşkusuz. Ne tüm tedavi denemelerinin önünü kesmek iyidir, ne de her isteyen girişimcinin, hastaların çaresizliğinden kendilerine maddi çıkar sağlamak amacıyla sonu gelmeyen, tıbbi açıdan anlamlı bir yarar elde edilemeyen girişimleri yapmalarına izin vermek iyidir. Bu konu tarafımızdan yakından izlenmekte. FDA bir süre önce bu yönde bir tedavi girişimine onay verdi. Konuyla ilgili haberi **Dr. Nurseda Danışık** özetledi.

İkinci olarak **Dr. Hakan Coşkun** kendi deneyimlerinden de yola çıkarak mutasyonların ifade bulmadığı durumlara dikkate çeken bir yorumu kaleme aldı. Dr. Coşkun'un Boston'daki Çocuk Hastanesinde yapılan 150. yıl kutlamaları sırasında aldığı notlardan kaleme aldığı diğer yazısını da ilerleyen sayfalarda bulabilirsiniz. **Dr. Selda Kahveci Hayme** İsviçre'den bir grup araştırmacının süt dişi epitelinden elde ettikleri hücrelerden süt üretimi yaptıklarına ilişkin haberi **KHB** okuyuclarıyla paylaştı. Ardından yakınlarda yayınlanan çok önemli ve çok detaylı bir çalışmayı **Dr. İrem İnanç** kısaca özetledi. Çinli ve Amerikalı bilim insanları oluşturdukları kültür ortamıyla maymun embriyolarının 20. güne kadar gelişimini izledikleri çalışmayı Science dergisinde yayınladılar. Son yıllarda elde edilen bulgular nakil adayı olan pluripotent hücrelerde bazı ciddi mutasyonların olduğu yönünde sağlam kanıtlar sunmakta. Bu konuyu ele alan önemli bir derlemeyi **Dr. Ekin Baysal KHB** okurları için derledi. Konunun kapsamlı olması nedeniyle bu yazıya **KHB**'nin önümüzdeki 34. sayısında da devam edeceğiiz.

Kongreler ve Sempozyumlar bölümünde geçtiğimiz günlerde Hacettepe Üniversitesinde Prof.Dr. Petek Korkusuz ve Prof. Dr. Çiler Çelik Özenci'nin moderatörlüğünde yapılan 'Erkek infertilitesi için kök hücreler, She4He' başlıklı seminerler serisini **Dr. Pınar Şahin** ve **Arş. Gör. Nilgün Yersal KHB** okurları için özetlediler.

Son olarak; tüm sayılarımızda olduğu gibi son olarak **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı** yer alıyor.

34. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Haberler

Nurseda Danışık

Personalized Stem Cells Firması Osteoartritin Kök Hücrelerle FDA Onaylı Tedavisini Alan İlk Olgularını Duyurdu...

İnsanda yağ dokusu kökenli kök hücre firması olan ve Amerika Birleşik Devletleri'nde faaliyet gösteren *Personalized Stem Cells (PSC), Inc.* diz osteoartritinin kök hücre ile tedavisini amaçlayan FDA onaylı klinik çalışmasına ilk hastalarını kabul etmişti. Bu ilk girişim, VetStem Biopharma'nın bir yan kuruluşu olarak şirketin kuruluşunun birinci yıldönümünden kısa bir süre sonra geldi.

Temmuz 2019'da PSC, bir kişinin kendi yağ kökenli kök hücrelerinin osteoartritlerin tedavisinde kullanımıyla (otolog nakil) ilgili klinik denemeler yapmak üzere yeni bir ilaç başvurusu (*Investigational New Drug; IND*) için FDA onayını almıştı. FDA onaylı bu ilk klinik çalışmada, kök hücreler dizdeki osteoartriti tedavi etmek için kullanılmakta.

PSC, bu ilk klinik denemede 125 hastalık bir çalışmayı karşılayabilecek yetkinlikte, eğitimli ve nitelikli klinik deneme merkezleri belirledi.

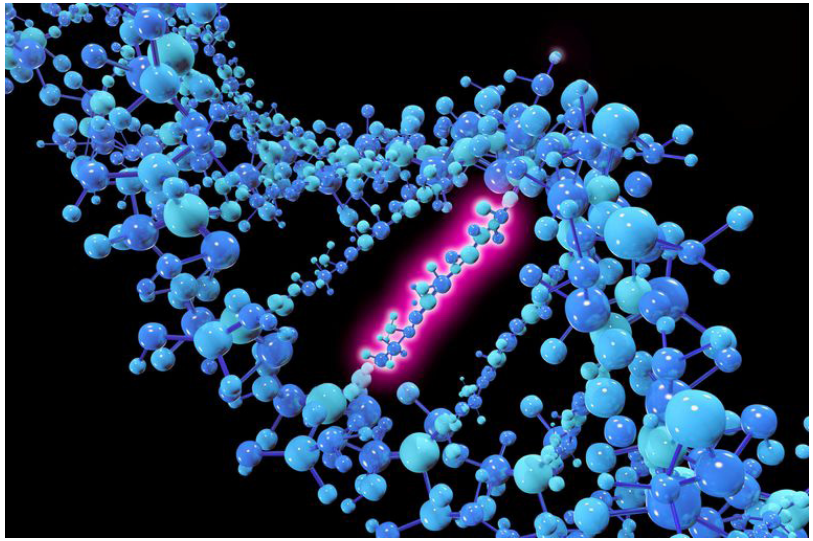
Devamı 4. sayfada

Haber-Yorum

Hakan Coşkun

Genetik Dengelenme: Bazı Mutasyonlar Göründüğü Gibi Olmayabilir!

Doğayı incelediğimizde kendi içinde bir dengenin var olduğunu görürüz. Buna örnek olarak üreticiler, tüketiciler ve ayrıştırıcılardan oluşan besin zincirini verebiliriz. Canlılar arasındaki enerji akışı bu üç grubun oluşturduğu bir düzen içerisinde meydana gelir. Besin zincirinde bir canlının azalması ya da



çoğalması döngüyü etkiler ve bütün dengenin bozulmasını neden olur. Örneğin, kertenkele sayısının azalması; çekirgelerin artmasına ve otların (üreticilerin) azalmasına neden olur. Bu durumu hücre düzeyine indirgediğimizde de bir dengeyle karşılaşmaktayız. Hücre içindeki denge bozulduğunda en sıradan örnek olarak karşımıza "kanser" çıkmakta. Bu düzene ve düzensizliğe neden olan etmenleri anlamak üzere makro ve mikro düzeyde araştırmalar yapılmakta. Bunlardan birisi de ilgili gen ya da genlerin hücre içindeki işlevlerini anlamak. Bu bağlamda, ilgili gen mutasyona uğratılarak (*knockout*) ya da transkripsiyon düzeyinde ifadesi baskılanarak (*knockdown*) hücre ve/veya doku üzerindeki etkileri araştırılmakta.

Bir genin işlevini öğrenmek üzere çalışmanın amacına bağlı olarak çeşitli model organizmalar kullanılmakta. Geçtiğimiz yıllarda zebra balığı, *Arabidopsis thaliana* (turpgiller ailesinden bir tere türü), fare ve hücre hatları model alınarak yapılan çalışmalarda, bazı genlerin mutant haliylr transkripsiyon düzeyinde baskılanmış hali arasında fenotip farklılıklarının ortaya çıktığı rapor edildi. Mutasyon sonrası herhangi bir fark gözlenmez iken, transkripsiyon düzeyinde baskılanmada sıra dışı bir fenotipe rastlanması, gen ifadesini baskılamak üzere kullanılan antisens RNA'ların hedef dışı etkilerinden kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlandı.

Geçtiğimiz yıllarda **Dr. Didier Stainier** ve ekibi [Nature 524, 230–233, 2015] zebra balığı ile yaptıkları çalışmada damar sisteminde rol oynağı bilinen *egfl7* geninin mutantlarında bir etki gözlemlenmezken, *egfl7*'nin ifadesi morfolino (antisens RNA) ile baskılandığında damarlarda bozukluk saptadılar. Yaptıkları kurtarma çalışmalarıyla kullanılan antisens RNA'nın herhangi bir hedef dışı etkisi bulunmadığını gösteren araştırmacılar, *egfl* geninin yokluğunda (mutasyon sonucunda) sistem içindeki rolünün başka bir gen tarafından kısmen üstlenildiğini buldular. Sonuç olarak, DNA düzeyindeki "**bir bozukluk sistem tarafından kısmen dengelenebilirken, transkripsiyon düzeyinde dengelen(e)memekte**".

Sonrasında bu genetik dengelenme ya da "transkripsiyon adaptasyonu" olarak adlandırılan durumu moleküler düzeyde anlamak adına çalışmalarını sürdüren Dr. Didier Stainier ve ekibi, zebra balığında ve farede yaptıkları transkripsiyon adaptasyonu analizleri sonucunda, knockout modellerde değişen fenotipin gözlenebilmesi için mutant RNA'nın tamamen bozulması gerektiğini rapor ettiler. Bir başka deyişle; mutant genin transkripsiyonu baskılandığında yani mRNA üretilmediğinde sistem ken-

dini dengeleyemezken, mutant mRNA'nın sistemi kısmen dengeleyebildiğini gösterdiler [Nature 568, 193–197, 2019]. Bu çalışmaların sonrasında geçtiğimiz Kasım ayında Nature Methods'da bu durumu protein düzeyinde ele alan bir çalışma yayınlandı [Nat Methods 16, 1087–1093, 2019]. **Dr. Arne Smits ve ark**.'nın hücre hattı üzerinde yaptıkları çalışmada CRISPR/Cas9 tekniği kullanarak mutasyona uğrattıkları bazı genlerin hücrelerde herhangi bir fenotipe neden olmadığı gözlendi. CRISPR/Cas9 yöntemi ile mutasyon sonucunda gene dizisi üzerinde "çerçeve kayması" olarak adlandırılan mutasyon tipinin gerçekleştiğini belirten araştırmacılar, çerçeve kasması sonucunda sistemin protein üretmeye devam ettiğini ve üretilen bu küçük protein parçacığının (truncated protein) kısmen işlevini koruduğu, bu biyolojik esnekliğin hedefe yönelik etkisini devam ettirdiğini gösterdi.

Önceki çalışmalara baktığımızda, ilk kez 1932'de Drozofila'da doz dengelenmesinin rapor edildiğini ve 1969'da mayalarda yapılan mutasyon çalışmasında da ilk olarak genetik dengelenmeden söz edildiğini görüyoruz. O zamandan bu yana genetik dengelenme birçok kez gösterilmesine karşın, moleküler mekanizma hakkında oldukça kısıtlı bilgiye sahiptik. Birbiriyle bağlantılı olarak ele aldığımız bu üç çalışma bizlere bilimin ve biyolojinin nasıl çalıştığını gösteren mükemmel örnekler. Mutasyon sonrasında, DNA düzeyinde kısmen bir kurtarılma mümkün iken transkripsiyondan sonra sistem bu durumu dengeleyememekte. Bu bağlamda, yapılan işlevsel deneylerin daha titiz bir analiz gerektirdiğini söyleyebiliriz. Özellikle farklı proteinlerin bir araya gelerek oluşturdukları protein komplekslerinin işlevleri göz önüne alındığında işleve yönelik çalışmaların daha dikkatli incelenmesi gerekmekte. Belki de şimdiye kadar mutasyon sonucunda herhangi bir etkisi olmadığını gözlemediğimiz bazı proteinlerin işlevleri sistemin içinde bir şekilde dengelemiş olabilir. En önemlisi, günümüzde artık genetik değişimler/değiştirmeler model organizmalar dışında insan hücreleri ve embriyoları üzerinde de yapılmakta. Yukarıda yapılan çalışmalar ışığında, bir gene dokunduğumuzda görünür sonuçlarının dışında, öngöremediğimiz başka etkilerinin de olduğunu göz önünde bulundurmakta fayda var. Biyolojinin sırları bizi bekliyor ama bu sırları çözmek sanıldığı kadar kolay olmayabilir.

Haberler

Selda Kahveci Hayme

Dişlerden Süt Üretimi! Dental Kök Hücreler Süt Üreten Hücrelere Dönüştürüldüler...

Dişlerin kök hücreleri, meme bezlerinin yenilenmesine katkıda bulunabilir. Zürih Üniversitesi'ndeki araştırmacıların farede yaptığı yeni bir araştırmaya göre diş epiteli kök hücreleri, meme bezlerine nakledildiğinde meme kanalları ve hatta süt üreten hücrelere dönüşebiliyor. Böylece bunun meme kanseri hastalarında cerrahi sonrası doku rejenerasyonu için kullanılabilir olabileceği belirtilmekte. Yetişkin kök hücrelerin dokuya özgü çeşitli hücre türlerini üretme yeteneği, tıp ve diş hekimliği araştırmalarında büyük ilgi çekmekte. Bu hücreler hasarlı hücrelerin yerini alabilir ve bu nedenle doku rejenerasyonu için klasik tıbbi tedavilere iyi bir alternatif oluşturabilir. Bu, gelecekte dokuların ve organların yeniden oluşumuna bile izin verebilir.

Meme bezini yenileyebilen diş kök hücreleri...

Diş epiteli kök hücreleri, dişlerin tüm epitel hücre tiplerini üretebilir. Ancak, bu hücrelerin dişle ilgisi olmayan hücre türlerini üretip üretemediği henüz belli değildi. Cells dergisinde yayınlanan son makalede [Cells, 8; E1302, 2019], Zürih Üniversitesi Oral Biyoloji Enstitüsü (UZH) profesörü **Dr. Thimios Mitsiadis** liderliğindeki bir araştırma ekibi, ilk kez, genç farelerin sürekli büyüyen kesici dişlerinden izole edilen epitel kök hücrelerinin, dişi farelerde meme bezleri oluşturabildiklerini gösterdiler.

İlk deneylerde, meme kökenli tüm hücreler çıkarılıp, ardından diş epiteli kök hücreleri ve meme bezi epiteli hücreleri doğrudan meme bezlerinin normal olarak geliştiği bölgelere enjekte edildi. Araştırmacılar, nakledilen diş kök hücrelerinin hayvanların meme bezi yağ yastığı içindeki takiplerini sağlayan ileri genetik, moleküler ve görüntüleme araçlarını kullandılar. Mitsiadis, "*Sonuçlar, diş kök hücrelerinin meme bezinin yenilenmesine katkıda bulunduğunu ve tüm meme hücre popülasyonlarını ve hatta daha çarpıcı şekilde süt üreten hücreleri üretebildiğini göstermektedir*" diyor. "*Bu çalışma, yalnızca diş dokuları için değil aynı zamanda vücudun diğer dokularını üretmek için de diş epitel kök hücrelerinin olağanüstü plastisitesini göstermekte. Ayrıca bu bulgular, diş kök hücrelerinin rejenerasyon kapasitesinde rol oynayan hücresel ve moleküler mekanizmaların anlaşılmasına da büyük bir katkı sağlar* "diye de ekliyor Dr. Mitsiadis.

Kök hücre bazlı tedaviler, meme dokusu yenilenmesinde kullanılabilir.

İkinci deney aşamasında, diş epitel kök hücreleri, meme epitel hücreleri olmadan tek başına enjekte edildi. Bu durumda, diş kök hücreleri de dallanma gösteren küçük kanal sistemleri oluşturabildiler. Ancak, bu durum kistlerin oluşumu ile sonuçlandı. Çalışmanın ortak yazarlarında Birleşik Devletler Oral Biyoloji Enstitüsü'nden Pierfrancesco Pagella ise "*Bu plastisite, diş epitel kök hücreleri için benzersiz olabilir. Çünkü şu ana kadar incelenen meme dışı diğer tüm epitel hücreleri, meme epitel hücrelerinin desteği olmadan hiçbir zaman meme kanalı üretme yeteneğini gösteremedi*" şeklinde yorum yapıyor.

En ciddi patolojik durumlardan birisi, genellikle ameliyatla tedavi edilen meme kanseridir. Bu çalışma ile Mitsiadis, "*Diş epitel kök hücrelerinin, meme bezi hücrelerini değiştirebildiğini keşfettiğimizde, gelecekte meme rejenerasyonu için kullanılabilecek kök hücre bazlı tedaviler geliştirmek için yeni yollar açılıyor*" ifadesini kullanıyor.

Pluripotent Hücreler

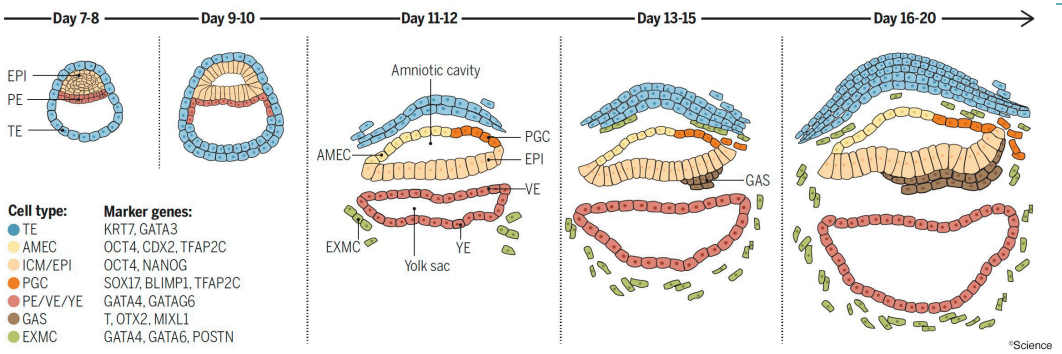
İrem İnanç

Embriyo Kültürünü 20 Güne Kadar Uzatmak Mümkün Oldu!

Bu yazıda sizlere gelişim biyolojisi üzerine çok önemli çalışmaları olan **Dr. Lewis Wolpert**'ın vermiş olduğu bir röportajda söylediği şu cümlelerle başlamak isterim "*Ne doğum, ne evlilik ne de ölüm… hayatınızdaki en önemli süreç gastrülasyondur*" [Development, 142: 2547-8, 2015]. Peki, gastrülasyonu bu kadar önemli kılan nedir? Bir insan embriyosunu tuba uterina'nın ampulla parçasında ovosit ve spermin bir araya gelerek oluşturduğu zigot aşamasıyla yaşama başlar. Zigot uterusa doğru implantasyon sürecini tamamlamak üzere hareket ederken bir yandan da bir seri bölünmeler geçirir. Bu bölünmeler sonucunda embriyoyu oluşturacak iç hücre kitlesi, plasenta gibi embriyonun eklentilerini oluşturacak olan dış hücre kitlesi özelleşir. İmplantasyon süreci tamamlandıktan sonra bir embriyonun tüm doku taslaklarının temelinin atıldığı gastrülasyon denilen süreç başlar. Gastrülasyon, embriyonun endometriyuma implantasyonunun tamamladığı dönemde meydana geldiği için in vitro koşullarda taklit edilmesi oldukça güç bir süreç. O nedenle, bu süreci daha iyi anlamak için deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar oldukça değerli. Fakat türe özgü farklılıklar insan embriyogenezinin özellikle de gastrülasyon gibi süreçlerin halen bir sır olarak kalmasına neden olmakta.

Peki, bugüne kadar insan embriyosu üzerine yapılmış çalışmalar var mı? Elbette… 2016 yılında çok önemli iki çalışmada, dondurup çözme işleminden sonra blastokist aşamasındaki embriyolar kültür ortamında yaklaşık 14 güne kadar incelenebilmiş [Deglincerti ve ark, Nature, 2016; Shahbazi ve ark Nat Cell Biol, 2016]. Etik kurallar da çalışmanın yapıldığı ülkelerde insan embriyosu üzerinde ancak 14 güne kadar çalışmaya izin vermekte. Her ne kadar araştırmacılar 14 günlük bir kültür ortamı oluşturup, amniyon ve vitellus kesesi oluşumunu gözlemlemiş olsalar da 12. günden sonra bu yapıların büzüştüğünü ve embriyoların organizasyonlarının bozulduğunu belirtmekteler. Bu nedenle süreci daha iyi taklit edebilecek kültür ortamına gerek duyulmakta.

Bu noktadan hareket eden Çinli ve Amerikalı bilim insanları oluşturdukları kültür ortamıyla embriyolarının 20 güne kadar gelişimini izledikleri çalışmayı Science dergisinde yayınladılar [Niu ve ark, Science, 15; 366 (6467), 2019]. Bu çalışmada maymun (*Cynamolgus* türü) embriyoları kullanılmış. Maymun embriyoları üzerinde çalışmalarının nedeniyse insan embriyosunun gelişimini anlamada iyi bir model olması [Enders ve ark. Am J Anat, 177: 161-85, 1986]. Bu çalışmada önce dişi maymunlar süperovulasyon sürecine sokulmuş, sonra ovositleri toplanmış, intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu yöntemiyle döllenmiş ve iki pronükleus görünümü başarılı bir gebeliğin gerçekleştiğini kanıtı olarak kabul edilmiş. Blastokist evresinde hyalüronidaz uygulamasıyla embriyoların zona pellusidasını ortadan kaldırılmış. Bu aşamadan sonra 2016'da insan embriyosu



Şekil 1. *Maymunun implantasyon sonrası embriyogenez sürecinin in vitro kültür koşullarındaki şeması. ICM, iç hücre kitlesi; EPI, epiblast; PE, primitif endoderm; TE, trofoektoderm; AMEC, amniyon epitel hücresi; PGC, primordiyal germ hücresi; VE, visseral endoderm; YE, Vitellus kesesi endodermi; EXMC, ekstra embriyonik mezenşim hücresi; ve GAS, gastrülasyondaki hücre.*

kültüründe kullanılan IVC1 ve IVC2 (*in vitro culture*) medyumlarını birkaç değişiklikle kullanmışlar. Bunlardan en belirgini insan embriyo kültür koşulları için Advanved DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Ham's F-12) kullanılırken bu çalışmada maymun embriyosu için daha uygun olduğu öngörülen DMEM/F12'nin kullanılması. Bir diğer önemli nokta, araştırmacıların apopitozu önlemek için ROCK (*Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase*) inhibitörü kullanmaları. 10. günde implantasyon aşamasına gelmiş embriyoların sayısı 104 iken ve bu günden sonra blastokist kavitesinin gelişimini 20. güne kadar sürdürebilen embriyo sayısı 46 olarak belirtilmiş. 7. günden 20. güne kadar yapılan incelemede araştırmacılar özellikle 15. ve 17. günlere dikkat çekmekte. 15. günde embriyo kesesinin etrafında villus benzeri yapıların gelişmeye başladığı giderek çoğaldığı ve genişlediği izlenmekte. Yine bu günlerde amniyon, epiblast, visseral endoderm ve kalıcı vitellus kesesinin bu kültür koşullarında geliştirilebildiğini göstermekteler. Bu kadar büyük iddialar söz konusu olunca elbette bu yapıları özgün belirteçlerle göstermeniz gerektirmekte. Çalışmanın bu kısmında araştırmacılar epiblast, hipoblast, dış hücre kitlesi, embriyon dışı mezenkim gibi oluşumları immünfloresan boyamalarla bizlere sunmaktalar. Gastrülasyonun göstergesi olan primitif çizgi oluşumuna özgü işaretlemelerin yanında primitif çizgi indüksyonunda rol alan Wnt sinyalinin de etkin olduğu gösterilmiş. Bunun yanında amniyon ve vitellus kesesinin gelişmesi çalışmanın güçlü yanlarından. Çalışmanın en ilginç ve belki de en iddialı bulgularından biri de primordiyal germ hücrelerinin amniyon epitelinde izlenmiş olması. Bu sebeple de bu hücrelerin amniyondan köken alabileceği düşünülmekte.

Araştırmanın bir diğer güçlü yanıysa, son yıllarda yüksek etki faktörlü dergilerde yayınlanan çalışmalarda gördüğümüz bir tekniğin bu çalışmada da kullanılmış olması. "Bir hücreden RNA dizileme" tekniğinin sayesinde embriyoların 9., 11., 13., 15., 17., 19. ve 20. günlerde hücreleri tek tek ayrıştırılıp RNA dizilemesi yapılmış. Bu analiz sayesinde hücrelerin tek tek gen profilleri çıkarılmış, hücrelerin birbirleriyle ilişkileri bu tekniğe uygun bir haritalama yöntemiyle ortaya konmuş. Bu analizlerden çıkan ilginç sonuçlardan birisi, trofoektoderm hücrelerinin iki gruba ayrıldığı. Öyle ki; sitotrofoblastların TCEAL4 (*Transcription Elongation Factor A Like 4*), sinsityotrofoblastların ise GCM1 (*Glial Cells Missing Transcription Factor 1*) ifadelerinin daha yüksek olduğu belirtilmiş. Buna benzer biçimde, araştırmacılar primitif endoderm hücrelerini de ikiye ayırarak bir grubun APOA2 (*Apolipoprotein A2*) ifadesinin daha yüksek olduğunu, lipid metabolizması ve taşınımında görevli olabileceğini; diğer grubun ise CXCR4 (*C-X-C Motif Chemokine Receptor 4*) ifadesinin daha yüksek olup transkripsiyon ve protein sentezinde görev alabileceğini belirtmişler. Bunun yanında; embriyon dışı mezenkim hücreleriyle primitif endoderm hücrelerinin benzer gen ifadesinin olmasını, embriyon dışı mezenkim hücrelerinin primitif endodermden köken alabileceğinin göstergesi olarak sunmaktalar. Amniyon epitelinin de embriyon dışı mezenkim hücreleriyle benzer bir profil göstermesi bu iki hücre tipinin gelişimsel olarak bir ilişkisinin olabileceğini de göstermekte. İmplantasyon öncesi ve sonrası epiblast hücrelerinin analizlerine bakıldığında, erken dönemdeki epiblast hücrelerinde oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyon solunumu gibi süreçlere katılan genlerin ifadelendiği, daha geç dönemdeki epiblast hücrelerindeyse ribozom biyogenezi ve translasyonunun etkin olduğu ortaya konulmuş. Gastrülasyon aşamasındaki hücrelerde embriyonun morfogenezinde rol oynayan genlerin etkin olduğu, fakat mitokondriyonun oksidatif metabolizmasının bu hücrelerde etkin olmadığı belirtilmiş.

Tüm bu verileri üst üste koyup tek bir sonuç çıkartmak oldukça güç. Fakat görüyoruz ki, artık klasik olarak bildiğimiz hücreler kendi içlerinde çeşitli kategorilere ayrılıyor ve farklı işlevlerde etkin olabilecek gen ifadeleri sunuyor. Her hücrenin tek tek adeta "parmak izine" baktığımız bugünlerde öykünün nasıl başladığını anlamaya, nasıl gelişeceğini ve nasıl sonuçlanacağını ise belirlemeye çalışıyoruz.

Genç Gözlemler

Hakan Coşkun

Bilim, Hayalleriniz Kadar Sınırlıdır!

Boston Çocuk Hastanesi bu sene kuruluşunun 150. yılını kutluyor. Bu bağlamda kampüs içerisinde çeşitli bilimsel ve sosyal etkinlikler düzenlenmekte. Bunlardan birisi de Boston Çocuk Hastanesi Kök Hücre Programının 15. yılı anısına düzenlediği Kök Hücre Sempozyumuydu. Geçtiğimiz Ekim ayında **Dr. Leonard Zon** başkanlığında düzenlenen toplantıya yoğun bir ilgi vardı. Sempozyumun açılış konuşmasını yapan hastane müdürü **Kevin Churchwell,** etkinlik nezdinde Boston belediye başkanının 21-26 Ekim tarihlerini "**kök hücre haftası**" olarak ilan ettiği haberini verdiğinde salondan gurur dolu bir alkış aldı. Yöneticilerin bilime ve kök hücre gibi oldukça özel bir alana önem vermesi bilimde farkındalık yaratmak adına övgüye değer bir durum. Sempozyumun programı oldukça zengindi. Embriyonik kök hücrelerden organoidlere kadar geniş bir konu yelpazesinin katılımcıları tatmin ettiğini düşünüyorum. Sempozyumun kapanış konuşması uyarılmış pluripotent kok hücrelerin (uPKH) mucidi **Dr. Shinya Yamanaka** tarafından yapıldı. uPKH alanında yapılan araştırma ve uygulamalar hakkındaki son gelişmeleri bizimle paylaşan Dr. Yamanaka, oldukça umut verici çalışmalardan bahsetti. Zaman zaman bültenimizin haberler kısmında yer verdiğimiz çalışmaları da ele alan konuşmasında, bu haberleri ilk ağızdan duymak oldukça heyecan vericiydi…

Günümüzde uPKH'ler yenileyici tıp ve hastalıklara karşı ilaç tarama-uygulama alanlarında kullanılmakta. İlk olarak 2014 yılında **Dr. Masayo Takahashi**'nin uPKH'lerden elde edilen retina tabakasının insana nakliden başlayan serüven son olarak geçtiğimiz aylarda **Dr. Koji Nishida** ve ekibinin uPKH kaynaklı korneayı dünyada ilk kez bir hastaya naklettiklerini açıklaması ile devam ettiğini biliyoruz (**bkz. KHB sayı: 32**). Hastanın kendisinden elde edilen hücrelerle kişisel uPKH üretmede karşılaşılan yüksek fiyat ve zaman kaybının düşürülmesi amacıyla, uPK hücresi bankacılığının kurulduğunu söyleyen Dr. Yamanaka, böylece anonim olarak bağışlanan somatik hücrelerden geliştirilen uPK hücrelerini uygun alıcılara nakledilebileceğini belirtti. Bir kişiden diğerine yapılan nakillerinde doku uyumu problemini CRISPR\Cas9 yöntemi ile ilgili HLA antijenlerini bloklayarak herkese yetebilecek uPK hücre hattının elde edildiğini söyleyen Dr. Yamanaka, şu anda GMP (iyi üretim uygulamaları) koşullarında üretime başlandığı müjdesini verdi. Belki de 8-10 yıl sonra kişisel uPK hücrelerinin piyasada olacağını paylaştı. İlaç geliştirme alanındaki çalışmalardan da söz eden Dr. Yamanaka, TAKEDA firması ile ortaklaşa yaptıkları ALS hastalarına yönelik ilaç denemelerine de değindi. Şimdiye kadar 31 farklı hastadan aldıkları örnekler üzerinde 56 farklı bileşik denendiğini söyleyen Dr. Yamanaka, bazı bileşenlerin olumlu yönde etki gösterdiğini belirtti. Umarım en kısa süre klinik etkileri de bizlerle paylaşılır. Bununla birlikte günümüzde özellikle immün terapi

yönteminin baş rol oyuncusu olan CAR (kimerik antijen reseptör)-T hücrelerinin uPK hücrelerinden elde edilmesi çalışmalarına da başladıklarını belirtti. Mevcut yöntemlerin oldukça pahalı olduğunu belirten Dr. Yamanaka, ileride uPK hücre teknoloji ile bu durumu çok daha hızlı ve ucuza gerçekleşebileceğini sözlerine ekledi.

Yukarıda değindiğim konular günümüzde popüler olduğu için olağan gelebilir. Ama yıllar önce Dr. Yamanaka, Amerikan'dan cebinde "*erişkin bir fibroblast hücresini embriyonik bir kök hücreye nasıl dönüştürebilirim?*" sorusu ile Japonya'ya dönüp konuyu meslektaşlarıyla paylaştığında, ona bunun imkânsız olduğunu söylemişler; Dr. Yamanaka da "*sadece biraz zaman alacak*" diye esprili bir şekilde yanıt vermişti. Çalışması, gönderdiği ilk dergi tarafından reddedildi ve sonuç olarak 2006'da Science dergisinde yayınlandı. Hepinizin bildiği gibi altı yıl gibi kısa bir süre sonra da bu çalışmasıyla Nobel ödülüne layık görüldü. Makalenin hakemlerinden birinin sempozyumun başkanı Dr. Leonard Zon olduğunu sunum esnasında öğrendik. Şakalaştılar kendi aralarında. Dr. Yamanaka'yı dinlerken lisans döneminde duyduğum bir söz aklıma geldi: "*Bilim, hayalleriniz kadar sınırlıdır*". Bugün karşımda bu sözün gerçeğe dönüşmüş halini görmek, beni heyecanlandırdı.

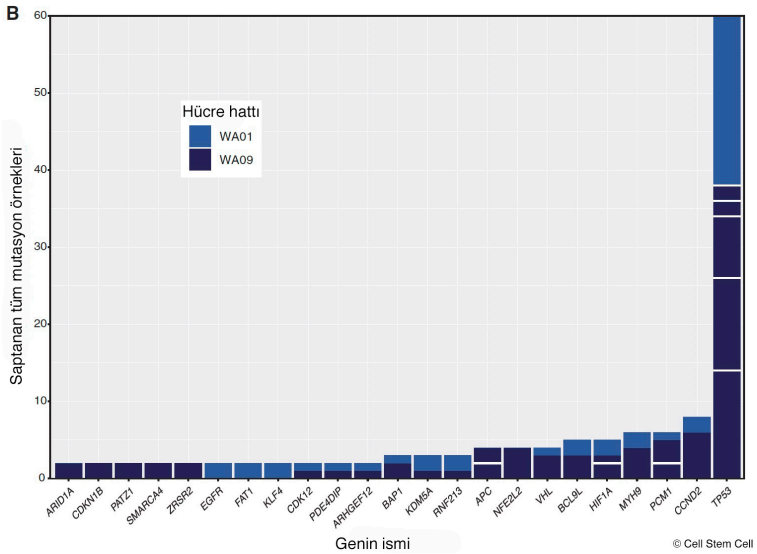
KHB okurlarıyla paylaşmak istedim...

Pluripotent Hücreler

Ekin Baysal

İnsan Pluripotent Kök Hücrelerinde Saptanan Kanserle İlişkili Mutasyonlar

İnsan pluripotent kök hücreleri (PKH) kendini yenileme ve tüm embriyonik germ tabakalarına farklılaşabilme kapasitesine sahip olmalarıyla bilinirler. Bu özellikleriyle hastalık modelleme ve rejeneratif tıp alanları için umut vadeden birer kaynaktır. Rejeneratif tıpta kullanmak için gerçekleştirilen uygulamalarda bu farklılaşmamış kök hücrelerin tekrarlayan pasajlarla uzun süre kültürde saklanması gerekir. Ölümsüzleştirilmiş hücre hatlarının aksine PKH genom bütünlüğünü koruyan normal hücreler olarak tanımlansalar da çalışmalar gösteriyor ki uzamış pasajlar sırasında kromozomlarda anöploidi, kopya sayısı değişiklikleri ve nokta mutasyonları da dahil olmak üzere çeşitli anomaliler kazanmaktalar. Örneğin insanda embriyonik kök hücre (EKH) kültürlerinin karyotip incelemesinde kromozom 12 ve 17q kazanımları saptanmış durumda [Draper ve ark. Nat Biotechnol, 2004].



Somatik kökenleri nedeniyle normal diploid genoma sahip oldukları varsayılan insan uyarılmış pluripotent kök hücrelerin (uPKH) de kayda değer sayıda tam ve kısmi kromozom anomalileri taşıdığı gösterildi. Bu kopya sayısı anomalileri en sık kromozom 12, 17 ve X'te tanımlandı. Kuşkusuz, bu anöploidiler uPKH'nin farklılaşma kapasitesini kısıtlayabilir ve tümörojenitesini artırabilir. Özellikle trizomi 12, uPKH'nin gen ifade profilini etkilemekte. Kromozom 12 duplikasyonları hücre döngüsüyle ilişkili genlerin zenginleşmesiyle sonuçlanmakta. Germ hücreli tümörlerdekine benzer biçimde transkripsiyonu uyarmakta, böylece hücrelerin proliferasyon hızı artmakta. Sonuçta içinde pluripotent kök hücre bulunan teratom oluşumu indüklenmekte [Ben-David ve ark, Nat Commun, 2014]. Saptanan bu kromozom anomalilerin kaynağı olabilecek üç neden öne sürülmekte. Bir kısmı ebeveynlerin somatik hücrelerinden kaynaklanırken kayda değer bir kısmı da kültür süreçlerinde ortaya çıkmakta. Uzun süreli pasajlarda bu hücreler rastlantısal olarak kromozom anomalileri kazanmakta. Daha sonra bu anomaliler onlara bir büyüme avantajı sağlamakta; böylece hızla kültür ortamını ele geçirmekte.

Bunların dışında, erken PKH pasajlarında en baştan itibaren saptanan bazı anöploidilerin kaynağının yeniden programlama sürecinde oluşan seçilim baskısı olduğu düşünülmekte [Mayshar ve ark, Cell Stem Cell, 2010]. Subkromozom kopya sayısı değişikliklerine de pluripotent hücrelerde pluripotent olmayanlardan daha sık rastlanmakta. Genomun belli bölgelerinde yoğunlaşan bu değişiklikler EKH'de ve uPKH'de farklıdır. EKH'de az sayıda örnekte çok sayıda duplikasyon bulunurken uPKH daha az sayıda delesyon görülmekte. uPKH'de yeniden programlama süreci tümör baskılayıcı genlerin delesyonuyla, kültürde geçirilen süre ise onkogenlerin duplikasyonuyla ilişkilendirilmiş durumda [Laurent ve ark, Cell Stem Cell, 2011].

Bilinen transkripsiyon faktörlerinin yeniden programlamadaki rolü sayesinde yetişkin somatik hücreler uPKH'ye dönüşür. Ancak bu işlem sonrasında nokta mutasyonları meydana gelmekte. Yani hücrede epigenetik değişimlerin yanında genetik değişimler de ortaya çıkmakta. Bu mutasyonların çoğu eş anlamlı olmayan, anlamsız ya da kesimlenme varyasyonlarıdır [Gore ve ark, Nature, 2011].

Devamı 34. sayıda

Baş tarafı 1. sayfada

Bu merkezler şu anda San Diego ve Los Angeles, Portland, Chicago ve New Jersey'de bulunmakta. Bu merkezlerinin sayısının önümüzdeki aylarda artması öngörülüyor.

PSC icra komitesi başkanı Michael Dale, "*Diz artritinden şikayeti olan hastalardan gelen yanıtlardan, ülke çapındaki katılımcı sayısından ve kliniklerin gayreti ve heyecanından memnuniyet duyuyoruz. Ortopedik yaralanmalar için kök hücreleri kullanacağımız ek klinik çalışmalara hazırlanırken bu ilk klinik çalışma için kayıtların hızla artmasını bekliyoruz.*" şeklinde konuştu.

Bu çalışma, alanında yetkin hekimlerinin osteoartritten etkilenen hastalara FDA uyumlu ve kaliteli hücre tedavisi sunmalarını sağlayacak olan planlı klinik çalışmaların ilki. PSC, ortopedi alanındaki kullanımlarla başlayan ve gelecekte travma gibi diğer tıbbi durumlara doğru genişleyen bir dizi FDA onaylı klinik çalışma yürütmeyi planlıyor.

PSC, hastalara kök hücre tedavisini uygulamak için FDA'nın güvenlik ve etkinlik standartlarının sağlanması adına hücre üretimi, kalite testler ve klinik çalışmalar üzerine oluşturduğu düzenlemelere ve kurallara uygun bir şekilde çalışmaktadır. PSC, Michael Dale ve bilim danışmanı Dr. Robert Harman tarafından San Diego (California) yakınlarında kurulan özel bir biyofarmasötik şirketi. Bu iki isim aynı zamanda *VetStem Biopharma*'nın ortak kurucuları ve girişimcileri. PSC, rejeneratif tıp alanında yetmişten fazla ürünün patentini lisanslamış durumda.

Kongreler, Sempozyumlar

Pınar Şahin, Nilgün Yersal

Erkek İnfertilitesi İçin Kök Hücreler "She4he"!...

KHB'nin bu sayısında sizlere "**Erkek infertilitesi için kök hücreler, She4He**" seminerinden söz etmek istiyoruz. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin ev sahipliğinde 11-13 Aralık 2019 tarihlerinde düzenlenen bu seminer, Hacettepe, Akdeniz ve Pittsburgh Üniversiteleri ortaklığıyla gerçekleştirildi. Erkekte infertilite ve kök hücre terapisi alanında çalışan araştırmacıların bir araya geldiği ve bu alandaki güncel bilgilerin paylaşıldığı ve tartışıldığı konferans tadında bir toplantıydı. Öncelikle sizlerle She4He öyküsü nasıl başladı paylaşmak isteriz. Birleşmiş Milletler elçisi ve Harry Potter filminin kadın kahramanı Emma Watson'ın söylediği gibi "*İkimiz de birbirimize destek olmadıkça asla uçamayacağız!*". "**HeForShe**" hareketi Birleşmiş Milletler tarafından cinsiyet eşitliği için cesur, görünür ve birleşmiş bir güç oluşturmak amacıyla kadınlarla dayanışma içinde birlikte durmak üzere tüm erkeklere ve her cinsten insana bir çağrı olarak başlatılmıştı. Benzer bir ilham, bilimsel araştırma platformuna taşınarak Türkiye'den erkekte infertilite ve kök hücre çalışmaları yürüten 4 bilim kadını, bu çalışmaları uluslararası düzeye ulaştırmak ve genç bilim insanları ile paylaşmak için Pittsburgh Üniversitesi ile işbirliği

yaptı. TÜBİTAK 2214-A doktora sırası araştırma bursu desteği ile **Dr. Pınar Şahin** ve **Arş. Gör. Nilgün Yersal** bu alanda oldukça kapsamlı çalışmaların yapıldığı bir enstitü olan Pittsburgh Üniversitesi Magee-Womens Araştırma Enstitüsü'nde doktora tezlerini tamamladı. Pittsburgh Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum bölümü öğretim üyesi ve Magee-Womens Araştırma Enstitüsü direktörü olan **Prof. Dr. Kyle Orwig**, erkek infertilisinde tedaviye giden yolda gerçekleştirdiği başarılı çalışmalarla dünyanın önde gelen isimlerinden. Prof. Dr. Kyle Orwig bu alandaki çalışmalarını bizlerle paylaşmak üzere seminerimizde davetli konuşmacıydı. Toplam 3 gün süren ve farklı illerden birçok araştırmacının katıldığı, değerli hocalarımızın temel bilimler ve klinik bilimler açısından erkek infertilisinin nedenlerinin belirlenmesi ve tedavisi için neler yapabiliriz sorusuna yanıt bulabilmek için toplantımızda neler konuşuldu? Toplantının açılış konuşması Hacettepe Üniversitesi rektörü **Prof. Dr. Haluk Özen** tarafından gerçekleştirildi. Üroloji AD öğretim üyesi Prof. Dr. Haluk Özen erkek infertilisini klinik açıdan değerlendirerek tedavi alternatiflerinin bulunmasının klinik ve temel bilimlerin birarada çalışmasıyla daha etkili ve başarılı olacağını bizlere bir kere daha hatırlattı. Özen'in konuşmasının ardından Dr. Kyle Orwig, erkek infertilite tedavisinde gen terapinin rolünü değerlendirdi. Bu sunumunda, CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisiyle androjen reseptör defekti olan Sertoli hücrelerinde mutasyonun nasıl düzeltildiğini bizlerle paylaştı. Bununla birlikte, Dr. Kyle Orwig "Çocukluk çağı kanser hastalarında fertilitenin korunmasında nasıl bir yol izlemeliyiz?" başlığı altında bizlerle bu konudaki çalışmalarını paylaştı. Maymun testislerinin dondurma çözme sonrası otolog olarak graft edilmesi sonrası dünyaya gelen ilk bebek olan Grady'i bizlerle tanıştırdı. Danışman hocalarımız **Prof. Dr. Çilek Çelik Özenci** ve **Prof. Dr. Petek Korkusuz** ulusal bakış açısıyla erkekte infertiliteyi değerlendirdi ve uluslararası ortak çalışmalarımıza devam edebilmek için izleyebileceğimiz yollar hakkında katılımcıları bilgilendirdi. Farklı fikirlerin sunulduğu seminerde erkekte fertilitenin korunması için izleyeceğimiz yollar tartışıldı. Biz, Dr. Orwig danışmanlığında gerçekleştirdiğimiz doktora tezlerimizi sunarak bilimsel açıdan kazandıklarımızı paylaşmanın yanı sıra, genç araştırmaların yurtdışına gitme konusunda ve bilimde farklı bir bakış açısı kazanmaları konusunda onlara bir ışık tutmaya gayret ettik. Dr. Pınar Şahin "*İnsan spermatogonyal kök hücrelerinin devamlılığının ve ekspansiyonunun in vitro koşullarda sağlanması*" başlığı ile erkek infertilite tedavisinde spermatogonyal kök hücrelerin kullanılabilmeleri amacı ile, bu hücrelerin işlev kaybı olmadan uzun süre çoğaltılabilmeleri ve transplantasyon sonrası spermatogenezi tekrar sağlayabilmeleri için gerekli koşullar hakkında katılımcıları bilgilendirdi. Arş. Gör. Nilgün Yersal "*MCM8 knockout infertil farelerden elde edilen indüklenmiş kök hücrelerde CRISPR/Cas9 ile mutasyonun düzeltilmesi*" başlığıyla azospermi modelinde infertileye neden olan mutasyonun CRISPR/Cas9 yöntemi ile düzeltilmesinden ve gen terapiyle mutasyonun düzeltildiği indüklenmiş kök hücrelerden primordial germ hücresinin farklılaştırılmasından söz etti. Erkek infertilisinde sperm eldesinin mümkün olmadığı durumda, hastaların somatik hücrelerinden sperm eldesine gitme yolunda, CRISPR/Cas9 teknolojisinin infertiliteye neden olan mutasyonu düzeltmede etkin bir araç olduğu vurgulandı. Konferans tadında gerçekleşen seminerde her sunum sonrası katılımcıların yorumları ve soruları ile bilgiler, deneyimler paylaşıldı ve beraber bu yolda ilerlemek için bu toplantıların devamının getirilmesine karar verildi. Siz de erkek infertilisinde bizlerle birlikte başlayan bu yolculuğa devam etmek isterseniz bizlere lütfen ulaşın. Bilgilerimizi ve deneyimlerimizi sizlerle paylaşmaktan mutluluk duyarız.

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

Tissue Organoids as Models of Host Physiology and Pathophysiology of Disease
19-23 Ocak 2020 - Vanouver, Kanada

The Annual World Stem Cell Summit
21-24 Ocak 2020 - Miami, A.B.D.

Islet Biology: From Gene to Cell to Mico-Organ
27-31 Ocak 2020 - Santa Fe, NM, A.B.D.

Keystone: Emerging Cellular Therapies: Cancer and Beyond
8 -12 Şubat 2020 - Banff, Kanada

Cell Symposia: Gene- and Cell-Based Therapies: CRISPR, Stem Cells, and Beyond
2-4 Mart 2020 - San Francisco, A.B.D.

EMBL Advances in Stem Cells and Regenerative Medicine
8-11 Mart 2020 - Heidelberg, Almanya

ISSCR Shanghai, Stem Cells and Regenerative Medicine, the Shanghai Tech University
13-15 March 2020 - Şanghay, Çin

Hematopoiesis Keystone Meeting
3-7 Nisan 2020 - Big Sky, Montana, A.B.D.

Cold Spring Harbor Short Course: Mouse Development, Stem Cells, and Cancer. Cold Spring Harbor.
3-22 Haziran 2020 - Long Island, NY, A.B.D.

ISSCR 2020
24-27 Haziran 2020 - Boston, A.B.D.

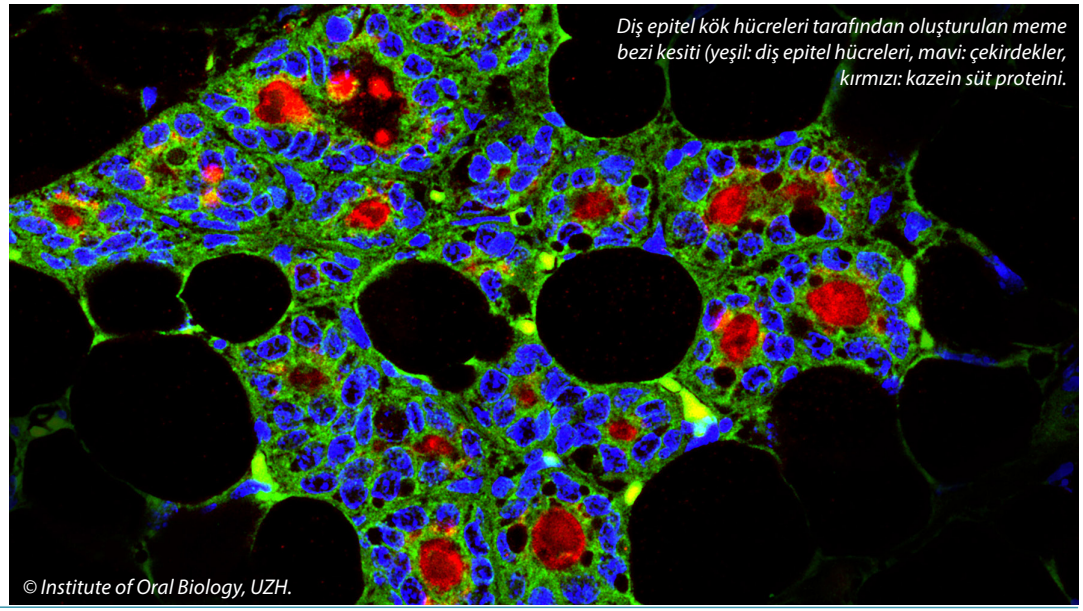
Kök Hücre E-Bülteni **Sayı: 33 (Ocak-Şubat-Mart 2020)**
Üç ayda bir yayınlanır. *www.kokhucrebulteni.com*
Yayınlananların sorumluluğu yazarlarına aittir.

Editör: Prof.Dr. Alp Can (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.)

Bu sayıya katkıda bulunanlar; *(yazıların geliş sırasına göre)*

Dr. Hakan Coşkun (Harvard Üniversitesi, Boston, ABD)
Dr. Nurseda Danışık (Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara)
Dr. Selda Kahveci Hayme (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Ankara)
Dr. İrem İnanç (A nkara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histolo ji-Embriyoloji AD., Ankara)
Dr. Ekin Baysal (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Ankara)
Dr. Nilgün Yersal (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Ankara)
Dr. Pınar Şahin (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Antalya)

AYIN FOTOĞRAFI



Diş epitel kök hücreleri tarafından oluşturulan meme bezi kesiti (yeşil: diş epitel hücreleri, mavi: çekirdekler, kırmızı: kazein süt proteini.

© Institute of Oral Biology, UZH.