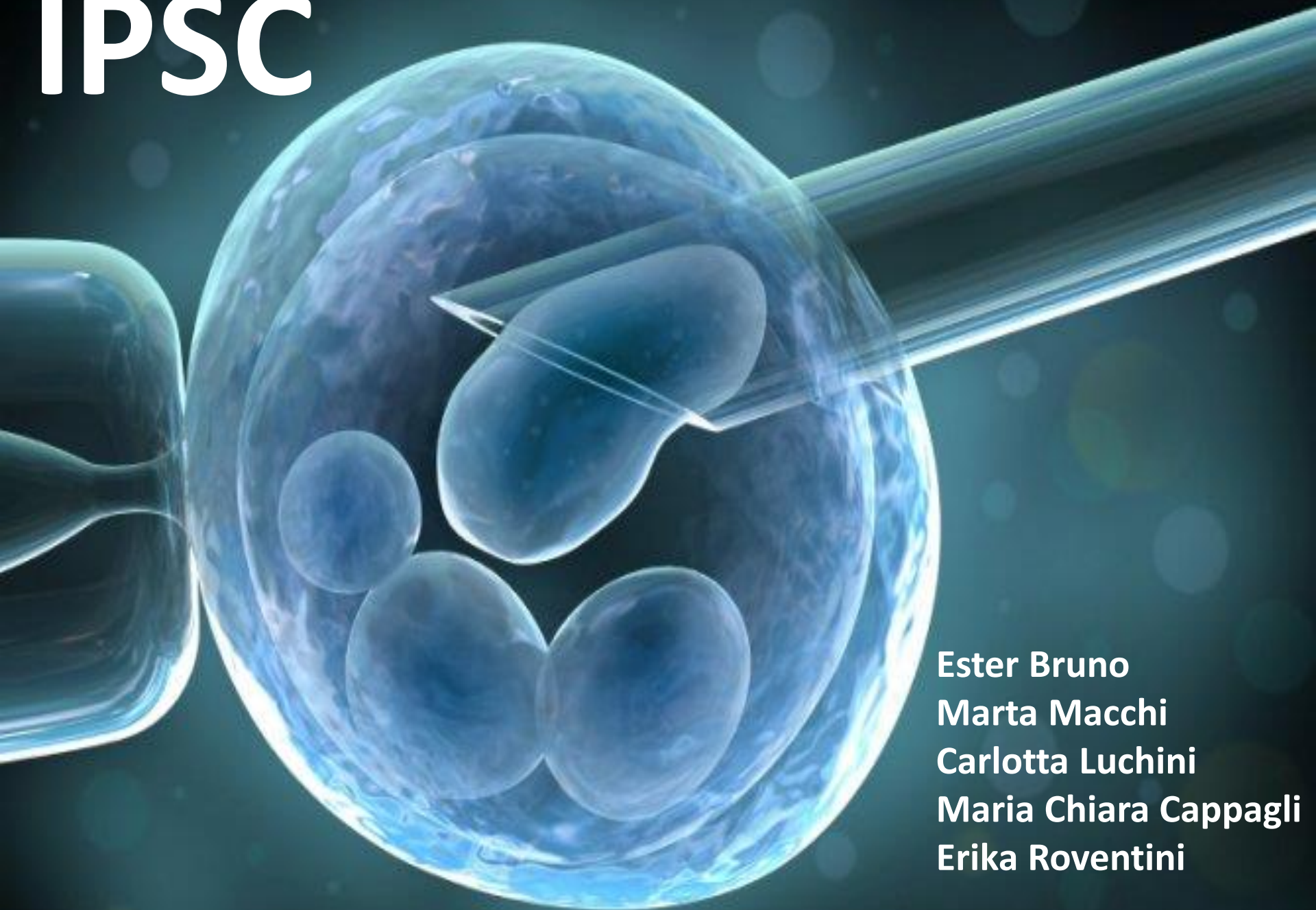


IPSC

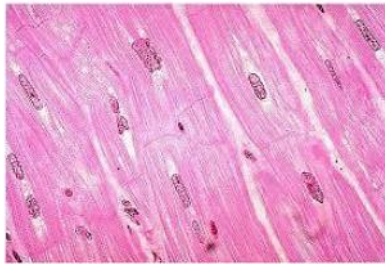


Ester Bruno
Marta Macchi
Carlotta Luchini
Maria Chiara Cappagli
Erika Roventini

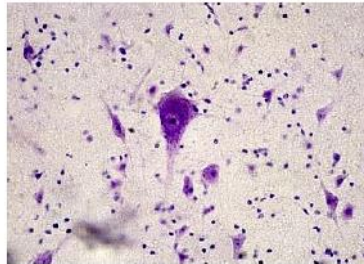
Cos'è una cellula staminale ?

Le cellule staminali sono cellule primitive non specializzate presenti in tutti gli organismi viventi, dotate di due singolari capacità:

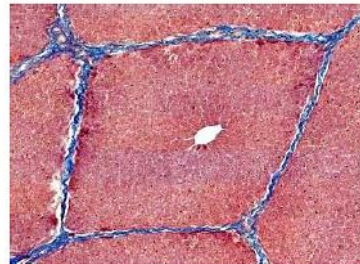
- **autorinnovamento:** capacità di generare una cellula indifferenziata esattamente uguale alla cellula madre attraverso un numero illimitato di cicli cellulari.
- **differenziamento:** capacità di differenziarsi in tutti i tipi cellulari di cui è costituito l'organismo.



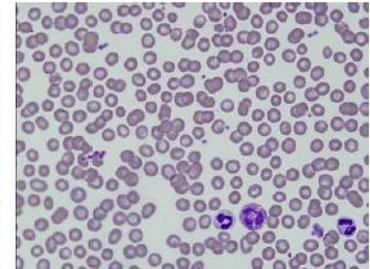
Cellule muscolari



Cellule neuronali



Cellule epatiche

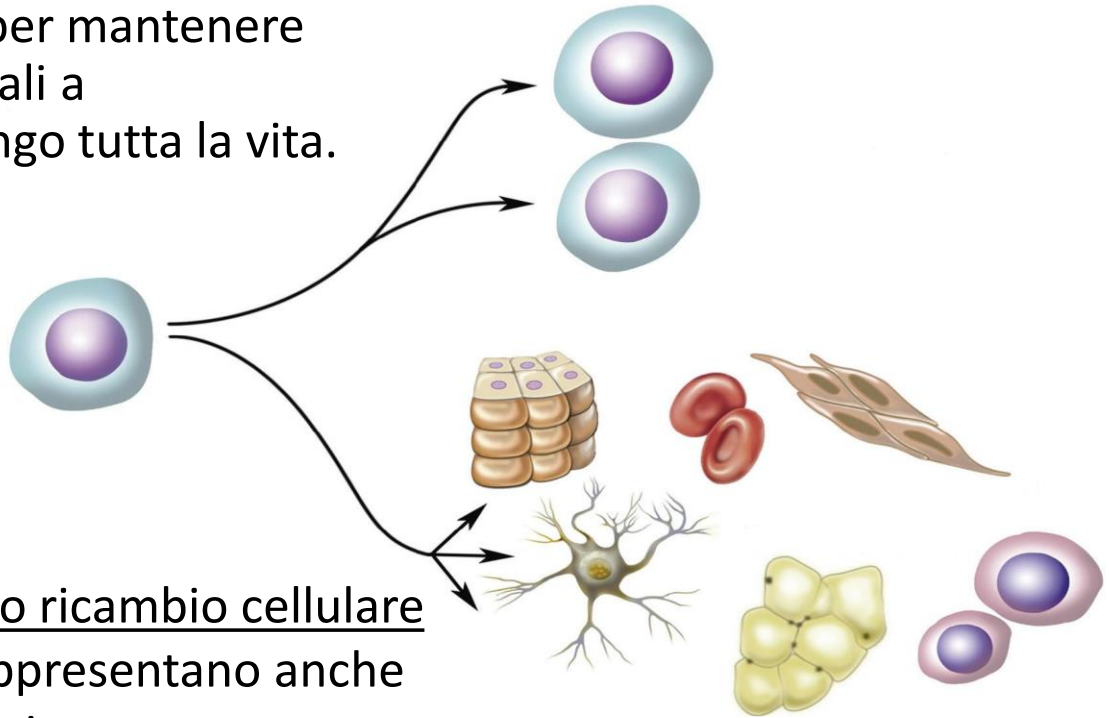


Cellule del sangue

Perché sono importanti ?

➤ **auto-rigenerazione**

necessaria per l'organismo per mantenere una riserva di cellule staminali a disposizione da utilizzare lungo tutta la vita.



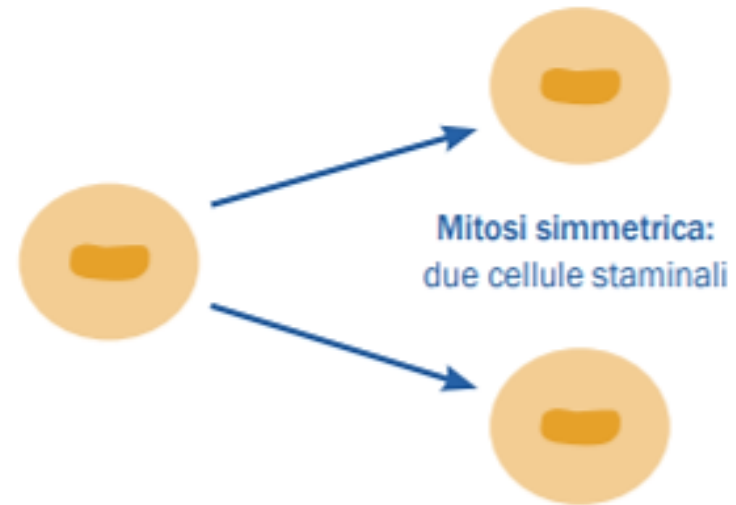
➤ **differenziamento**

prendono parte al fisiologico ricambio cellulare a livello di molti tessuti e rappresentano anche un potente sistema di riparazione, a disposizione del nostro organismo, nel caso di imprevisti danni micro o macroscopici, potendo rifornire di cellule specializzate un particolare distretto corporeo.

Ciascuna cellula staminale realizza la divisione cellulare in due possibili modi:

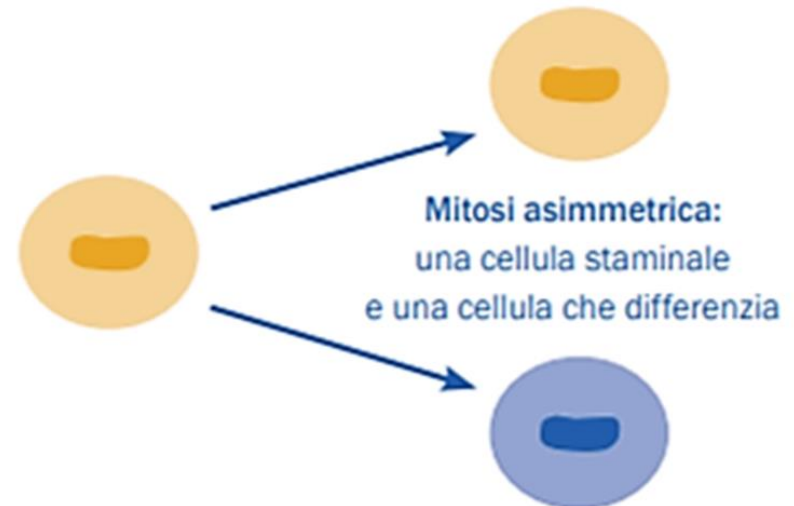
❖ **simmetrica:**

hanno come risultato una clonazione, ovvero due cellule staminali identiche alla cellula madre.



❖ **asimmetrica:**

la cellula staminale dà origine ad un'altra staminale e ad una cellula destinata a differenziarsi.



La potenza differenziativa

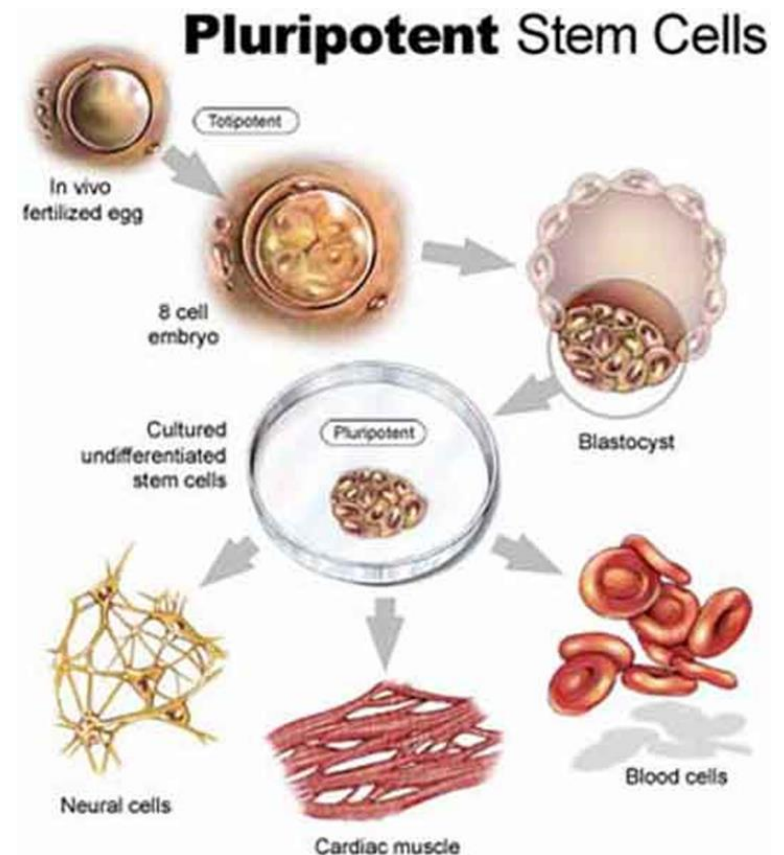
Le cellule staminali vengono classificate in base alla loro potenzialità di differenziarsi nei vari tipi cellulari di un organismo:

- **Totipotente:**

si specializzano in tutti i tipi cellulari fino a creare un intero organismo. Sono in grado di dare origine sia ai tessuti embrionali che extraembrionali.

- **Pluripotente:**

danno origine ai 3 foglietti germinativi (endoderma, mesoderma ed ectoderma) da cui derivano tutti i tipi di cellule dei vari tessuti, organi e apparati di un organismo vivente, esclusi i tessuti extra-embryonali



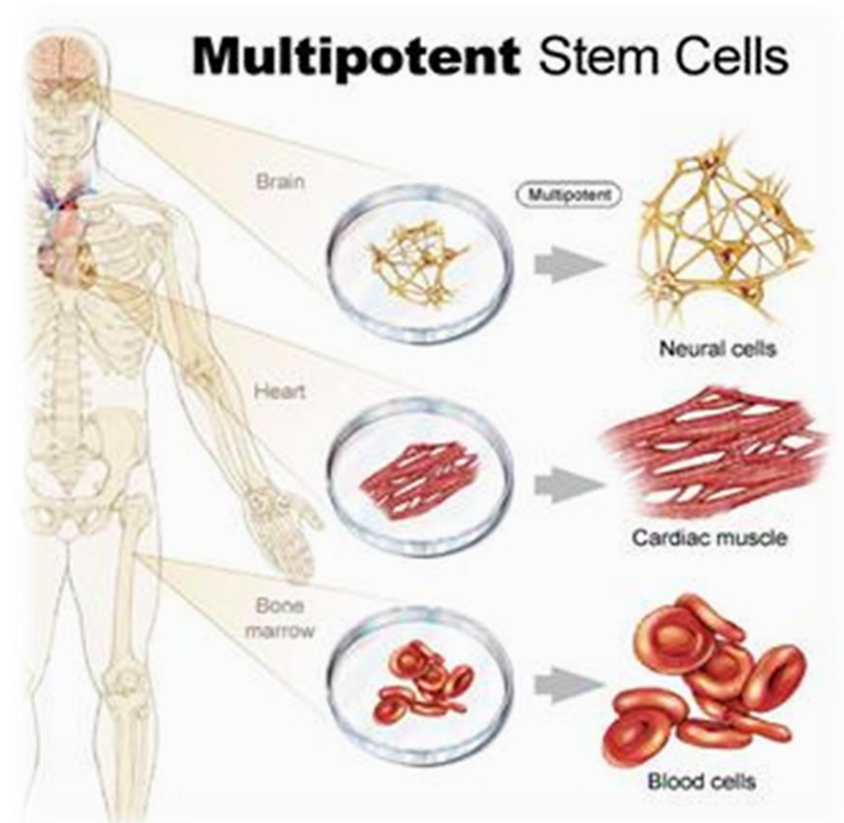
La potenza differenziativa

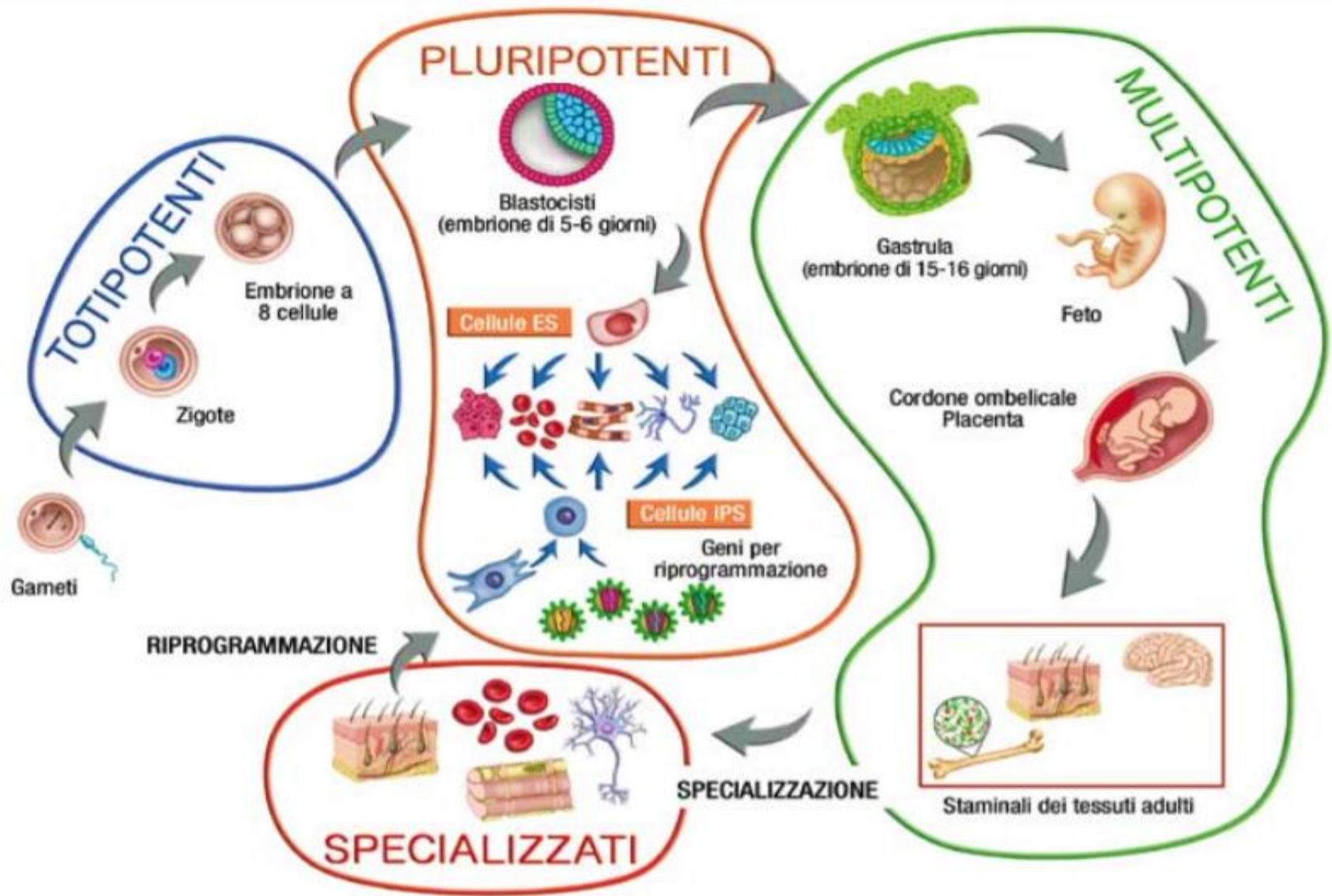
- **Multipotente:**

si specializzano unicamente in alcuni tipi di cellule relative al tessuto in cui si trovano. Un esempio tipico sono le cellule staminali ematopoietiche che generano tutti i tipi di cellule mature del sangue.

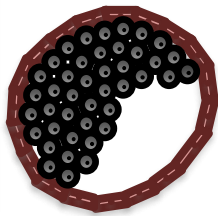
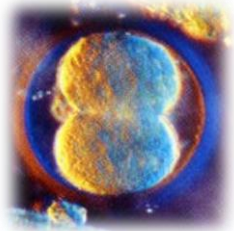
- **Unipotente:**

possono generare un solo tipo di cellule, specializzate e funzionali per lo specifico tessuto da costruire o rigenerare (es. gli epatociti).





Dove si trovano?



Embrionali:

provengono da un embrione allo stadio di blastocisti, cioè a 4-5 giorni dalla fecondazione e sono cellule pluripotenti.

(100% staminali)



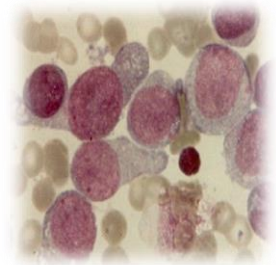
Da cordone ombelicale e sangue placentare:

il sangue contenuto nel cordone ombelicale e nella placenta è ricco di cellule staminali e progenitori emopoietici immaturi.



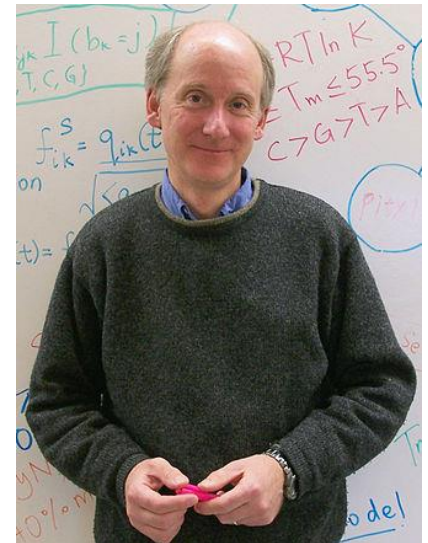
Adulte:

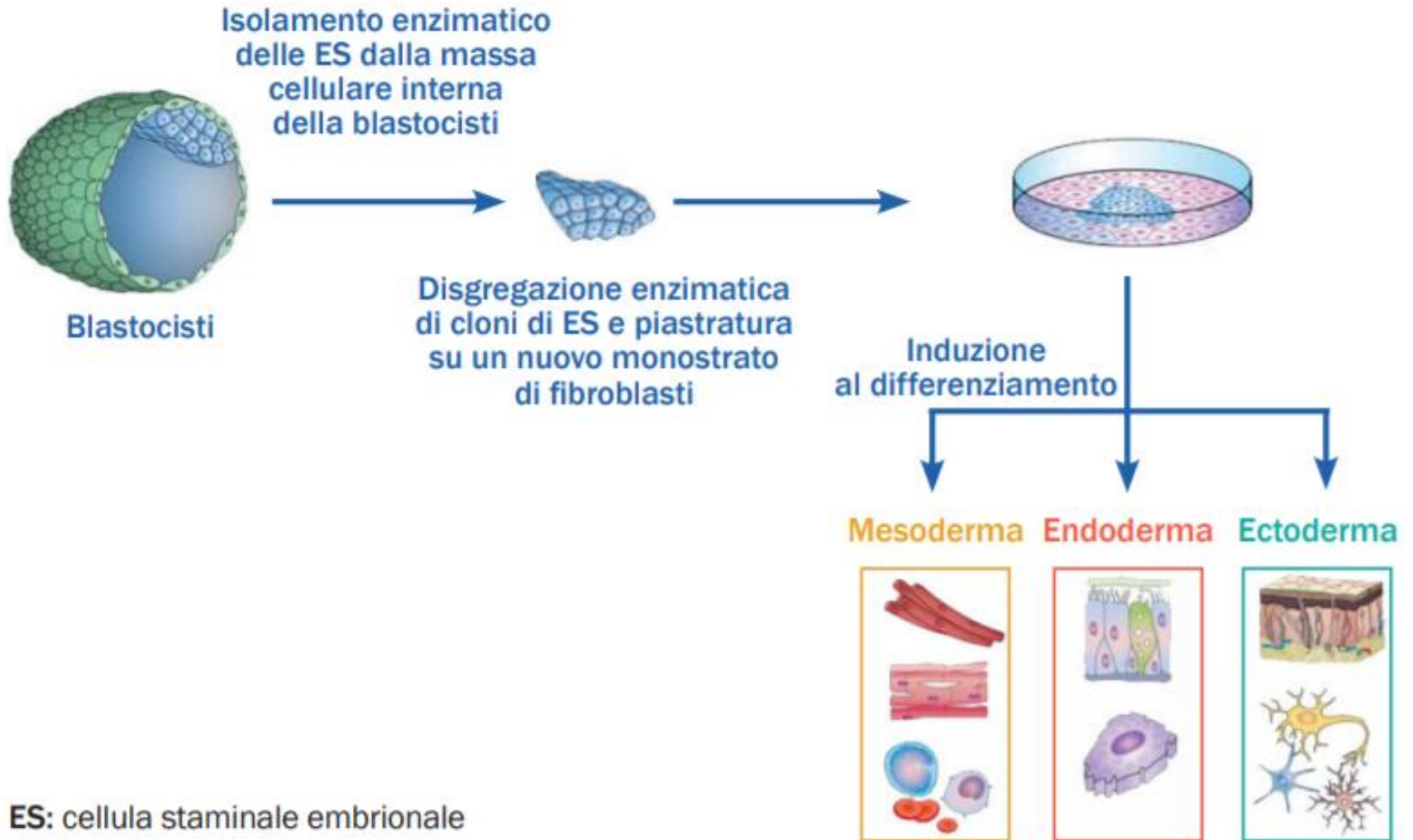
cellule indifferenziate localizzate nei tessuti di un organismo adulto con capacità di auto-rinnovarsi, minore però rispetto alle cellule staminali embrionali.



Stem Cell History

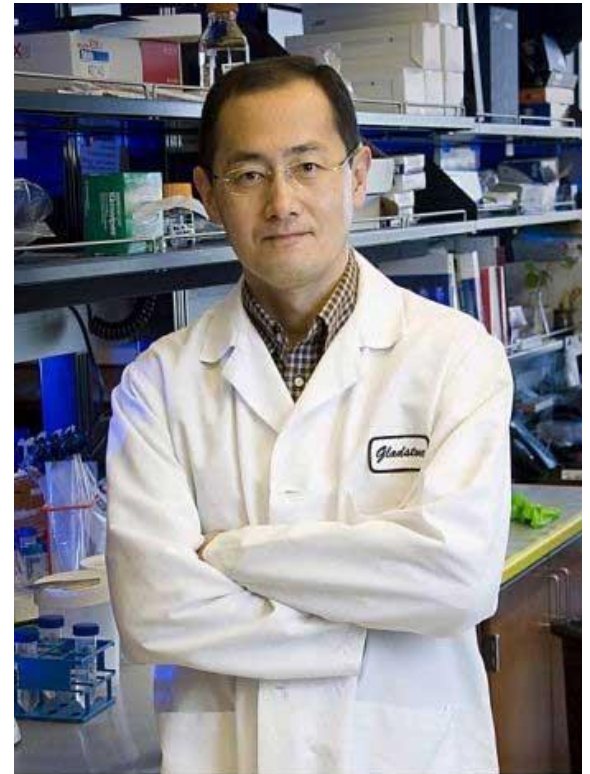
- Nel **1981 Martin Evans**, della Cardiff University, è il primo al mondo ad identificare ed isolare cellule staminali embrionali da blastocisti di topo
- Il **1998** registra il successo tecnologico più straordinario nello studio delle cellule staminali e delle loro potenzialità terapeutiche. Per la prima volta, infatti, **James Thompson** (Wisconsin University) isola e coltiva cellule staminali embrionali a partire da blastocisti umane, grazie anche ai precedenti studi pionieristici sulle blastocisti di topo condotti da Martin Evans.

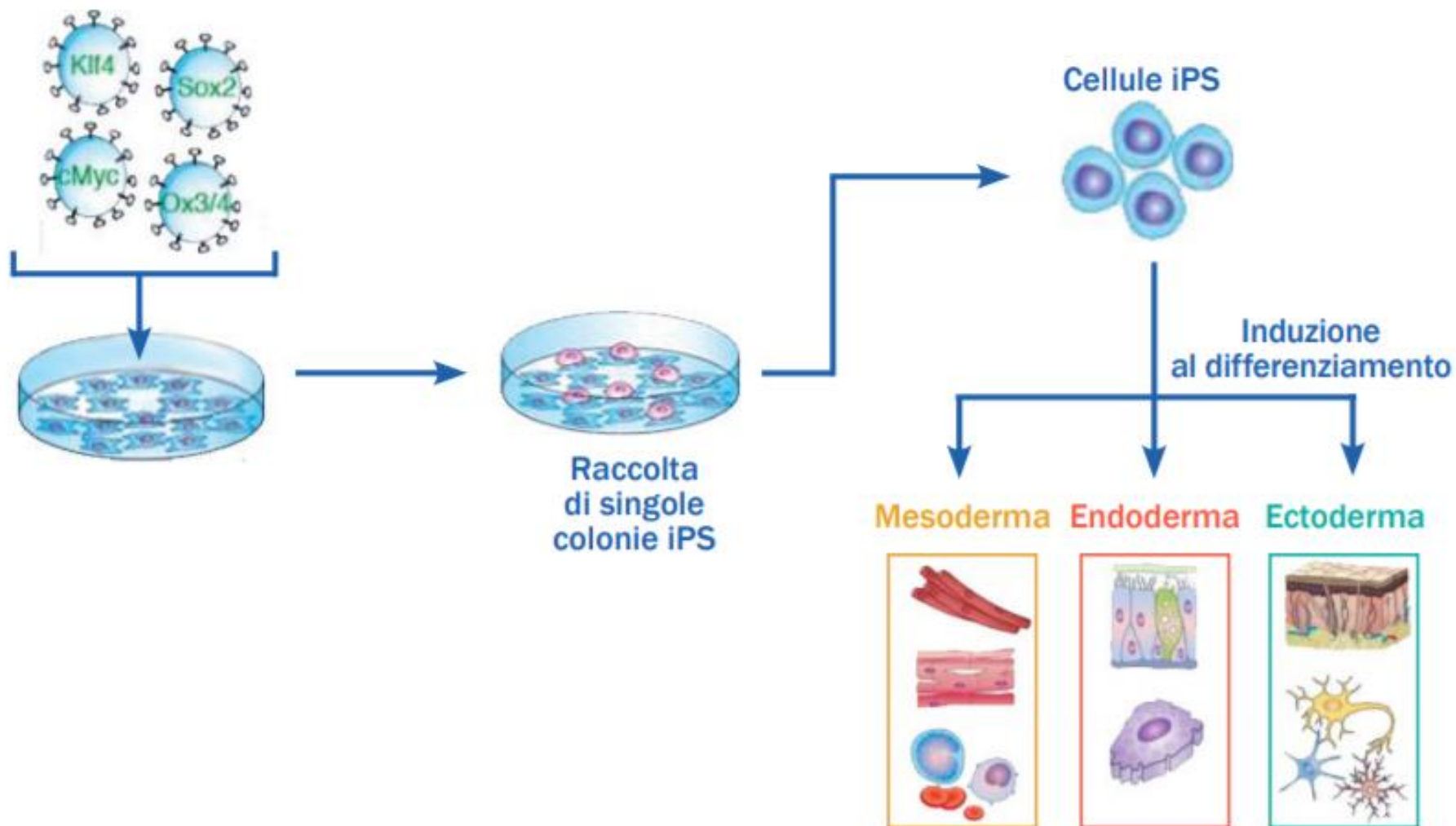




Stem Cell History

- Nel 2006 **Shinya Yamanaka** (Kyoto University) dimostrò con successo che é possibile 'riprogrammare' una cellula adulta e riportarla allo stadio di pluripotenza, con soli 4 fattori (denominati successivamente Yamanaka factors). Sono state così generate le **"Induced Pluripotent Stem Cell" (IPSC)**. Al contrario delle staminali adulte ed embrionali, le IPSC non esistono in natura, ma sono generate artificialmente in laboratorio ed hanno la loro stessa capacità di dare origine a tutti i tipi cellulari di un organismo.





Stem Cell History

- **2007:** prime iPSC create da cellule umane
- **2008:** trapianto di iPSC nel cervello di un ratto affetto da Parkinson
- 2009: iPSC trasformate in vari tipi di cellule cardiache
- **2010:** primo essere umano al mondo a essere curato con staminali embrionali umane
- 2013: primo trapianto di retina derivato dalle iPSC senza ottenere controindicazioni
- 2014: ogni cellula, potenzialmente, può essere riportata allo stato pre-embrionale
- **2016:** Creazione di un tessuto ingegnerizzato

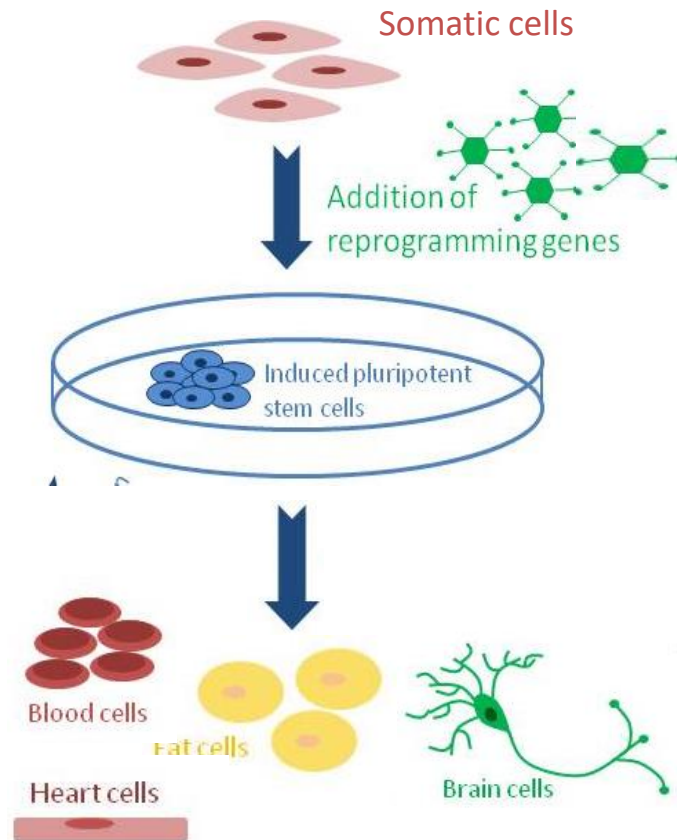
Oggi è possibile, partendo da una semplice cellula della pelle, ottenere cellule iPS in qualche settimana e generare in vitro qualunque tipo cellulare differenziato !

iPSC

Cellule Staminali Pluripotenti Indotte



Yamanaka dimostrò
passaggio da cellula somatica a cellula pluripotente
attraverso l' introduzione di 4 geni



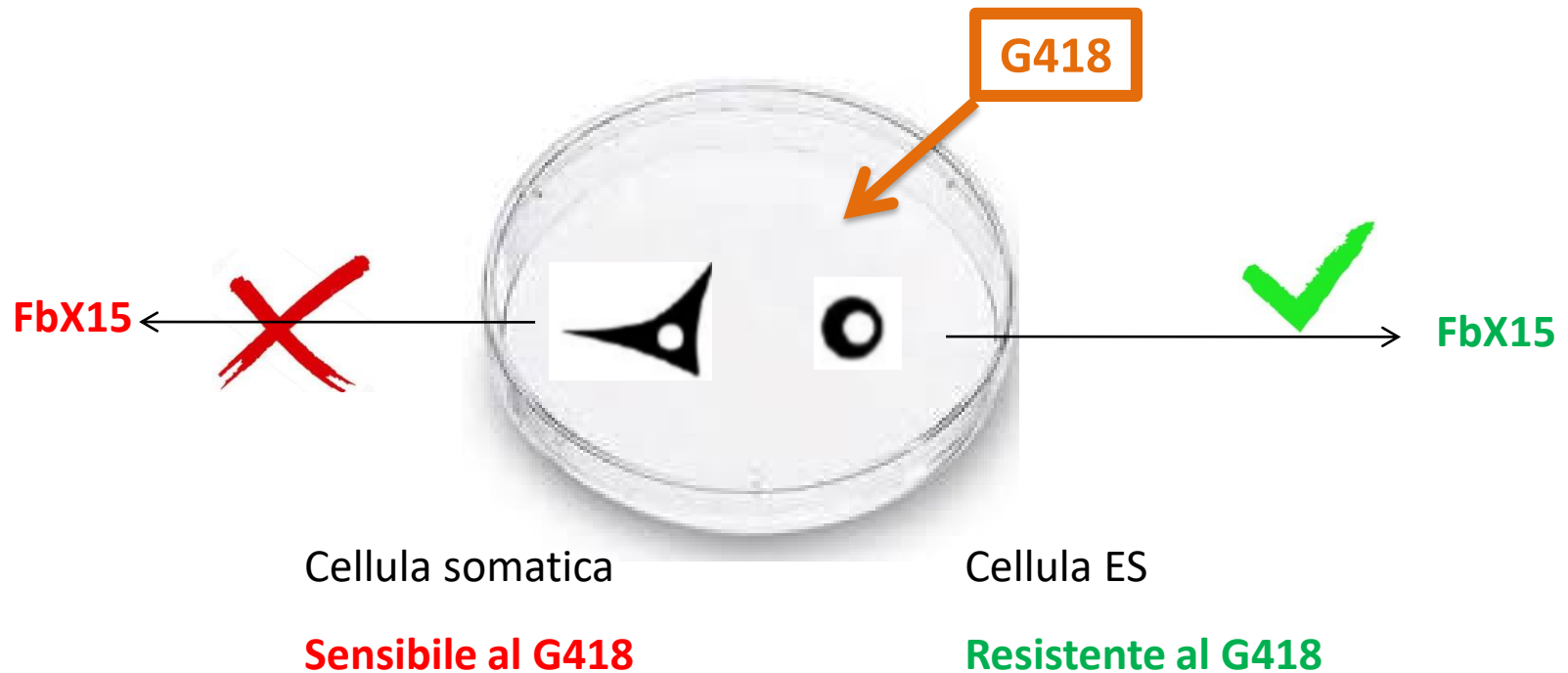
ESPERIMENTO DI YAMANAKA PER INDIVIDUARE I 4 GENI

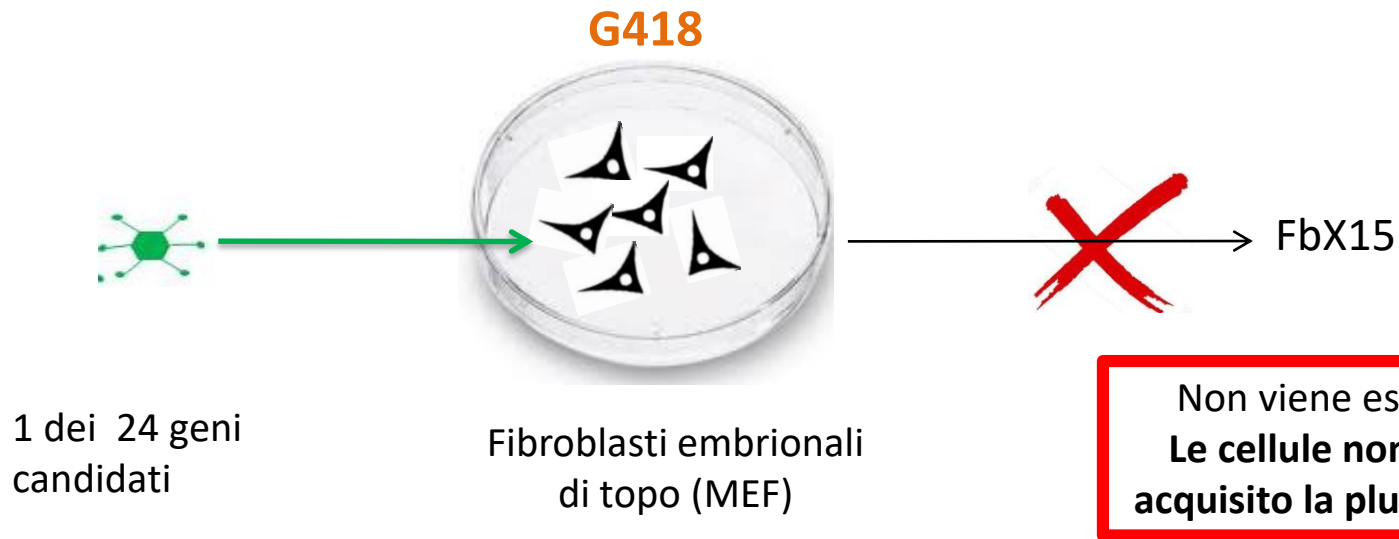
24 geni candidati capaci di indurre la pluripotenza



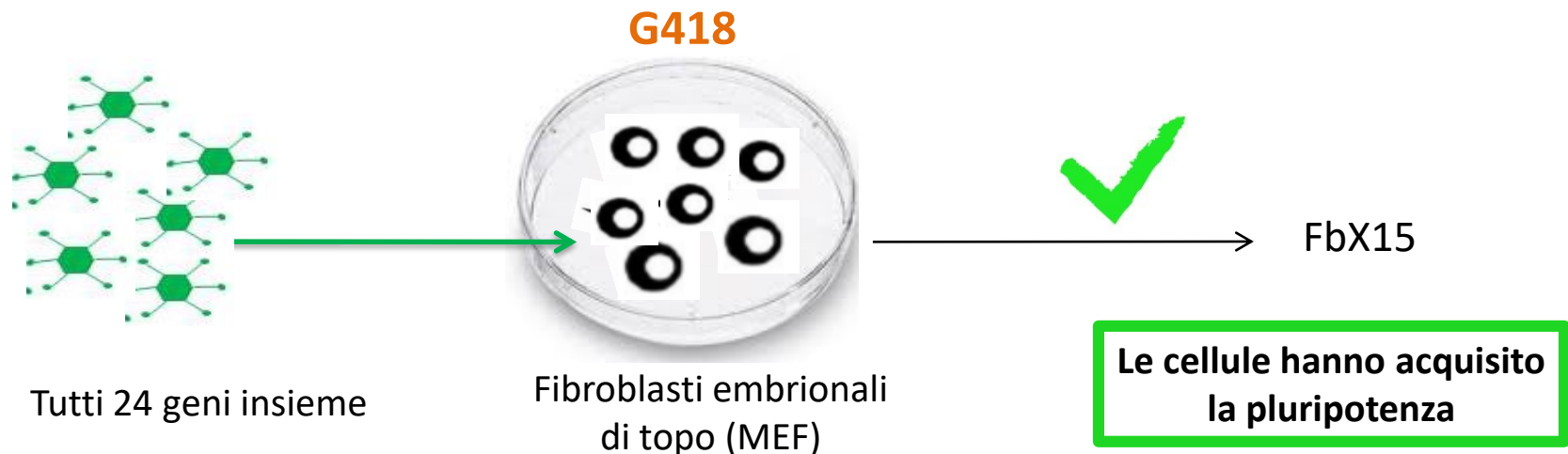
Quali erano in particolare i responsabili del cambiamento?

Utilizzo dell' antibiotico G418 in relazione al gene FbX15 indice di pluripotenza





Ognuno dei 24 geni, singolarmente, dà lo stesso risultato



Per indurre la pluripotenza serve una combinazione di più geni. Uno solo non basta

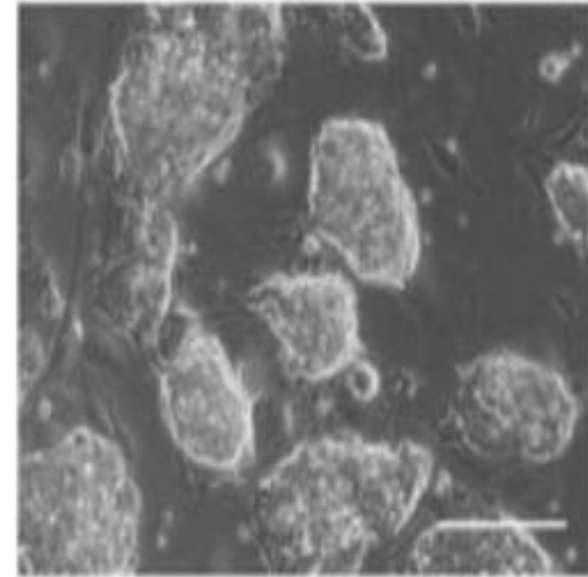
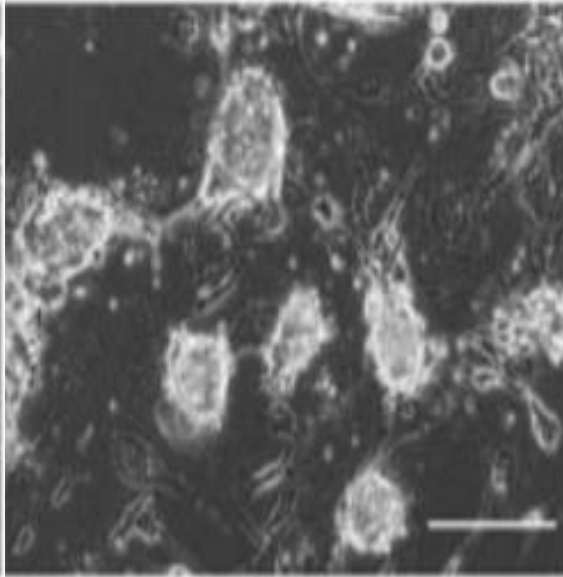
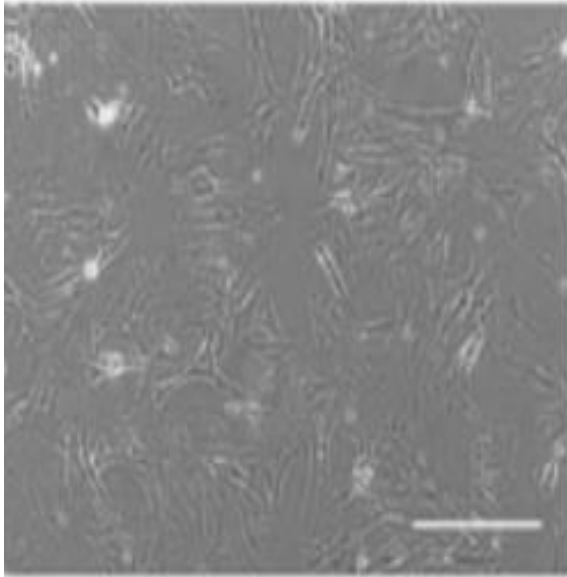
Osservazione iPSC nate da MEF con l'aggiunta di 24 geni

Somiglianza alle ES

MEF

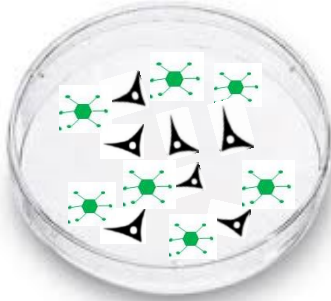
iPS-MEF24-1-9

ES



Yamanaka 2006

G418

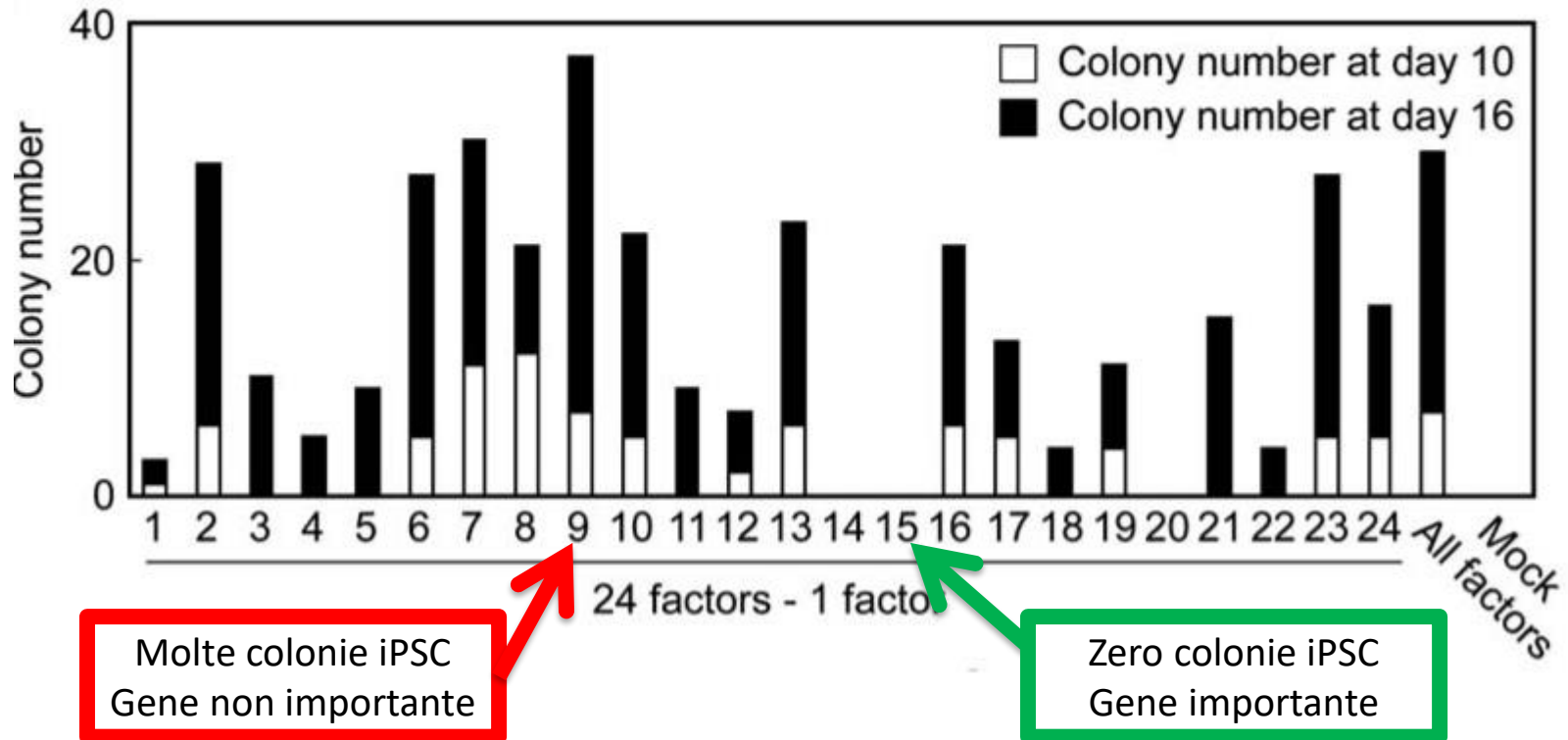


Fibroblasti embrionali
di topo (MEF)
Con tutti i 24 geni

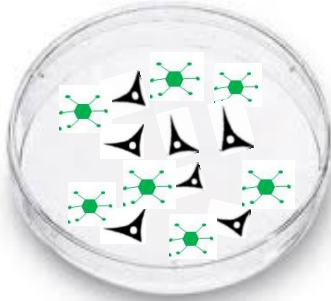


Si toglie 1 solo gene

E si osserva il numero di colonie
iPSC che si formano



G418

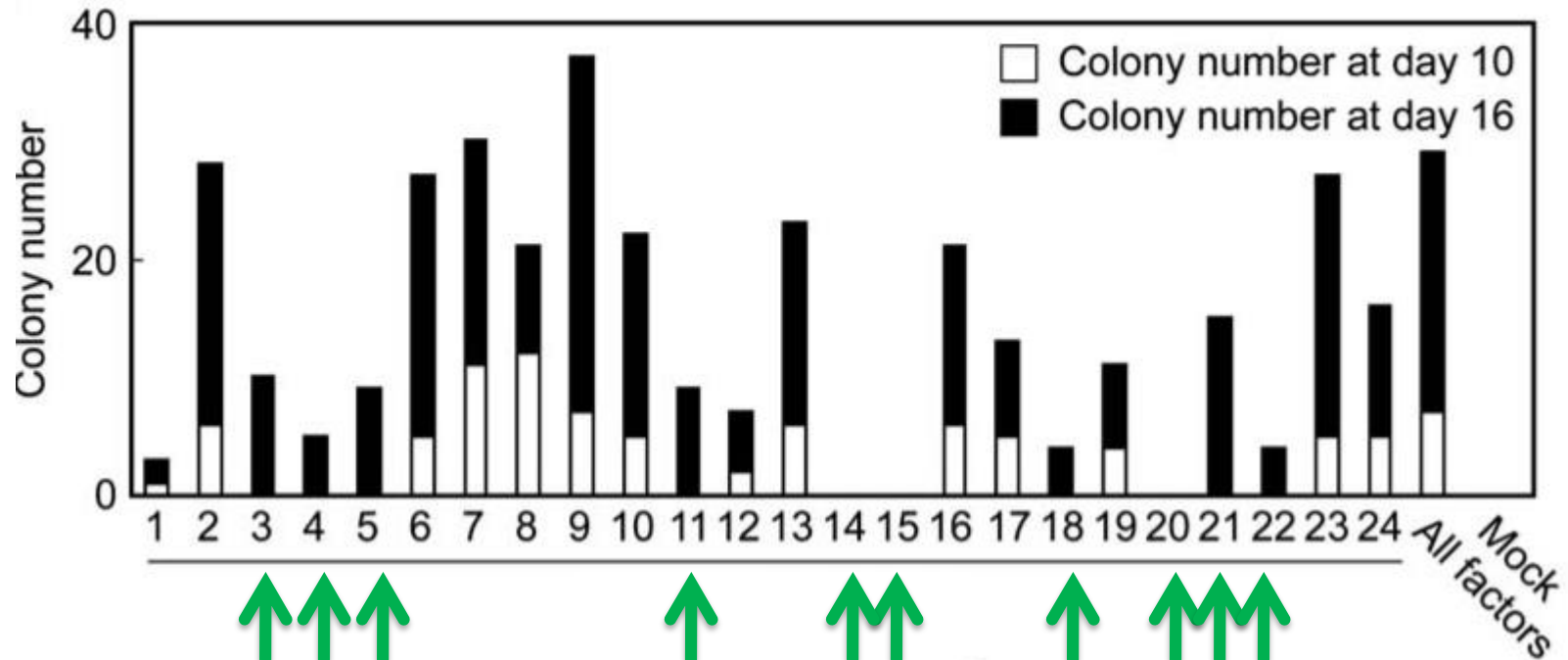


Fibroblasti embrionali
di topo (MEF)
Con tutti i 24 geni



Si toglie 1 solo gene

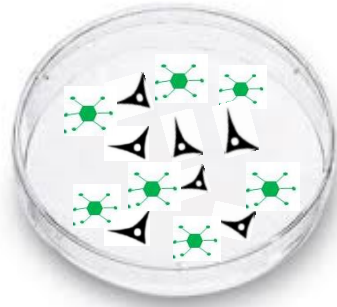
E si osserva il numero di colonie
iPSC che si formano



Così sono stati selezionati **10 geni** principali responsabili della formazione delle iPSC

Stesso procedimento partendo dai 10 geni appena ottenuti

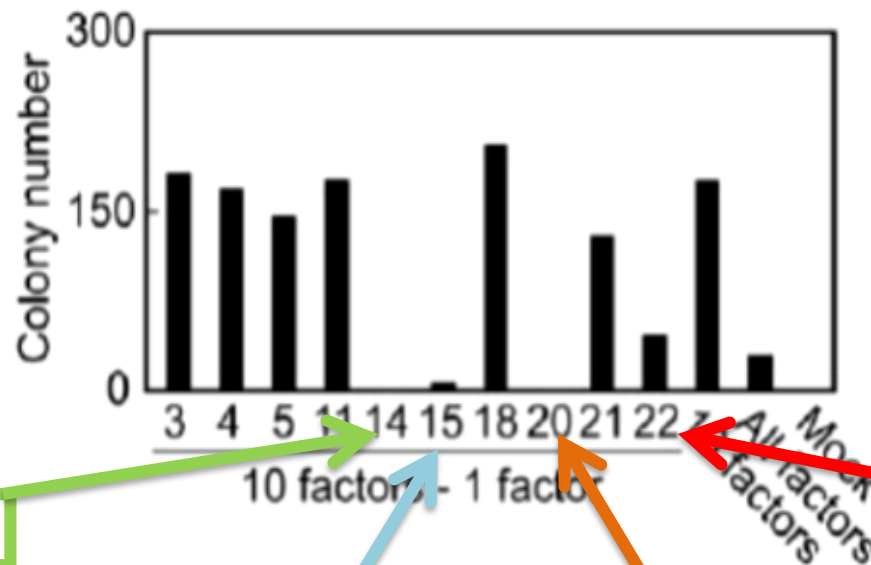
G418



Fibroblasti embrionali
di topo (MEF)
Con i 10 geni trovati



Si toglie 1 solo gene
E si osserva il numero di colonie
iPSC che si formano



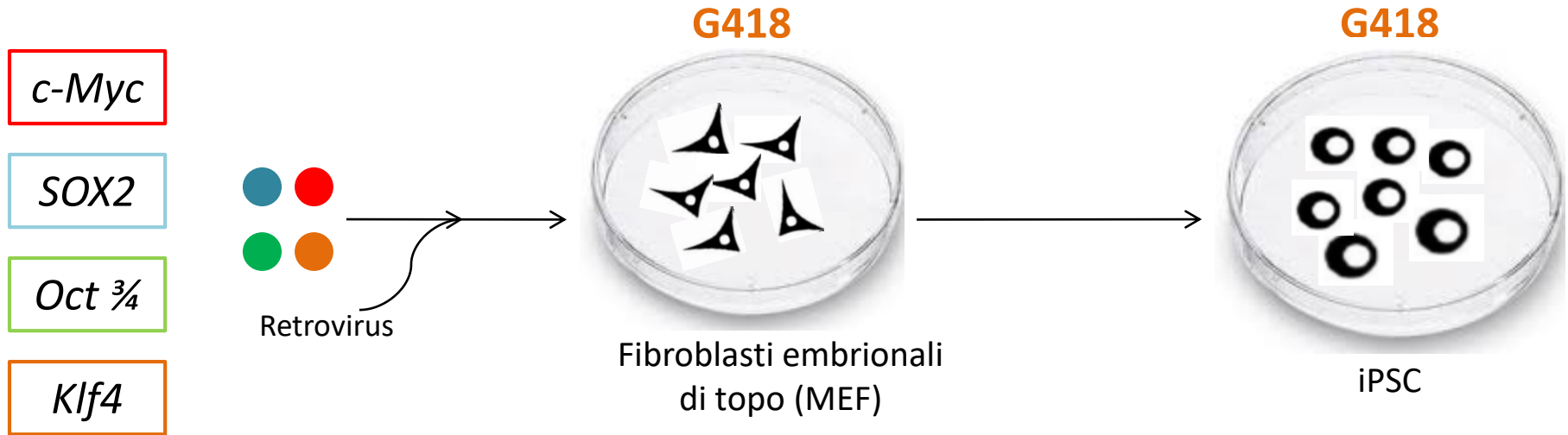
Oct 3/4

SOX2

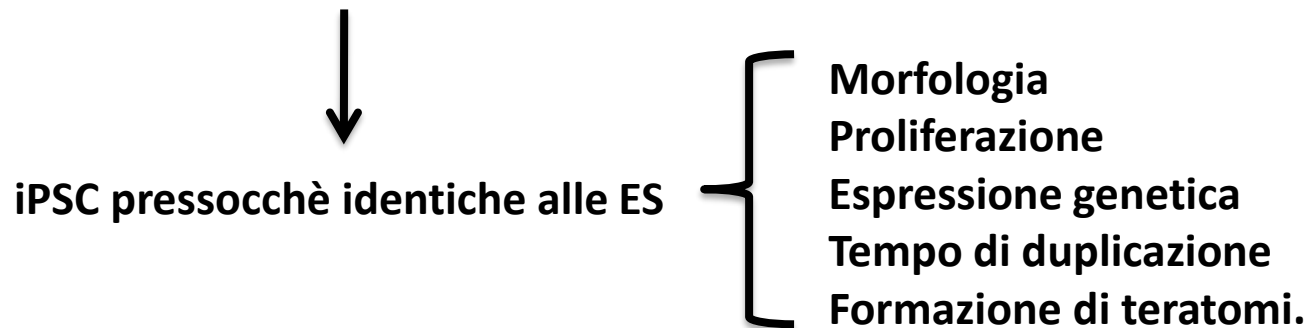
Klf4

c-MyC

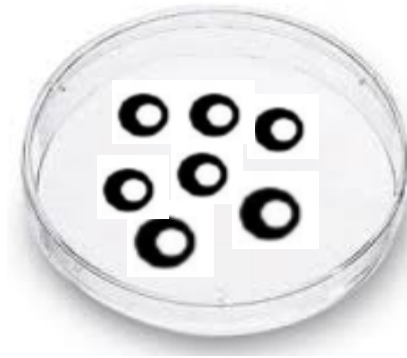
Verifica:



Ulteriori verifiche: RT-PCR e Immunoprecipitazione della cromatina



Tentativo in vivo:



iPSC



Si formarono teratomi costituiti da cellule differenziate

- cellule neuronali
- cellule cartilaginee
- cellule epiteliali.



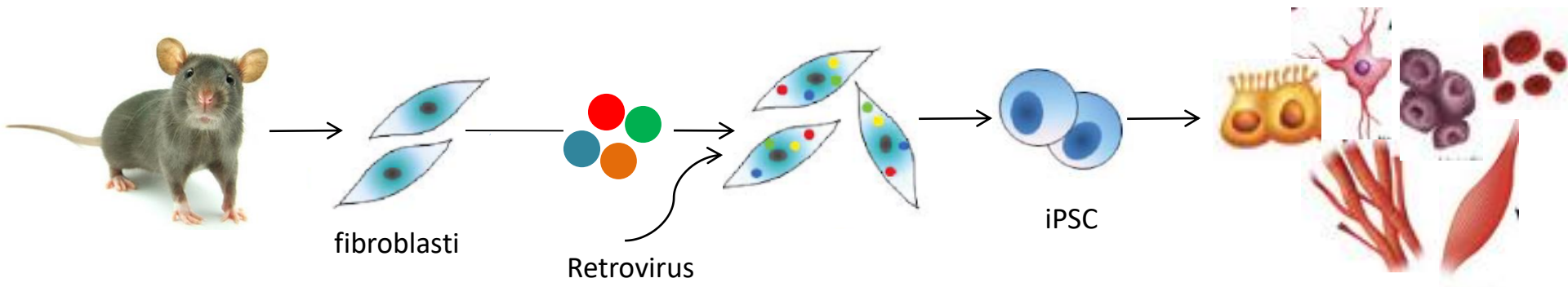
Le iPSC introdotte nel topo avevano acquisito la pluripotenza e si erano differenziate.

CONCLUSIONE DI YAMANAKA

Le iPSC nascono da cellule somatiche fibroblastiche con quattro geni specifici

Oct3/4 SOX2 KLF4 c_Myc .

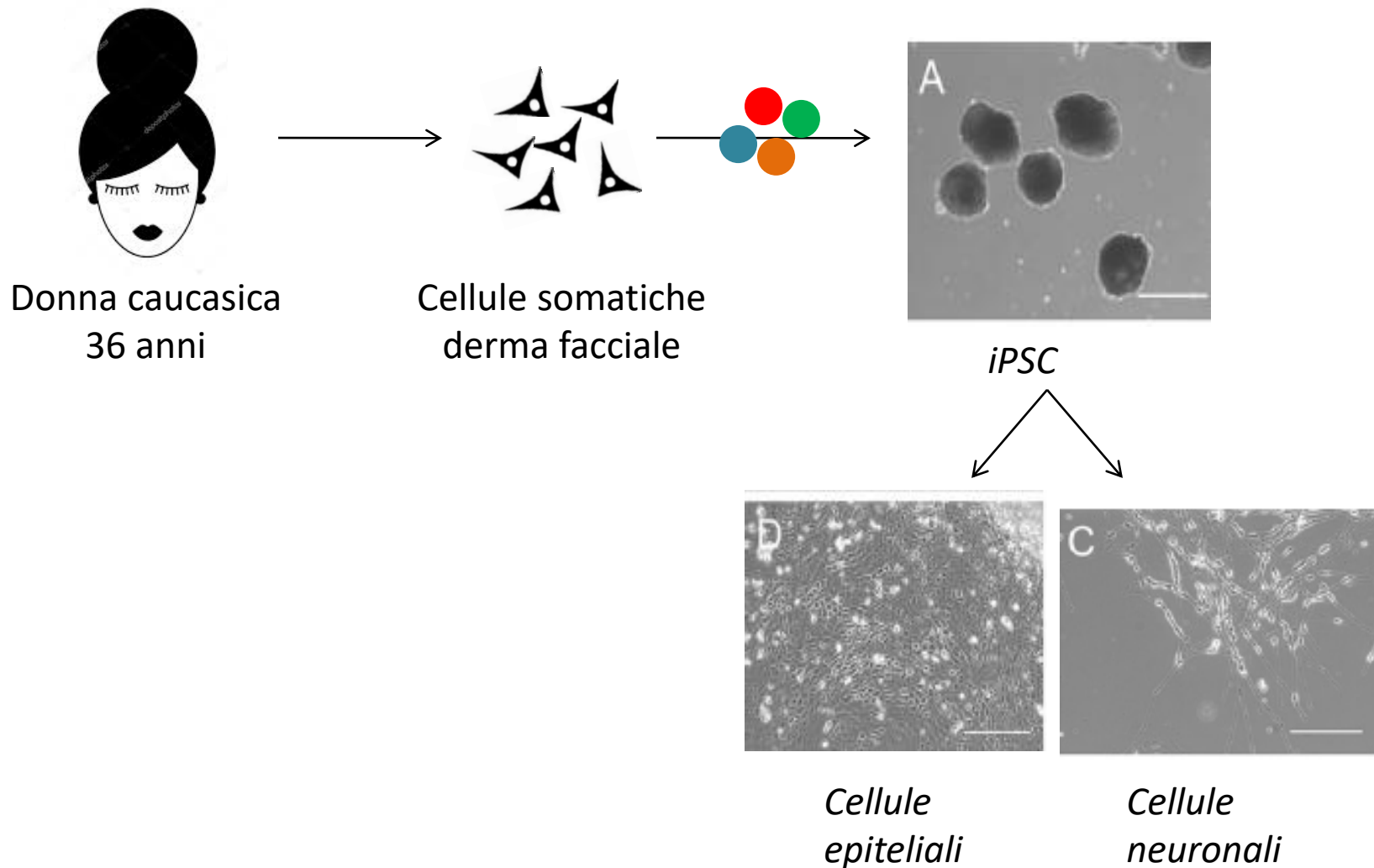
Essi modificano il genoma della cellula ospite facendola diventare cellula staminale pluripotente indotta, capace di differenziarsi



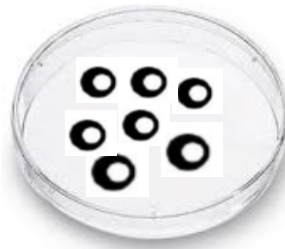
Grazie a questa scoperta venne conferito il **premio Nobel** per la medicina nel 2012 Yamanaka.

Con gli stessi 4 geni si potevano ottenere **hiPSC** a partire da cellule somatiche umane

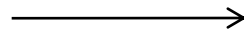
Yamanaka 2007



hiPSC testate in vivo su topi

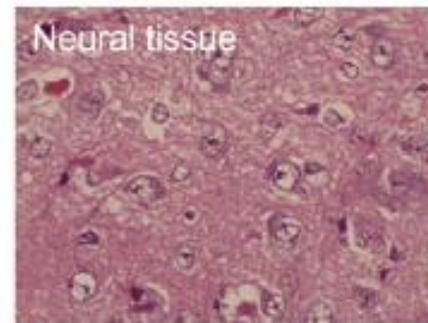
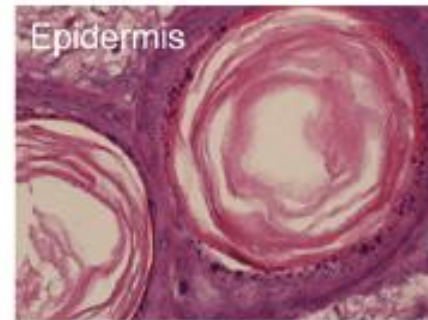
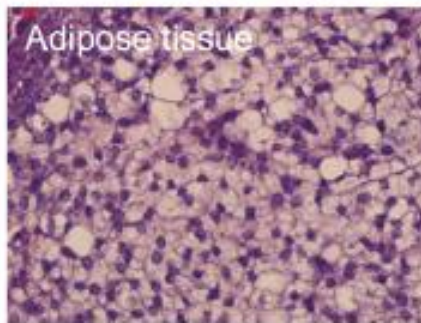
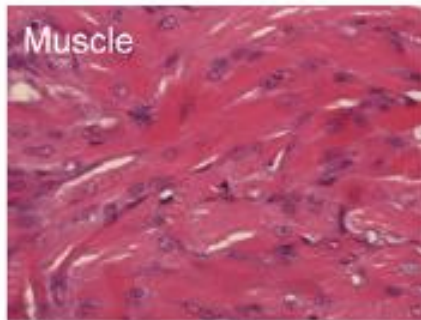
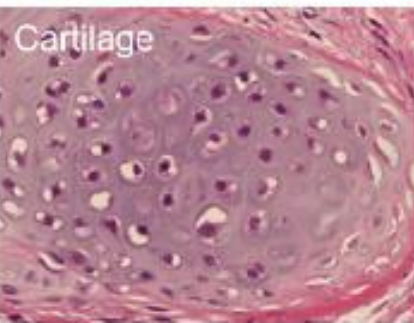
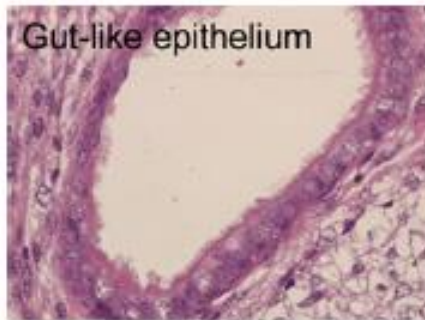


hiPSC



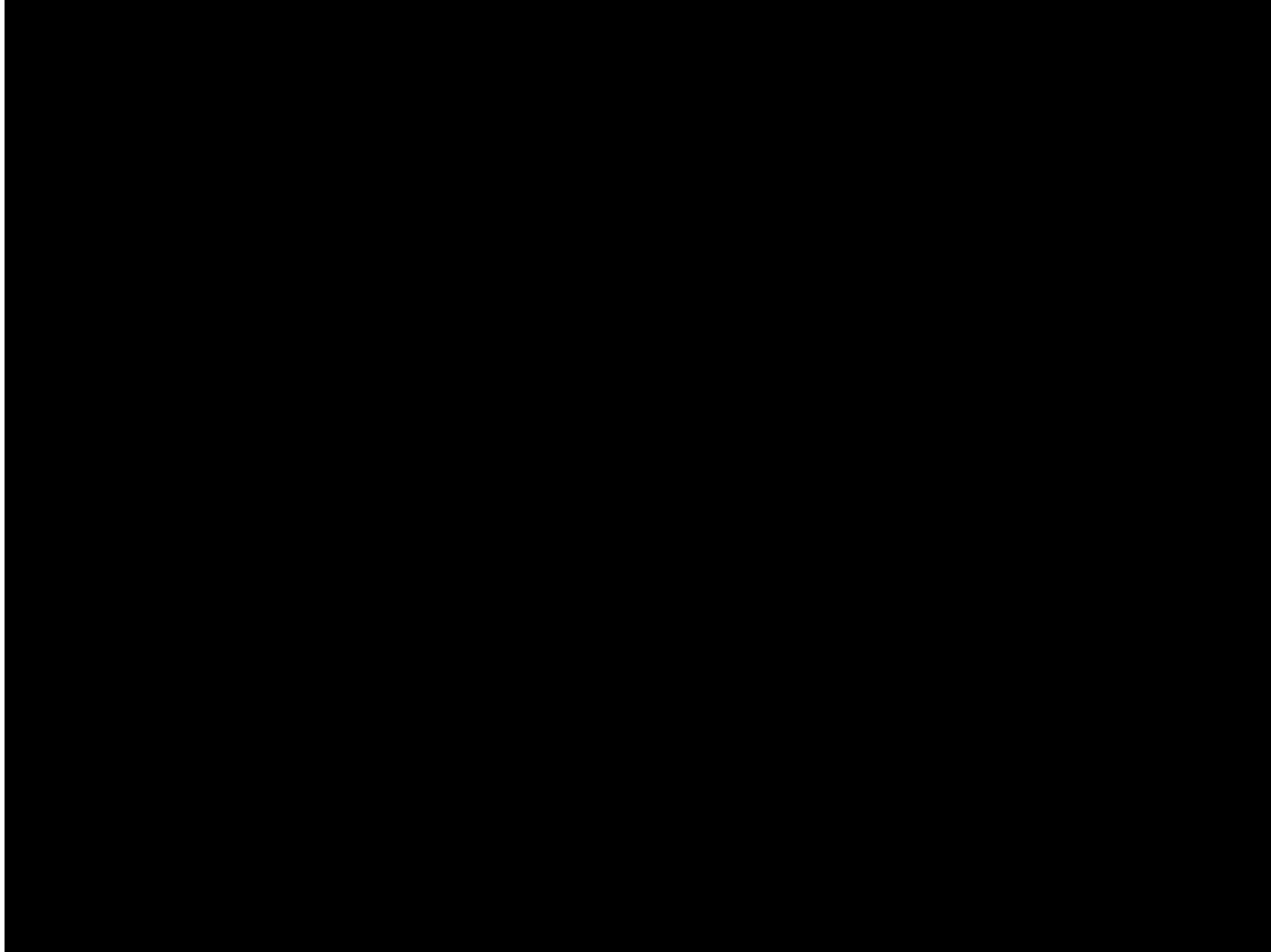
Teratoma con cellule differenziate

Yamanaka 2007



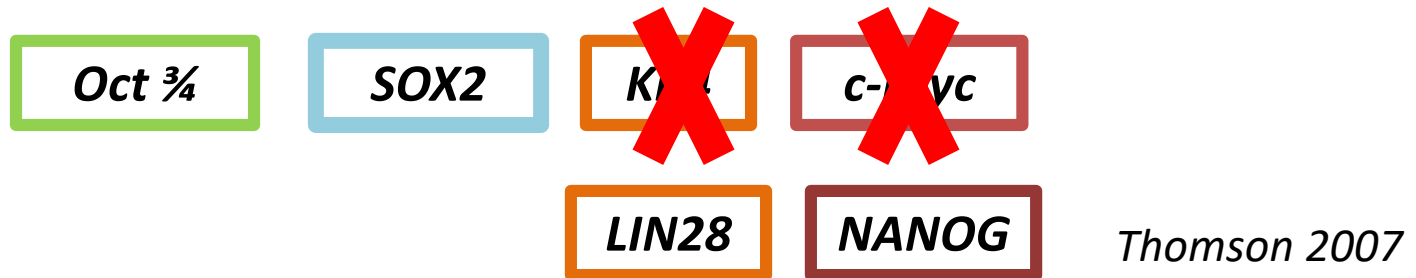
Si riconferma la capacità delle hiPSC di potersi differenziare

iPSC di topo che si stanno differenziando in cellule neuronali
World Stem Cell Summit 2009



Pericolosità

- gene **c-Myc**: apoptosi e cancerogenesi
- gene **KLF4**: induzione di tumori



Solo 3 geni erano sufficienti per produrre iPSC

MA l'efficienza della produzione delle **iPSC diminuì** drasticamente.
Il **processo di produzione** delle **iPSC rallentò** drasticamente

VPA inibisce gli enzimi
-DNA metiltrasferasi
-Istone decetilasi HDAC

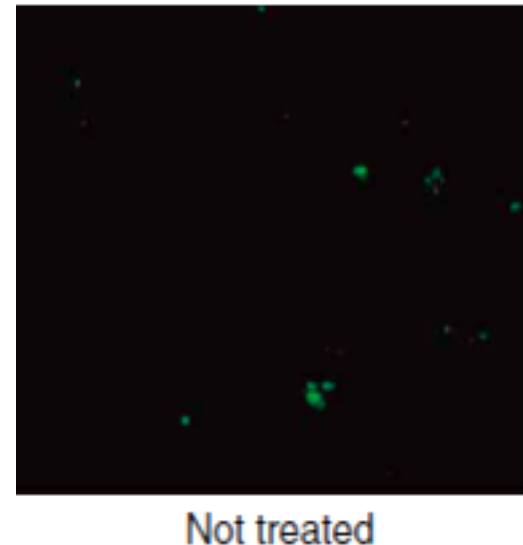
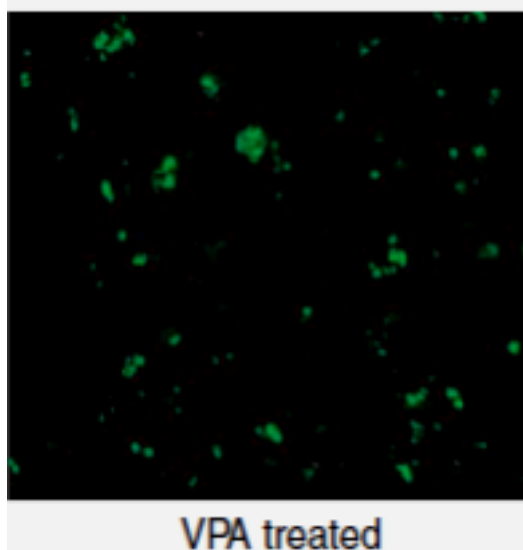


**Altissima efficienza e velocità di produzione di iPSC
anche in assenza dell' oncogene c-Myc.**

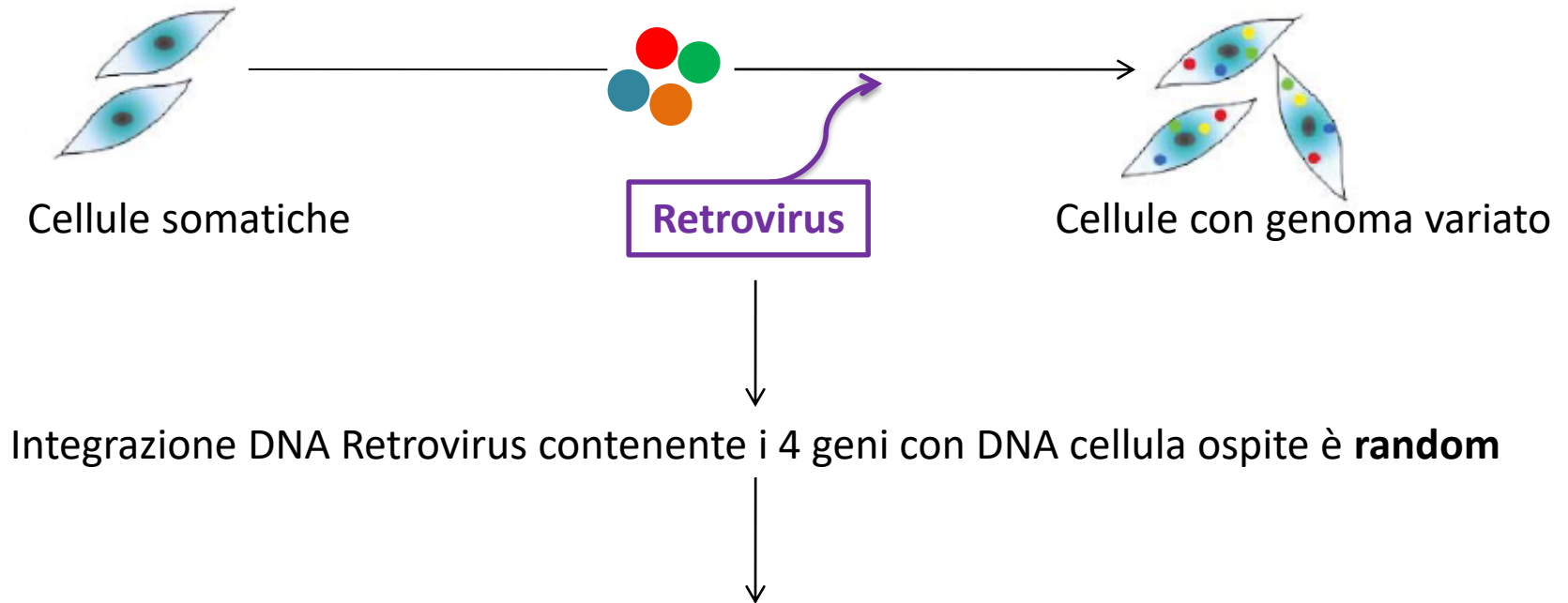
Efficienza
{ 3 geni (no c-Myc)
VPA

>

Efficienza
{ 4 geni
No VPA.



RETROVIRUS



Si possono creare mutazioni genetiche: **tumori**

Metodi alternativi studiati negli anni: {

- Sendai virus
- Adenovirus
- Vettori episomali
- Proteine
- miRNA



REVIEW

Open Access

Pluripotency of induced pluripotent stem cells

Lan Kang and Shaorong Gao*

Abstract

Recent studies have demonstrated that differentiated somatic cells from various mammalian species can be reprogrammed into induced pluripotent stem (iPS) cells by the ectopic expression of four transcription factors that are highly expressed in embryonic stem (ES) cells. The generation of patient-specific iPS cells directly from somatic cells without using oocytes or embryos holds great promise for curing numerous diseases that are currently unresponsive to traditional clinical approaches. However, some recent studies have argued that various iPS cell lines may still retain certain epigenetic memories that are inherited from the somatic cells. Such observations have raised concerns regarding the safety and efficacy of using iPS cell derivatives for clinical applications. Recently, our study demonstrated full pluripotency of mouse iPS cells by tetraploid complementation, indicating that it is possible to obtain fully reprogrammed iPS cells directly from differentiated somatic cells. Therefore, we propose in this review that further comprehensive studies of both mouse and human iPS cells are required so that additional information will be available for evaluating the quality of human iPS cells.

Keywords: induced pluripotent stem cells, pluripotency, reprogramming, tetraploid complementation

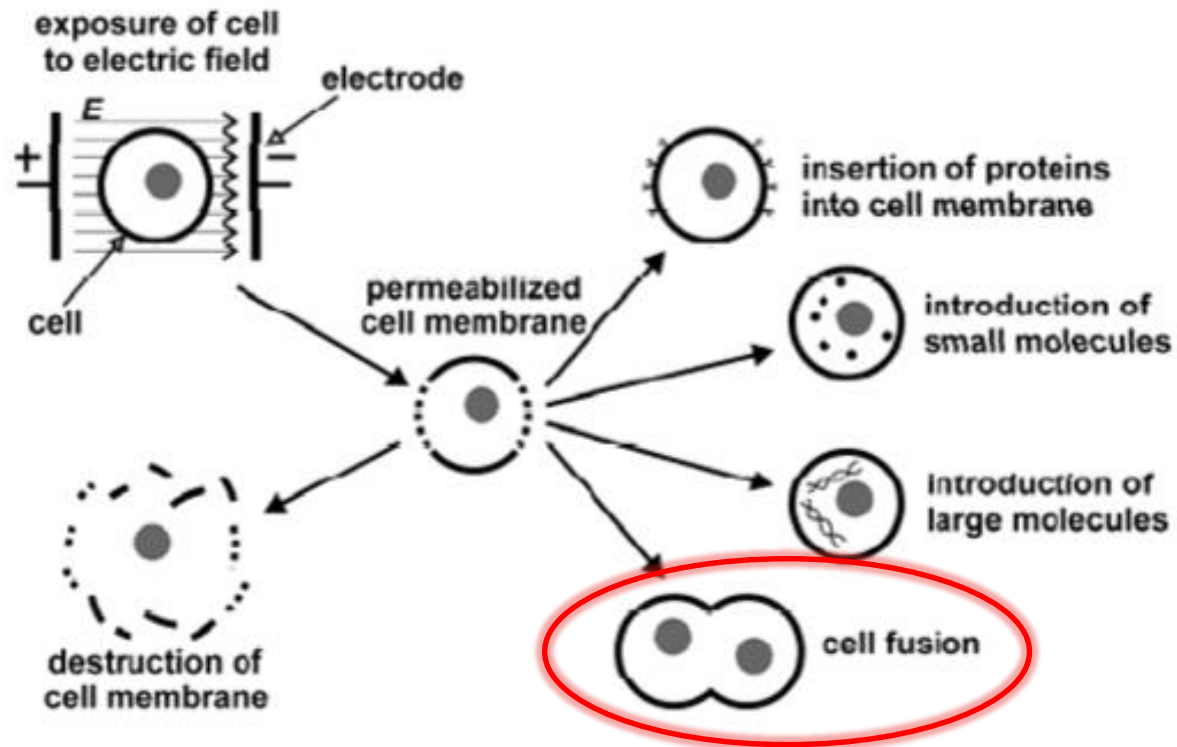
**PLURIPOTENZA DELLE CELLULE
IPS DI TOPO MEDIANTE
COMPLEMENTAZIONE
TETRAPLOIDE**

COMPLEMENTAZIONE TETRAPLOIDE

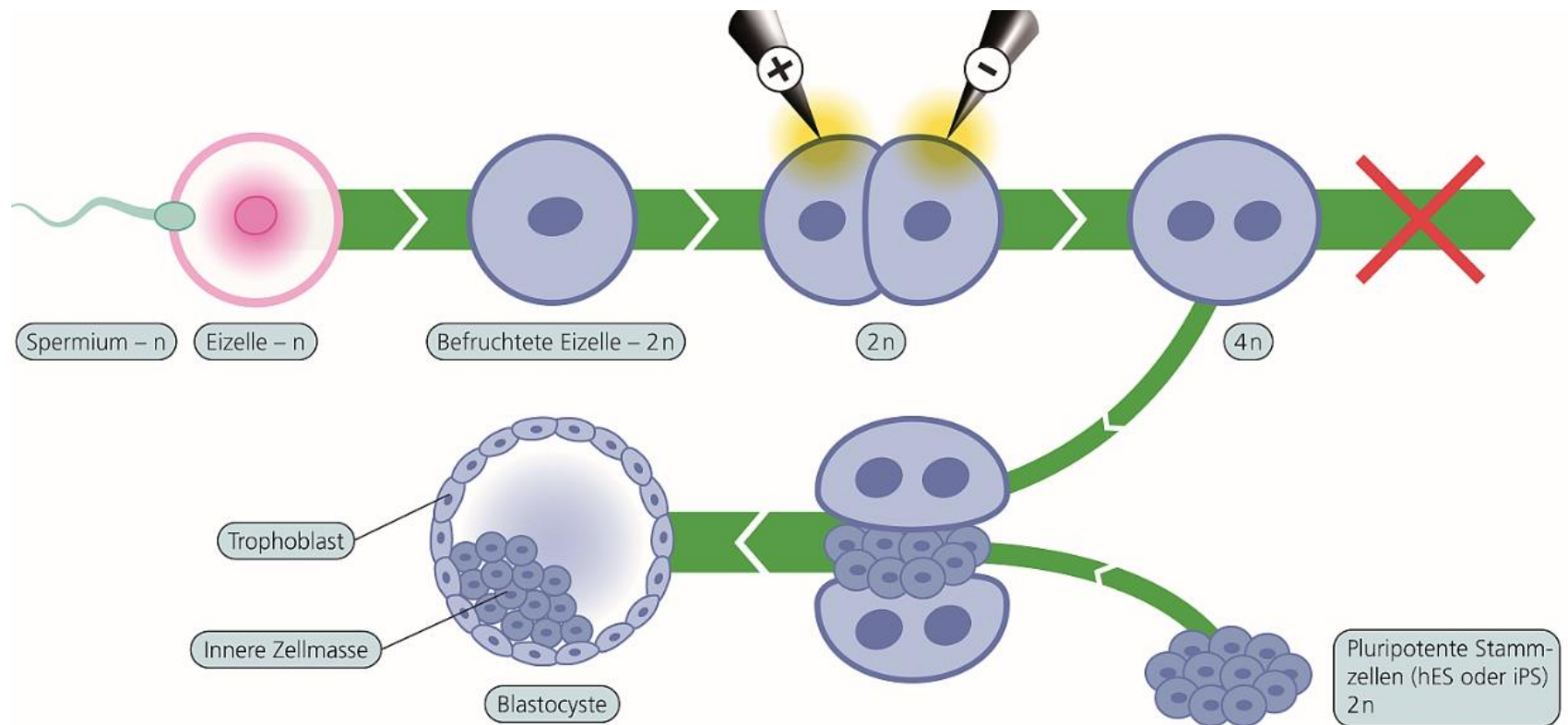
- Due cellule embrionali vengono fuse attraverso **elettrofusione** dando origine ad una cellula embrionale tetraploide.
- Sviluppandosi, tale cellula si trasforma in **BLASTOCISTI TETRAPLOIDE**.
- Nella blastocisti tetraploide vengono iniettate le cellule **iPS**.

ELETTROFUSIONE

ELETTROPORAZIONE



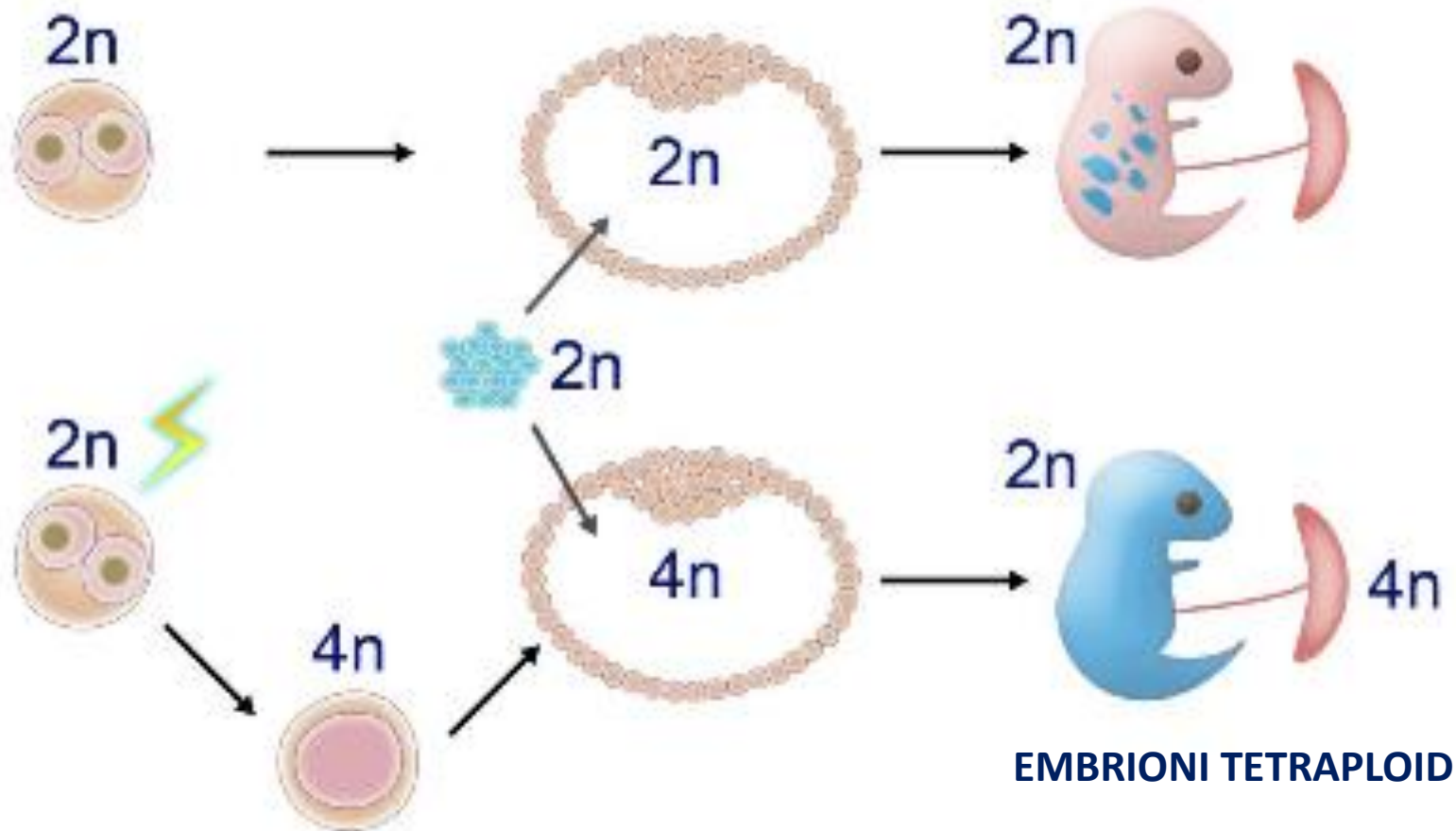
COMPLEMENTAZIONE TETRAPLOIDE



COMPLEMENTAZIONE TETRAPLOIDE

- La **blastocisti** darà origine al tessuto **extra-embrionale**
- Le **iPSC** daranno origine a tutte le cellule che determineranno lo sviluppo del **corpo del topo**

EMBRIONI CHIMERICI



iPS Cells Can Support Full-Term Development of Tetraploid Blastocyst-Complemented Embryos

Lan Kang,^{1,2} Jianle Wang,² Yu Zhang,² Zhaohui Kou,² and Shaorong Gao^{2,*}

¹Graduate Program, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China


²National Institute of Biological Sciences, Beijing 102206, China

*Correspondence: gaoshaorong@nibs.ac.cn

DOI 10.1016/j.stem.2009.07.001

Letter | Published: 02 August 2009

Adult mice generated from induced pluripotent stem cells

Michael J. Boland, Jennifer L. Hazen, Kristopher L. Nator , Alberto R. Rodriguez, Wesley Gifford, Greg Martin, Sergey Kupriyanov & Kristin K. Baldwin 

Letter | Published: 23 July 2009

iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation

Xiao-yang Zhao, Wei Li, Zhuo Lv, Lei Liu, Man Tong, Tang Hai, Jie Hao, [Chang-long Guo](#), Qing-wen Ma, Liu Wang, Fanyi Zeng  & Qi Zhou 

Le cellule iPS sono funzionalmente paragonabili
alle cellule ES

iPS Cells Can Support Full-Term Development of Tetraploid Blastocyst-Complemented Embryos

Lan Kang,^{1,2} Jianle Wang,² Yu Zhang,² Zhaohui Kou,² and Shaorong Gao^{2,*}

¹Graduate Program, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

²National Institute of Biological Sciences, Beijing 102206, China

*Correspondence: gaosharong@nibs.ac.cn

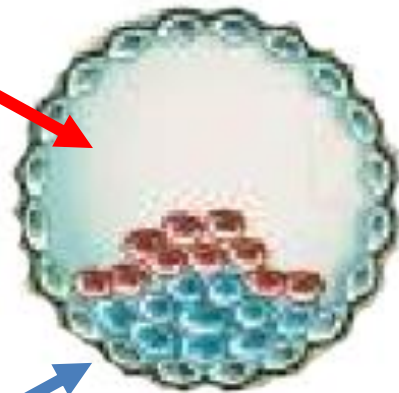
DOI 10.1016/j.stem.2009.07.001



iPS-cell mouse



Surrogate mother



iPS Cells Can Support Full-Term Development of Tetraploid Blastocyst-Complemented Embryos

Lan Kang,^{1,2} Jianle Wang,² Yu Zhang,² Zhaohui Kou,² and Shaorong Gao^{2,*}

¹Graduate Program, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

²National Institute of Biological Sciences, Beijing 102206, China

*Correspondence: gaoshaorong@nibs.ac.cn

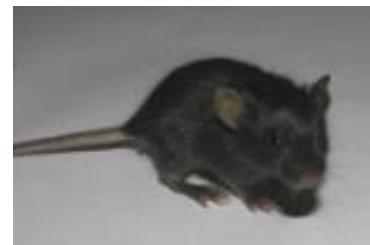
DOI 10.1016/j.stem.2009.07.001

Generation of iPS cell-tetraploid pups

Genotype of tetraploid embryos	No. embryos transferred	No. surrogate mothers	No. total newborns (%)	No. live pups (%)
B6D2F1×B6D2F1	200	7	2 (1)	0 (0)
ICR×ICR	187	7	2 (1.07)	1 (0.53)

387

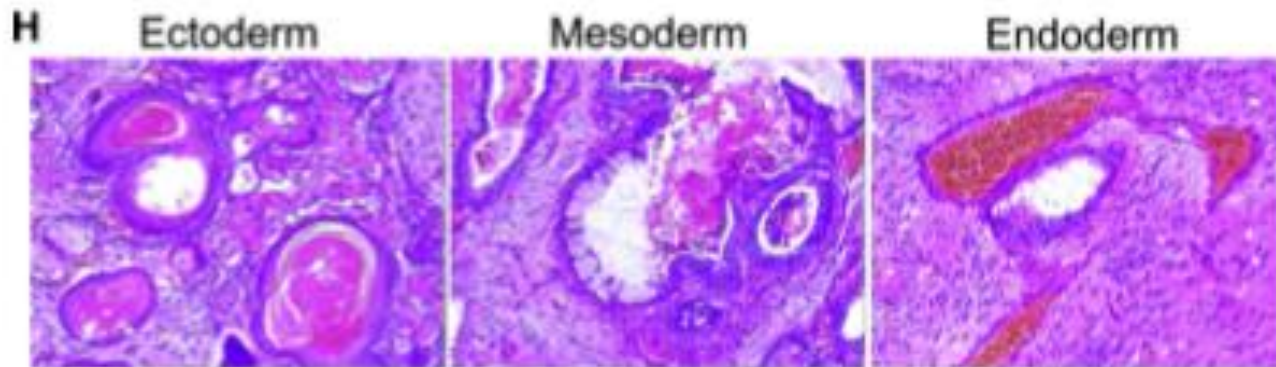
X



CONFRONTO MOLECOLARE TRA LE CELLULE iPS UMANE E CELLULE ES UMANE

La valutazione della pluripotenza delle cellule iPS umane non viene fatta con la complementazione tetraploide.

Il test preliminare più utilizzato è la **formazione del teratoma**: valuta il potenziale di differenziazione per formare i 3 strati germinali, o un piccolo numero di tipi di cellule, ma **non** può identificare la pluripotenza completa.



CONFRONTO MOLECOLARE TRA LE CELLULE iPS UMANE E CELLULE ES UMANE

Differenze stocastiche di espressione genica tra cellule iPS umane e cellule ES umane, riguardanti:

- Memoria originale.
- Riprogrammazione incompleta.

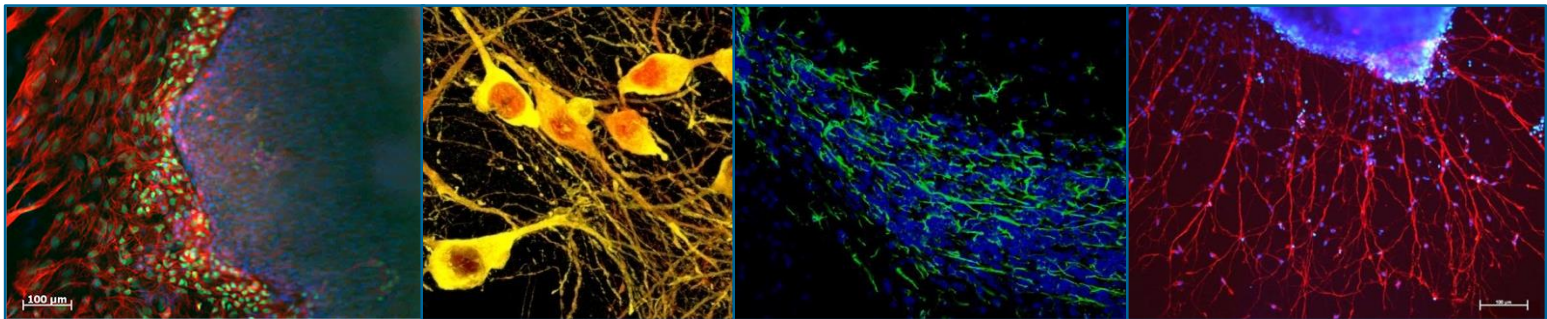
Sono dovute a:

- Passaggio delle cellule iPS
- Metodi analitici e interpretazione dei dati
- Proprietà stocastiche delle varie linee iPSC ed ES

REQUISITI MINIMI PER L'USO CLINICO DELLE CELLULE iPS UMANE

- Cariotipo normale
- Genotipo normale
- Attivazione di reti pluripotenti
- Capacità di differenziazione specifica

Applicazioni iPSC



ESC VS IPSC

Vantaggi ESC

- pluripotenti
- facili da isolare
- altamente produttive in coltura

Svantaggi ESC

- rigetto immunitario
- possibilità che si differenzino in tipi cellulari inadeguati
- induzione di tumori

ESC VS iPSC

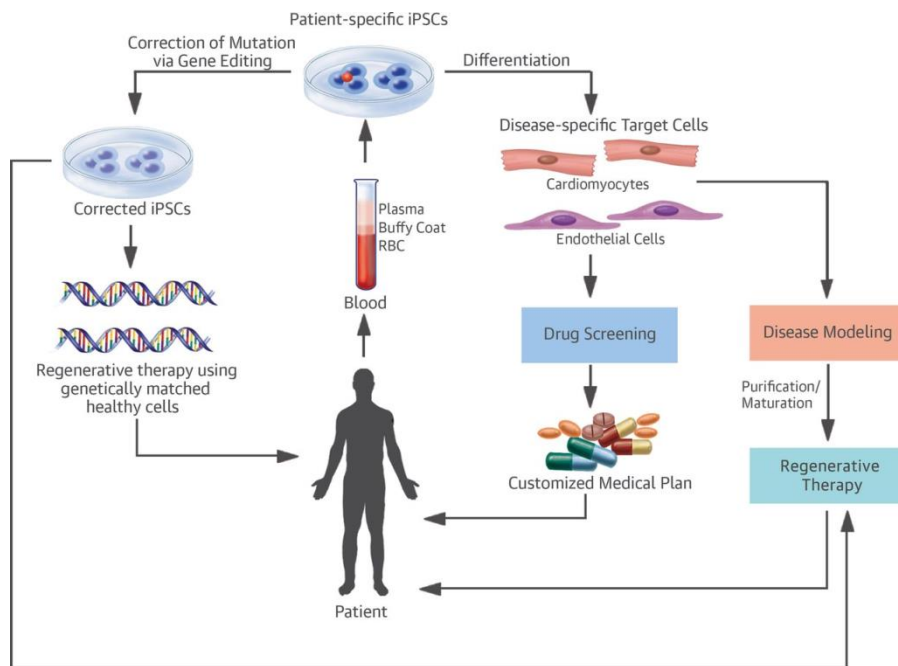
Vantaggi iPSC

- pluripotenti
- minore probabilità di rigetto immunitario
- non sollevano un dibattito bioetico, non sono soggette a regolamentazioni speciali
- hanno mostrato una somiglianza molecolare e funzionale con le cellule embrionali
- la loro crescita è lenta ma soddisfa i requisiti sperimentali

Svantaggi iPSC

- si differenziano preferenzialmente in determinati elementi cellulari
- possibile induzione di tumori
- hanno la tendenza a generare alterazioni nella sequenza del DNA e nei cromosomi
- presentano una instabilità del DNA simile a quella delle cellule tumorali

iPSC E RICERCA



La ricerca sulle iPSC comprende:

1. il miglioramento delle conoscenze dei meccanismi che sottendono la riprogrammazione cellulare al fine di un impiego delle cellule iPS in strategie di trapianto
2. la possibilità di utilizzare queste nuove staminali per studiare *in vitro* le malattie umane in modo paziente-specifico
3. la sperimentazione di nuovi farmaci e gli studi di tossicità

1. Studio in vitro delle malattie umane in modo paziente-specifico

Il rischio e il danno per il paziente sono minimi

Un numero elevato di cellule bersaglio può essere generato in modo coerente da iPSCs paziente-specifiche

La generazione di iPSCs specifiche per il paziente spesso costa meno della generazione di modelli di malattia animale

Riduzione al minimo degli errori che derivano dalle discrepanze tra modelli animali di malattie e malattie umane effettive

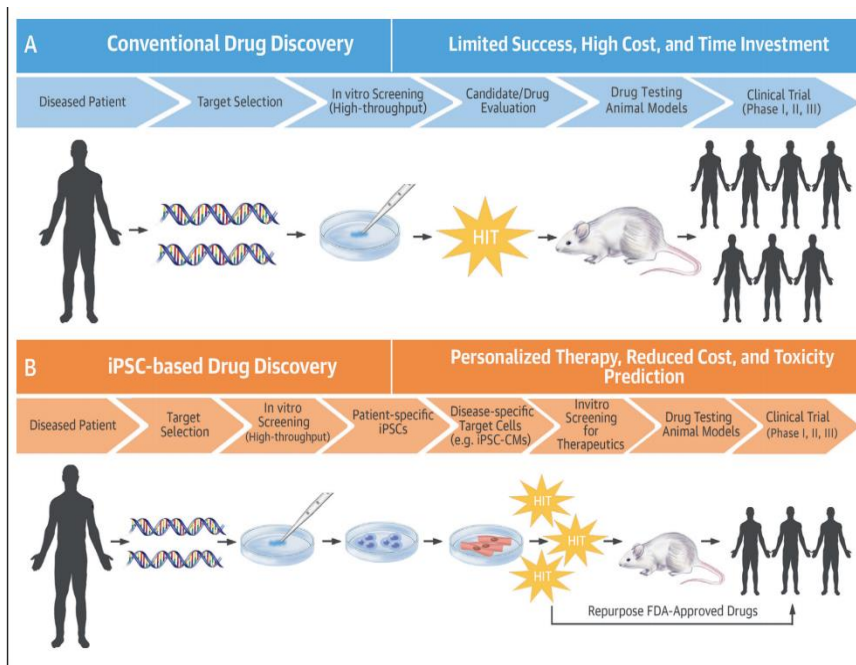
La riproducibilità della modellizzazione della malattia con iPSCs specifiche per il paziente rappresenta un problema

La complessità della fisiopatologia della malattia potrebbe non essere rivelata da nessuna singola cellula derivata da iPSCs

Suscettibilità dell'ospite e fattori ambientali interagiscono criticamente nella patogenesi e nella progressione delle patologie. Sono stati fatti sforzi per ridurre il divario tra simulazione di malattie e realtà

2. Scoperta dei farmaci

(A) La via convenzionale di scoperta dei farmaci è un processo molto inefficiente, caratterizzata da varie difficoltà. La maggior parte dei farmaci candidati non raggiunge mai il mercato a causa di problemi di sicurezza ed efficacia.



(B) La tecnologia delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) consente l'alta velocità screening di molecole terapeutiche fornendo modelli di sviluppo di farmaci specifici per la malattia generati dai pazienti stessi

Rigenerazione Cardiovascolare

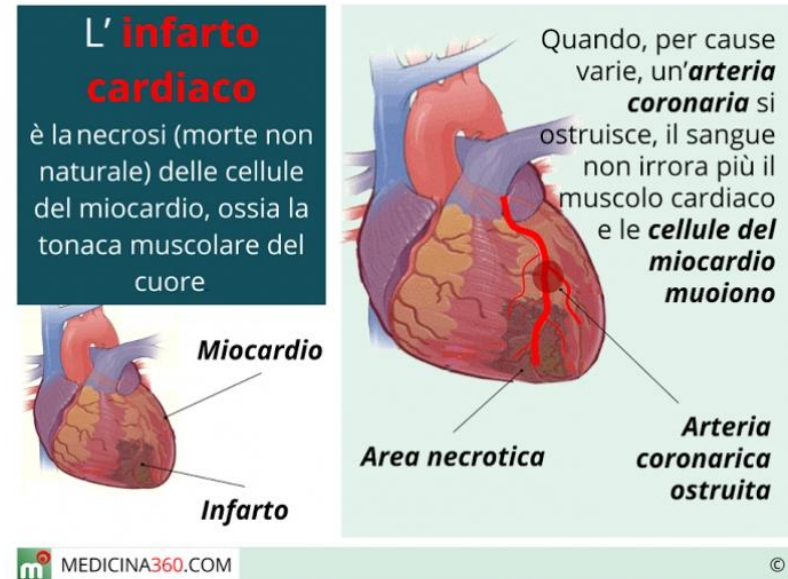
Le iPSC sono viste come un efficace tipo di cellula di semina che può essere utilizzata per il trasferimento autologo limitando i problemi legati al rigetto immunitario

I cardiomiociti sono derivati da cellule staminali pluripotenti utilizzando tre principali metodologie:

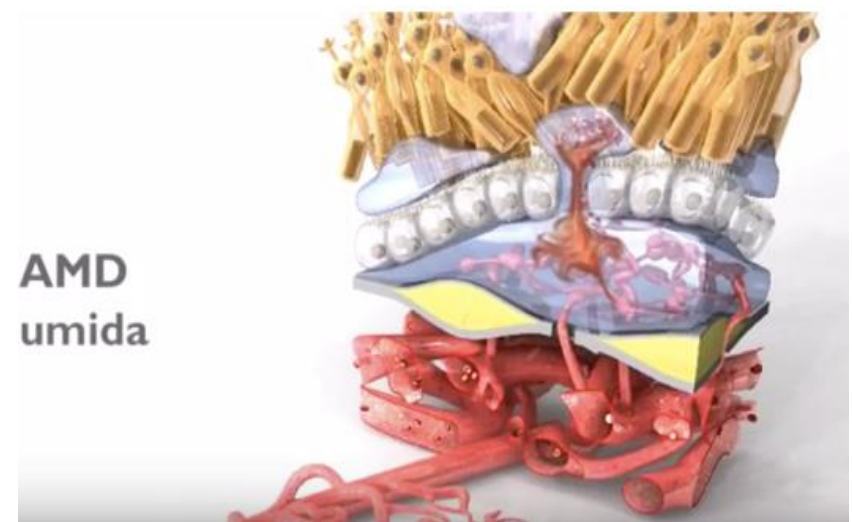
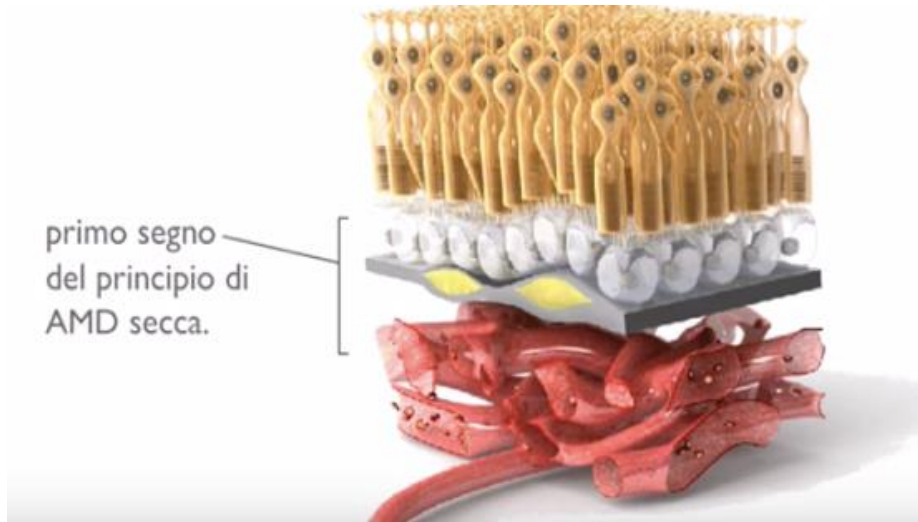
- *Formazione del corpo embrioide*
- *Co-coltura con cellule END2*
- *Differenziazione diretta*

Applicazioni iPSC:

- innesto stabile nel miocardio di topo
- patch di fibrina pericardica che rilascia IGF-1
- crescita di cellule CM indotte da iPSC in un polimero sensibile alla temperatura

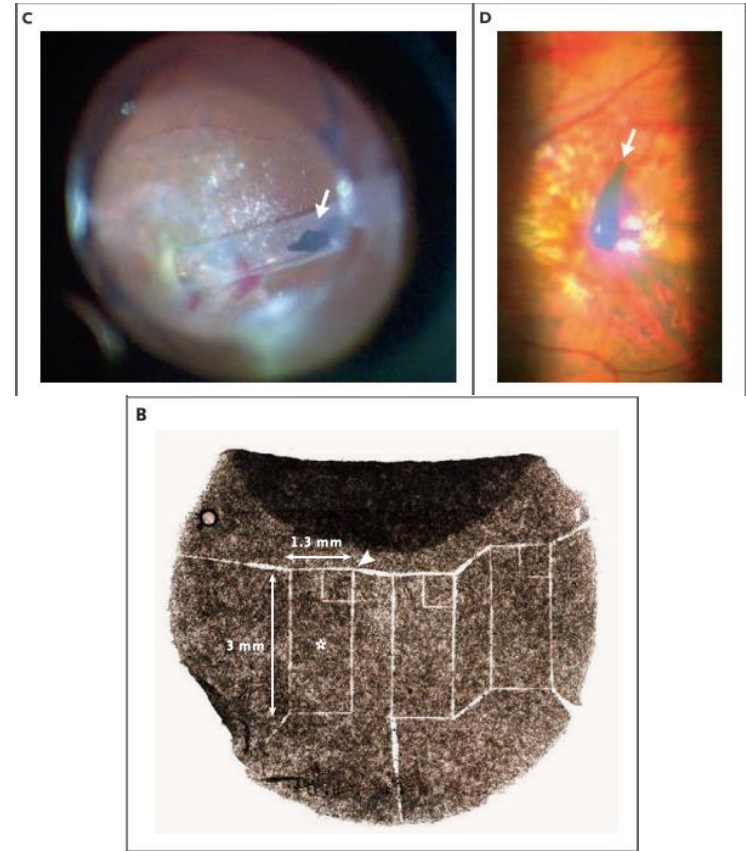


Degenerazione maculare senile

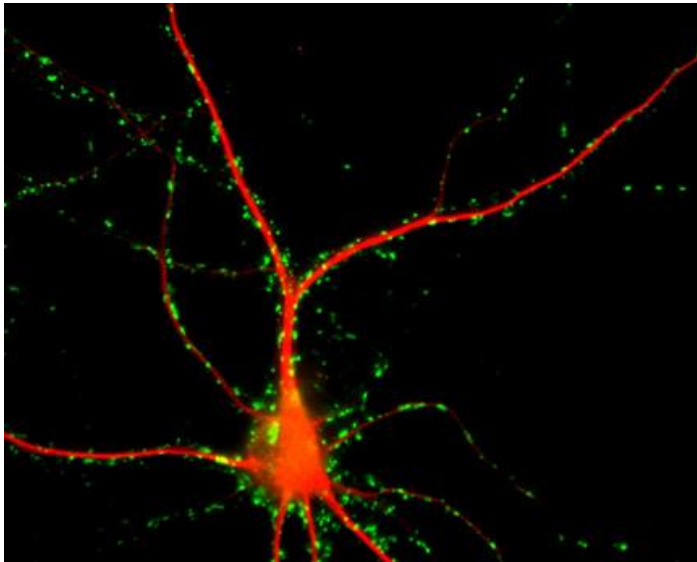


Degenerazione maculare senile

- In questo studio Mandai e colleghi mostrano la fattibilità del trapianto di un foglio di cellule RPE differenziate da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) da fibroblasti del derma
- Il trapianto è stato ben tollerato, la capacità visiva del paziente trapiantato è rimasta costante e le cellule sono sopravvissute senza alcun segno di formazione neoplastica
- Prima del trapianto le cellule derivate da iPSC sono state sottoposte a screening per tutte le mutazioni acquisite. Un secondo paziente, inizialmente selezionato per questo studio clinico, non ha ricevuto il trattamento dopo che il test ha rivelato diverse delezioni del DNA nella preparazione di cellule RPE derivate da iPSC



iPSC NEL TRATTAMENTO DI MALATTIE NEURODEGENERATIVE



Perdita progressiva della struttura o della funzionalità dei neuroni, compresa la morte dei neuroni stessi

PERCHÈ USARE LE iPSC ?

- Drammatico aumento delle malattie neurodegenerative nella popolazione
- Non chiarezza dei meccanismi alla base di queste malattie
- L'assenza di biomarker
- Modello animale non è affidabile

iPSC

1

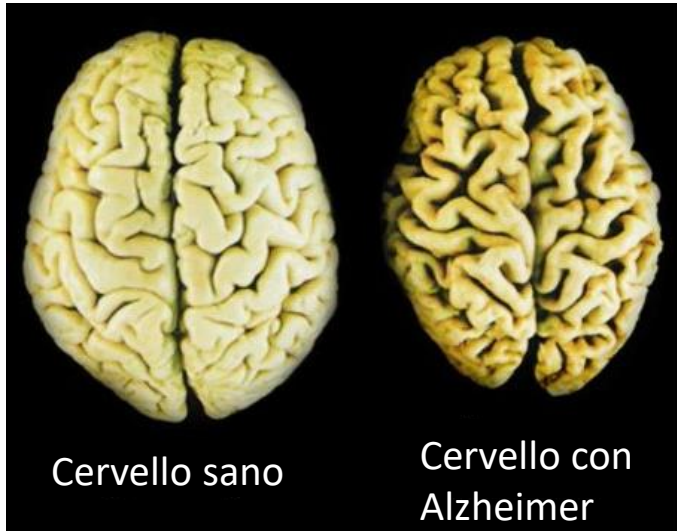
MODELLI SPECIFICI DELLA MALATTIA

2

GENERAZIONE DI UNA RISORSA DI CELLULE
PER LA MEDICINA RIGENERATIVA

ALZHEIMER

è la più comune forma di demenza senile

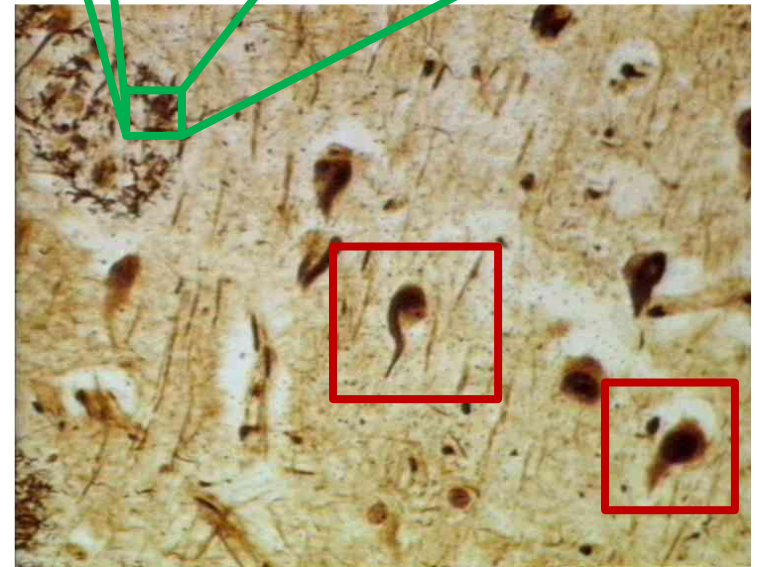
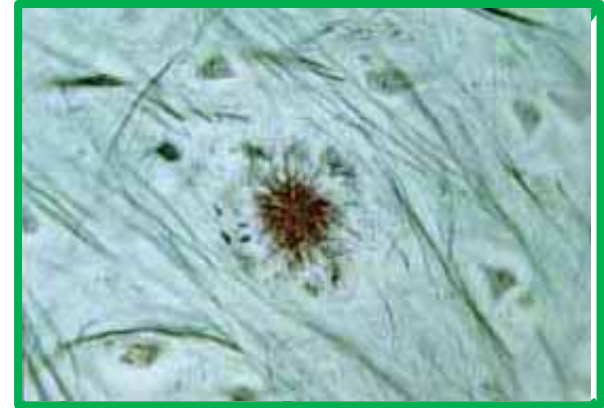


- 5% di ultrasessantacinquenni
- In Italia si stimano 500 mila malati

CARATTERISTICHE

- **Placche senili:** deposizione extracellulare di β -amiloide

- **Ammassi neurofibrillari** costituiti da filamenti di proteine tau



Grazie alla realizzazione di un **modello della malattia** utilizzando iPSC derivate da cellule somatiche:

- cellule che prima era impossibile avere
- elucidazioni sulle cause
- scoperta di nuovi trattamenti

ESEMPIO 1

Hanno ottenuto neuroni da hiPSC con mutazione del gene che codifica la proteina precursore dell'amiloide e della presenelina che si pensano alla base della formazione dell'Alzheimer

ESEMPIO 2

Sono stati eseguiti trattamenti su neuroni derivati da iPSC provenienti da pazienti con Alzheimer:

- Inibitori di γ -secretasi
- Inibitori di β -secretasi
- Acido decosaeseonico (DHA)



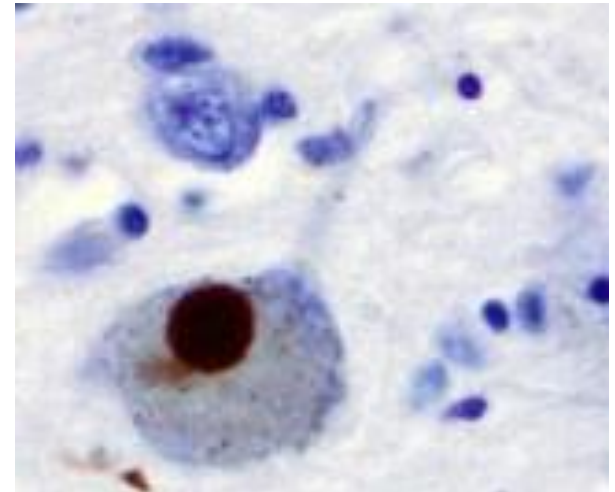
**PREVENGONO
LA
FORMAZIONE
DI OLIGOMERI
DI β A**

PARKINSON

È la seconda più comune malattia cronica neurodegenerativa

CARATTERISTICHE

- Perdita selettiva dei neuroni dopaminergici (DA)
- Formazione dei corpi di Lewy

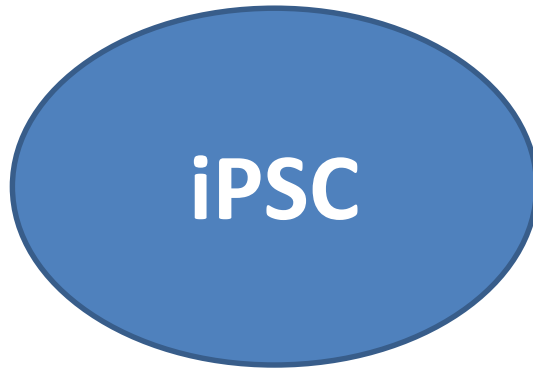
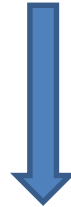


SINTOMI

- Problemi motori
- Bradicinesia
- Tremore a riposo
- Rigidità
- Perdita dei riflessi posturali

PROBLEMATICHE

Limitata accessibilità dei neuroni dopaminergici su cui si basa la ricerca sperimentale



ESEMPIO

iPSC provenienti dai fibroblasti di un paziente
con Parkinson sono state differenziate in
neuroni dopaminergici



Trapiantato autologo nello striato di
un modello murino

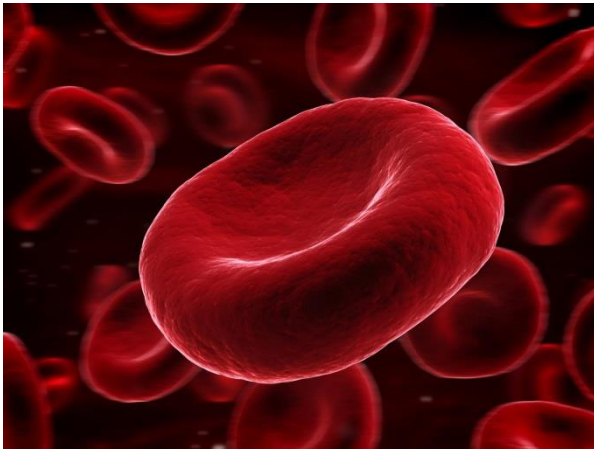


Miglioramento dell'invalidità
comportamentale e motoria



**NEURONI OTTENUTI DALLE CELLULE SOMATICHE DI UN
PAZIENTE POTREBBERO ESSERE UTILI AL TRATTAMENTO
DELLA SUA STESSA MALATTIA**

hiPSC NEL TRATTAMENTO DI DISORDINI EMATOLOGICI



PARADIGMA DEL TRATTAMENTO

- Derivazione di iPSC da un campione di sangue del paziente
- Correzione delle mutazioni genetiche
- Differenziazione in HSC
- Restituzione al paziente

LIMITI

- Riparazione genica è attualmente inefficiente nelle cellule staminali

- Non esiste ad oggi un protocollo valido per differenziare le iPSC in HSC



PRECURSORI DEI GLOBULI ROSSI

- Numero non sufficiente
- Costo proibitivo

OBIETTIVI FUTURI

- Miglioramento della derivazione di hiPSC
- Miglioramento differenziazione di HSC impiantabili o RBC trasfusibili
- Riduzione dei costi per il mantenimento e la differenziazione delle iPSC in modo da creare una risorsa cellulare e delle terapie accessibili

iPSC PER LA PRODUZIONE DI UN APPARATO TEGUMENTARIO 3D

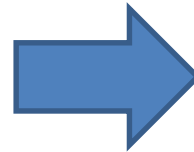
Impermeabilizzazione

Ammortizzazione

Protezione dei tessuti
più profondi

Eliminazione dei rifiuti

Termoregolazione



**PELLE E SUE
APPENDICI**

COME SI USANO LE iPSC?

1

INDUZIONE IN-VIVO DI TESSUTO EPITELIALE

2

TRAPIANTO ORTOTOPICO

COME SI USANO LE iPSC?

1

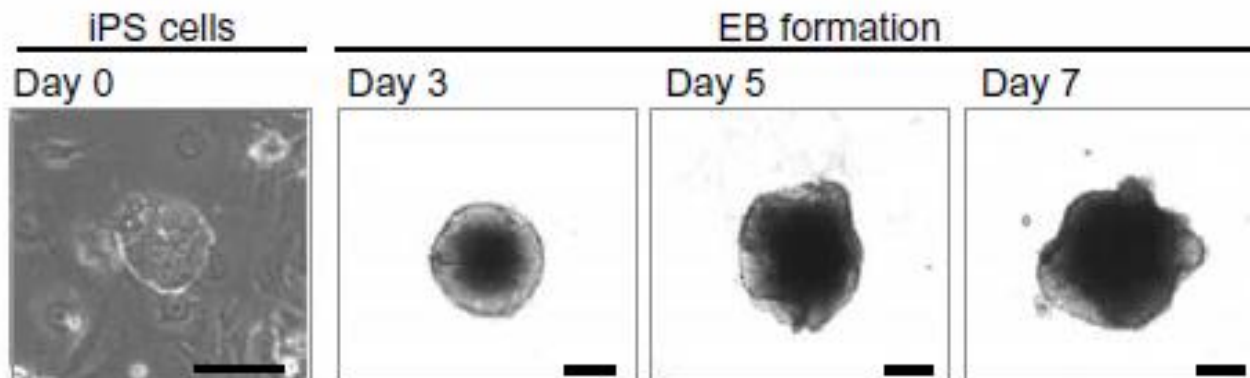
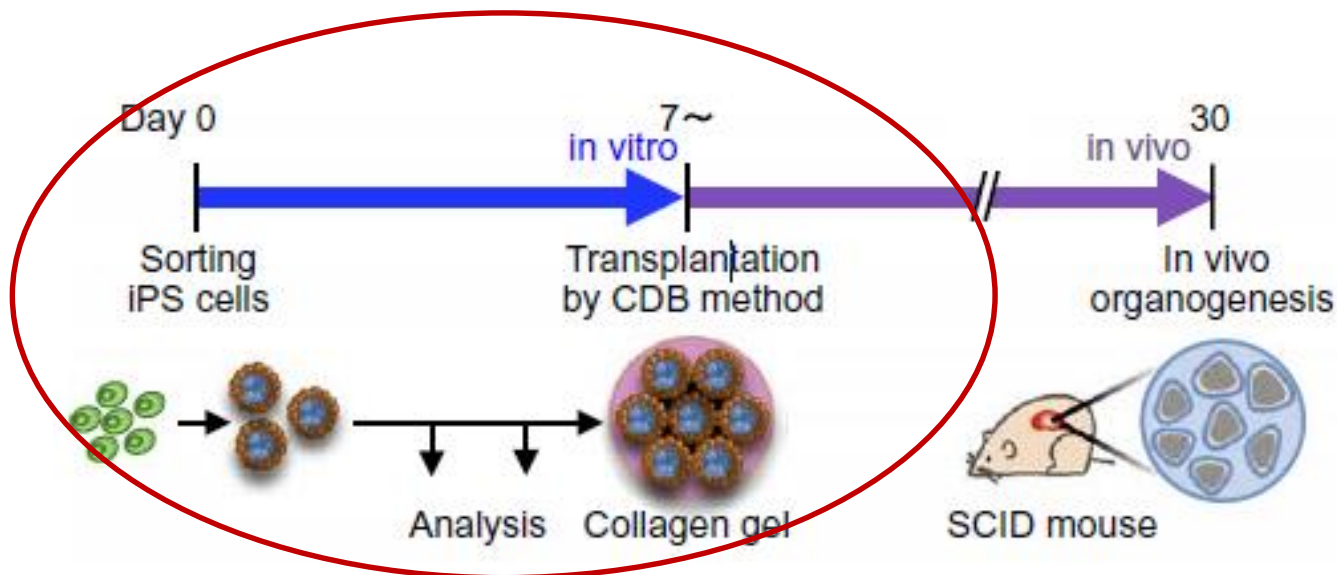
INDUZIONE IN-VIVO DI TESSUTO EPITELIALE

2

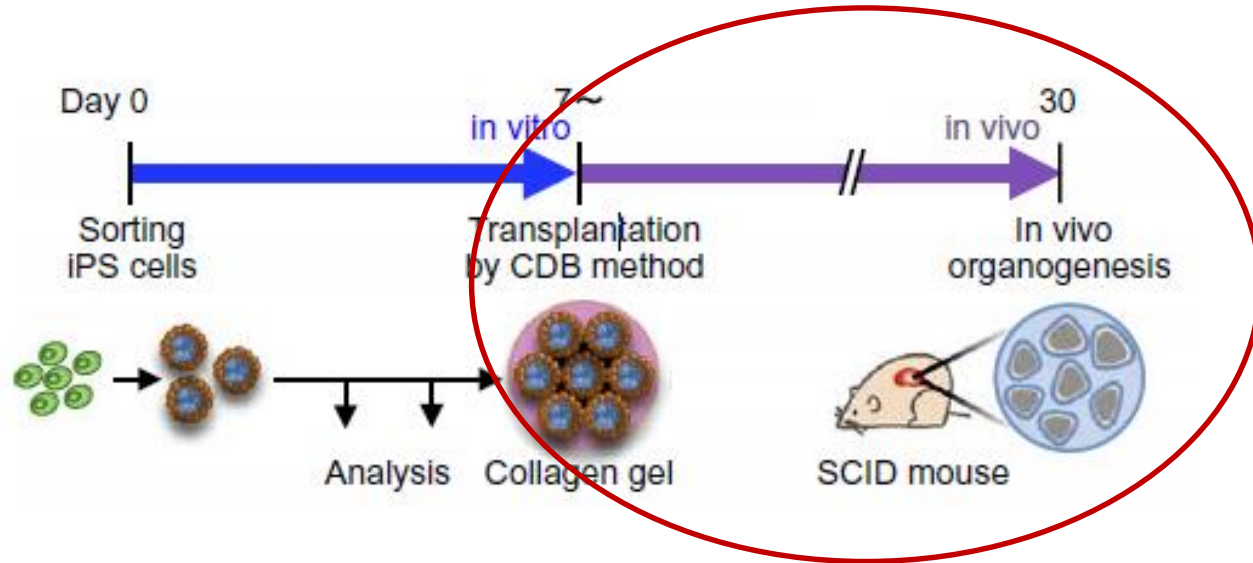
TRAPIANTO ORTOTOPICO

1.A

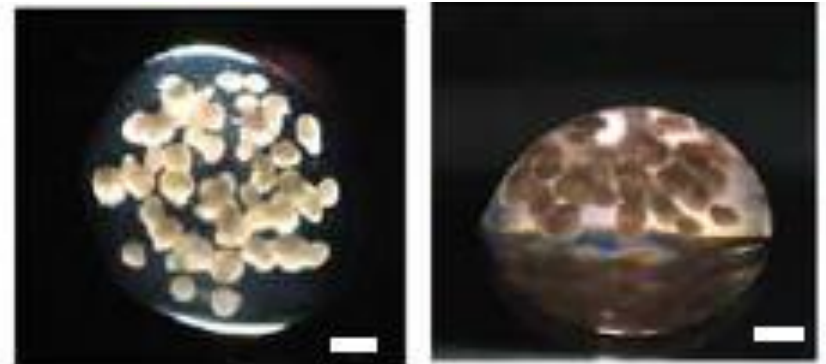
COLTURA DI iPSC E DIFFERENZIAMENTO IN CELLULE MESENCHIMALI E EPITELIALI

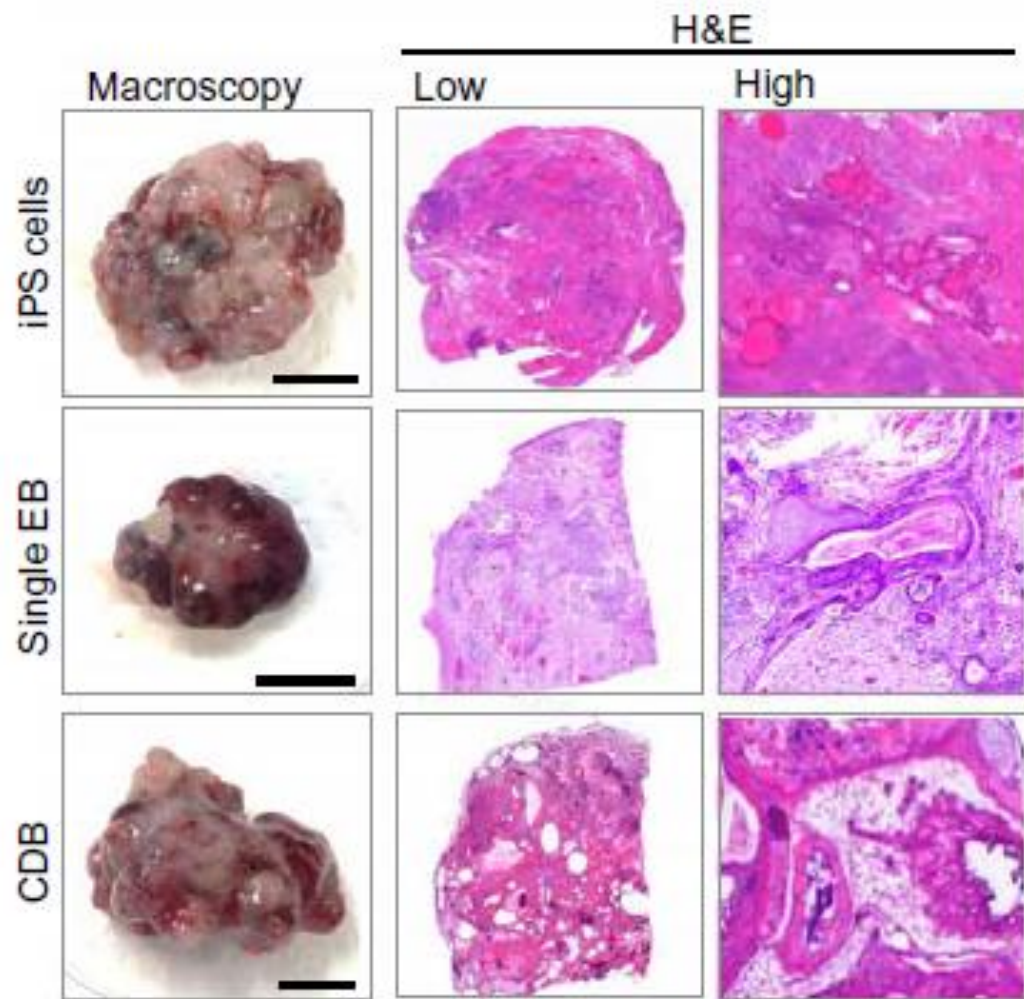


TRAPIANTO IN VIVO

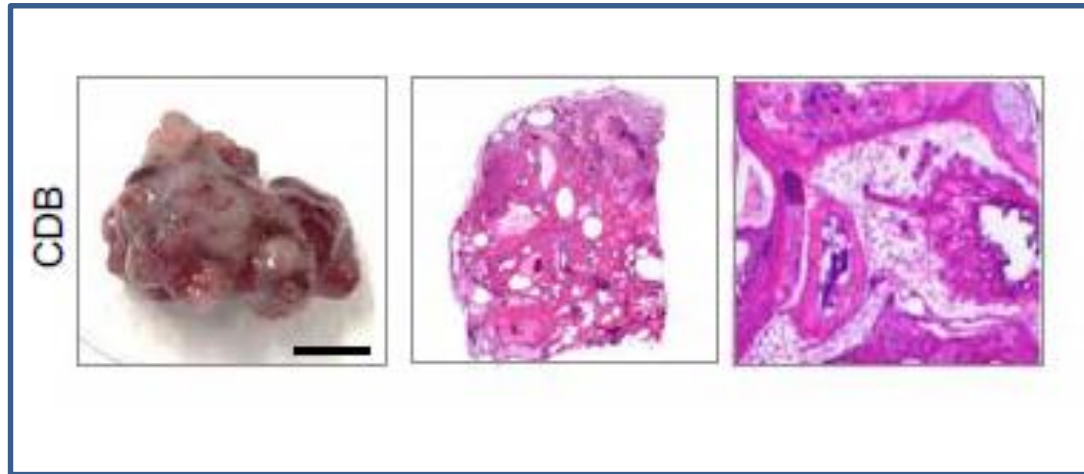


- iPSC
- Singolo corpo embrioide
- Cluster di corpi embrioidi





Trapianto di cluster di corpi embrioidi



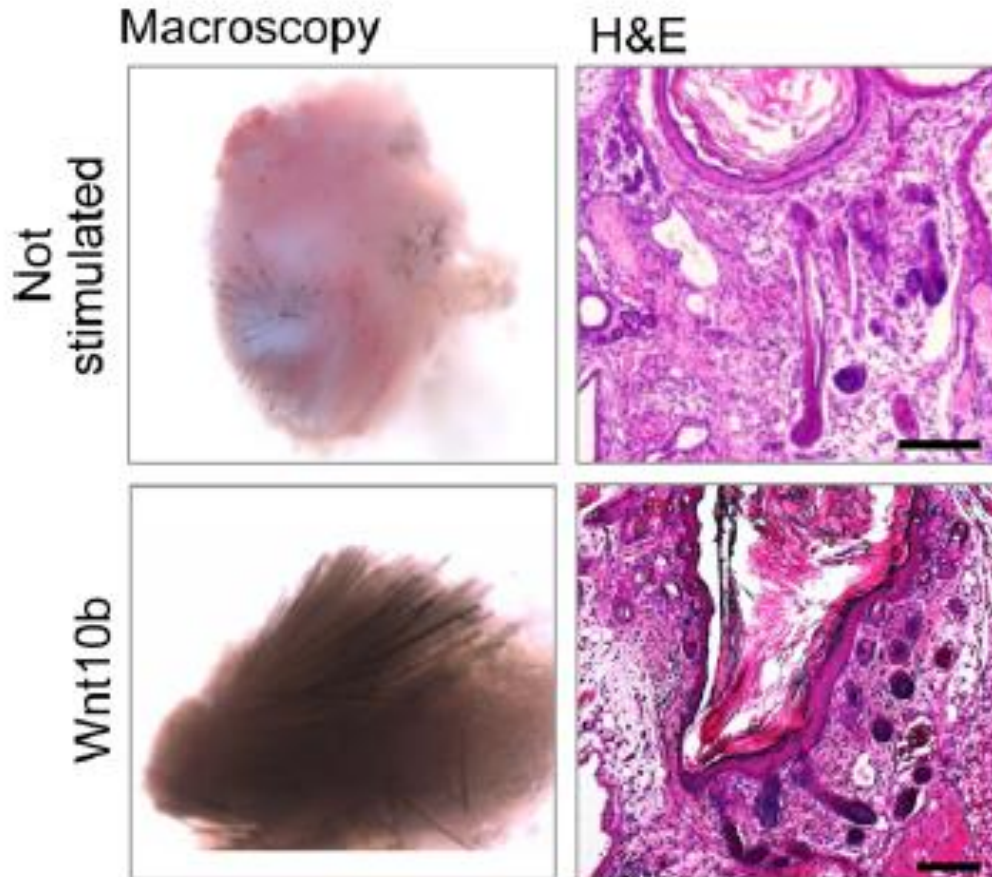
- Peso maggiore
- Area maggiore
- Analisi citochimica:
 - Ectoderma
 - Tessuto nervoso
 - Tegumento
 - Endoderma
 - Tratto respiratorio
 - Tubo gastro-intestinale

1.C

Stimolazione delle
Colture con un
Mediatore biologico
(Wnt10b)

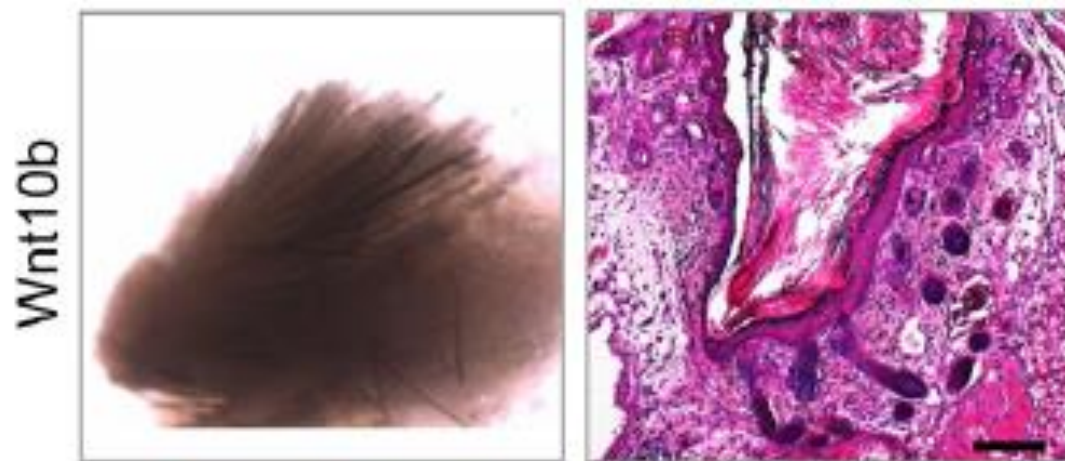


FOLLICOLI PILIFERI



- Maggior velocità
- Maggior numero
- Maggior lunghezza

Colorazione dei peli



1.D

UTILIZZO DI DIVERSI CLONI DI iPSC DERIVANTI DA:

- Gengiva (origine ectodermica)
- Stomaco (origine endodermica)



La generazione di un apparato tegumentario bioingegnerizzato non dipende dall'origine dei cloni di iPSC

COME SI USANO LE iPSC?

1

INDUZIONE IN-VIVO DI TESSUTO EPITELIALE

2

TRAPIANTO ORTOTOPICO

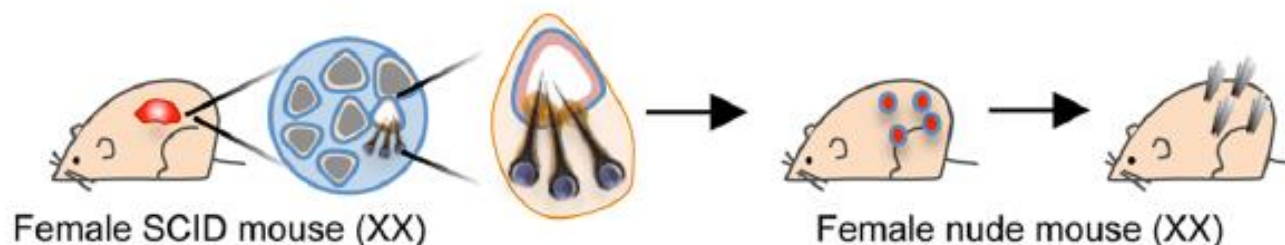
TRAPIANTO ORTOTOPICO DELL'APPARATO TEGUMENTARIO BIOINGEGNERIZZATO DERIVANTE DA iPSC



In vivo–organized integumentary organ
system derived from male iPS cells (XY)

Intracutaneous
transplantation

Orthotopic
hair function

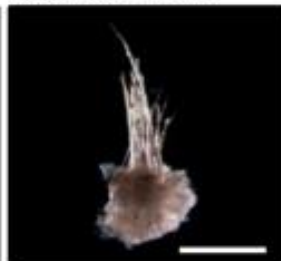


Cystic tissue with hairs

Whole

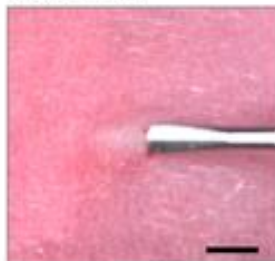


Cut hair units

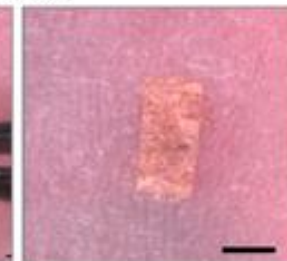
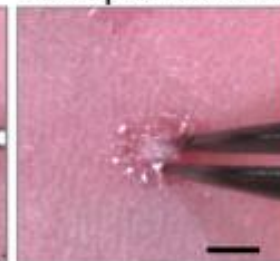


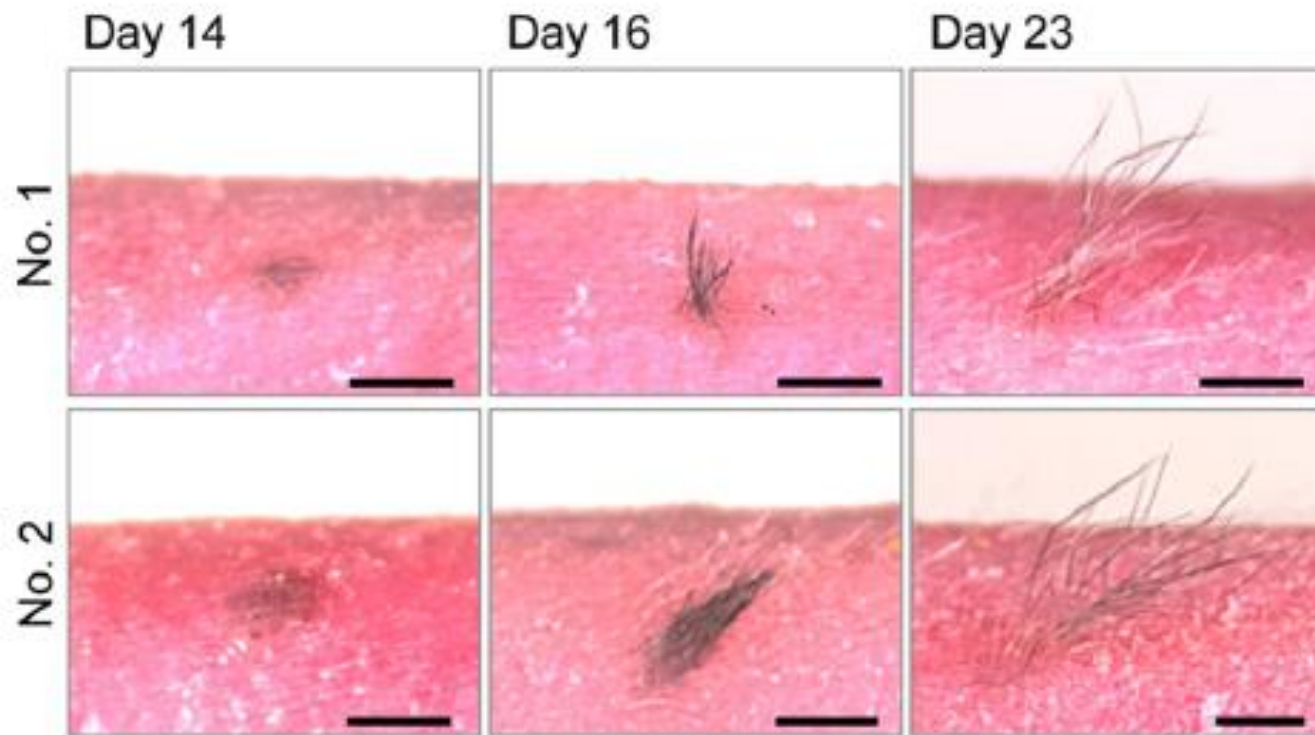
FUT operation

Insertion



Transplant and close

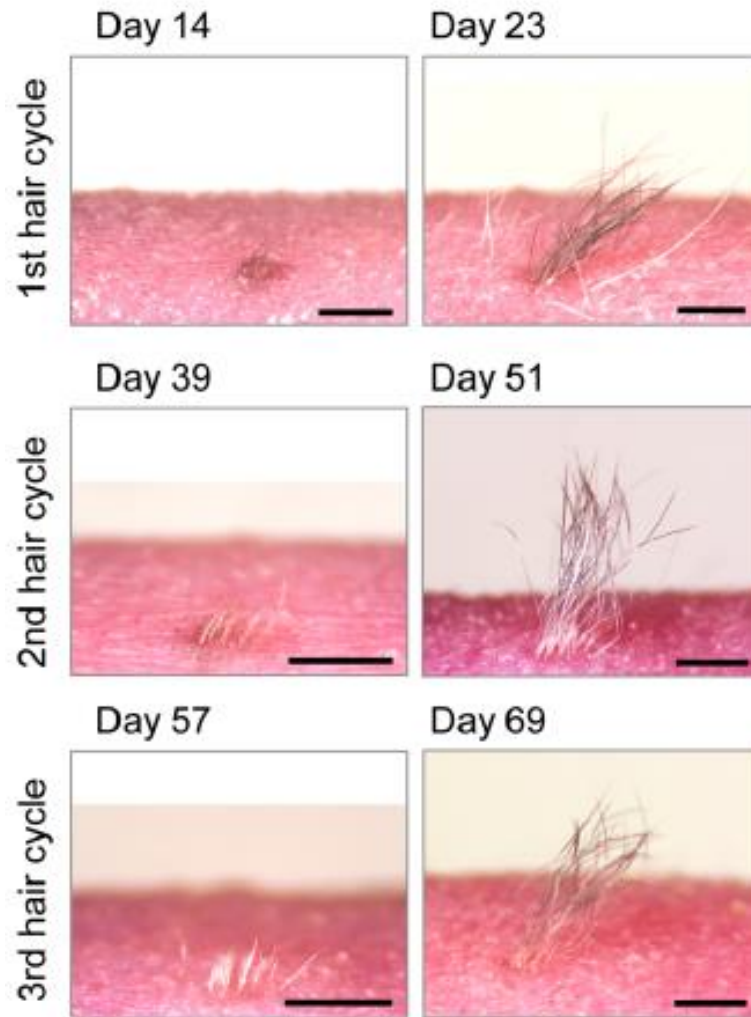




Dopo 3 mesi: assenza di tumorigenesi

2.A

ANALISI DEL CICLO VITALE DEI PELI



RISULTATI

Il metodo di trapianto con cluster di corpi embrioidi nelle ghiandole surrenali ha sviluppato velocemente un apparato tegumentario bioingegnerizzato che si comporta come una pelle naturale.

CONCLUSIONI

- Rigenerazione cellulare
- Modellizzazione di malattie per la comprensione della loro fisiopatologia
- Alternativa al modello animale

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

"Turning back the aging clock
through cellular reprogramming"

