

Embryonální a indukované pluripotentní buňky

ÚVOD

Již od okamžiku objevu kmenových buněk, fascinuje vědce jejich potenciál umožňující obnovu a regeneraci tkání. Průlomem v poznání byl rok 2006, kdy skupina Shinya Yamanaky demonstrovala vznik „induced pluripotent stem (iPS) cells“ z dospělých myších fibroblastů pomocí retrovirové transfekce transkripčními faktory Oct 3/4, Sox2, c-Myc a Klf4. Stejný postup byl v roce 2007 použit pro přeprogramování lidského fibroblastu, pomocí identického setu transkripčních faktorů, na pluripotentní kmenovou buňku. Zajímavé je, že kmenové buňky generované touto technikou jsou velice podobné embryonálním kmenovým buňkám (ES) co se týče míry exprese „kmenových“ genů, formování teratomů po aplikaci do imunodeficientních hostitelů a jejich příspěvku k formování řady linií. V krátké době byla tato technologie podstatně rozvinuta a bylo s ní dosaženo výrazného pokroku. U pacienta trpícího Amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) se podařilo generovat iPS buňky a přinutit je diferencovat v motorické neurony. Výzvou zůstává vývoj strategie generování iPS buněk bez použití virové transfekce. Dosud bylo prokázáno, že je možné generovat iPS z myších embryonálních fibroblastů pomocí opakované transfekce neintegrujících plazmidů exprimujících faktory nezbytné pro přeprogramování. Touto technikou je možné připravit iPS buňky bez prokazatelně integrovaných plazmidů, které ale jsou schopné po transplantaci do myši formovat teratomy a umožnit vznik chimér v dospělosti.

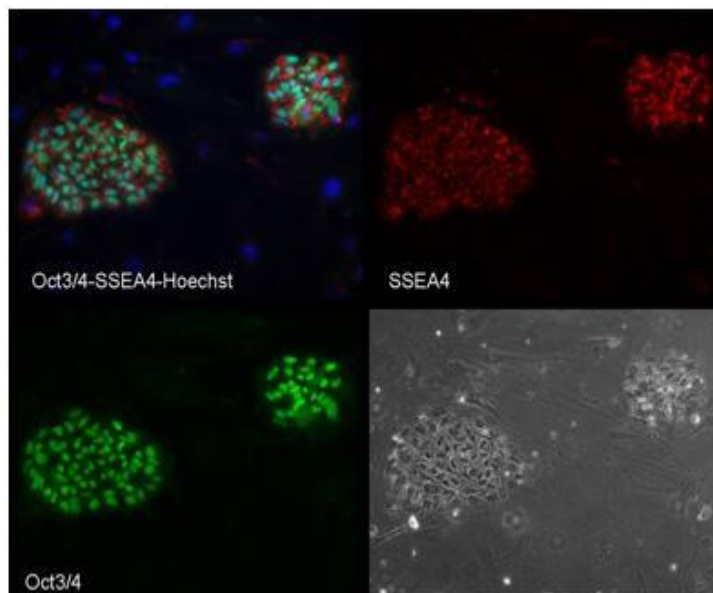
MATERIÁL

eBioscience dodává vysoce čistý rekombinační myší LIF a rekombinační lidský FGF-b (bez endotoxinu) pro přípravu a kultivaci iPS a ES buněk.

Lidský FGF basic (FGF-2) Rekombinantní protein bez nosiče kat.č. 34-8986
(také označovaný jako: Fibroblast Growth Factor basic, FGFb, FGF2)

Myší LIF Rekombinantní protein bez nosiče kat.č.34-8521
(také označovaný jako: leukocyte inhibitory factor, Leukemia inhibitory factor)

Kultura lidských embryonálních kmenových buněk inkubovaná s lidským FGF-b



Funkčnost lidského rekombinačního FGF-b byla potvrzena kultivací lidské embryonální kmenové linie H9 po dobu 5 pasáží. Buňky si zachovávají typickou nediferencovanou morfolologii a exprimují pluripotentní znaky Oct-3/4 a SSEA-4 jak je ukázáno pomocí imunofluorescenční mikroskopie na jednotlivých koloniích.

Vlastnosti iPS derivovaných různými metodami.

Vlastnosti	iPS buňky	ES buňky	ES buňky připravené transferem jádra	Kmenové buňky připravené fúzí somatických a ES buněk
Popsáno u lidí	ANO	ANO	NE	ANO
Nezbytnost embryí, nebo dárcovských oocytů	NE	ANO	ANO	Nezbytnost existujících ES buněk
Exprese znaků kmenovosti	ANO	ANO	ANO	ANO
Tvorba teratomů	ANO	ANO	ANO	ANO
Použitelné pro modelování lidských chorob	ANO	některé	ANO	některé
Použitelné po testování léčiv	ANO	ANO	Pravděpodobně ano	ANO
Nedefinovaný osud	Pravděpodobně ano	ANO	Není známo	Není známo
Vývoj do „konkrétní“ lidské tkáně	Musí být prokázáno	ANO	Neprokázáno u lidí	NE
Geneticky shodné s pacientem	Není známo	NE	Není známo	NE
Další info	Buňky jsou geneticky upravené	Buňky jsou alogenetické	Lidské oocyty v omezeném množství	Tetraploidní

Kompletní set protilátek eBioscience pro identifikaci pluripotentních buněk.

antigen	formát	klon	katalog.č.
Anti-Human alpha-Fetoprotein	Alexa Fluor® 488	AFP3	53-6583
Anti-Mouse c-Met (HGF Receptor)	FITC	eBioclone 4	11-8855
	purified		14-8855
Anti-Mouse c-Met (HGF Receptor)	FITC	eBioclone 7	11-8854
	PE		12-8854
	purified		14-8854
Anti-Human c-Met (HGF Receptor)	biotin	eBioclone 97	13-8858
	FITC		11-8858
	purified		14-8858
Anti-Mouse CD9	APC	eBioKMC8 (KMC8)	17-0091
	FITC		11-0091
	PE		12-0091
Anti-Human CD9	biotin	eBioSN4 (SN4 C3-3A2)	13-0098
CD9	eFluor® 450	SN4	8048-0098
	eFluor® 450		9048-0098
Anti-Human CD9	FITC	eBioSN4 (SN4 C3-3A2)	11-0098
	PE		12-0098
Anti-Mouse CD140b (PDGF Receptor b)	APC	APB5	17-1402
	biotin		13-1402
	FG, purified		16-1402
	PE		12-1402
Anti-Human CD326 (EpcAM)	eFluor® 660	1B7	50-9326
	PE		12-9326
	PerCP-eFluor® 710		46-9326
Anti-Mouse CD326 (EpcAM)	APC	G8.8	17-5791
	biotin		13-5791
	eFluor® 450		48-5791
	PE		12-5791
	PE-Cy7		25-5791
	PerCP-eFluor® 710		46-5791
anti-human EpcAM-1	purified	VU-1D9	BMS171
anti-human LFA-1 beta	biotin	R3.3	BMS103BT
	FITC		BMS103FI
	purified		BMS103
Anti-human LIF	purified	1F10	BMS1026
Anti-human LIF	purified	7D2	BMS1027
Anti-Mouse Nanog	Alexa Fluor® 488	eBioMLC-51	53-5761
	Alexa Fluor® 647		51-5761

Anti-Human Nanog	Biotin	hNanog.1	13-5769
	FITC		11-5769
Anti-Human/Mouse OCT3/4	Alexa Fluor® 488	EM92	53-5841
	Alexa Fluor® 647		51-5841
	PE		12-5841
Anti-Human Podocalyxin PE	PE	B34D1.3	12-8873
Anti-Human/Mouse SSEA-1	Alexa Fluor® 488	eBioMC-480 (MC-480)	53-8813
	Alexa Fluor® 647		51-8813
	biotin		13-8813
	eFluor® 650NC		95-8813
	PE		12-8813
Anti-Human/Mouse SSEA-3	Alexa Fluor® 488	eBioMC-631 (MC-631)	53-8833
	Biotin		13-8833
	eFluor® 605NC		93-8833
	PE		12-8833
Anti-Human TCL1	APC	eBio1-21 (1-21)	17-6699
	PE		12-6699
Anti-Human TRA-1-60 (podocalyxin)	Biotin	TRA-1-60	13-8863
	PE		12-8863
Anti-Human TRA-1-81 (Podocalyxin)	APC	TRA-1-81	17-8883
	Biotin		13-8883
	PE		12-8883
	Purified		14-8883