

C. Anwendungen der Stammzellbiologie – Was kann man mit Stammzellen machen?

1. In der Forschung (Molekularbiologie und Entwicklungsbiologie)
 - 1.1 In vitro Differenzierung von Stammzellen - Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
 - 1.1.1 Was sind Embryoid Bodies?
 - 1.1.2 Was sind Organoide?
 - 1.1.3 Was sind Gastruloide? - Autonome Morphogenese
 - 1.2. Was sind chimäre und transgene Mäuse?
 - 1.3. Beweis der Stammzeleigenschaften – Welche Experimente erlauben es Stammzeleigenschaften zu definieren?
2. In der Biotechnologie und Medizin
 - 2.1 Stammzellen für die Diagnostik
 - 2.2. Stammzellen-Therapien
 - 2.3. Die damit verbundene ethische Problematik

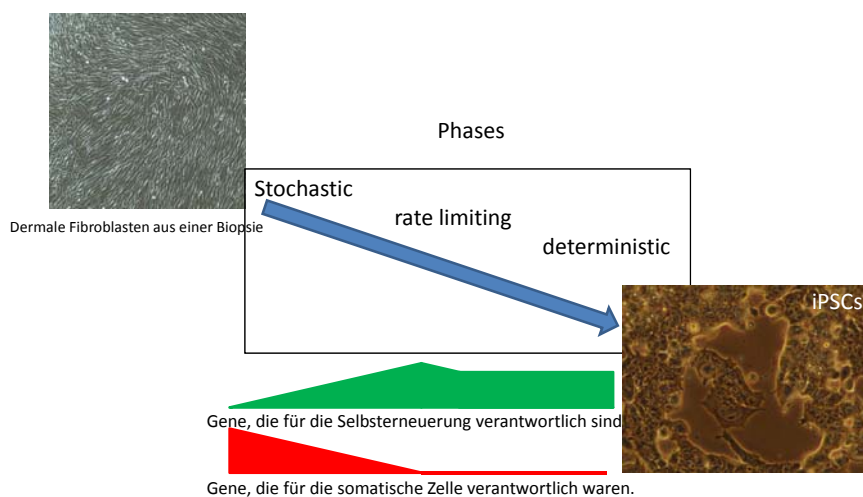
B. Methodische Aspekte der Stammzellforschung - Wie isoliert man oder wie stellt man Stammzellen her?

1. Die frühe Embryonalentwicklung der Säugetiere -
 - Wo liegt der Ursprung von Stammzellen?
 - 1.1. Wie macht man embryonale Stammzellen?
 - 1.2. Wie isoliert man somatische adulte Stammzellen? –
 - Wo befinden sich die adulten Stammzellen in den Organen?

2. Künstliche Stammzellen

- 2.1. Wie macht man induzierte pluripotente Stammzellen?
- 2.2 Wie macht man geklonte Stammzellen?

2.1. Herstellen von induzierten pluripotenten Stammzellen aus somatischen Zellen



Georg Weitzer

 MEDIZINISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN


3

Herstellung von iPSCs

O...Oct4
K...Klf4
S...Sox2
M...c-Myc

- Lentivirale polycistronische OKSM Vektoren (Yamanaka Faktoren) = Re-programmierung
- FBx15::eGFP Reporter-Fibroblasten, um entstehende Stammzellen auf finden zu können. = Selektion
- (Fbx15 = Bestandteil des Proteinkomplexes der E3-Ubiquitinligase) Oder später
- BAC: Nanog::GFP-IRES-Puro^R in Nanog Reporter-Fibroblasten → Nanog Expression erlaubte erstmals iPSC Mäuse herzustellen. (BAC= Bacterial artificial chromosome aus F1 Plasmid von E. coli hergestellt.) = Selektion
- Lentivirale OSNL Vektoren **N...Nanog, L...Lin28**
- Reprogrammieren nur mit Proteinen, RNA, kleinen synthetischen Molekülen. → z.B.: RepSox
.....alles sehr ineffizient!
- *stimulus-triggered acquisition of pluripotency cells* (STAP-Zellen) = S-iPSCs (stress induced),
Zitronensäure oder Mycobacterium laprae induzierte Reprogrammierung.
- c-iPSCs (pure chemically induced PSCs, 2016, 7 Chemikalien reiche aus! → 2022: 4-stage induction* 0,2 - 2,6%)

* [Nature . 2022 May;605\(7909\):325-331. doi: 10.1038/s41586-022-04593-5. Epub 2022 Apr 13](https://doi.org/10.1038/s41586-022-04593-5)

Georg Weitzer ESF-I WS2019

4

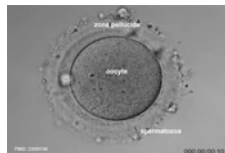
iPSC - Probleme

- Effizienz < 0,1% → 2022: 0,2 – 2,6%
- Reprogrammierung nicht vollständig oder nicht stabil → „Epigenetisches Gedächtnis der iPSCs“
- Spätere Tumorbildung c-Myc, Lentivirus Reaktivierung
- Reaktivierung der Transgene

iPSC-Anwendungsmöglichkeiten

- Herstellung von patientenspezifischen iPSCs
 - Erforschung von Ursachen und Therapiemöglichkeiten von Krankheiten polygenetischen Ursprungs.
 - Verwendung dieser Zellen zum Auffinden neuer Krankheits- oder Patientenspezifischer Medikamente.
- Entwicklung alternativer Strategien zur **direkten programmierten Transdifferenzierung** von einem somatischen Zelltyp in einen anderen.
z.b. Herzzellen und Leberzellen aus Fibroblasten

2.2. Herstellen von geklonten (durch somatischen Kerntransfer hergestellten) Stammzellen aus somatischen Zellen (Siehe auch IVF (Kapitel 2.2.3.))



Äußerst komplexes Zusatzregiem von >8 Chemikalien notwendig. z.B.: Cytokalsin B, Ionomycin, Koffein

Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 2314

2 of 24

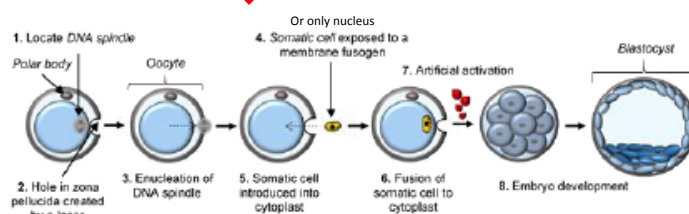


Figure 1. Schematic representation of the steps (1–8) involved in laser-assisted SCNT. Dashed arrows represent removal of the spindle in step 3, and transfer of the somatic cell into the cytoplasm in step 5.

Kritische Parameter für den Kerntransfer

1. Extranukleare Bestandteile des somatischen Kerns stören
Hyaluronidase Behandlung, um die Cumulus Zellen zu entfernen; Proteolytische Behandlung der Kerne.
2. Mechanische Beschädigung des Oozyten
5µg/ml Cytochalasin B (Inhibiert Aktin Filament Bildung); Zellfusion mittels Hemagglutinating virus of Japan
3. Oozyten Aktivierung statt Befruchtung funktioniert bei H. sapiens nicht.
Ionomycin (Ca⁺⁺-Ionophor + 2mM 6-DMAP (Kinase inhibitor); Nocodazole → Mikrotubuli Inhibitor
4. Meiose II Metaphase in H. sapiens ist instabil.
Inhibierung der Histon-deacetylase-aktivität mittels 10nM Trichostantin A für 12 h. + Koffein, ein Phosphatase inhibitor
5. Phase des Zellzyklus des somatischen Kerns entscheidend.
G0 / G1 Arrest mit 3-5 % FCS für 3 Tage vor Kerntransfer. 5% Serum, Nocodazole

Spekulationen was man mit SCNT beim Menschen alles machen könnte.

- Austausch von Mitochondrien mit defektem Genom.
- (Mitochondrien haben 37 Gene und über 250 Mutationen sind bereits bekannt.)
 - Durch Spindeltransfer
 - Durch Pronukleustransfer („Drei-Patienten-IVF“)
 - Durch Polarkörperchentransfer („Kinder für alte Frauen (<45a) aus jungen Oozyten.“)

Theoretisch möglich:

- Zeugung von Mädchen durch zwei Frauen
- Zeugung von Kindern durch zwei Männer

Vergleich ntESCs mit iPSCs

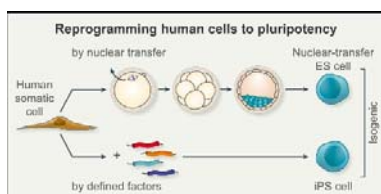
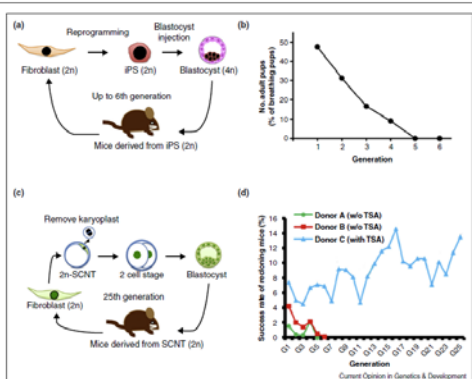


Figure 2



Propagation of mice by reprogramming. (a) Schematic of successive rounds of iPSC reprogramming and injection into tetraploid blastocysts to generate all-iPSC mice. (b) The percentage of live-born all-iPSC pups that reached adulthood (from [107]). (c) Schematic of repeated rounds of SCNT, followed by karyo transfer and generation of cloned mice. (d) The success rate of mouse rearing in each generation with or without the use of Trichostatin A (TSA), an HDAC inhibitor during nuclear transfer (adapted from [31]).

Es bedarf noch sehr viel Forschung zur Biochemie, Zell- und Entwicklungsbiologie der iPSC Herstellung!

C. Anwendungen der Stammzellbiologie – Was kann man mit Stammzellen machen?

1. In der Forschung (Molekularbiologie und Entwicklungsbiologie)
 - 1.1 In vitro Differenzierung von Stammzellen - Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
 - 1.1.1 Was sind Embryoid Bodies?
 - 1.1.2 Was sind Organoide?
 - 1.1.3 Was sind Gastruloide? - Autonome Morphogenese **Synthetische Embryonen**
 - 1.2. Was sind chimäre und transgene Mäuse?
 - 1.3. Beweis der Stammzeleigenschaften – Welche Experimente erlauben es Stammzeleigenschaften zu definieren?
2. In der Biotechnologie und Medizin
 - 2.1 Stammzellen für die Diagnostik
 - 2.2. Stammzellen-Therapien
 - 2.3. Die damit verbundene ethische Problematik

1. In der Forschung (Molekularbiologie und Entwicklungsbiologie)
 - 1.1 In vitro Differenzierung von Stammzellen - Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
 - 1.1.1 Was sind Embryoid Bodies?
 - 1.1.2 Was sind Organoide?
 - 1.1.3 Was sind Gastruloide? - Autonome Morphogenese
 - 1.2. Was sind chimäre und transgene Mäuse?
 - 1.3. Beweis der Stammzeleigenschaften – Welche Experimente erlauben es Stammzeleigenschaften zu definieren?

1.1. Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?

...aus ESCs, iPSCs und ntESCs und vielleicht einmal aus adulten somatischen SCs

1.1.1. Embryoid Bodies

1.1.2. Organoids und Assembloide

1.1.3. Gastruloide

1.1.4. Direkte Re-Programmierung von somatischen Zellen

1.1.5. Differenzierung aus iPSC- Zwischenstufen

Mit den Ziel

1. Entwicklungsprozesse auf zellulärer-, gewebs- und molekularer Ebene ex vivo

untersuchen zu können

und

2. durch gezielte Einführung von Mutationen in Stammzellen, Krankheitsursachen zu

erforschen.

Georg Weitzer



13

Methoden der Induktion der Stammzellendifferenzierung

Induktion der Selbst-Organisation von entstehenden somatischen Zellen durch Zell-Zelle und Zell-Oberflächen Wechselwirkungen.

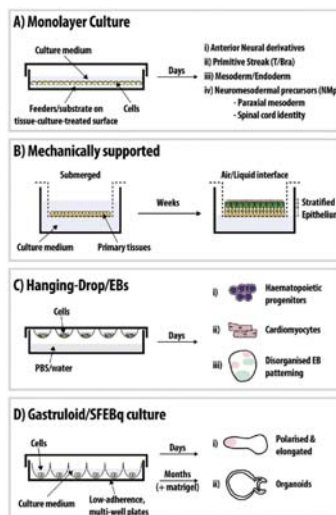
Definition of Terms

Genetic Program: In Developmental Biology, a genetic program is a temporal sequence of changes of state of a cell or cell population, brought about by the decoding of a temporal order of gene expression scripted in the genome.

Self-Assembly: The formation of an ordered structure from non-equivalent parts as a system moves towards equilibrium.

Self-Organization: The spontaneous emergence of order or asymmetry from an initially homogeneous starting population that occurs in an energy-dependent manner.

Genetically-Encoded Self-Assembly: A genetic program that contains cell autonomous instructions as well as signalling events which can induce emergent properties.



<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bies.201500111/abstract>
 SFEBq, serum-free culture of embryoid body-like aggregates

Georg Weitzer



14

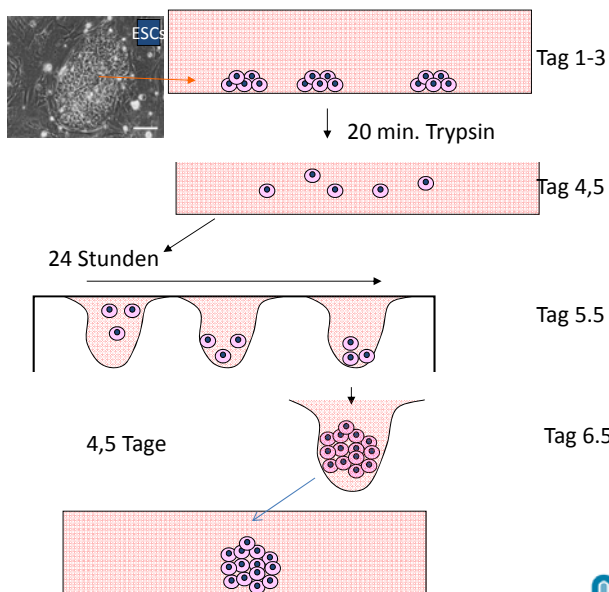
1.1.1. **Embryoid bodies** aus ESCs, iPSCs und ntESCs

- Aggregation von ca. 800 ESCs zu Embryoid Bodies (EBs) in Tropfen für 4.5 Tage löst Gastrulations-ähnliche Prozesse aus.
- Transfer der EBs auf extrazelluläre Matrix (EMC)- Surrogat = Gelatine am Tag 4.5 löst Implantations-ähnliche Prozesse und weitere Differenzierung der ectodermalen, mesodermalen und endodermalen Zelltypen aus.
- Alle Zellarten des Säugetierkörpers können ab Tag 6 entstehen.

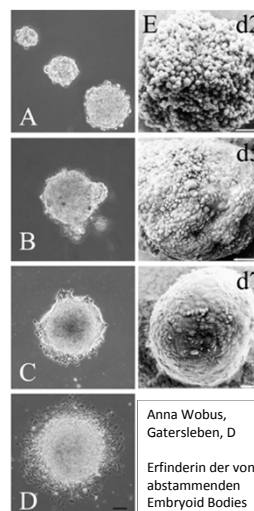
ZB: Herzellen entstehen ab Tag 7

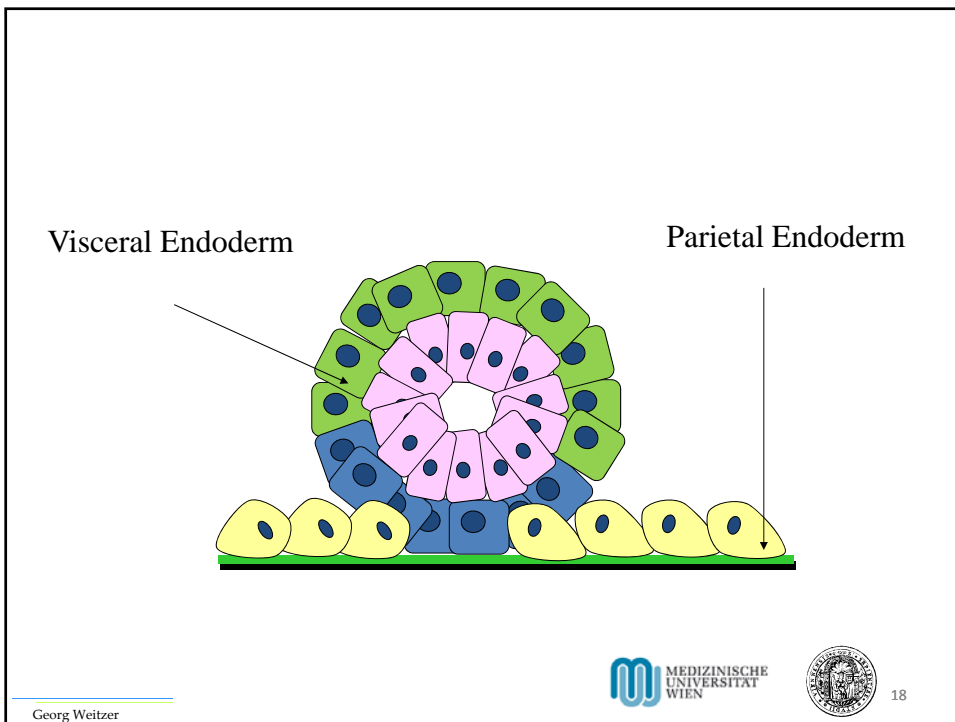
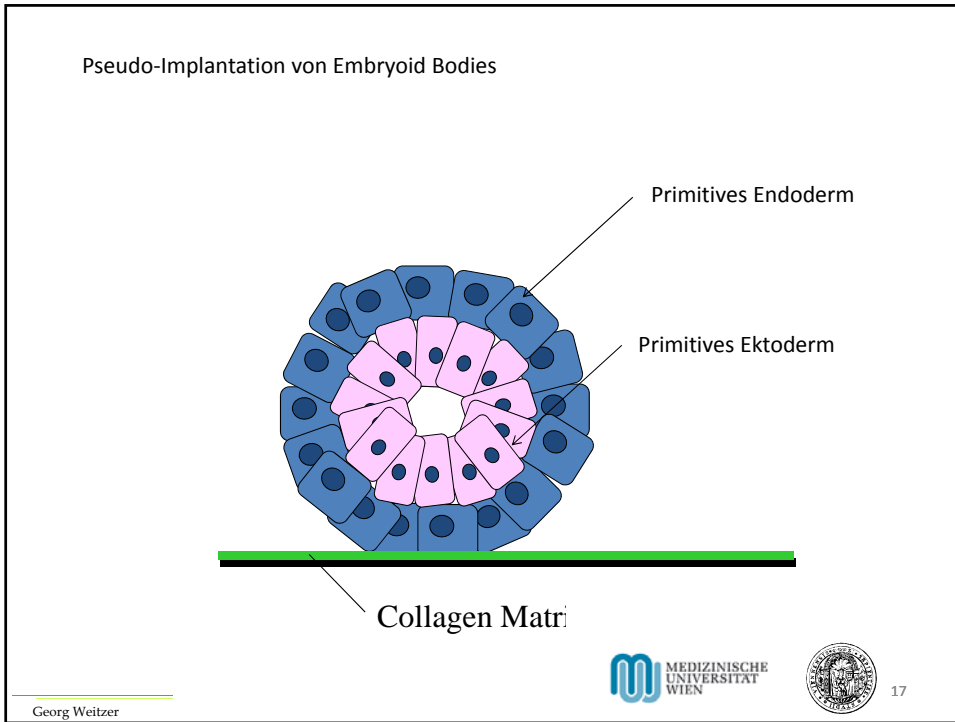
glatte Muskelzellen ab Tag 15

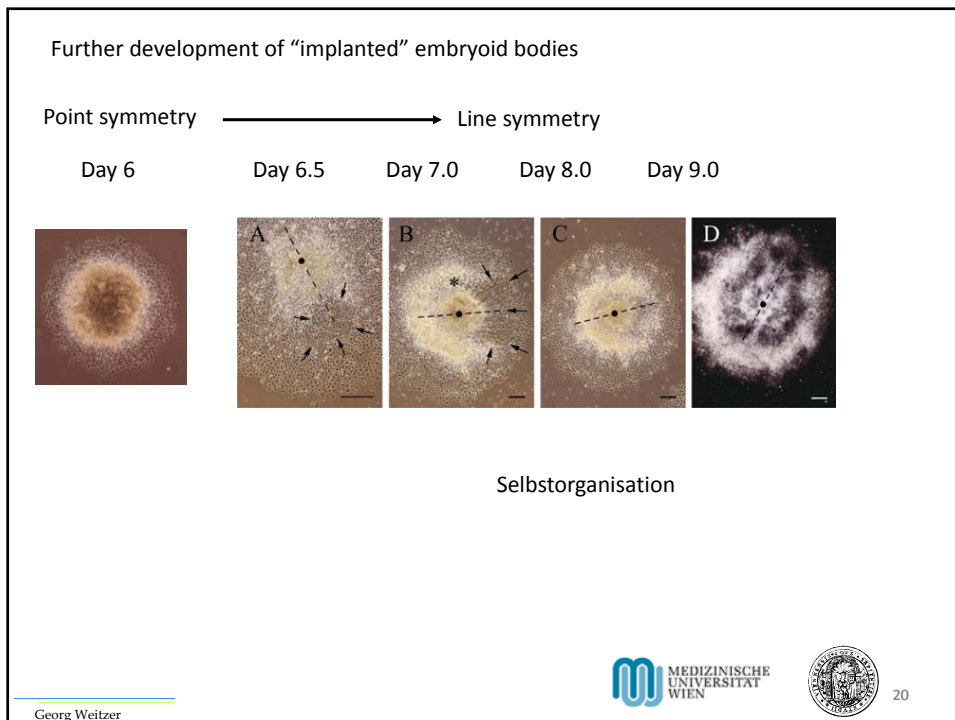
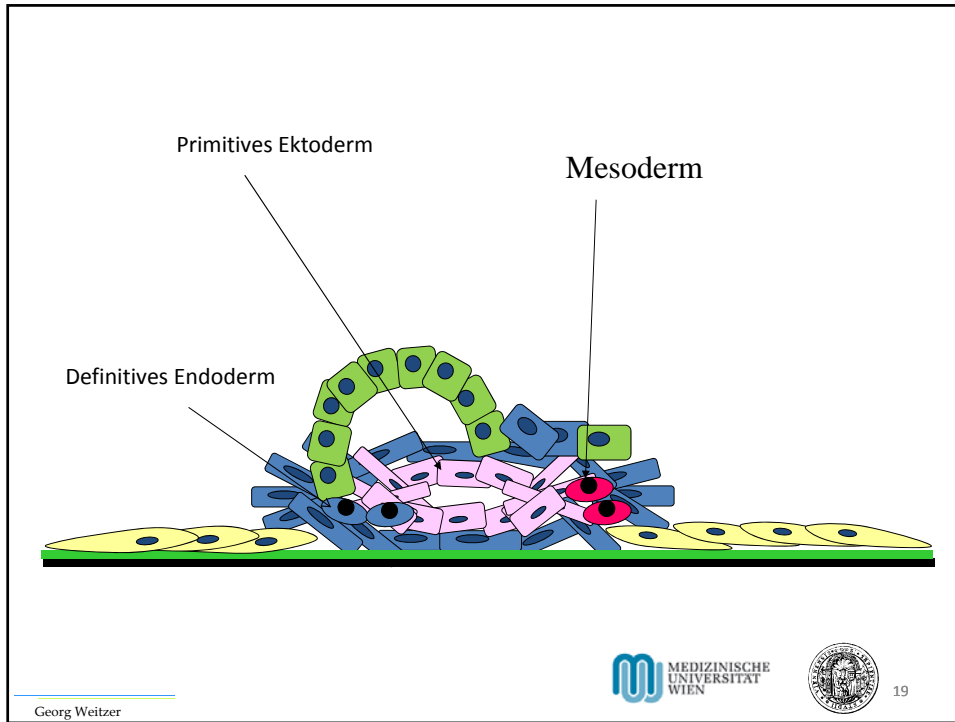
Herstellung von Embryoid Bodies



Embryoid Bodies







Egg cylinder stage embryo

Trophectoderm Reichert's membrane

Proamniotic cavity

Blastocoel

culture medium

Visceral endoderm

Parietal endoderm

Day 7 embryoid body

collagen coated plastic

Ist die Entstehung der somatischen Zellen während der Gastrulation chaotisch?

D

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN

Georg Weitzer

21

Anwendungsmöglichkeiten:

Murine Embryo, day 7

Blastocyst, day 3.5

Embryonic Stem Cells

In vivo

In vitro

Embryoid Body, day 7

Ja, es ist vergleichbar!

- Embryoid bodies erlauben eine relative einfache Bestimmung der Potentialität von Stammzellen.
- Die Untersuchung von molekularen und zellulären Prozessen während der Embryogenese, die experimentell im Embryo nicht erfassbar sind.
- Herstellung somatischer Zellen für die Therapie.

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN

Georg Weitzer

22

2.1.4. Gerichtete in vitro Differenzierung von Stammzellen → Auf dem Weg zu Organoiden

Ohne Beeinflussung entstehen alle Zelltypen.

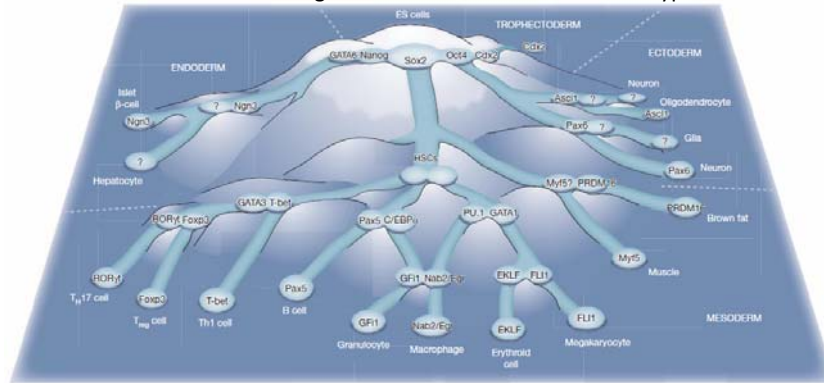


Figure 5 | Transcription factor cross-antagonisms in a cascading landscape of unstable and stable cell states. The territory, represented as a mountain range, depicts all possible solutions of a single regulatory network that specifies cell identity. Robust network states correspond to stably differentiated cell types (deep basins in the low-lying plains) whereas unstable solutions correspond to ridges and slopes in the landscape. The latter are only fleetingly occupied during development and thus unlikely to correspond to observable cell types. ES cells, embryonic stem cells; HSCs, haematopoietic stem cells.

Nach Konrad H. Waddington



z.B.: Gerichtete Herstellung von Herzzellen aus ESCs, iPSCs oder ntESC.

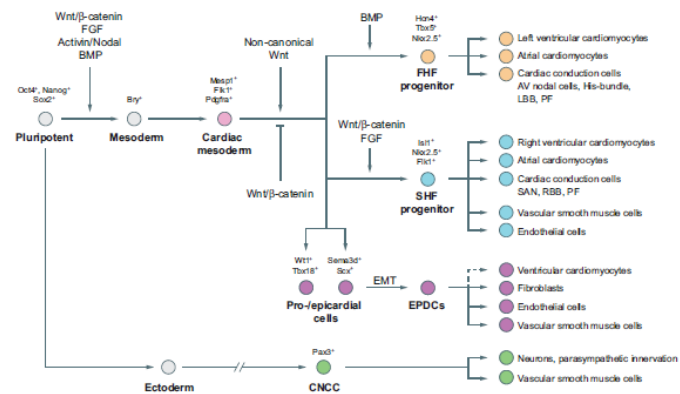


Fig. 2. Specification and progression of the cardiac cell lineage during development. The stepwise commitment of pluripotent cells via various intermediate stages towards mature cardiac cell types within the heart during development. The intermediate stages can be characterized by specific molecular signatures and the progression of differentiation is influenced by various signaling pathways. EPDCs, epicardium-derived cells; EMT, endothelial-to-mesenchymal transition; SAN, sinoatrial node; RBB, right bundle branch; LBB, left bundle branch; PF, Purkinje fibers; AV, atrioventricular.

© 2014. Published by The Company of Biologists Ltd | Development (2014) 141, 4418-4431 doi:10.1242/dev.091538

1.1.2. Organoids

... Entstehen aus EBs unter speziellen Kulturbedingungen (sind eigentlich nur ein neuer Name für die seit 1989 bekannten und publizierten Ebs (Anna Wobus, Gatersleben).

1. Künstliche Darmstücke 2006
2. Künstliche Augen 2011
3. Künstliche Hirnstücke 2013
4. Endometrium Organoide aus „endometrialen adulten Stammzellen“ auf dem Weg zur künstlichen Plazenta. Siehe <https://www.nature.com/articles/ncb3516>

Oder nur Zelltypen ohne strukturierte Gewebe, wie

1. Pancreatic β -cells
2. Oligodendrozyten
3. Retinazellen

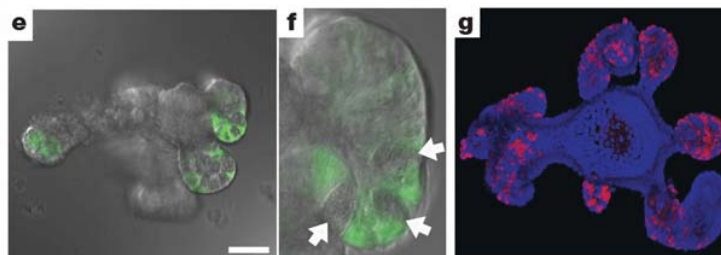
Georg Weitzer



25

1. Mini Darm (Erstes Organoid) - Single Lgr5⁺ cells generate crypt-villus structures.

The intestinal epithelium is the most rapidly self-renewing tissue in adult mammals. We have recently demonstrated the presence of about six cycling Lgr5⁺ stem cells at the bottoms of small-intestinal crypts¹. Here we describe the establishment of long-term culture conditions under which single crypts undergo multiple crypt fission events, while simultaneously generating villus-like epithelial domains in which all differentiated cell types are present. Single sorted Lgr5⁺ stem cells can also initiate these crypt-villus organoids. Tracing experiments indicate that the Lgr5⁺ stem-cell hierarchy is maintained in organoids. We conclude that intestinal crypt-villus units are self-organizing structures, which can be built from a single stem cell in the absence of a non-epithelial cellular niche.



e, f, Fourteen days after sorting, single GFP^{hi} cells form crypt organoids, with Lgr5-GFP⁺ cells and Paneth cells (white arrows) located at crypt bottoms. Scale bar, 50 μ m. **f**, Higher magnification of **e**. **g**, Organoids cultured with the thymidine analogue EdU (red) for 1 h. Note that only crypt domains incorporate EdU. Counterstain, 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; blue).

T Sato *et al. Nature* **000**, 1-4 (2009) doi:10.1038/nature07935 Hans Clevers Lab

Georg Weitzer

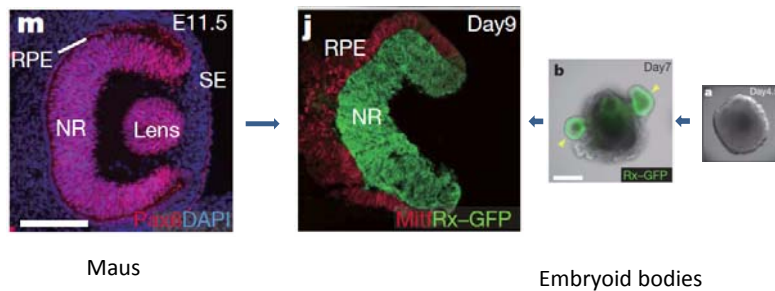


26

2. Augen

Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture

Mototsugu Eiraku, Nozomu Takata, Hiroki Ishibashi, Masako Kawada, Eriko Sakakura, Satoru Okuda, Kiyotoshi Sekiguchi, Taiji Adachi & Yoshiki Sasai



doi:10.1038/nature09941

7 APRIL 2011 | VOL 472 | NATURE | 51

Georg Weitzer

MAX PERUTZ LABS

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN



27

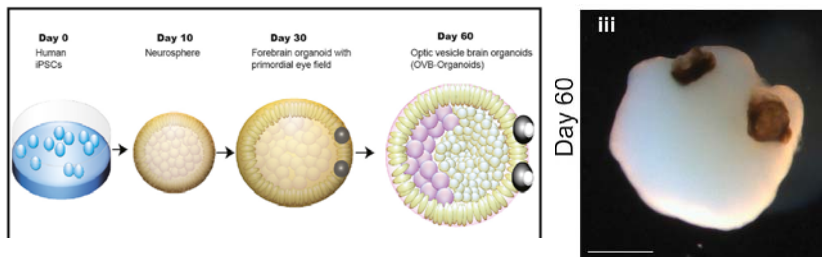
Cell Stem Cell

Human brain organoids assemble functionally integrated bilateral optic vesicles

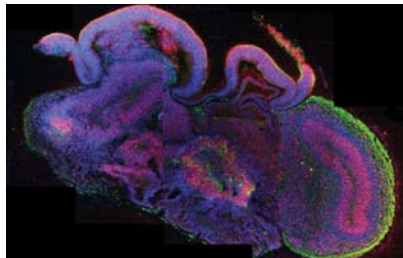
Elke Gabriel,¹ Walid Albanna,^{2,3} Giovanni Pasquini,⁴ Anand Ramani,¹ Natasa Josipovic,^{5,13} Aruljothi Mariappan,¹ Friedrich Schinzel,¹ Celeste M. Karch,⁶ Guobin Bao,⁷ Marco Gottardo,¹ Ata Alp Suren,¹ Jürgen Hescheler,² Kerstin Nagel-Wolfrum,⁸ Veronica Persico,⁹ Silvio O. Rizzoli,⁷ Janine Altmüller,^{10,12} Maria Giovanna Riparbelli,⁹ Giuliano Callaini,⁹ Olivier Goureau,¹¹ Argyris Papanonis,⁶ Volker Busskamp,⁴ Toni Schneider,² and Jay Gopalakrishnan^{1,13,4}

¹Institute of Human Genetics, University Hospital, Heinrich-Heine-Universität, 40225 Düsseldorf, Germany

[Cell Stem Cell. 2021 Oct 7;28\(10\):1740-1757.e8. doi: 10.1016/j.stem.2021.07.010.](https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.07.010)



3. Hirn



Cerebral organoids model human brain development and microcephaly

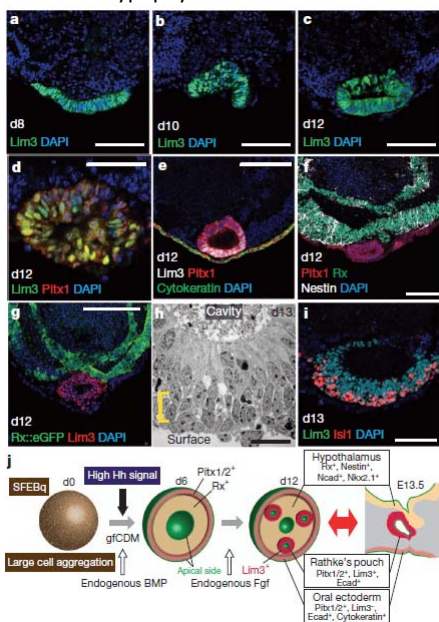
[Madeline A. Lancaster](#)¹ [Magdalena Renner](#)¹ [Carol-Anne Martin](#)² [Daniel Wenzel](#)¹ [Louise S. Bicknell](#)² [Matthew E. Hurler](#)³ [Tessa Homfray](#)⁴ [Josef M. Penninger](#)¹ [Andrew P. Jackson](#)² & [Juergen A. Knoblich](#)¹
 Nature Volume: 501, Pages: 373–379 Date published: (19 September 2013) DOI: doi:10.1038/nature12517
 Published online 28 August 2013

Georg Weitzer



29

4. Adenohypophyse



Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture
[Hidetaka Suga](#), [Taisuke Kadoshima](#), [Maki Minaguchi](#), [Masatoshi Ohgushi](#), [Mika Soeni](#), [Tokushige Nakano](#), [Nozomu Takata](#), [Takafumi Wataya](#), [Keiko Mugeruma](#), [Hiroyuki Miyoshi](#), [Shigenobu Yonemura](#), [Yutaka Oiso](#) & [Yoshiki Sasaki](#)
 Nature volume 480, pages 57–62 (01 December 2011)

Figure 2 Spontaneous generation of Rathke's pouch-like vesicles in ES cell culture. a–c, Morphogenesis of Lim31 epithelia. d–g, Immunostaining of day-12 pouch vesicles and surrounding tissues for Pitx1 (red, d–f), Lim3 (green, d; white, e; red, g), pancytokeratin (green, e), nestin (white, f) and Rx (green, f, g) in ES cell culture. h, Electron microscopy of the day-13 pouch. Delaminating cells on the basal side (bracket). i, Islet11 cells in the basal zone of the day-13 pouch. j, Schematic of in vitro generation of Rathke's pouches. Scale bars, 100 μm (a–c, e–g); 50 μm (d, i); 20 μm (h).

Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture
 Suga et al., 2011 | VOL 480 | NATURE | 57 doi:10.1038/nature10637
 The adenohypophysis (anterior pituitary) is a major centre for systemic hormones. At present, no efficient stem-cell culture for its generation is available, partly because of insufficient knowledge about how the pituitary primordium (Rathke's pouch) is induced in the embryonic head ectoderm. Here we report efficient self-formation of three-dimensional adenohypophysis tissues in an aggregate culture of mouse embryonic stem (ES) cells. ES cells were stimulated to differentiate into non-neural head ectoderm and hypothalamic neuroectoderm in adjacent layers within the aggregate, and treated with hedgehog signalling. Self-organization of Rathke's-pouch-like three-dimensional structures occurred at the interface of these two epithelia, as seen *in vivo*, and various endocrine cells including **corticotrophs** and **somatotrophs** were subsequently produced. The corticotrophs efficiently secreted **adrenocorticotropic hormone** in response to corticotrophin releasing hormone and, when grafted *in vivo*, these cells rescued the systemic glucocorticoid level in hypopituitary mice. Thus, functional anterior pituitary tissue self-forms in ES cell culture, recapitulating local tissue interactions.

Georg Weitzer

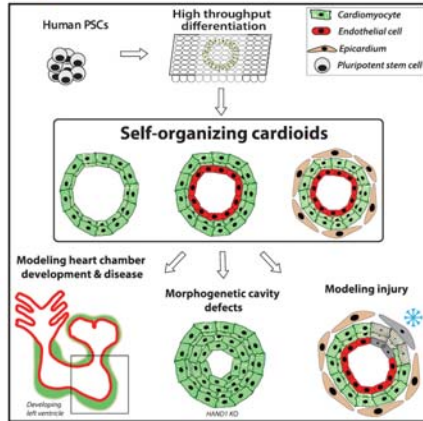


30

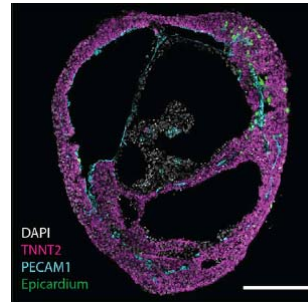
5. Herz-ähnliche Assembloide - Cardioids reveal self-organizing principles of human cardiogenesis.

Hofbauer P, Jahnel SM, Papai N, Giesshammer M, Deyett A, Schmidt C, Penc M, Tavernini K, Grdseloff N, Meledeth C, Ginistrelli LC, Clortecka C, Šalic S, Novatchkova M, Mendjan S. Cell. 2021 Jun 10;184(12):3299-3317.e22. doi: 10.1016/j.cell.2021.04.034. Epub 2021 May 20. PMID: 34019794

Graphical abstract



In diesen Fall:
Selbstassemblierung und nicht spontane Selbstorganisation!

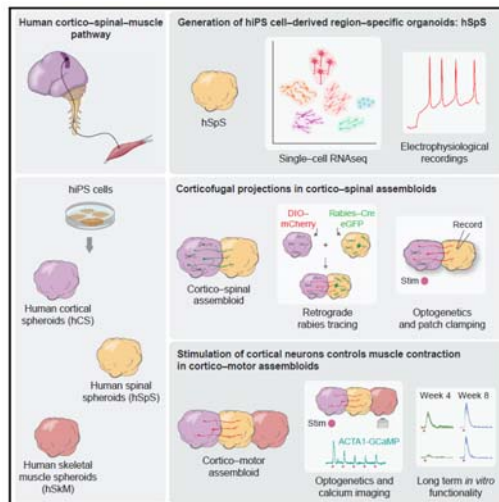


Generation of Functional Human 3D Cortico-Motor Assembloids

Jimena Andersen,^{1,2} Omer Revah,^{1,2} Yuki Miura,^{1,2} Nicholas Thom,¹ Neal D. Amin,^{1,2} Kevin W. Kelley,^{1,2} Manddeep Singh,^{1,2} Xiaoyu Chen,^{1,2} Mayuri Vijay Thete,¹ Elisabeth M. Walczak,² Hannes Vogel,⁴ H. Christina Fan,² and Sergio P. Pasca^{1,2,3,4,5}
¹Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA

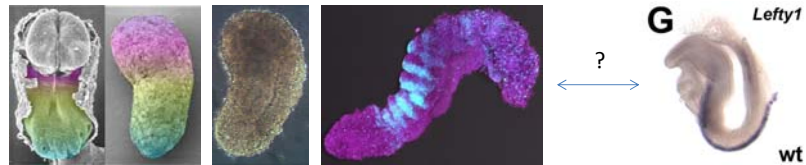
Cell

2022

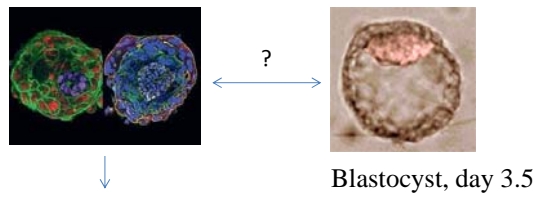


<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.017>

1.1.3. Gastruloide und Blastoide



doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002511.g002>



Implantationsversuche bis jetzt erfolglos

1.1.3.2 Synthetische Embryonen - Embryoids

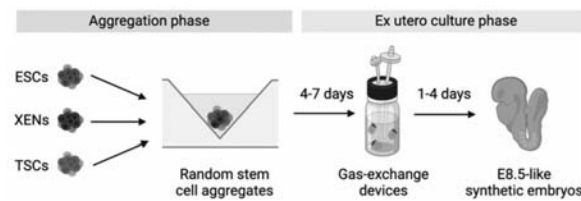


FIG. 1. Synthetic embryos cultured until an E8.5-like stage. In the first phase, embryonic and extraembryonic stem cells are combined into aggregates, which are cultured to promote the formation of self-organized synthetic embryos resembling E5.5–6.5 stages. In the second phase, successfully aggregated structures are selectively picked and transferred into gas-exchanging bioreactors, where they fully develop through gastrulation and into early neurulation and organogenesis.

DOI: [10.1089/cell.2022.0111](https://doi.org/10.1089/cell.2022.0111)

2.1.3. Embryoids - Synthetische Embryonen 10 / 2022

Mouse embryo model derived exclusively from embryonic stem cells undergoes neurulation and heart development

Cell Stem Cell

Kasey Y.C. Lau,^{1,2} Herman Rubinstein,^{3,4} Carlos W. Gantner,¹ Ron Hadas,^{1,2} Glanluca Amadei,^{1,4,5} Yonatan Stetzer,^{1,4,5} and Maddalena Zernicka-Gottz,^{1,4,5,*}

<https://doi.org/10.1016/j.stem.2022.08.013>

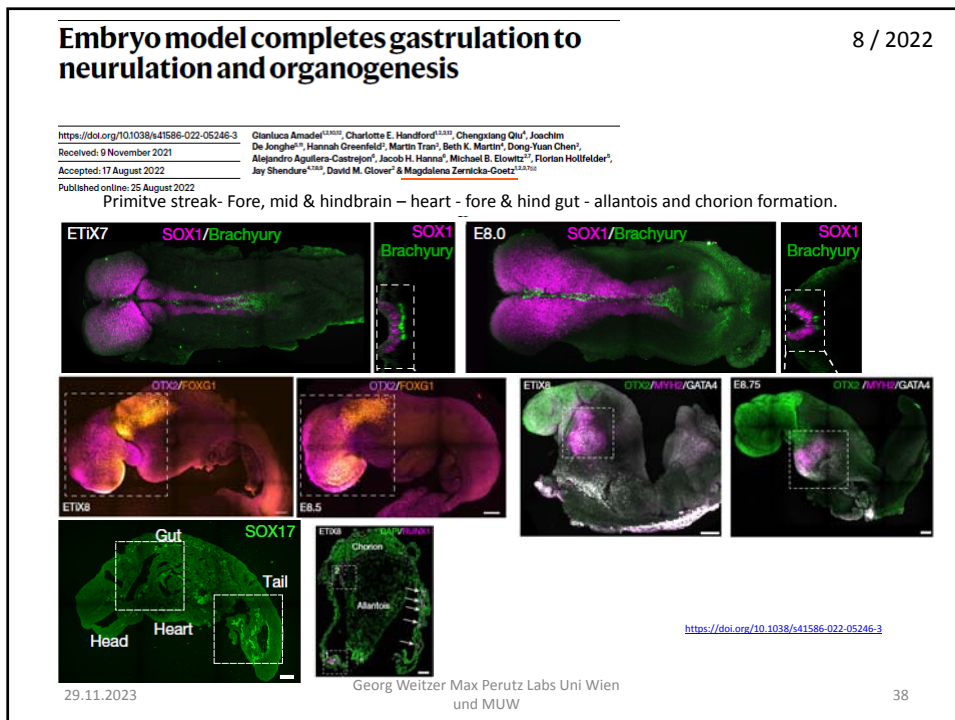
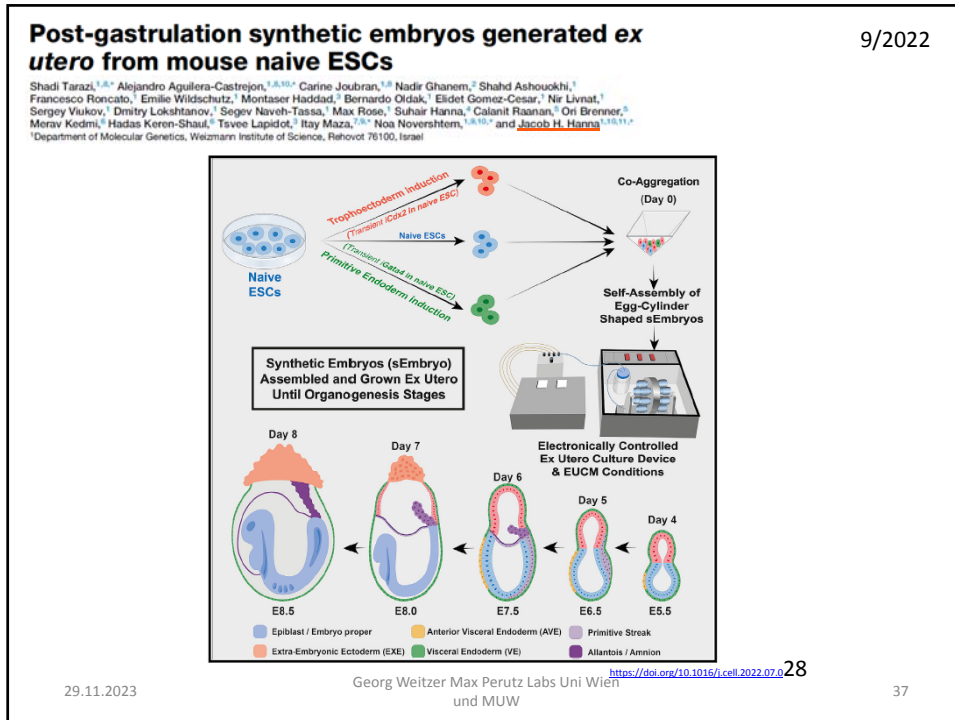
29.11.2023 Georg Weitzer Max Perutz Labs Uni Wien und MUW 35

Vergleich mit natürlichen Embryonen

B

EITX-embryoid				
In vitro cultured natural embryo				

29.11.2023 Georg Weitzer Max Perutz Labs Uni Wien und MUW 36



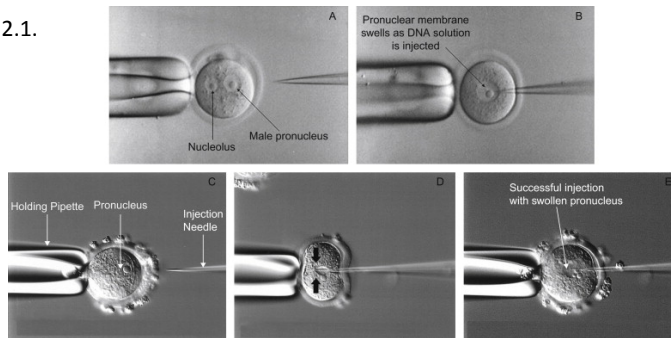
1.2. Was sind und wie macht man chimäre und transgene Mäuse?

1.2.1. durch Pronucleus-Injektion von (mutierter) DNA

1.2.2. durch Injektion von ESCs in Blastozysten

1.2.3. durch Tetraploidaggregation (siehe Pluripotenzbeweise)

1.2.1.



<https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-health-professions/microinjection>

Georg Weitzer



39

Herstellen von transgenen Mäusen

In vivo

Durch Injektion von genetisch veränderten embryonalen Stammzellen in die innere Zellmasse von Blastozysten.

Genetisch Veränderung von embryonalen Stammzellen durch homologe Rekombination.



Chimäre Maus
F1 Generation kann das Transgen in der Keimbahn tragen

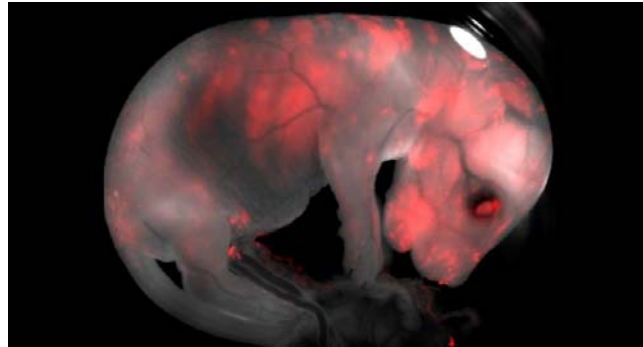
→ Erforschung der Funktionen der einzelnen Gene wurde so möglich.



40

Ad 1.1.2. Chimeraformation

(Siehe auch 2.4. Pluripotenzbeweise, z.b. tierische Blastozysten Injektion mit hESCs)



1.3. Pluripotenzbeweise

1.3.2. Teratomaformation: Subkutane Injektion von großen Mengen an ESCs.



→ Histologische Analyse des Tumors
Nachweis der Zelltypen

Teratoma formation is a key indicator of pluripotency
cells from all three germ layers are formed

1.3. Pluripotenzbeweise

1.3.4. Tetraploidaggregation

(eine weitere Methode des Herstellens von transgenen Mäusen, siehe 1.2.)

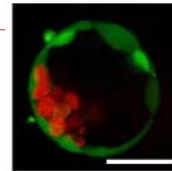
TS cells = 4N
ES cells = 2N

Zygoten → 2Blastomeren Stadium → Elektrofusion: 4n Zygote → Morula

Sandwich aus 4N-Molula - zu testende ESCs oder iPSCs - 4N-Molula

→ Blastocyst; besteht nur aus 4N Trophektoderm und 2N ICM

Einpflanzen in pseudo-schwangere Maus → 100%-ige ESC-abstammende Maus in F0



<https://www.catsmouse.de/warum-cats-mouse/inhaltsstoffe/>



43

Georg Weitzer

Anwendung von Stammzellen in der
Medizin und die damit verbundene
ethische Problematik
Letzte Vorlesung
Mi. 6.12.2023