

ESF-II / 5 WS2014

1. Dst 8.10.2014

Wiederholung von ESF-I/5 von WS2013 und Einführung:

Was sind Stammzellen und was unterscheidet sie von somatischen Zellen?

1 Kapitel: Eigenschaften von Stammzellen

1.1. Selbsterneuerungsfähigkeit (self renewal capacity)

= nicht endend wollende Teilung zu Tochterzellen (TZ)

mit identischen Potenzial und Eigenschaften wie Mutterzelle (MZ).

Derzeit Passagen (P) > 150; somatische Zellen werden spätestens bei Passage P=80 Seneszenz (Hayflick Grenze).

1.2. Klonalität, Klonierbarkeit (clonality)

= Fähigkeit als einzelne Zelle zu überleben, sich zu vermehren, und den Mutterphänotyp zu erhalten.

1.3. Notwendigkeit einer Nische

(In vivo sind bei den Stammzellen wohl immer Helfer- oder Nischenzellen notwendig dabei.)

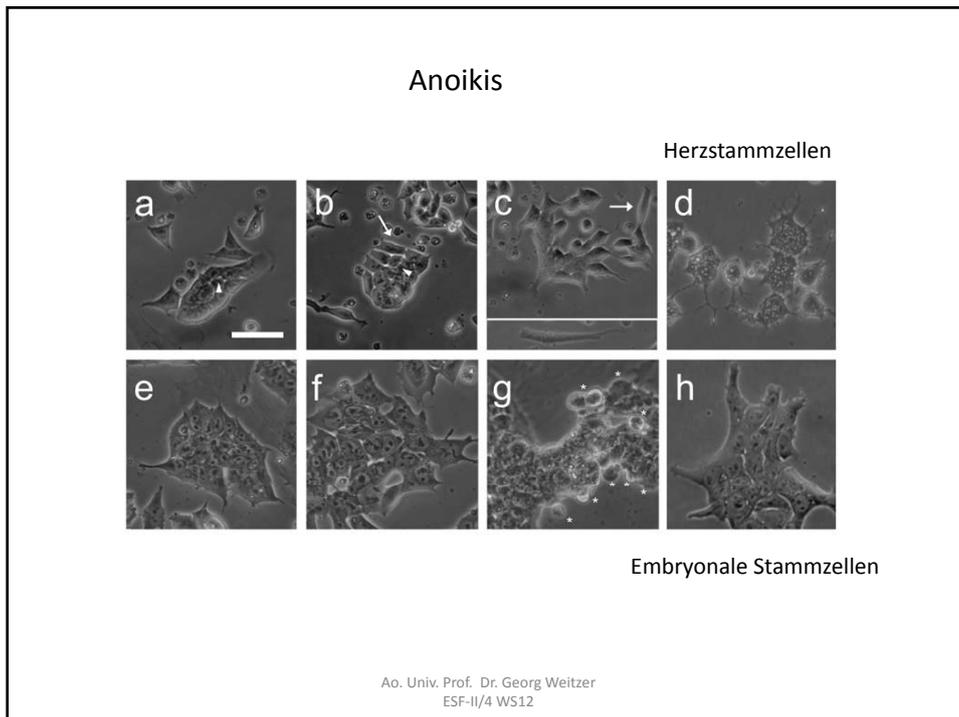
1.4. Differenzierungspotenzial (potency of differentiation)

= Anzahl der Möglichkeiten in somatische Zellen zu differenzieren

dazu kommt die Differenzierungskontrolle (große Unterschiede bei den Stammzellarten)

1.5. Ruhezustand (dormancy, hibernation)

Stammzellen überleben auch ohne Teilung



Die Selbsterneuerungsfähigkeit wird beeinflusst durch:

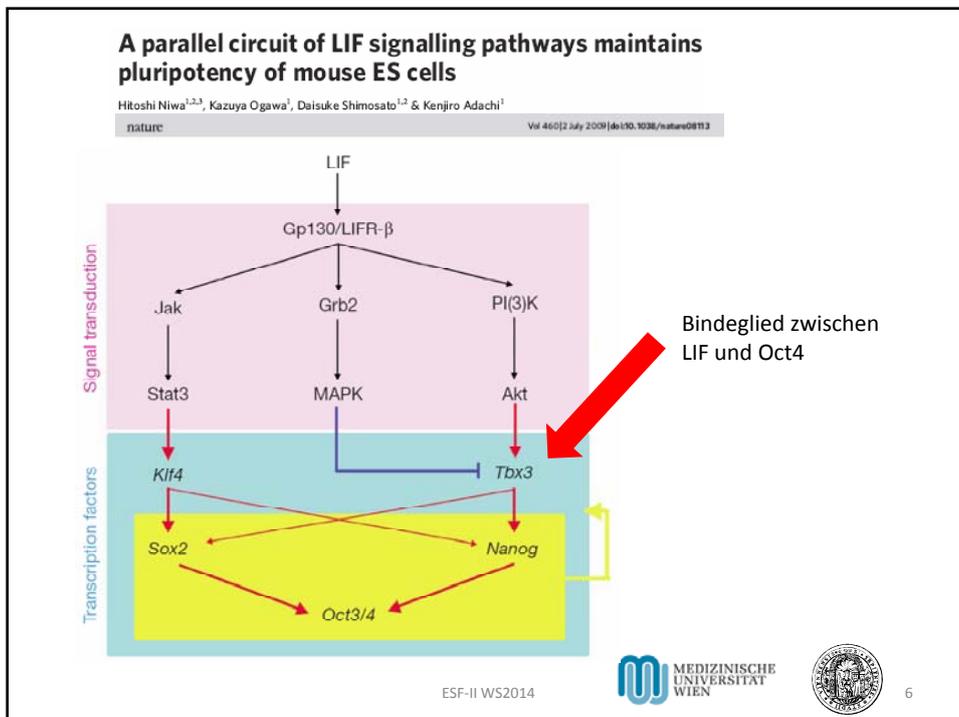
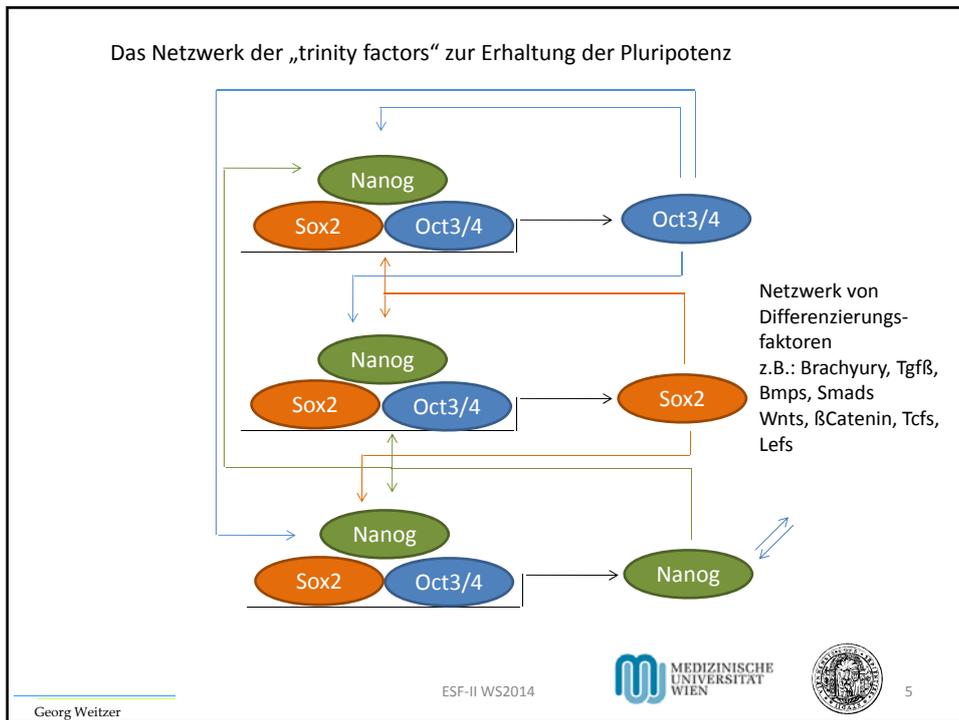
- | | |
|------------------------|---|
| Intrinsische Faktoren: | Transkriptionsfaktoren („Stemness Factors“):
Oct 3/4 (Gen: Pou5f1)
Nanog
Sox2
Klf4, Tbx3, |
|------------------------|---|
- | | |
|------------------------|---|
| Extrinsische Faktoren: | Wachstumsfaktoren:
IL6 Familie (JAK / STAT Signaltransduktionsweg)
Wnt Familie (β-catenin Signaltransduktionsweg) |
|------------------------|---|

Georg Weitzer

ESF-II WS2014

MEDIZINISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN

4



2i-Medium statt LIF + Serum

CHIR99021

A Glycogen-Synthase-Kinase 3 β (GSK3 β) Inhibitor mimicking Wnt signaling by activating the translocation of β -catenin into the nucleus of cells.

A Mitogen-activated-Protein Kinase Kinase (MEK) inhibitor which prevents phosphorylation and nuclear localisation of Extracellular-Signal-Related-Kinases (ERK1/2), thus inhibiting differentiation promoting signals such as FGF4.

PD98059

Georg Weitzer

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN

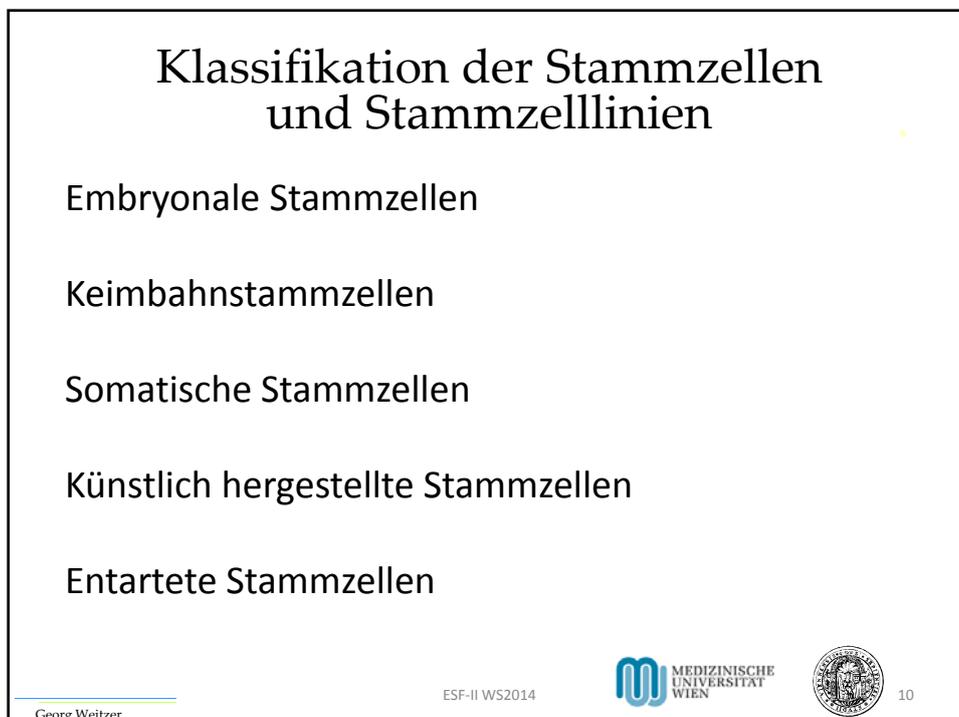
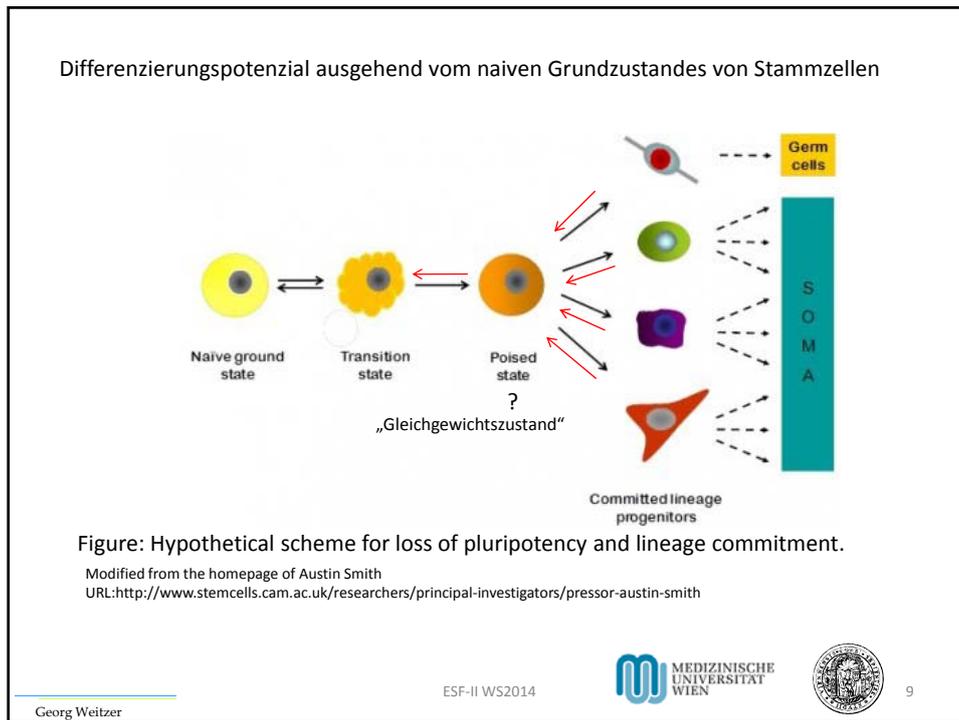
7

Abstufungen der Potenzialität:

Totipotenz (Omnipotenz):	Zygote, 2 -16 Blastomere (siehe Embryoentwicklung) (Oocyten und Spermien ???)
Pluripotenz:	ESCs, PGCs, EGCs
(Oligo-)Multipotenz:	MSCs, HSCs (in vitro und in vivo widersprechende Resultate.)
(Mono-) Unipotenz:	Somatische Zellen (\rightarrow Impotenz: Seneszenz und Zelltod)

Änderung des Phänotypes

- natürlich:
 - Plastizität, Transdifferentiation,
 - Redifferenzierung in Vorläuferzellen,
 - Fusionierung von Zellen
- künstlich:
 - Reprogrammierung
 - Klonen



Welche Stammzelllinien gibt es? Zelllinien

• Embryonale Stammzellen	ESCs	> 30
• Primäre Keimbahnzellen	PGCs	0
• Embryonale Keimzellen	EGCs	~ 5
• Embryonale Teratokarzinomzellen	ECCs (TCCs)	~ 2
• Knochenmarkstammzellen		
• Hämatopoetische Stammzellen	HSCs	0
• Mesenchymale Stammzellen	MSCs	> 1 ?
• Somatische Stammzellen	SSCs	0
• Darm, Haut, Hirn, Herz, Fett ...	(existieren nur in „Nischen“)	1
• Induzierte Stammzellen	iPSCs	
• Darm, Haut, Hirn, Fett bzw. Maus, Ratte, Makaken, Hund, Schwein,		
• Rind, Schaf, Pferd, Huhn, Mensch,		> 10
	(aber nicht von <i>Xenopus laevis</i> und <i>Danio rerio</i>)	
• Geklonte embryonale Stammzellen		>4
• Haploide Stammzellen		>2

Woher kommen die Stammzellen?

Prägastrulationsentwicklung des Blastozysten

A **B** **C** **D** **E** **F** **G** **H**

E0 32 Zellen 64-128 Zellen

m: E2.5 m: E3.0
h: E3.5 h: E4.5

← Implantation ←

E 6.5 E 4.5

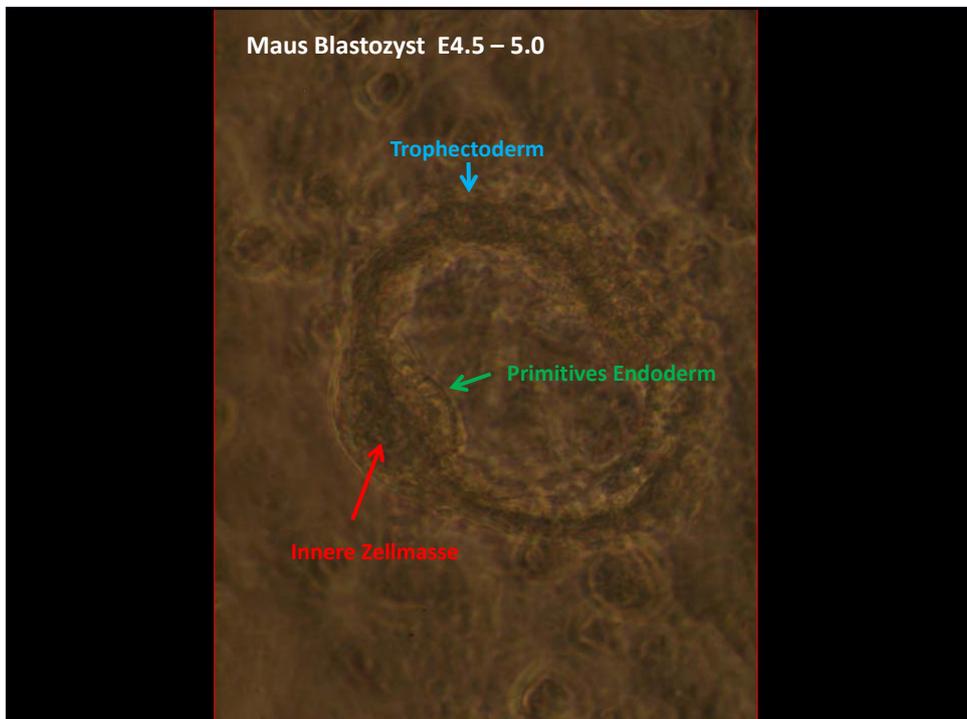
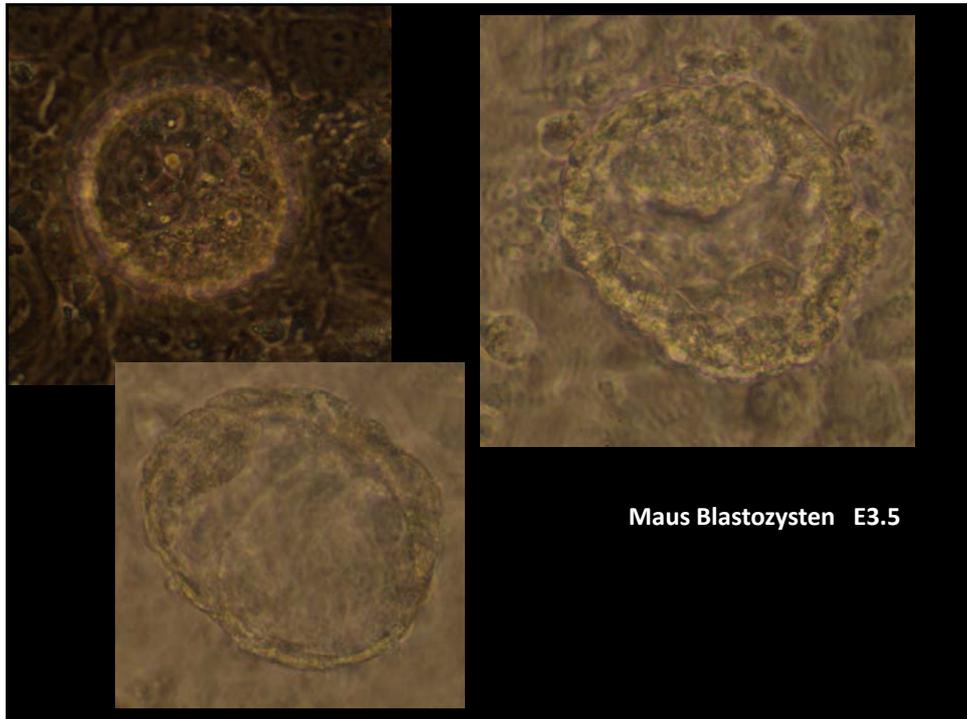
Georg Weitzer ESF-II WS2014 MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN 13

3.2. Herstellung von ESCs

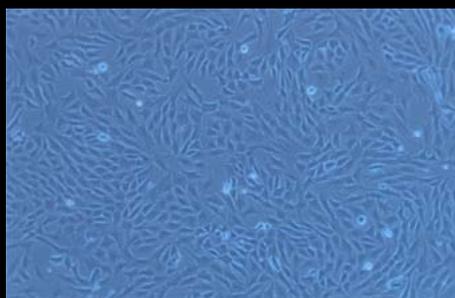
Maus Blastozyst E3.0

Maus Blastozyst E3.5

20.10.2011



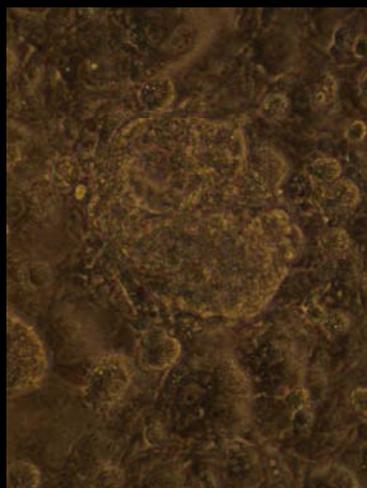
Auf Fibroblasten angewachsener Blastozyst



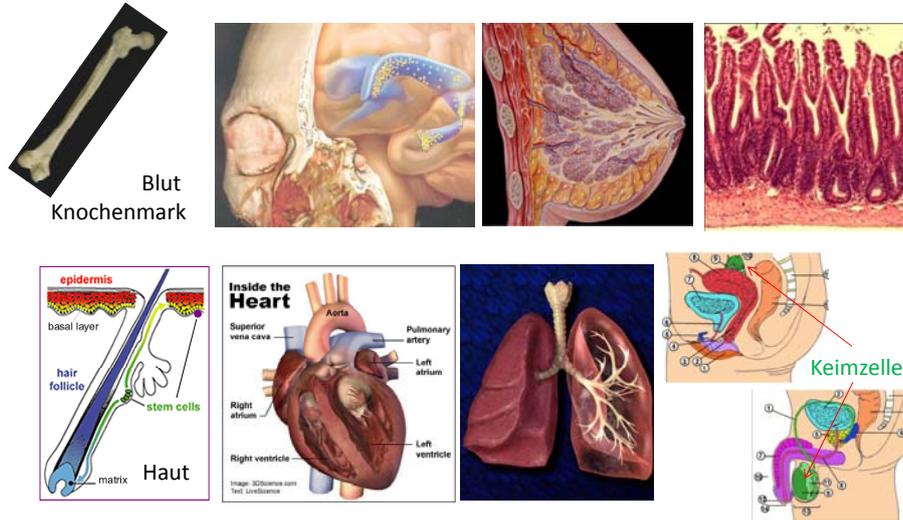
Isolierte trophektodermale Zellen



Auf Feeder Zellen explantierte
Maus Blastozysten E6 und E9



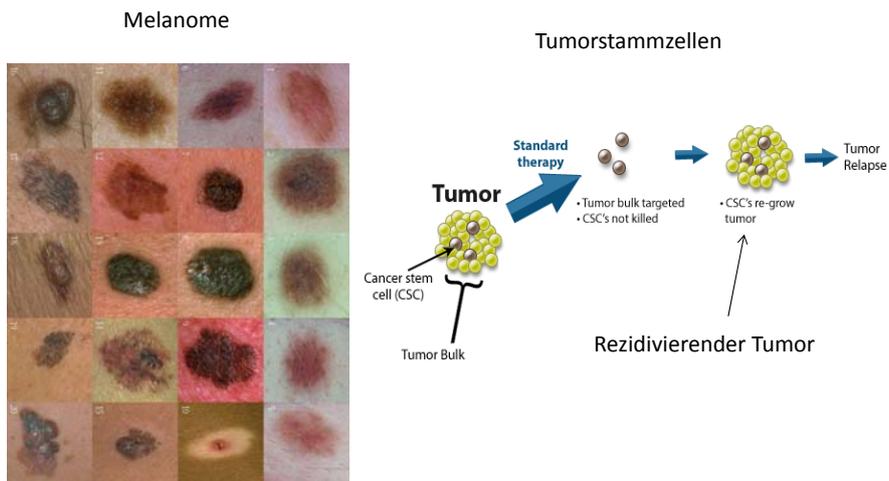
Somatische oder adulte Stammzellen



Georg Weitzer, Kalksburg 25.9.2014

19

Tumorstammzellen und Krebs



Georg Weitzer, Kalksburg 25.9.2014

20

Was kann man mit Stammzellen machen?

Embryonale Stammzellen

In vivo: Transgene Mäuse

- Funktion von Genen aufklären
- Ursache von Krankheiten ergründen

In vitro: Embryoid bodies

Organoide

- Frühe Embryogenese und Morphogenese

Somatische Zellen

- deren Genese untersuchen

In vitro: Hirnstammzellen → Neurosphären

Herzstammzellen → Cardiac bodies / Cardiosphären

Die Herstellung von reinen und funktionstüchtigen somatischen Zellen optimieren.

Herstellen von transgenen Mäusen

In vivo

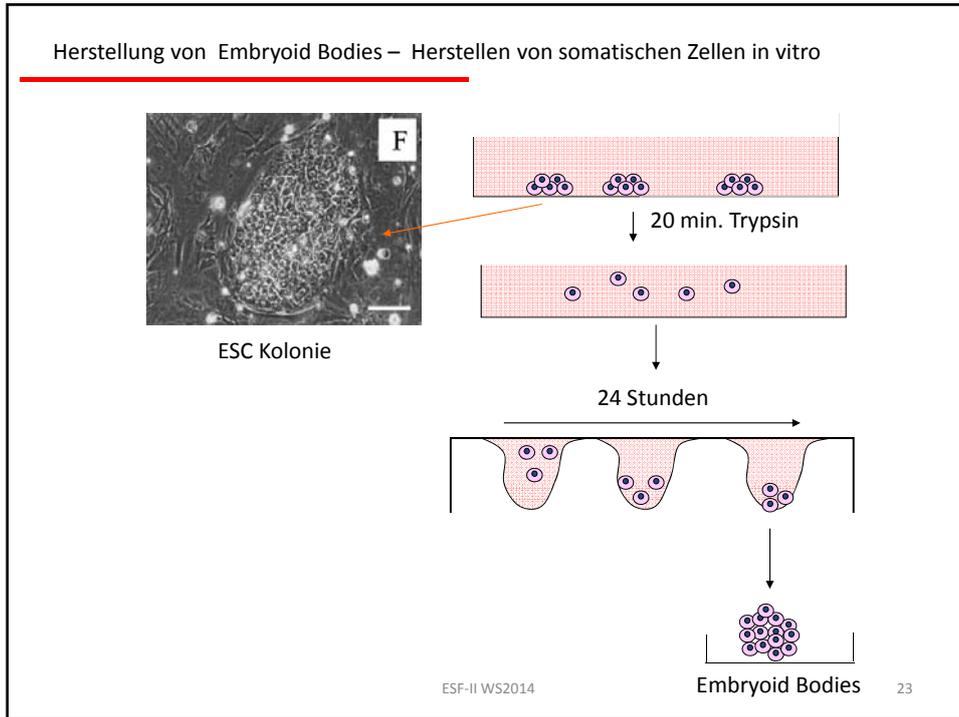
Genetisch Veränderung von embryonalen Stammzellen

Injektion von genetisch veränderten embryonalen Stammzellen



Chimäre Maus
F1 Generation kann das
Transgen in der Keimbahn tragen

→ Erforschung der Funktionen der einzelnen Gene wurde so möglich



Embryoid Bodies

Tag 1-3

Tag 4,5

Tag 5.5

Tag 6.5

A B C D

E d2 d5 d7

Anna Wobus,
Gatersleben, D

Erfinderin der von ESC
abstammenden Embryoid Bodies

EB d4.7

Quelle: CDvor2000

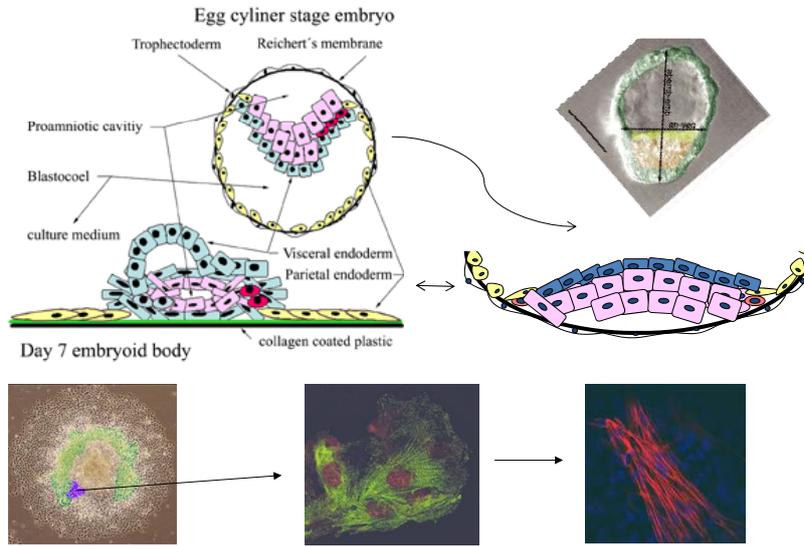
ESF-II WS2014

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN

24

Georg Weitzer

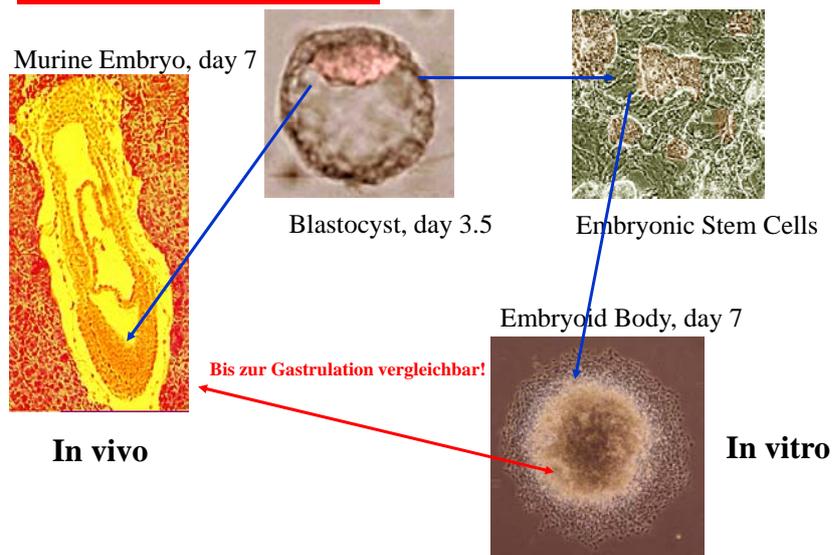
Differenzierung von embryonalen Stammzellen zu somatischen Zellen



ESF-II WS2014

25

Mit Hilfe von ESCs ist das Studium der frühen Embryonalentwicklung in embryoid bodies möglich

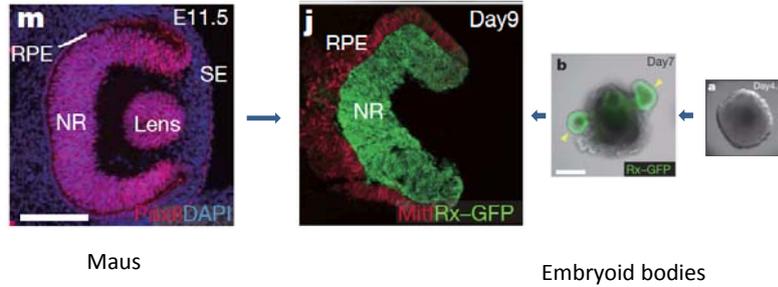


ESF-II WS2014

Organoide aus embryoid bodies:

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

Mototsugu Eiraku^{1,2}, Nozomu Takata¹, Hiroki Ishibashi³, Masako Kawada¹, Eriko Sakakura^{1,2}, Satoru Okuda³, Kiyotoshi Sekiguchi⁴, Taiji Adachi^{3,5} & Yoshiki Sasai^{1,2}



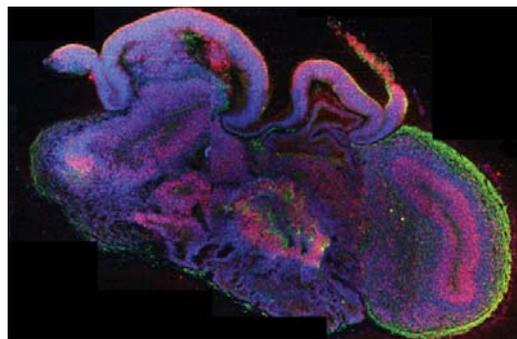
doi:10.1038/nature09941

7 APRIL 2011 | VOL 472 | NATURE | 51

SEmbryonale Stammzellen

Neuronale Stammzellen

→ Neurosphären



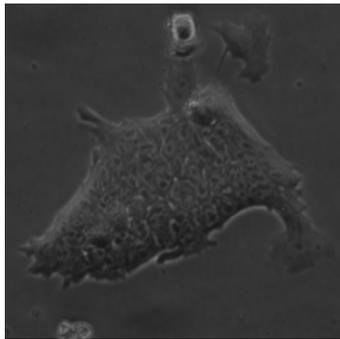
Cerebral organoids model human brain development and microcephaly

[Madeline A. Lancaster¹](#), [Magdalena Renner¹](#), [Carol-Anne Martin²](#), [Daniel Wenzel¹](#), [Louise S. Bicknell²](#), [Matthew E. Hurles³](#), [Tessa Homfray⁴](#), [Josef M. Penninger¹](#), [Andrew P. Jackson²](#) & [Juergen A. Knoblich¹](#)

Nature Volume: 501, Pages: 373–379 Date published: (19 September 2013) DOI: doi:10.1038/nature12517 Published online 28 August 2013

Somatische Stammzellen

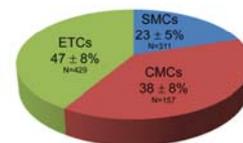
Herzstammzellen → Cardiac bodies



Eine Kolonie von Cardiovascular Progenitor Cells

Differenzieren zu

- Herzmuskelzellen
- Vaskulären Endothelzellen
- Glatten Muskelzellen
- ? Herzspezifischen Fibroblasten



Georg Weitzer



29

Was kann man mit Stammzellen nicht machen?

Krankheiten heilen

- weil bis dato keine reinen somatischen Zellen für therapeutische Zwecke hergestellt werden können.

Georg Weitzer

ESF-II WS2014



30

