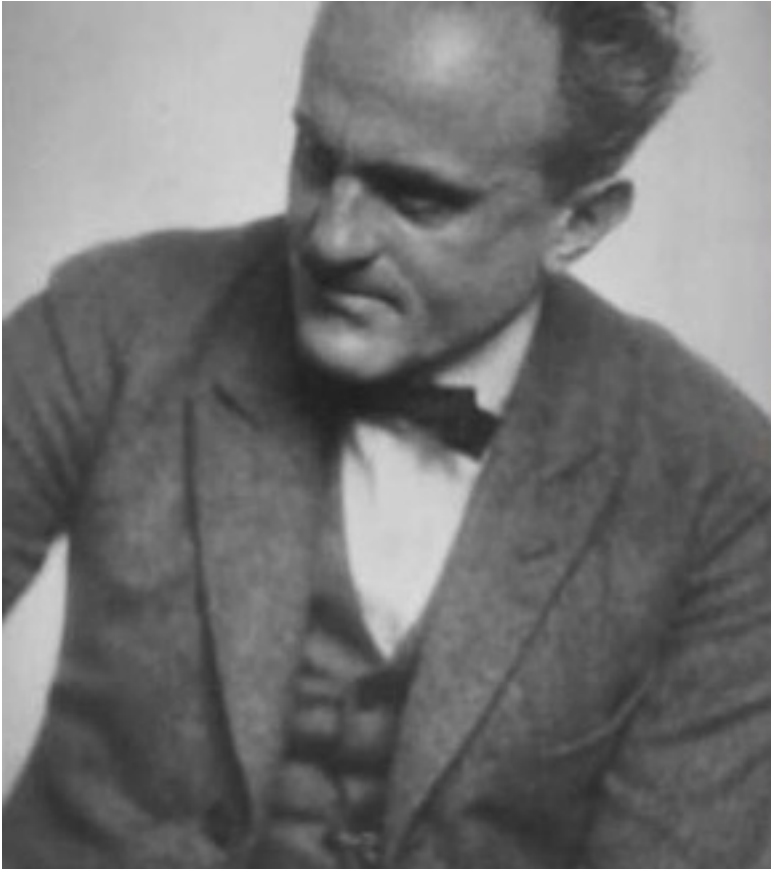


## ***Репрограммирование генома***

***Наша ДНК это не судьба, а лишь основа жизни. Эпигенетика и ее следствие. Клонирование. Фарш можно повернуть назад. Органоиды.***

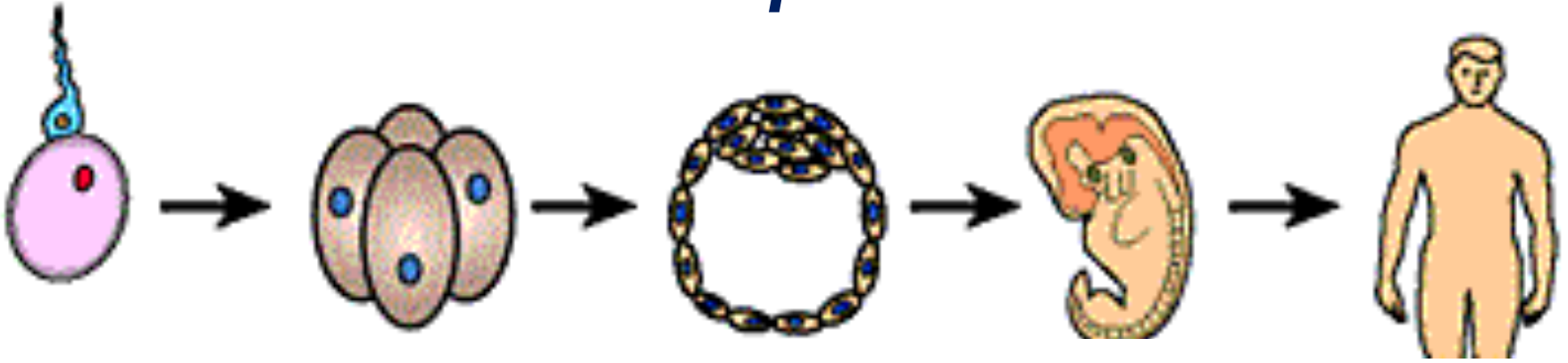
# *Paul Kammerer внешняя среда формирует наследуемый признак?*



1926 г



# Как все происходит

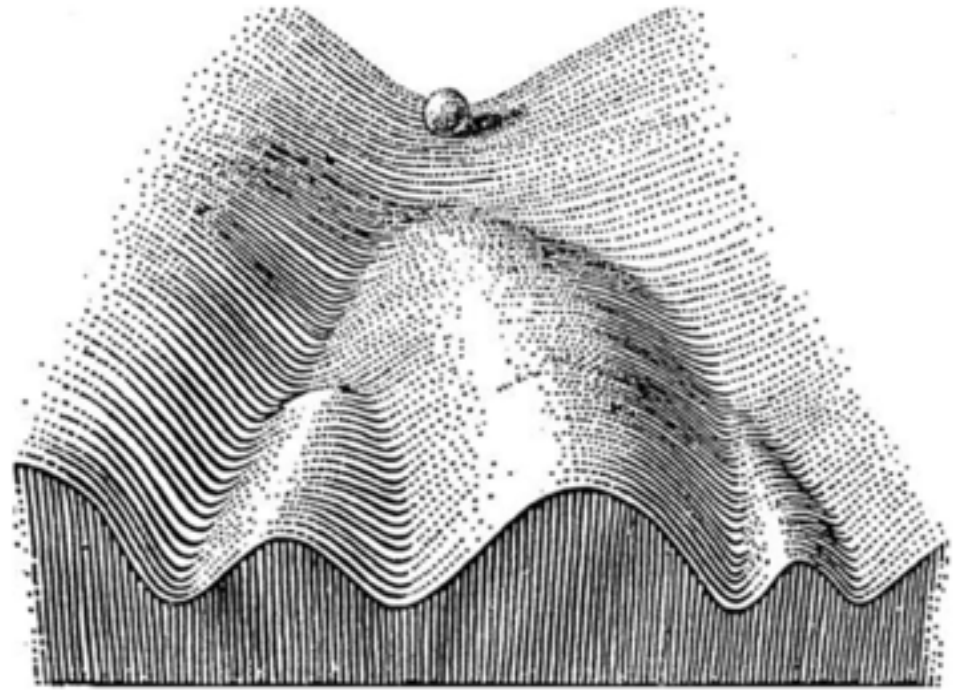


**Один и тот же геном одинаковый во всех клетках организма, но в разных тканях работает по разному и эта разность наследуется**

о организм  
13 220  
пов клеток



Эпи - сверх, вне, больше (греч)



Waddington's Epigenetic Landscape

# *Определение и назначение эпигенетики*

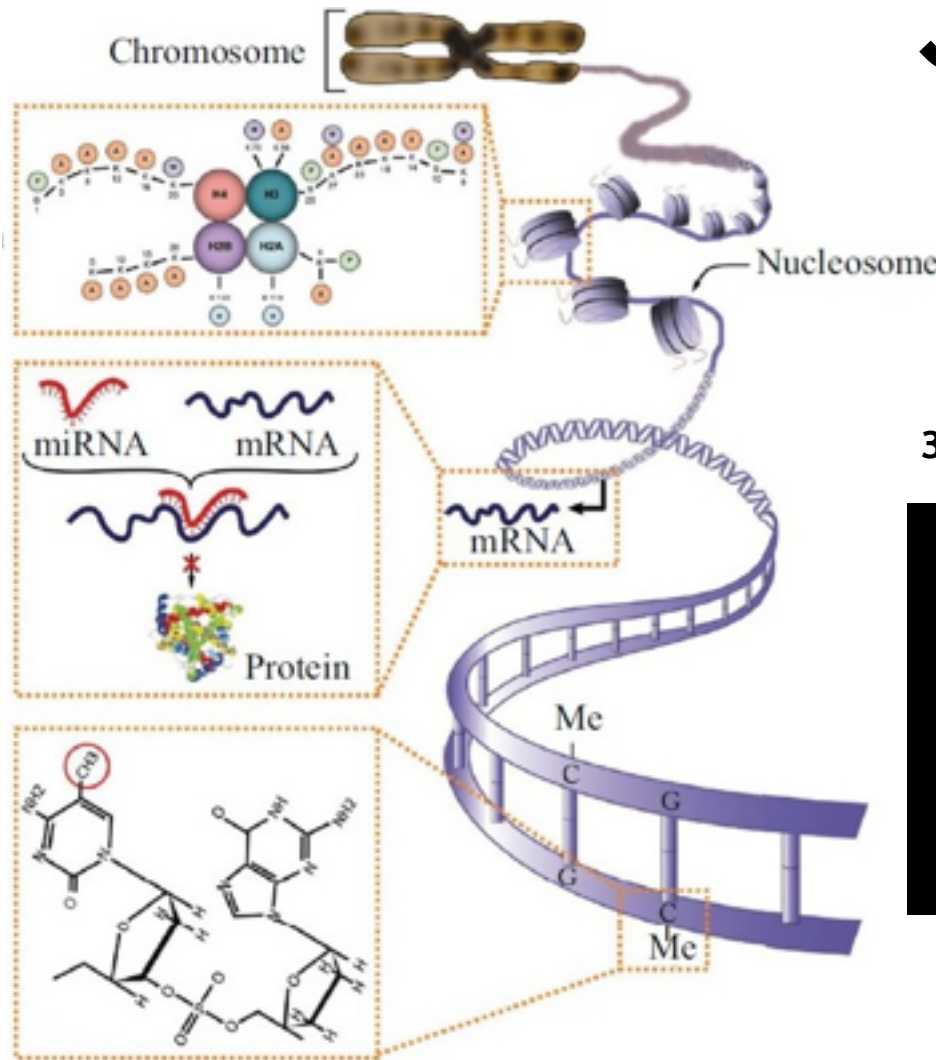
---Перенос информации не связанной с последовательностью нуклеотидов в ДНК потомкам в процессе деления клеток и/или на уровне организма

---Эпигенетическая регуляция работы генов это механизм, обеспечивающий взаимодействие индивидуальных особенностей генома с внешними факторами

# Какое наследование изучает эпигенетика

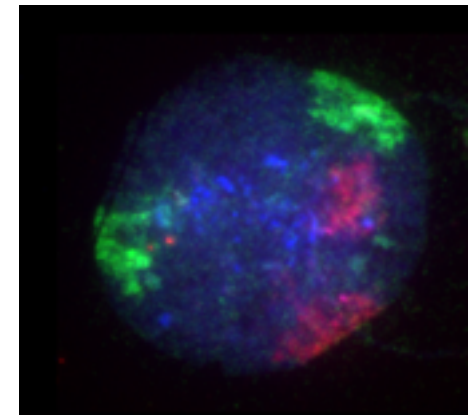
То, что мы наследуем- это хромосомы, а хромосомы состоят из ДНК только на 50%

Химические модификации нуклеосом



Малые некодирующие РНК

Химические модификации оснований ДНК



# *Эпигенетика- знаки пунктуации генетического текста*

АБВГДЕЖЗЕИКЛМНОПРСТАРИДЕТРАБОТАГЕНАСТОПУФХЦЧШКЭЮЯ

АБВГДЕЖЗЕИКЛМНОПРСТОПНЕИДЕТРАБОТАГЕНАСТОПУФХЦЧШКЭЮЯ

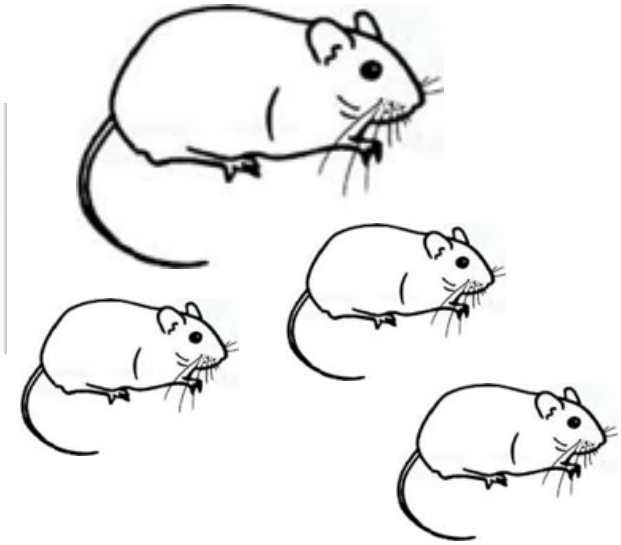
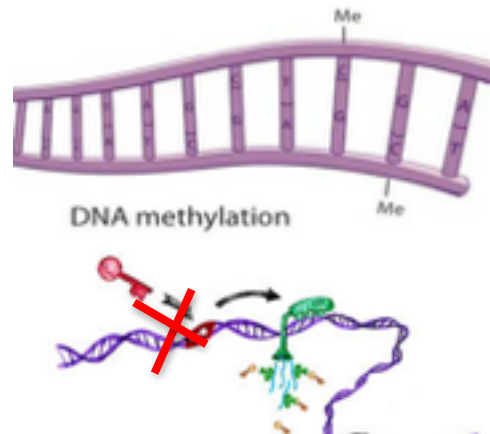
АБВГДЕЖЗЕИКЛМНОПРСТАР.ИДЕТРАБОТАГЕНАСТОПУФХЦЧШКЭЮЯ

АБВГДЕЖЗЕИКЛМНОПРСТАР,ИДЕТРАБОТАГЕНАСТОПУФХЦЧШКЭЮЯ



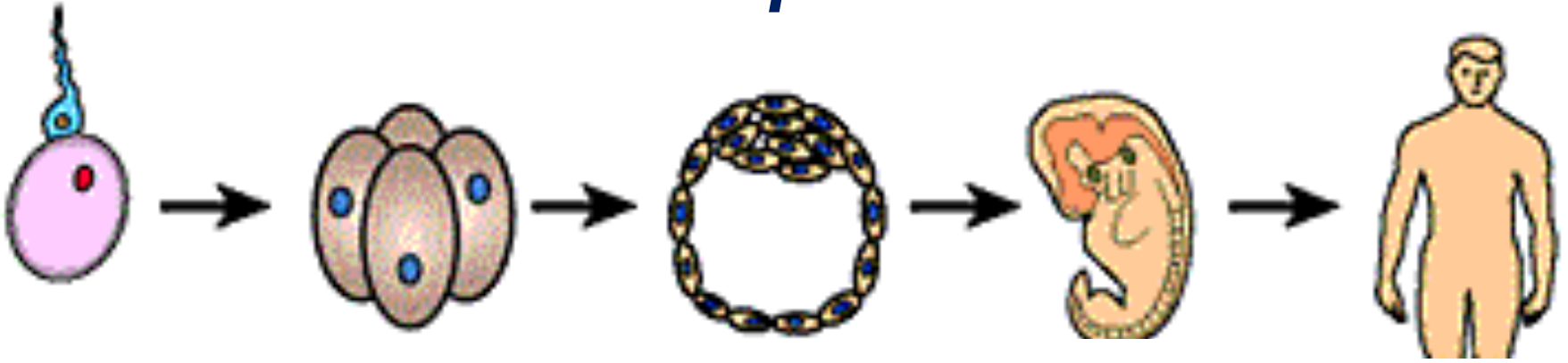
# Гены + внешние факторы =

Ген *агути* - синдром желтого ожирения, диабета, рака



"ДНК - это не судьба. Сегодня мы точно знаем: все, что мы делаем, все, что мы едим, пьем или курим, оказывает воздействие на экспрессию наших генов и генов будущих поколений. Эпигенетика предлагает нам новую концепцию свободного выбора".

# Как все происходит



**Один и тот же геном одинаковый во всех клетках организма, но в разных тканях работает по разному и эта разность наследуется**

о организм  
13 220  
пов клеток

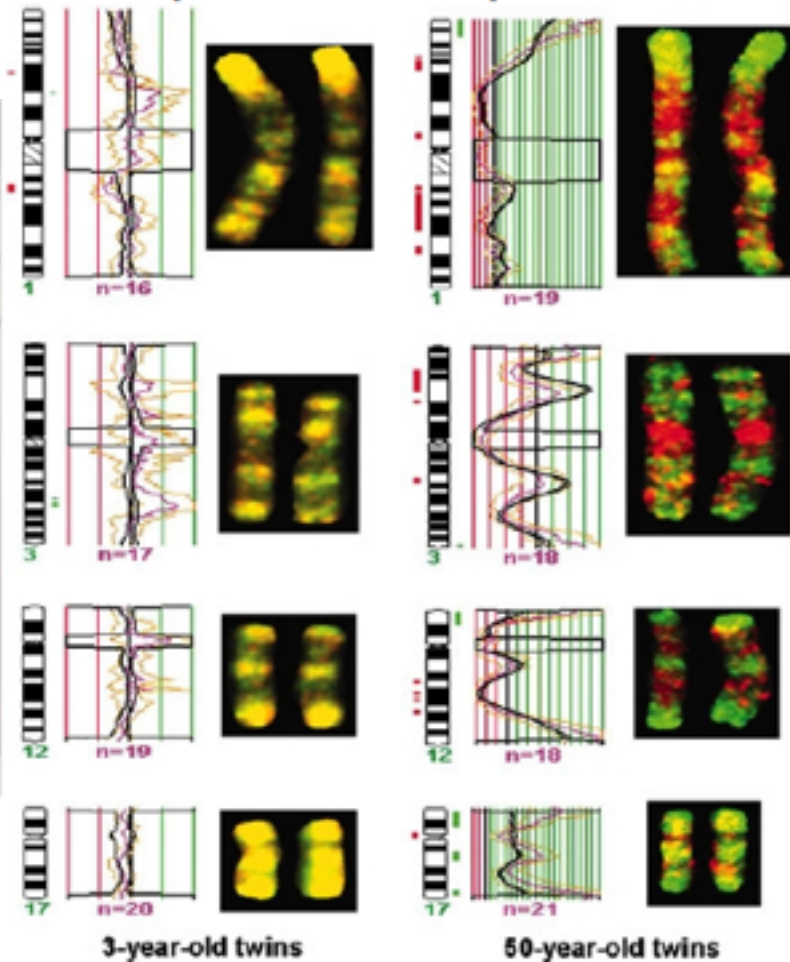


## Различия между близнецами

У любых близнецов есть различия, связанные с различиями в эпигенетических метках. Эти различия усиливаются с возрастом.

Различия в инактивации X-хромосомы

Разлиия в паттерне экспрессии некоторых генов за счет метилирования

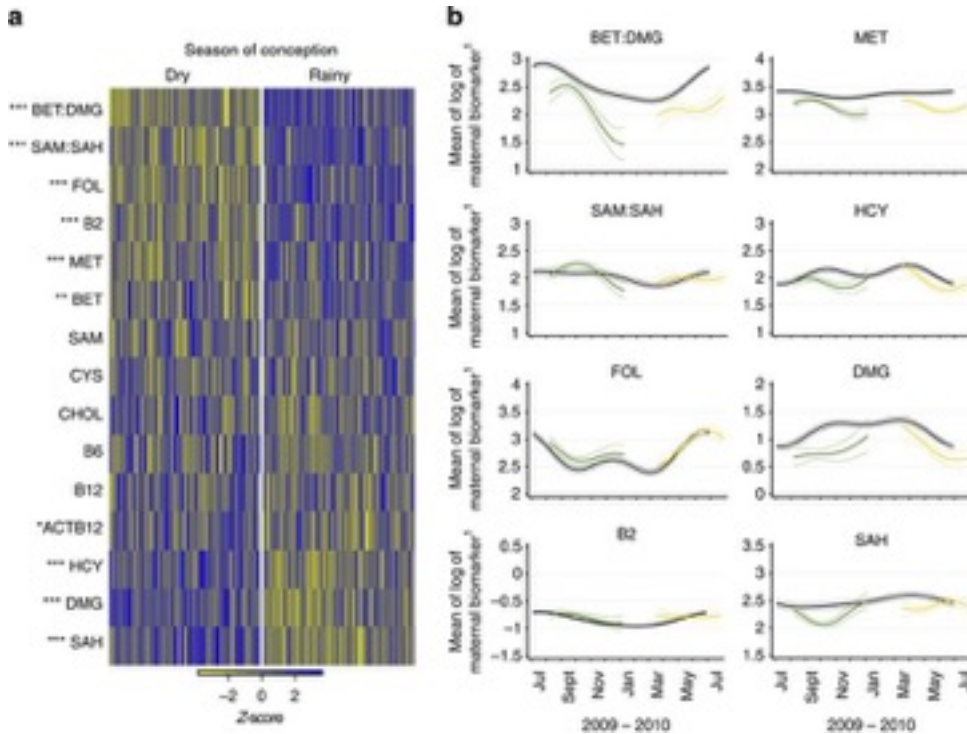


# TWINS

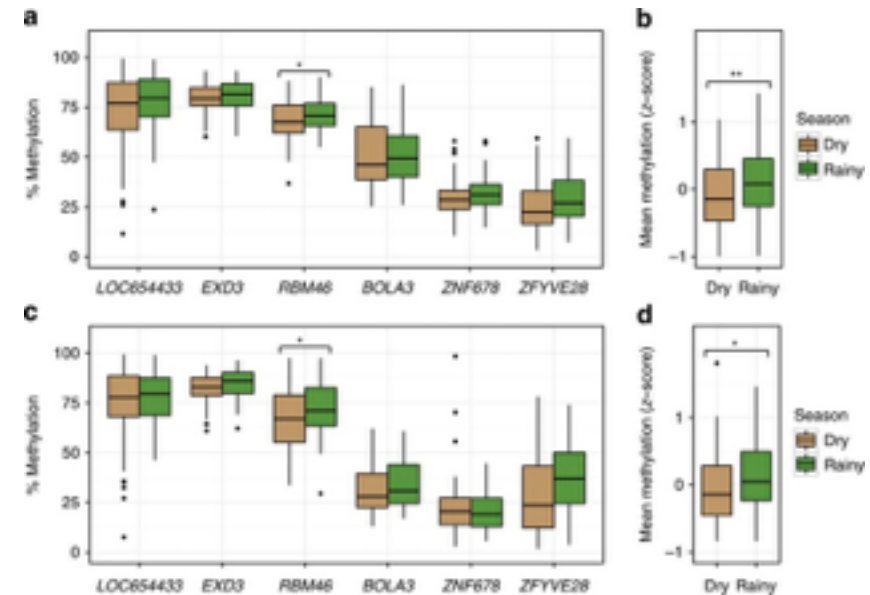


# Maternal nutrition at conception modulates DNA methylation of human metastable epialleles

Nat Commun. 2014 Apr 29;5:3746. doi: 10.1038/ncomms4746.



Heatmap of seasonal variation in maternal plasma biomarker concentrations at the time of conception.

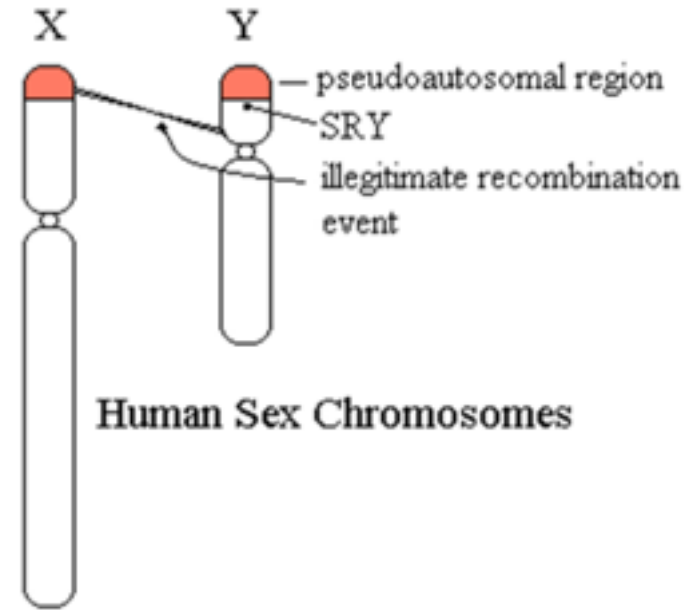


Percent methylation at the six MEs in PBL of infants conceived in the dry or rainy season.

# Различия между мальчиками и девочками в одной маленькой штучке

## • Система XX-XY:

- 46 XX - девочка
- 46 XY - мальчик



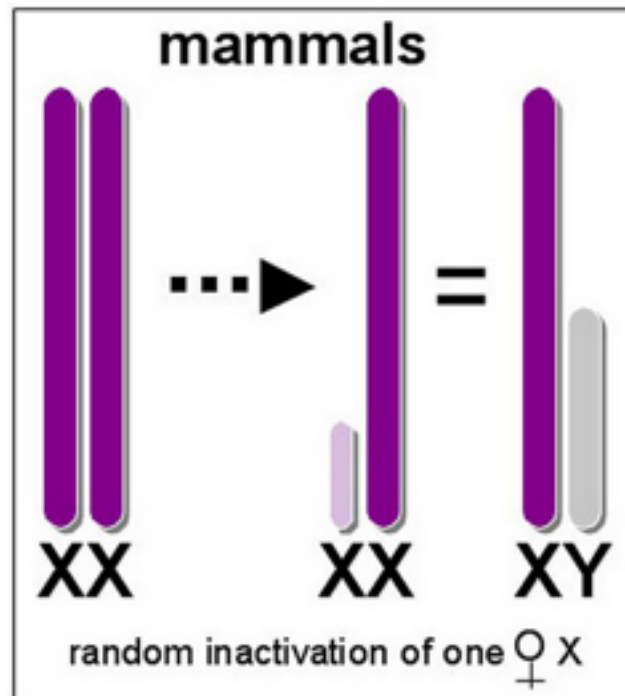
X хромосома содержит генетическую информацию необходимую для обоих полов, поэтому мужчины это сильно мускулистые женщины  
Единственный Y, а точнее SRY, даже при наличии нескольких X дают мужской облик

# *Нарушения в количестве Sex хромосом*

- Синдром Тернера: XO; 1/3000 рождений девочек
- Синдром Клейнфельтера: ХХУ, ХХХУ, ХХХХУ, ХХУУ; 1/1000 рождений мальчиков
- 47 ХХХ женщины: 1/1000 девочек
- ХХ мальчики: 1/100000 мальчиков

# Механизм дозовой компенсации у млекопитающих

Женские клетки имеют в два раза больше X хромосом по сравнению с мужскими, т.е. доза генов с X хромосомы должна быть удвоена. Однако, это не имеет место. Мужские и женские клетки имеют одинаковый уровень генов X хромосомы.

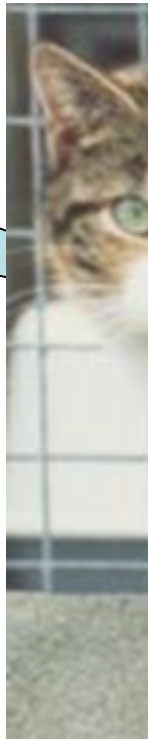




X хромосомы, одна от папы, другая от мамы

Клетки эпителия, произошедшие из этих эмбриональных предшественников образуют фрагмент светлой ткани (шерсти).

А произошедшие из этих- темной ткани (шерсти)



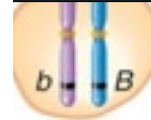
White fur allele

Black fur allele

Early embryo—  
all X chromosomes  
active

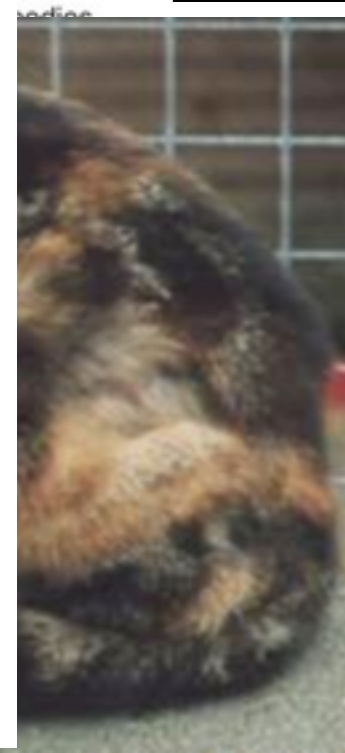


Гены, определяющие цвет, который попали от двух родителей

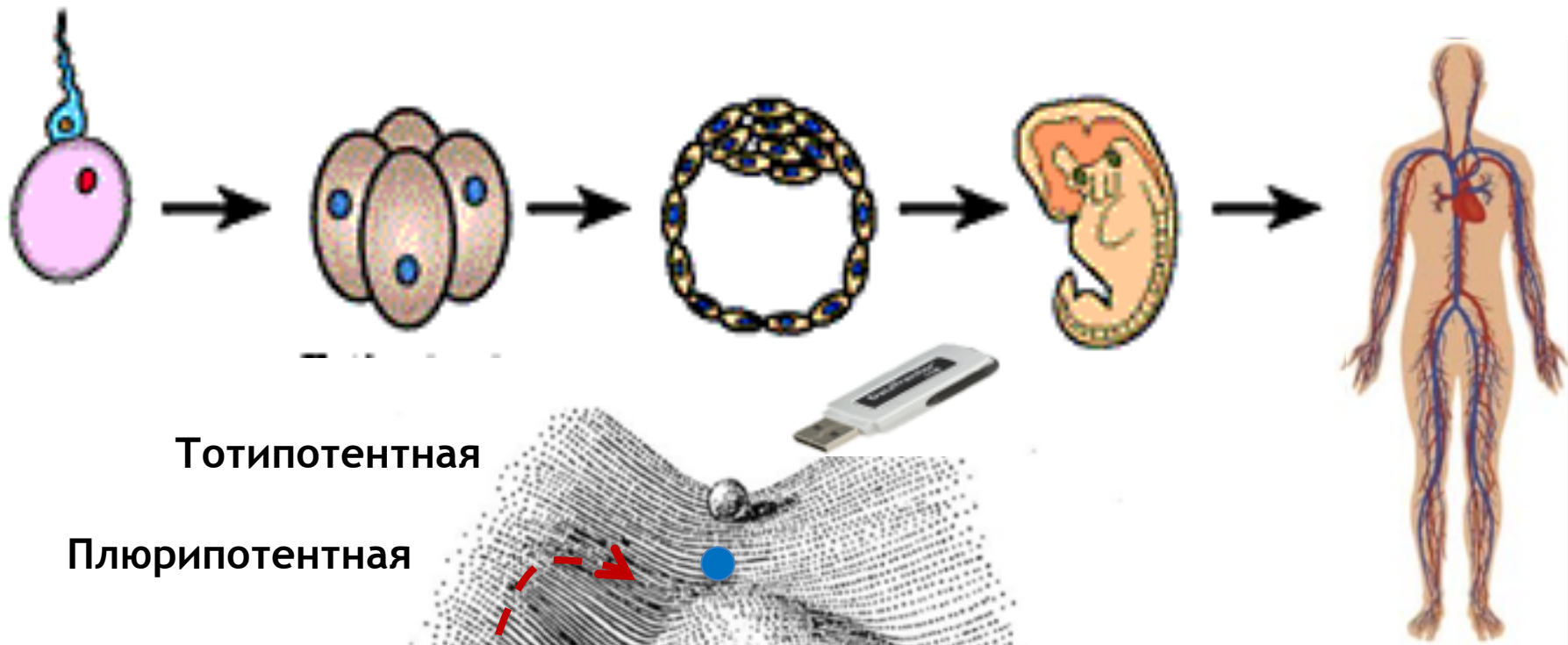


Ранняя стадия развития (25-100 клеток)

romosome



# Как все происходит

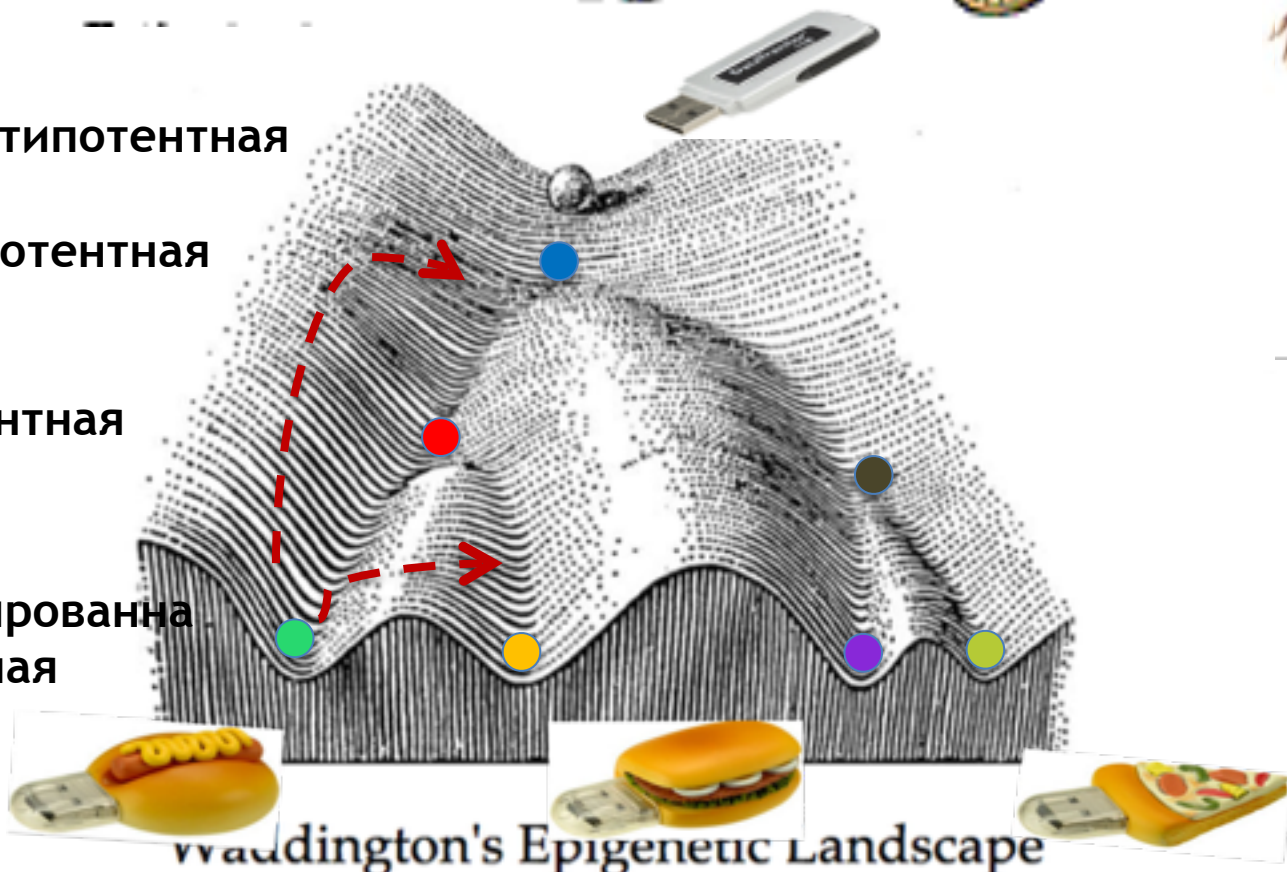


Тотипотентная

Плюрипотентная

Мультипотентная

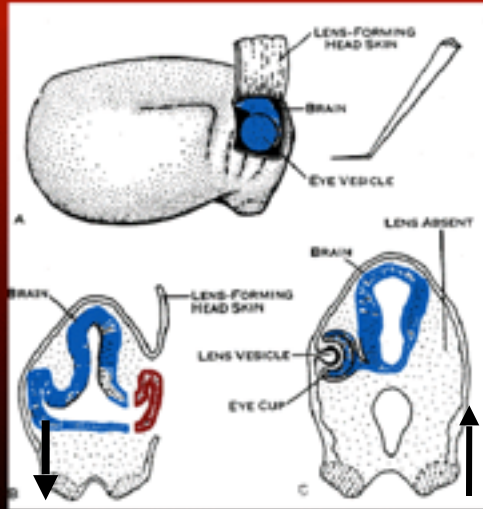
Дифференцированная унипотентная



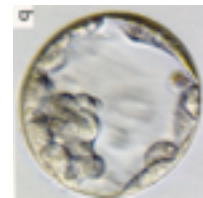
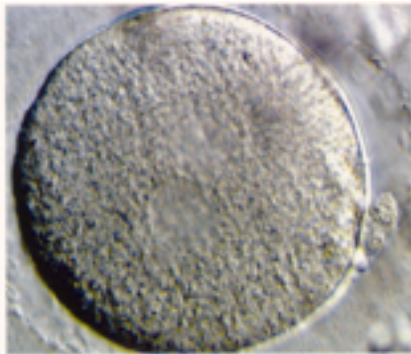
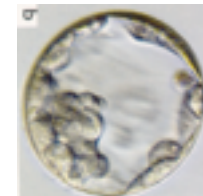
Waddington's Epigenetic Landscape

# Клетки и ткани могут подчиняться законам соседних клеток и тканей

HANS SPEMANN, 1901  
LENS INDUCTION



Нобелевская премия 1935 за открытие «организующих эффектов в эмбриональном развитии»



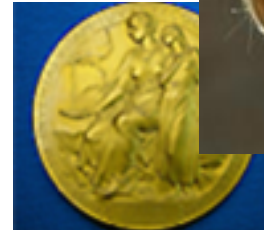
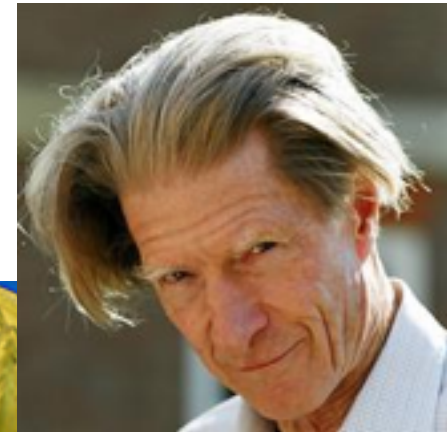
# Технология переноса ядра Briggs & King 1952



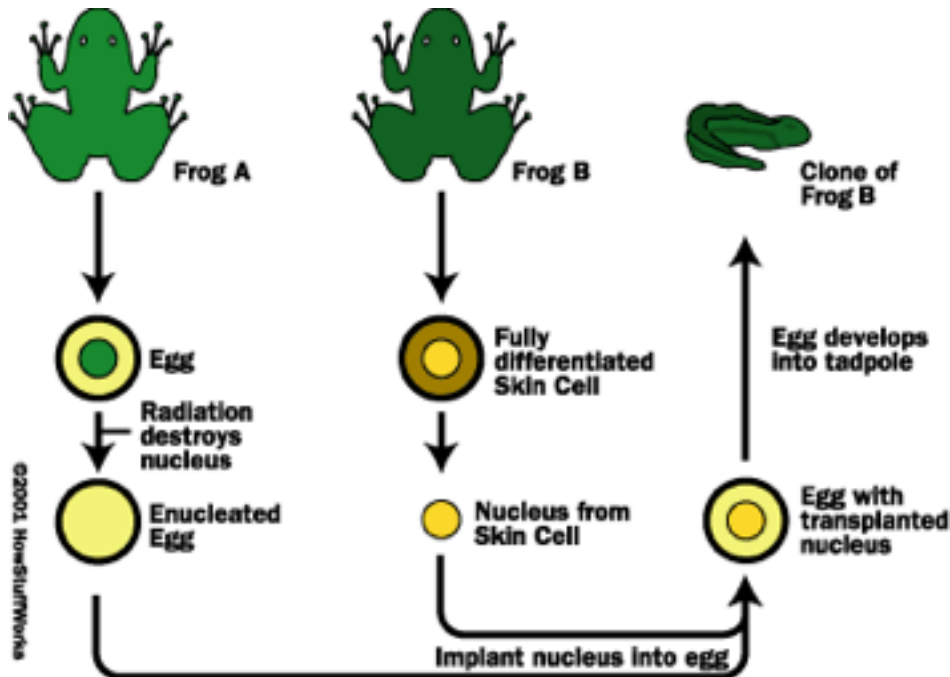
R. Briggs



T. King

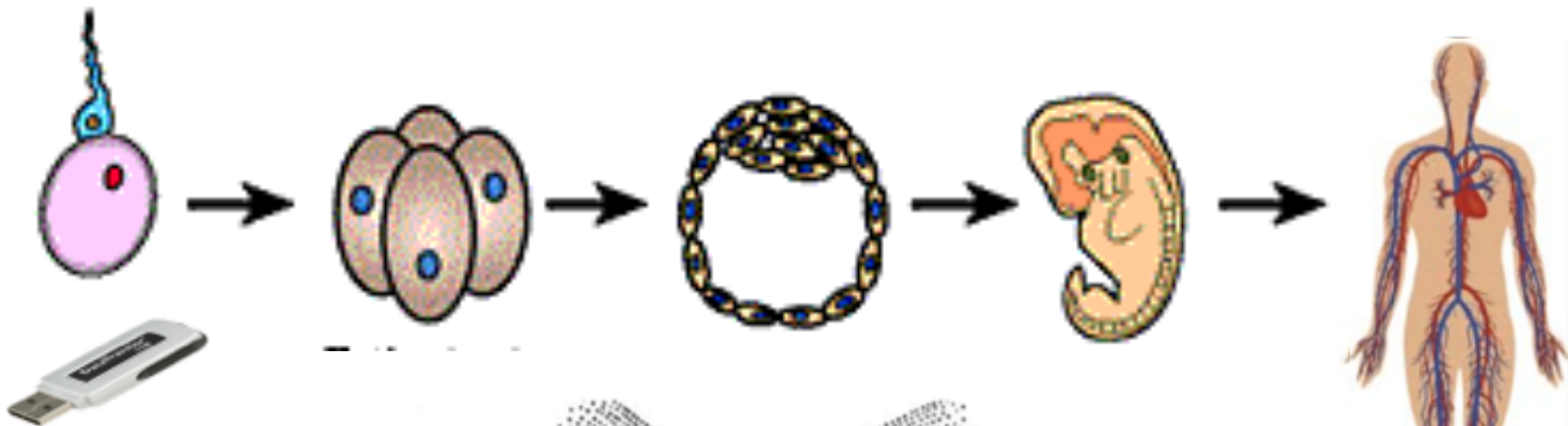


J. Gurdon в 1962 г. использовал ядро из клетки кишечника взрослого головастика

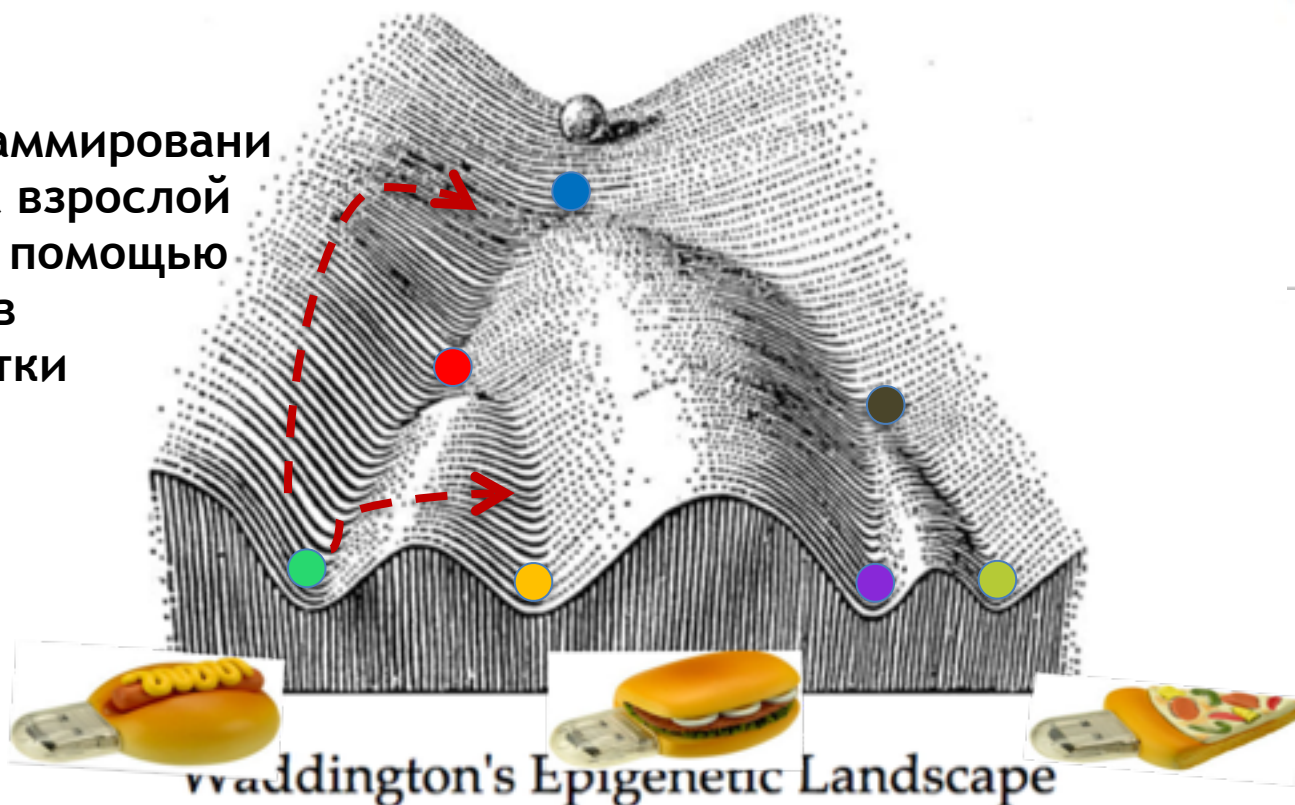


Рождались живые головастики при переносе ядра эмбриональной клетки.

# Как все происходит



Репрограммирование генома взрослой клетки с помощью факторов яйцеклетки



# Биотехнология клонирования работает

- 1952 Briggs & King тритон,
- 1962 Дж. Гердон, лягушка, Англия
- 1963 Dizhou Tong карп в Китае
- 1973 межвидовое клонирование карп в Китае
- 1997 овечка Долли
- 1998 Мышки и коровы
- 2000 Свиньи
- 2002 Кошка
- 2003 Лошадь и крысы
- 2005 Собака
- 2007 Обезьяна(т), лосось
- 2013 «Человек» (т)!



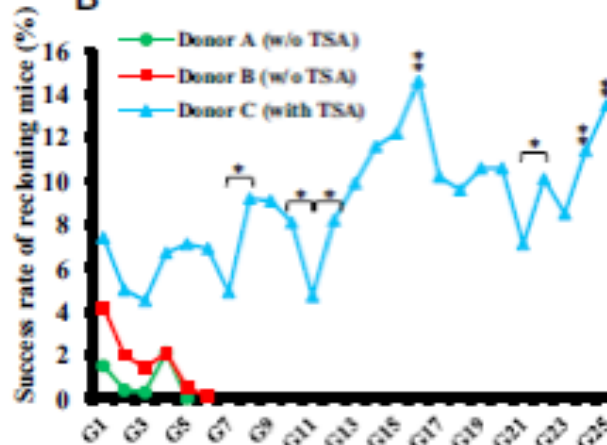
# Страшилки репродуктивного клонирования: болят клоны...

## Вакаюта 2014 против.... Вакаюта 2000

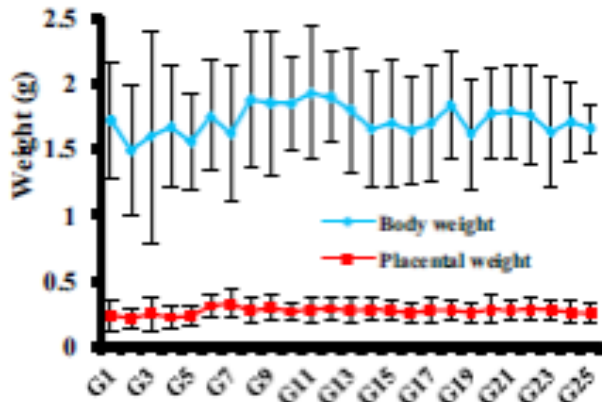
A



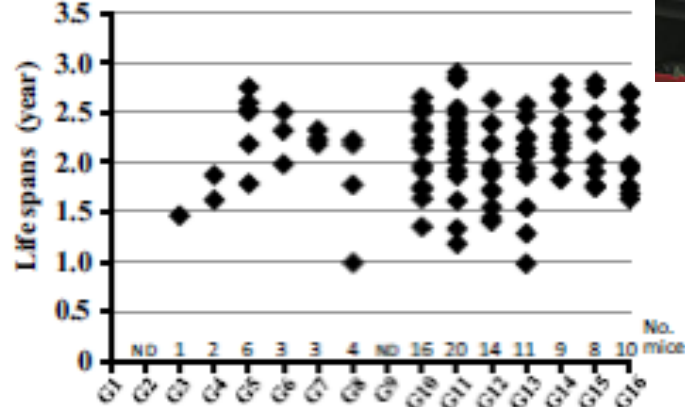
B



C



D



# **Страшилки репродуктивного клонирования: создадут чего-нибудь...**

**Гераклит Эфесский (ок. 530-470 г. д.н.э.)**

**«В одну и ту же стремнину нельзя войти дважды и нельзя дважды застигнуть смертную природу в одном и том же состоянии, но быстрота и скорость обмена рассеивает и снова собирает. Рождение, происхождение никогда не прекращается. Солнце - не только новое каждый день, но вечно и непрерывно новое».**

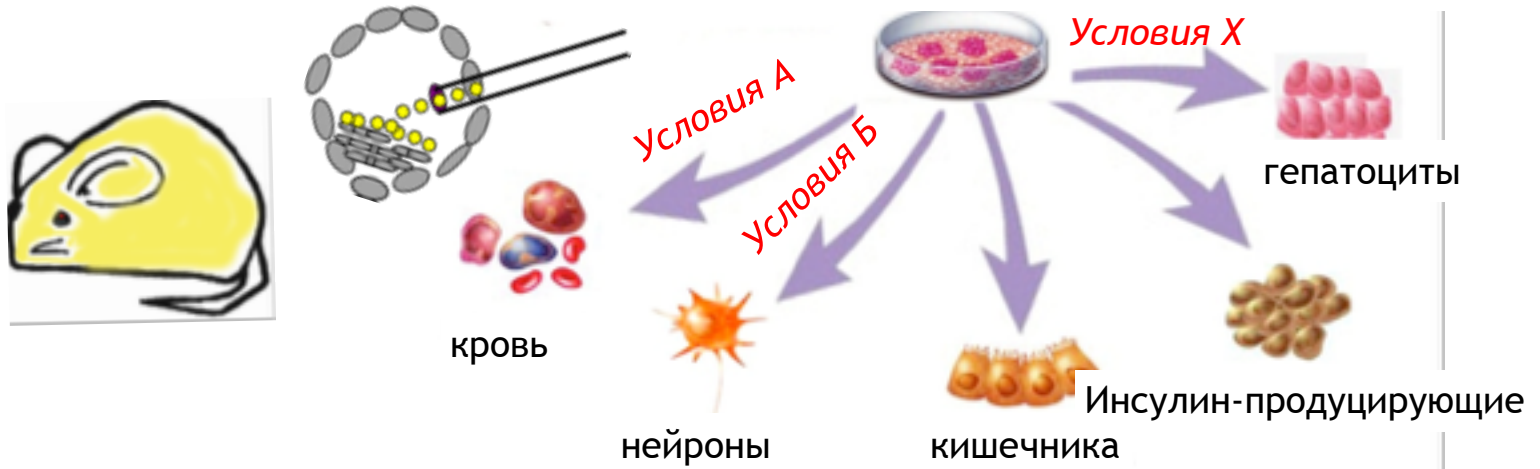
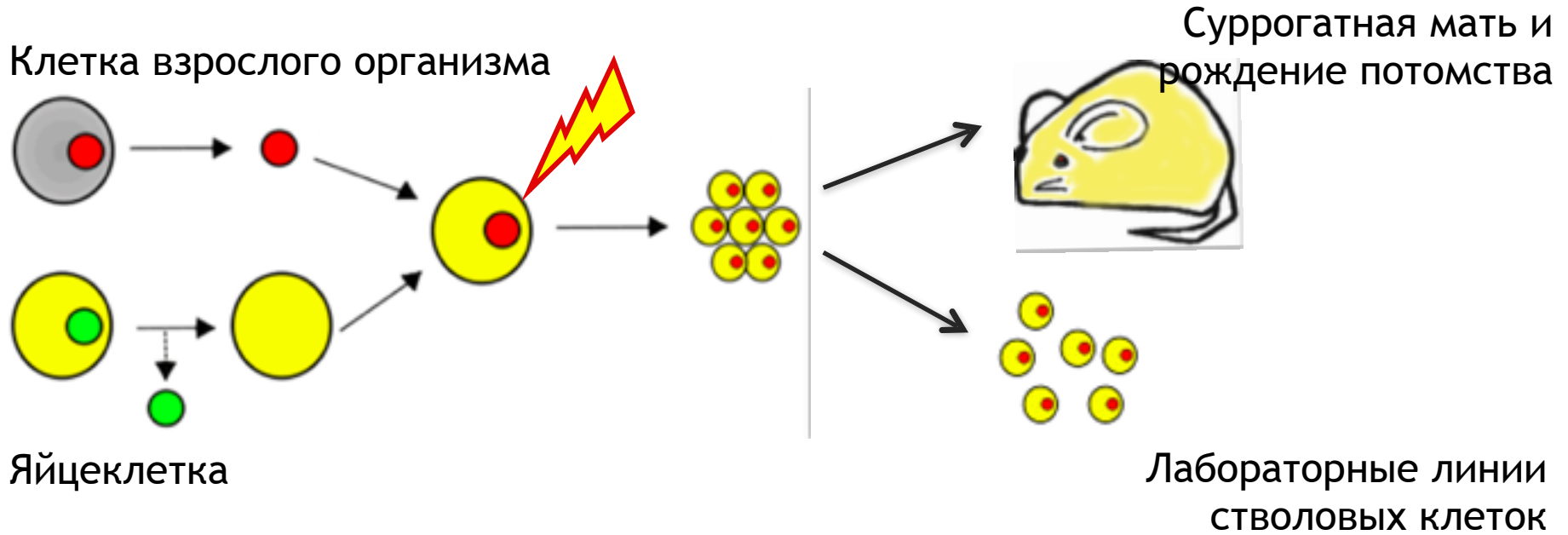
Waddington's Epigenetic Landscape



«Позже Бог усыпил Адама, взял одно из его рёбер и сотворил из него первую женщину – Еву, которая стала женою для первого человека (Быт.2 :21-22).



# Репродуктивное и терапевтическое клонирование



# Ожидания опережают науку и технологии

## Хванг-гейт (Hwang-gate)



Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst., *Science* 2004

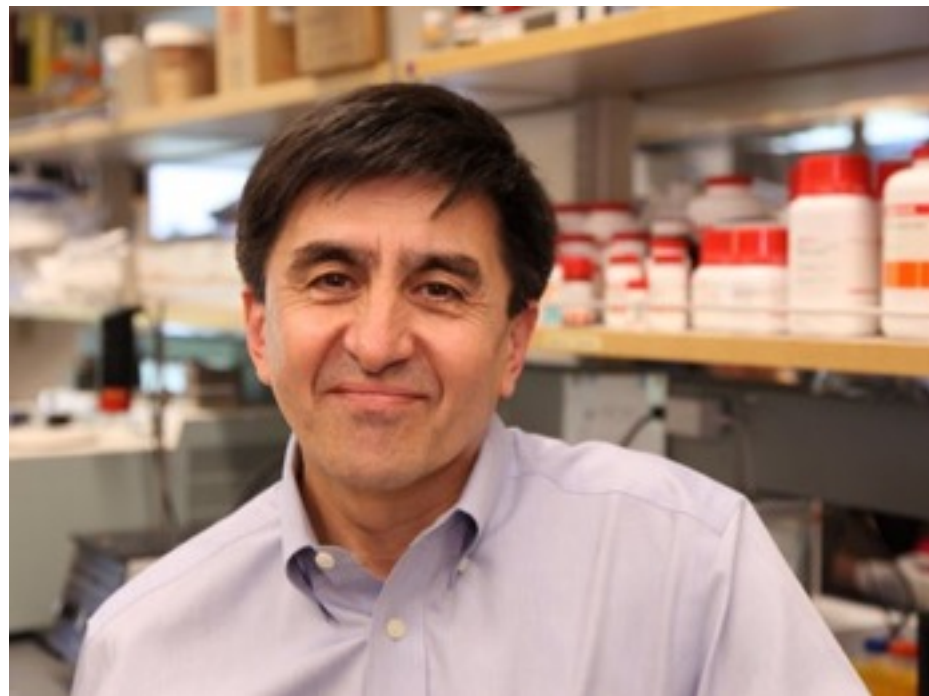
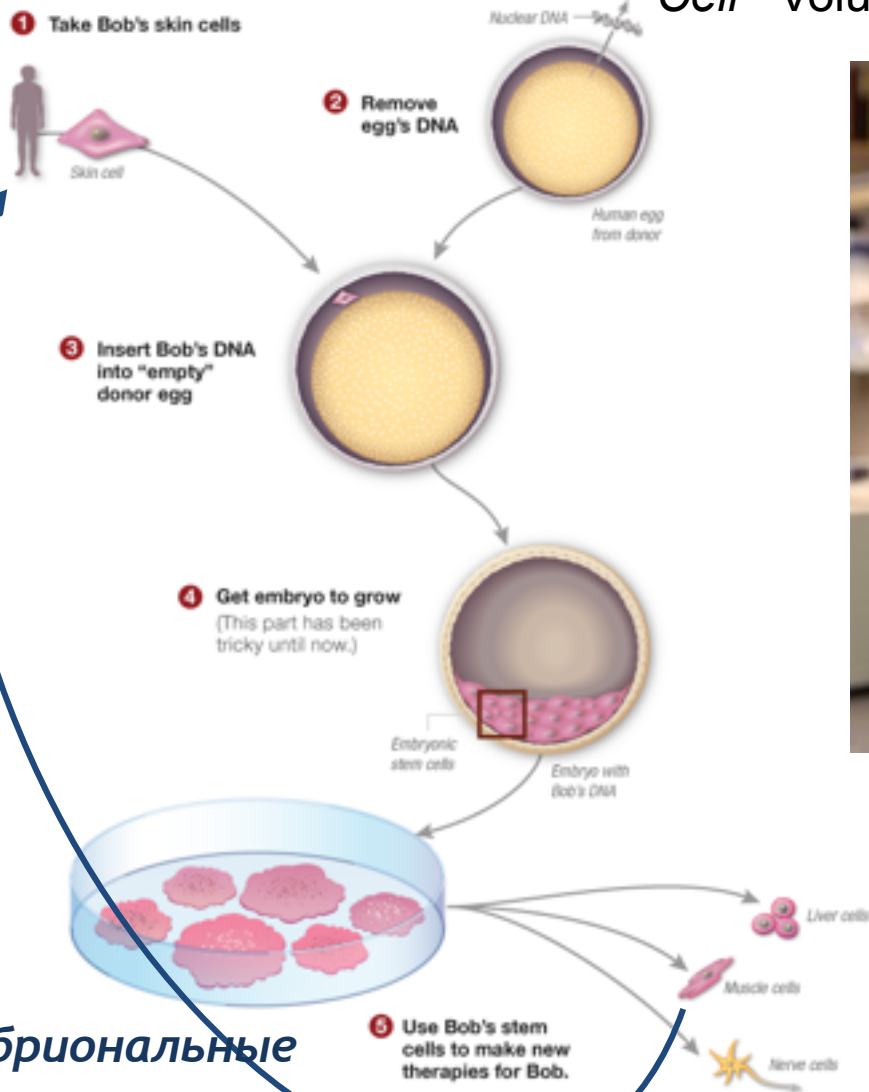
Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts., *Science* 2005

[2006, Editorial Retraction of Hwang et al., Science 308 \(5729\) 1777-1783. Retraction of Hwang et al., Science 303 \(5664\) 1669-1674.](#)

## Терапевтическое клонирование человека

# Стволовые клетки человека, полученные методом переноса ядра- клонирование

Cell Volume 153, 6 June 2013, Pages 1228–1238



Шухрат Миталипов, Орегон, США

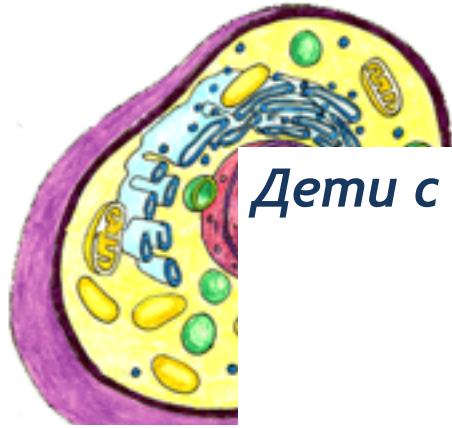
Эмбриональные  
стволовые  
клетки

# Перенос ядерного генетического материала, как метод лечения наследственных охондриальных заболеваний.

*Дети с тремя генетическими родителями уже на подходе*



В 2016г. Парламент 382 - «за», 128- «против» разрешил получение детей от «трех» родителей для лечения митохондриальных наследственных болезней. Идет подготовка.



a Egg donor

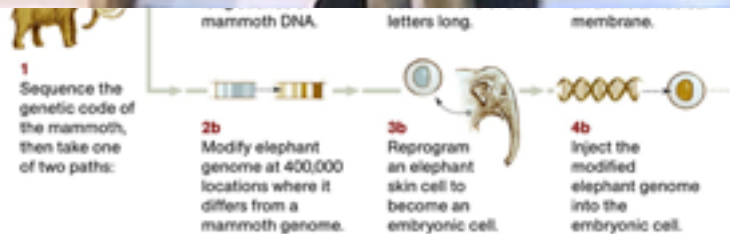
Egg donor

s



## WILL A MAMMOTH WALK AGAIN?

The decoding of 70 percent of the mammoth genome in 2008 sparked new hope that the



FERNANDO G. BAPTISTA, AG  
STAFF, ART BY KAZUHIKO SANO  
(TOP)  
SOURCES: HENDRIK FORNER,  
MORNINGTON UNIVERSITY;  
STEPHAN C. SCHUSTER,  
PENNSYLVANIA STATE  
UNIVERSITY

NEWS 24 JANUARY 2018

# *First monkeys cloned with technique that made Dolly the sheep*

*Chinese scientists create cloned primates that could revolutionize studies of human disease.*

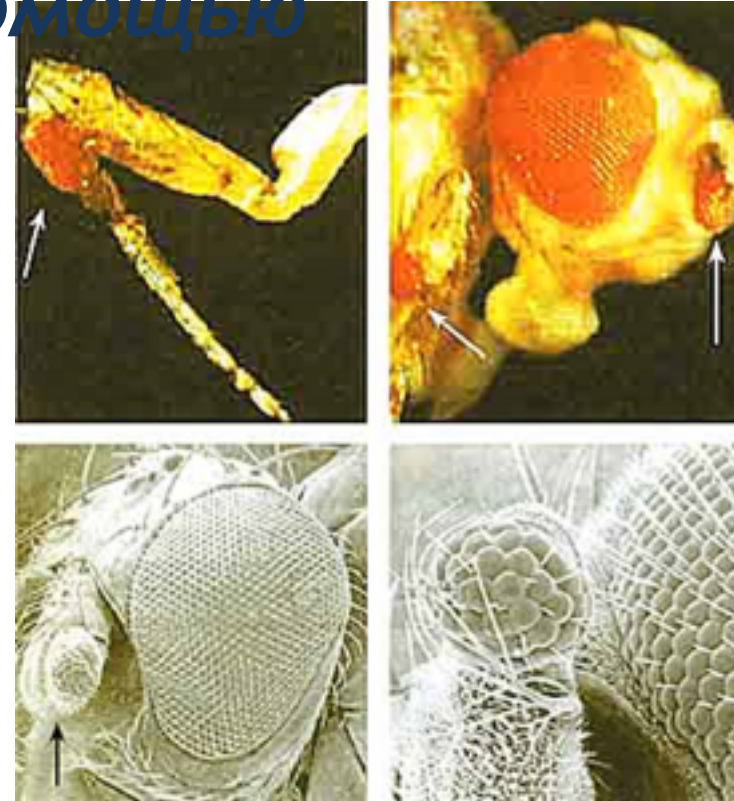


*Если гены определяют признак, то  
можно попробовать изменить  
состояние с их помощью*



**РАБОТАТЬ  
РАБЫ**  
СОЛНЦЕ ЕЩЕ ВЫСОКО

*Не все гены равны,  
некоторые ровнее других.*

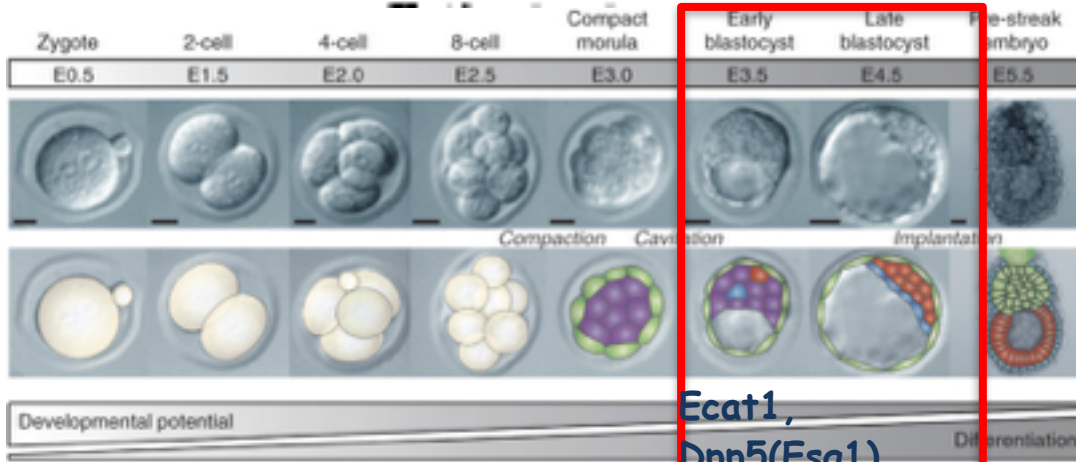
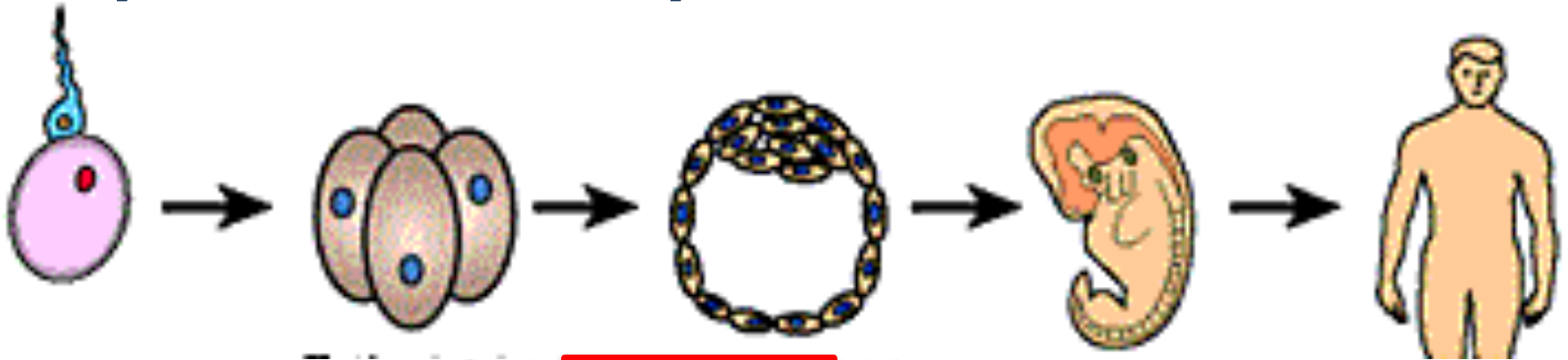


+ СТАРТИДЕТРАБОТАГЕНАСТОП



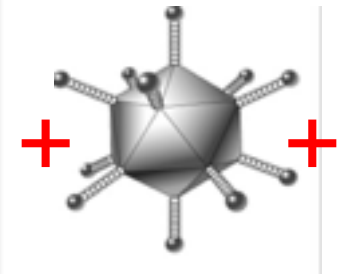


# Краткая история жизни каждого

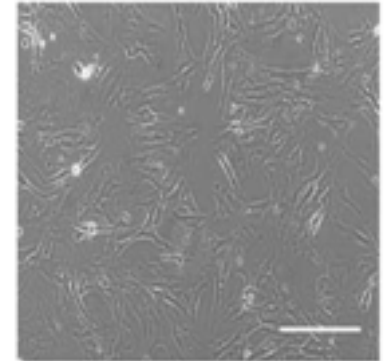


Считается, что организм состоит из 200 различных типов клеток

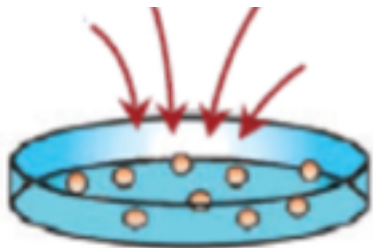
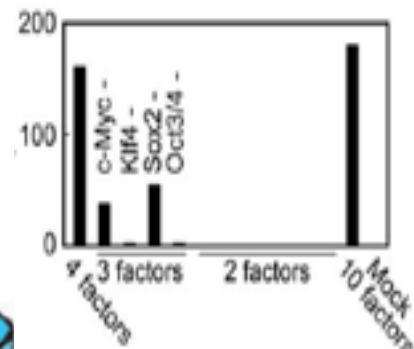
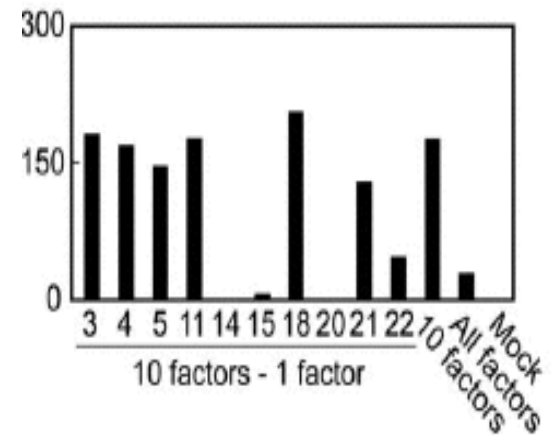
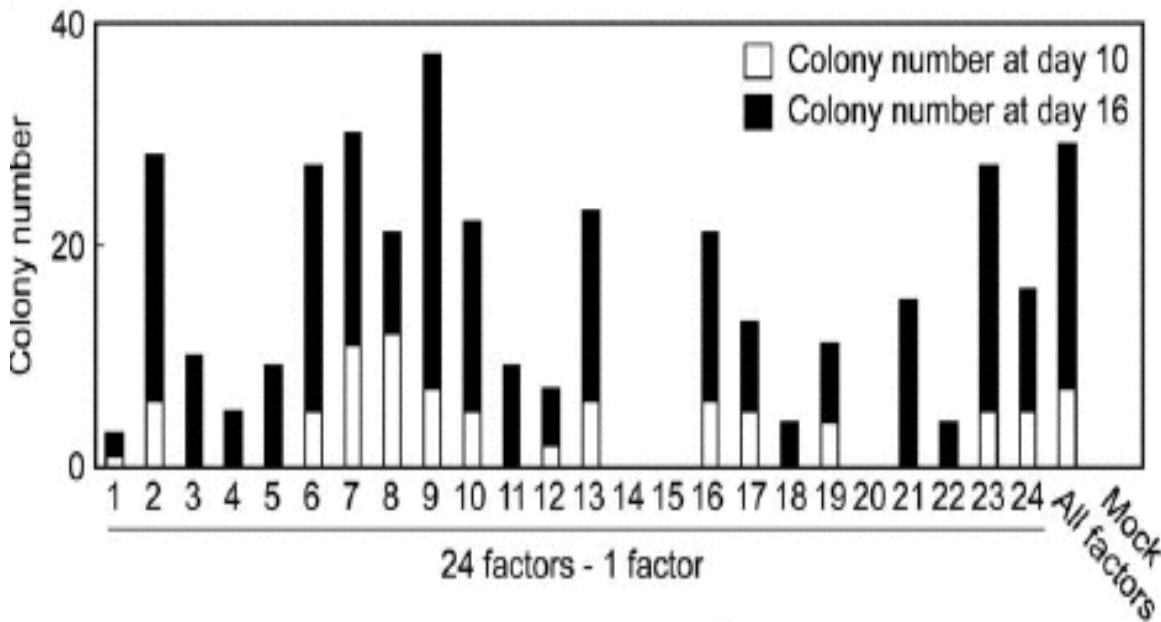
*Ecat1,*  
*Dpp5(Esg1),*  
*Fbx015, Nanog,*  
*ERas,*  
*Dnmt3l, Ecat8,*  
*Gdf3, Sox15,*  
*Dppa4, Dppa2,*  
*Fthl17, Sall4,*  
*Oct4, Sox2,*  
*Rex1 Utf1*



Клетки кожи



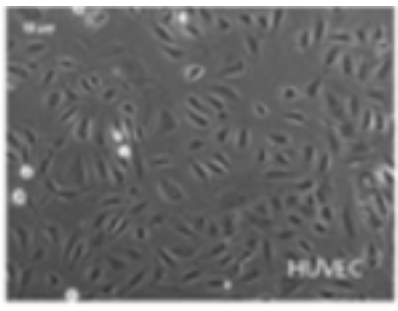
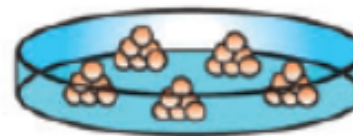
# “Коктейль Яманака”



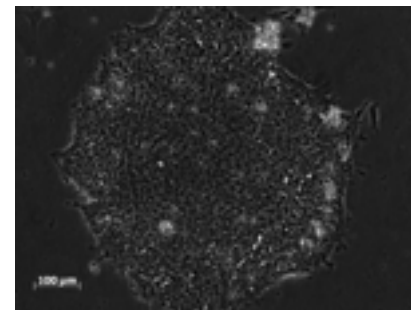
Oct4  
Sox2



Klf4  
cMyc



**Magic 4**



# Прямое генетическое репрограммирование

## Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors

*iPSC, айпуэс, ИПСК*

Kazutoshi Takahashi<sup>1</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,\*</sup>

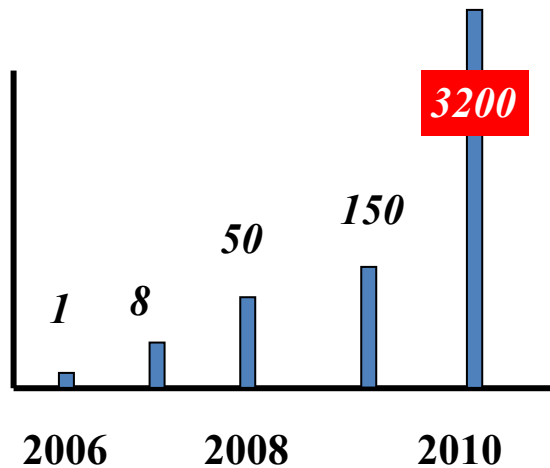
<sup>1</sup>Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

<sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan

\*Contact: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp

DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024

*Ссылка в PubMed на iPSC*



## Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors

2007

2007

Kazutoshi Takahashi,<sup>1</sup> Koji Tanabe,<sup>1</sup> Mari Ohnuki,<sup>1</sup> Megumi Narita,<sup>1,2</sup> Tomoko Ichisaka,<sup>1,2</sup> Kiichiro Tomoda,<sup>3</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,3,4,\*</sup>

## Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells

Junying Yu,<sup>1,2,\*</sup> Maxim A. Vodyanik,<sup>2</sup> Kim Smuga-Otto,<sup>1,2</sup> Jessica Antosiewicz-Bourget,<sup>1,2</sup> Jennifer L. Frane,<sup>1</sup> Shulan Tian,<sup>3</sup> Jeff Nie,<sup>3</sup> Gudrun A. Jonsdottir,<sup>3</sup> Victor Ruotti,<sup>3</sup> Ron Stewart,<sup>3</sup> Igor I. Slukvin,<sup>2,4</sup> James A. Thomson<sup>1,2,5,\*</sup>

*Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки*

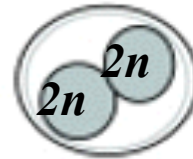
# Абсолютность и универсальность

## Тетраплоидная комплементация

iPSCs были получены из:

- Mouse (Yamanaka et al., 2006)
- Humans (Yamanaka et al., 2007)
- Rhesus monkey (Liu et al., 2008)
- Rats (Liao et al., 2009; Li et al., 2009)
- Canine (Shimada, H. et al, 2010)
- Porcine ( Esteban, M. A. et al., 2009)
- Marmoset (Wu, Y. et al., 2010)
- Rabbit (Honda, A. et al., 2010)
- Equine (Kristina Nagy et al., 2011 )
- Avian (Lu et al., 2011)

2x клеточный эмбрион



Электрослияние



Созревание в культуре

Слитые клетки не способны дать мыш, а только плаценту



2n

iPSC клетки

Химерный эмбрион имплантируют псевдо-беременной самке



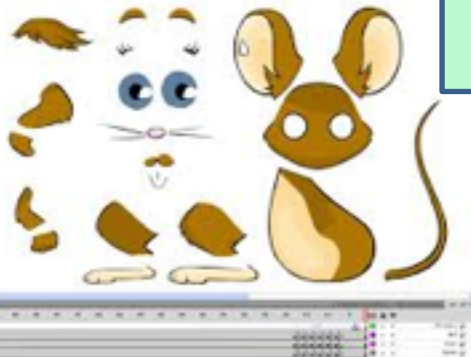
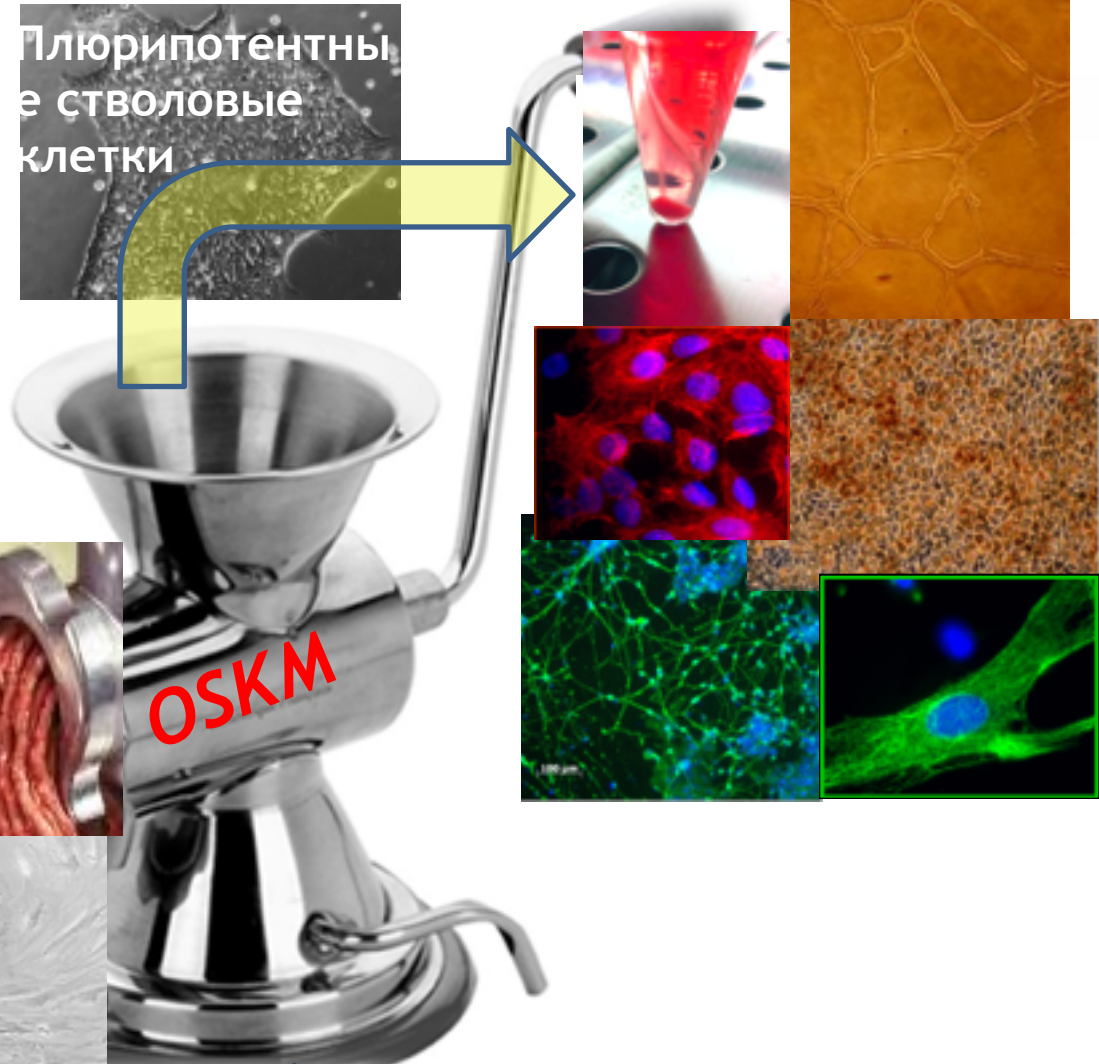
Мышь, состоящая из клеток кожи хвоста, репрограммированных в АЙПИЭС клетки

# Генетическое репрограммирование соматических клеток или «фарш возможно повернуть назад»



2012

Плюрипотентные  
стволовые  
клетки



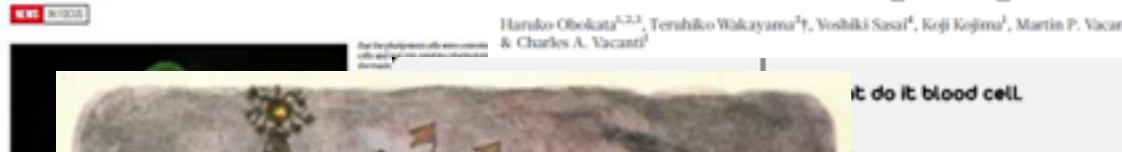
«Magic 4» или  
«магический  
коктейль»

# Слишком хорошо чтобы быть правдой.

30 JANUARY 2014 | VOL 505 | NATURE | 641

## Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency

Haruko Obokata<sup>1,2,3</sup>, Teruhiko Wakayama<sup>3†</sup>, Yoshiki Sasai<sup>4</sup>, Koji Kojima<sup>3</sup>, Martin P. Vacanti<sup>1,5</sup>, Hitoshi Niwa<sup>6</sup>, Masayuki Yamato<sup>7</sup> & Charles A. Vacanti<sup>1</sup>



### RETRACTION

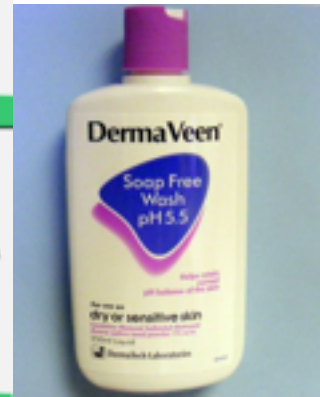
doi:10.1038/nature13598

## Retraction: Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency

Haruko Obokata, Teruhiko Wakayama, Yoshiki Sasai, Koji Kojima, Martin P. Vacanti, Hitoshi Niwa, Masayuki Yamato & Charles A. Vacanti

*Nature* **505**, 641–647 (2014); doi:10.1038/nature12968

Several critical errors have been found in our Article and Letter (<http://dx.doi.org/10.1038/nature12969>), which led to an in-depth investigation by the RIKEN Institute. The RIKEN investigation committee has

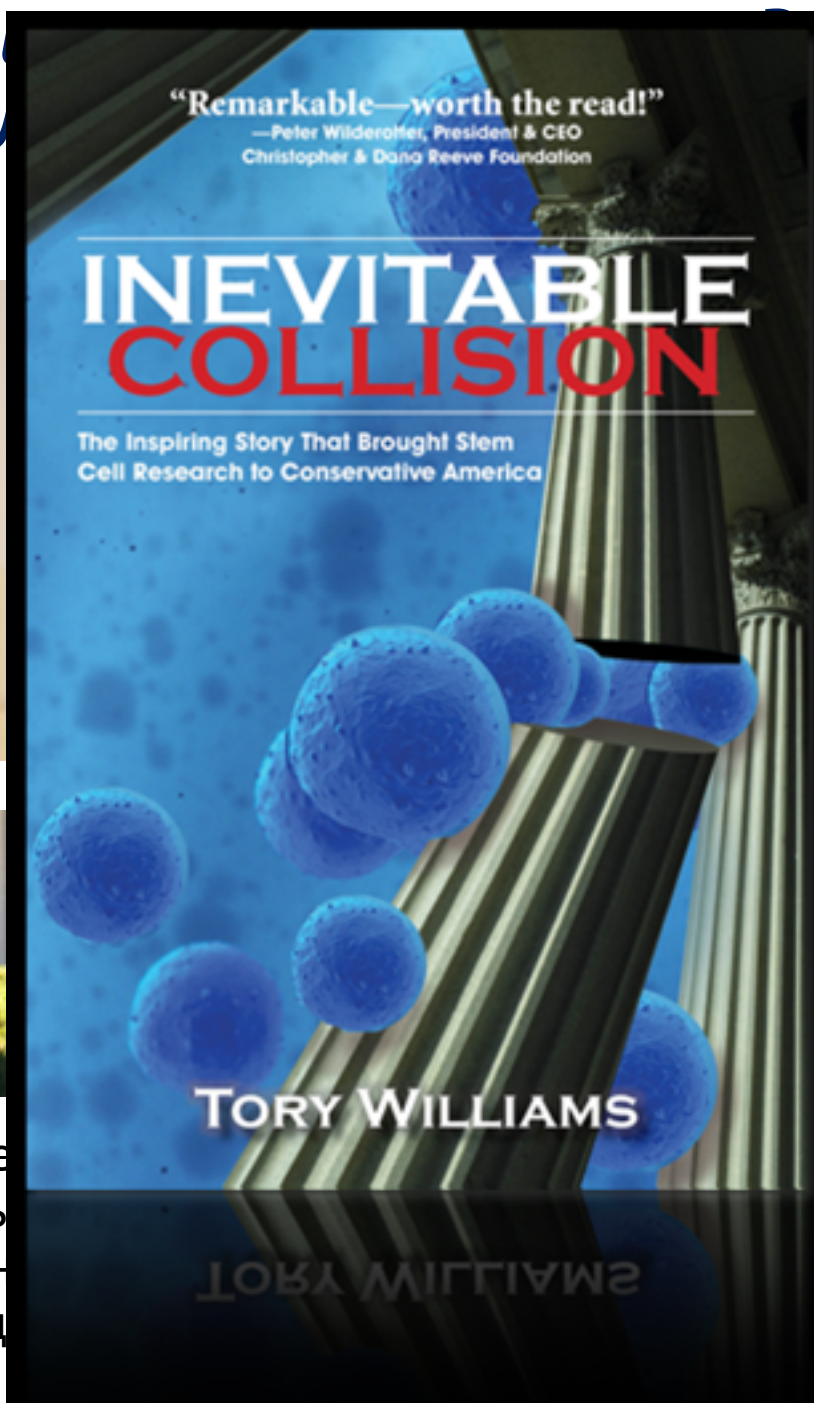


**WALL STREET JOURNAL**  
Japanese Stem-Cell Scientist Yoshiki Sasai  
Commits Suicide  
Co-Author of Controversial Research on  
Stem Cells Found Dead After Apparent  
Suicide

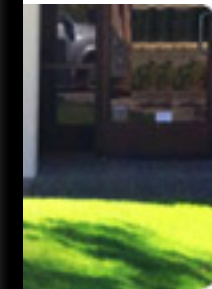
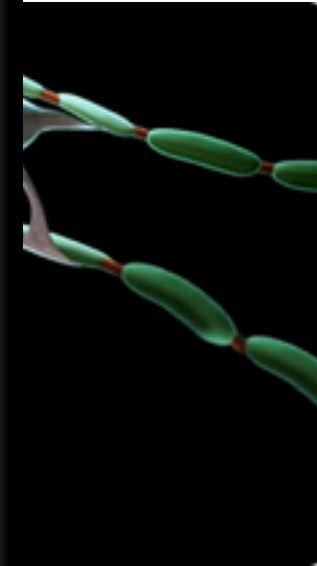
Клинически  
по  
Geron Inc.



5 человек на фоне  
клеток. Негативные  
лет показали уменьшение  
Исследование будет  
млрд\$

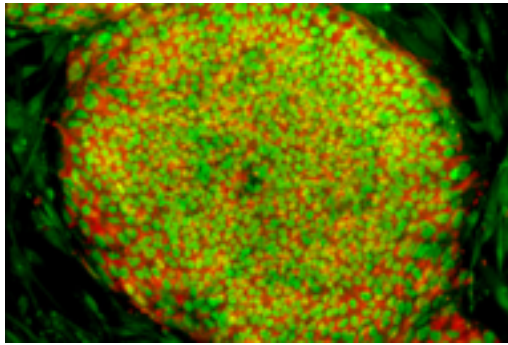


Андрозитов,  
DPC1



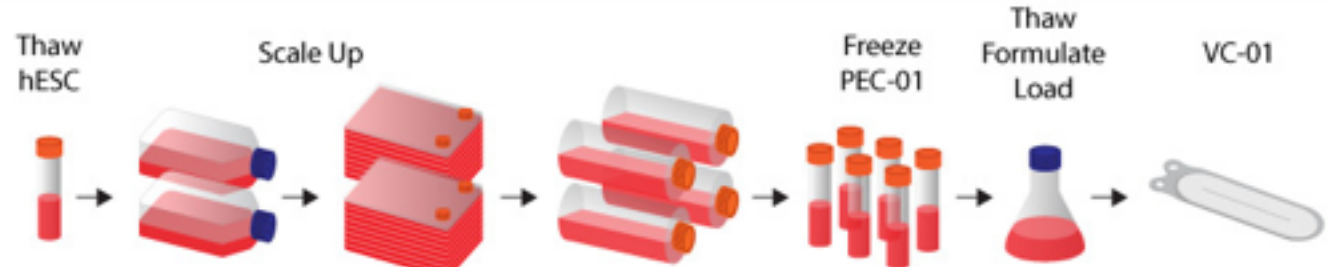
и небольшое количество  
ые на протяжении 2-3  
(как и на крысах).  
!!!!!!) лет. Рынок 1-2

# Клинические испытания терапии диабета инсулин-продуцирующими клетками, полученными из ЭСК

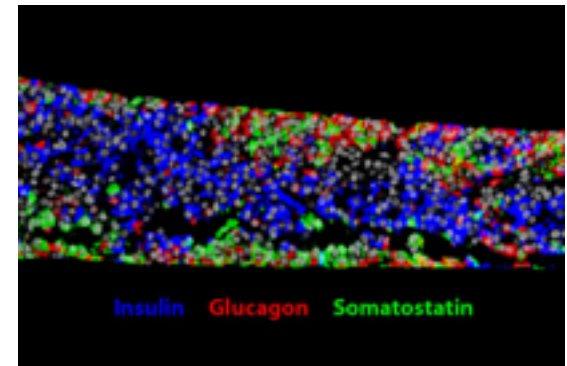
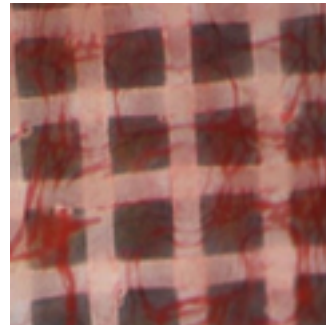
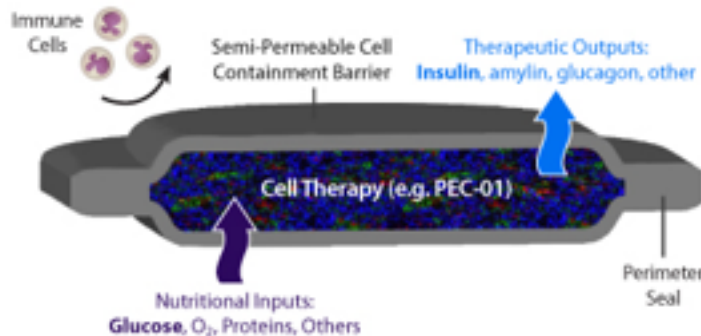


Процесс производства клеточного продукта

Stage 0	Stage 1	Stage 2	Stage 3	Stage 4
Human Embryonic Stem Cells (hESC) 15 days	Anterior Definitive Endoderm (DE) 2 days	Foregut Endoderm (FE) 3 days	Posterior Foregut (PF) 3 days	Pancreatic Endoderm (PE) 4 days
Propagate hESC (15 days)		Differentiate to PEC-01 (12 days)		Prepare VC-01 (4 days)

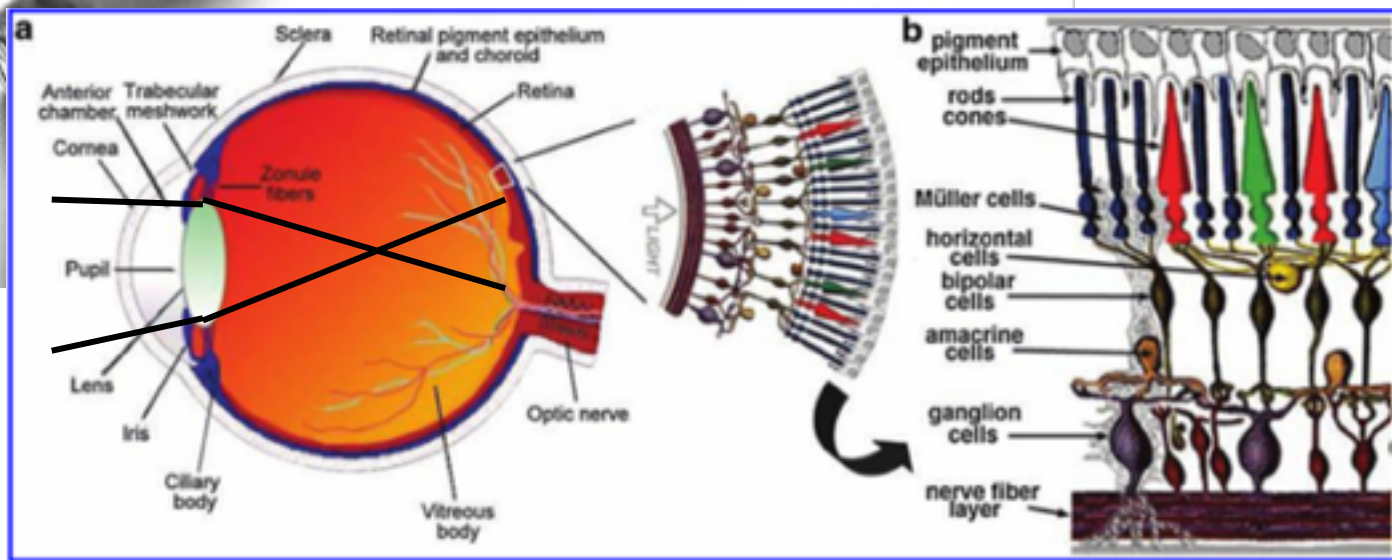
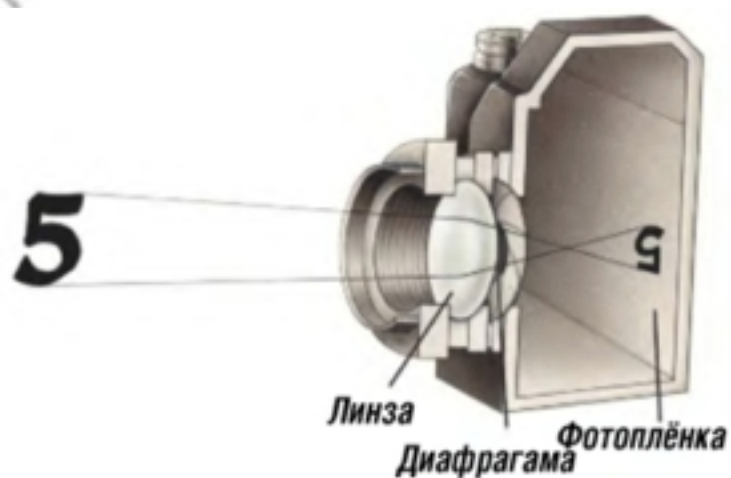
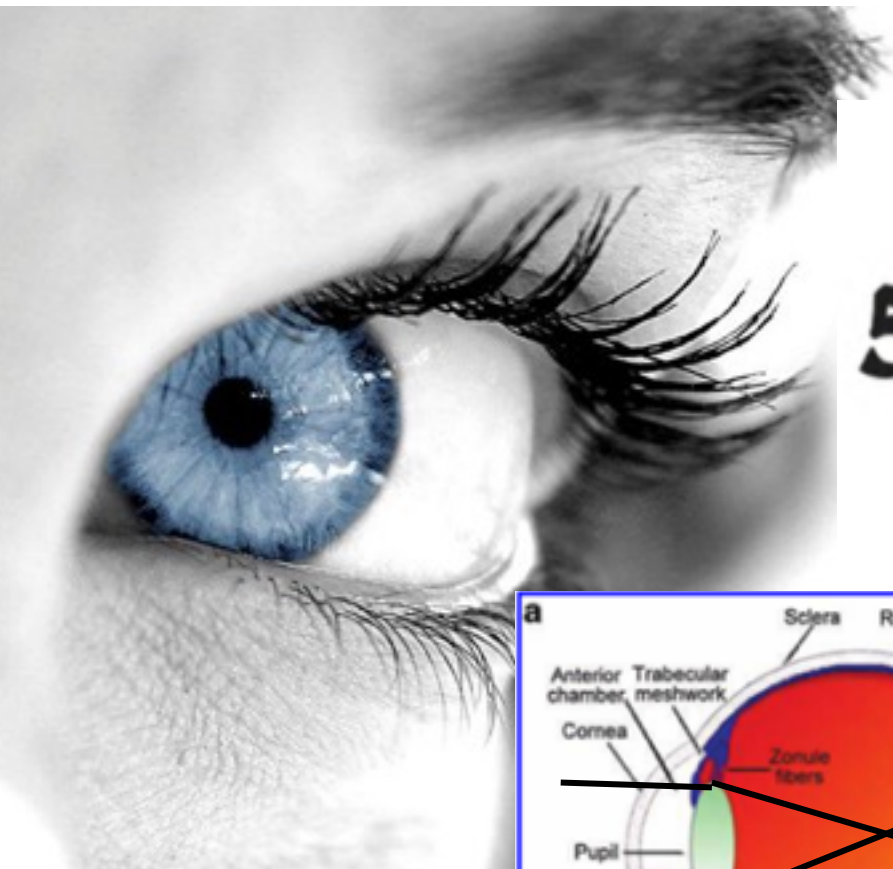


Капсула с клетками имплантируется в организм



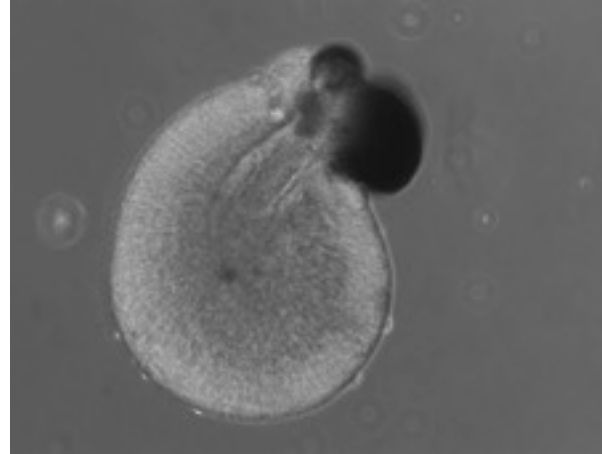


# Глаз- уникальный природный фотоаппарат

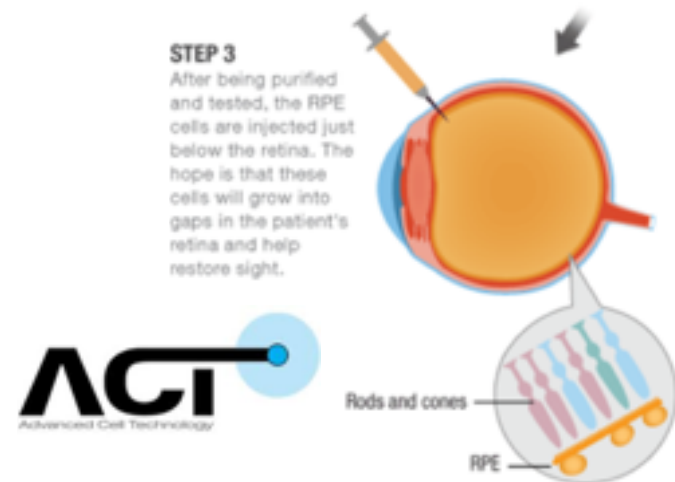
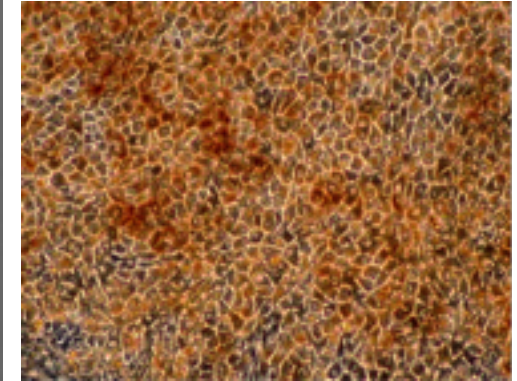


# Терапия возрастных и наследственных заболеваний глаза

Из эмбриональных стволовых (США, Англия) и из индуцированных плюрипотентных клеток получен пигментный эпителий, который трансплантировали пациентам

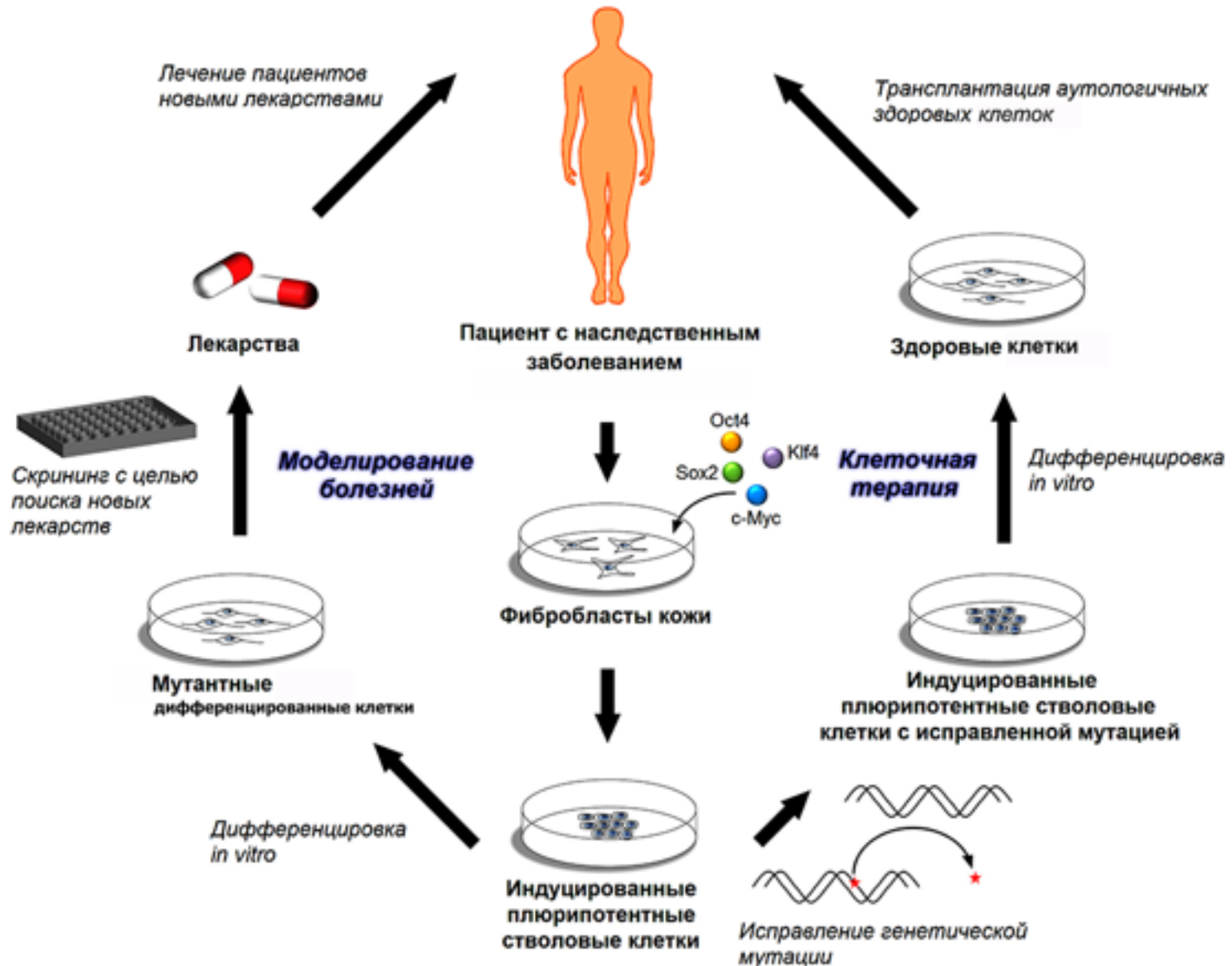


Пигментный эпителий сетчатки

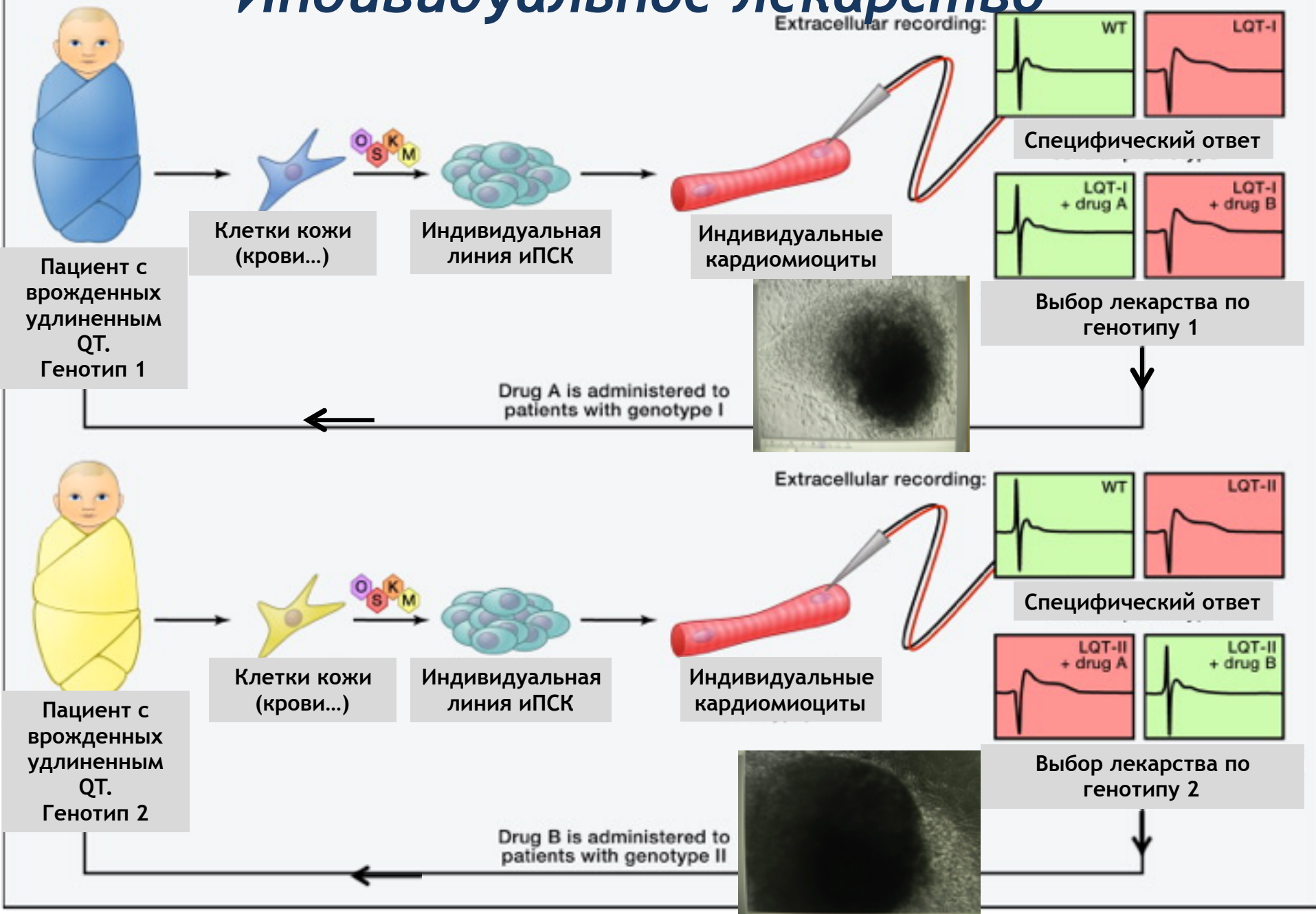


50 пациентов получили инъекции неродственных клеток сетчатки, полученных из ЭСК. По данным 3-х летнего наблюдения у 50% зрение улучшилось!

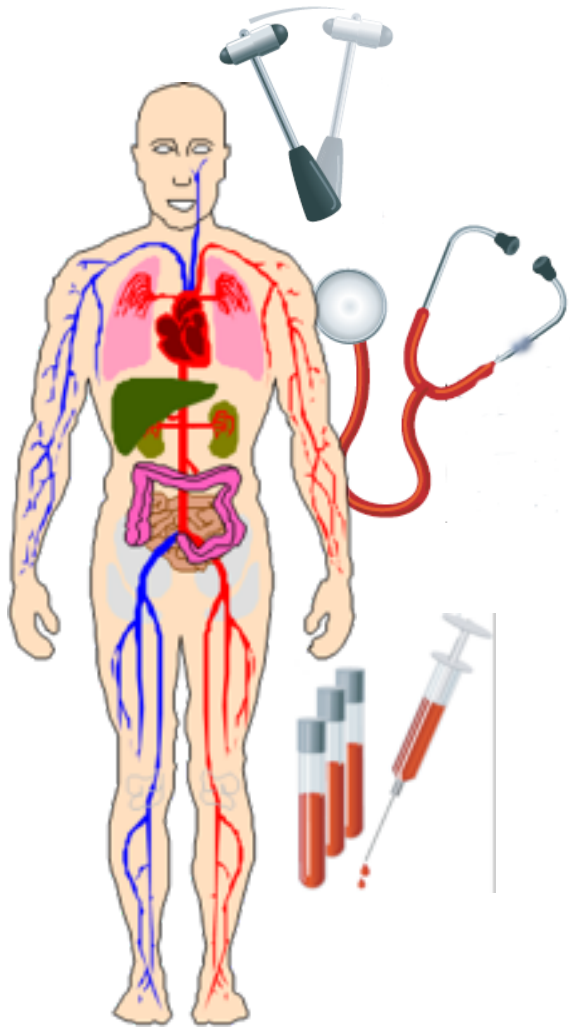
# Индивидуальное изучение болезни и персональное лекарство



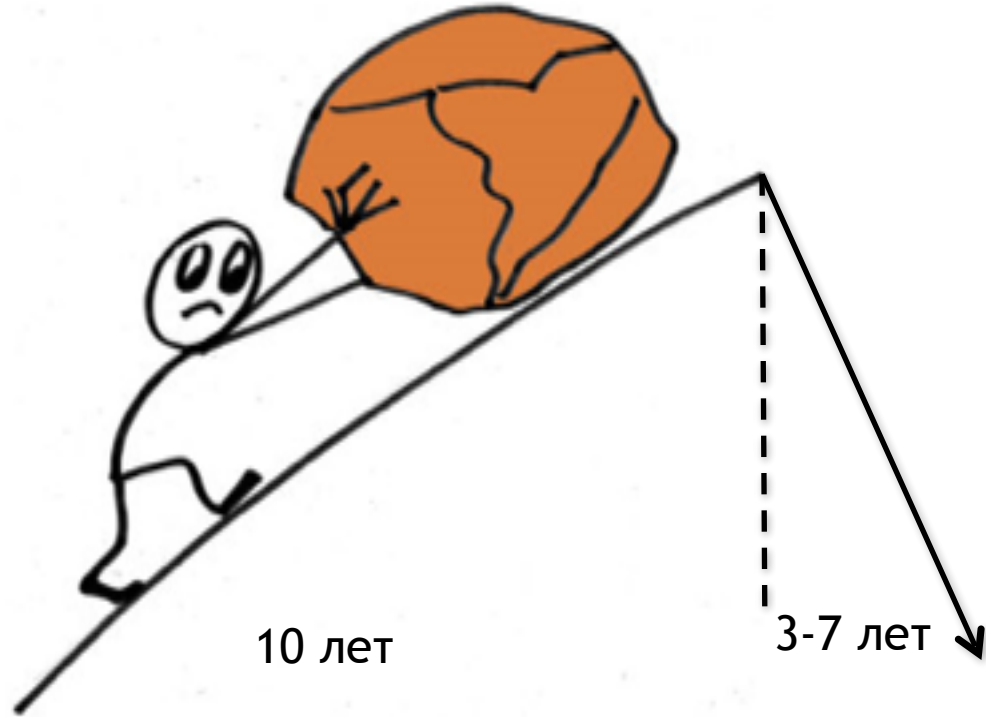
# Индивидуальное лекарство



# От болезни до таблетки



Поиск Доклиника Клиника



XX лет

2-5 лет

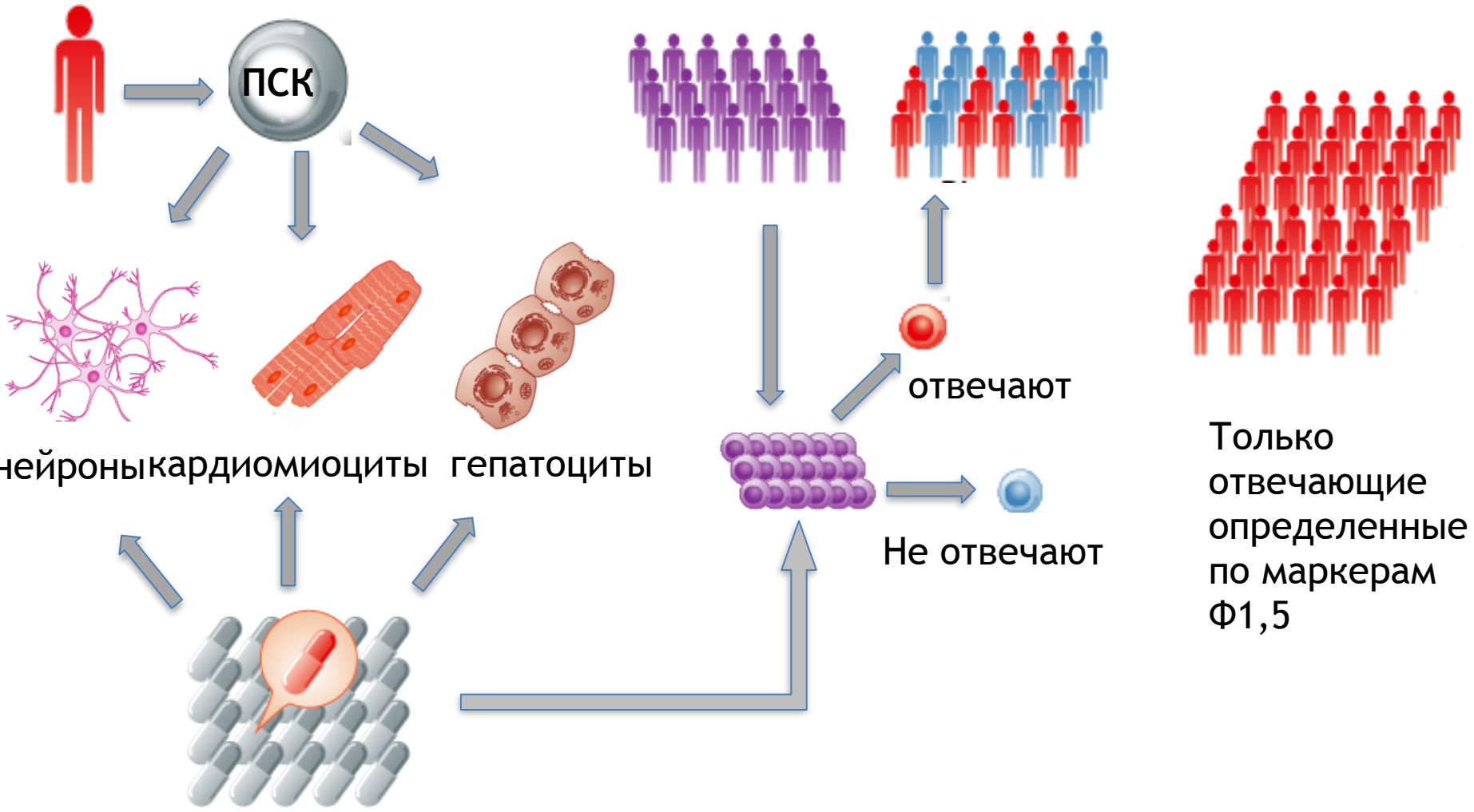
3-6 лет

# Технология генетического репрограммирования клеток и изменение парадигмы испытаний новых лекарств

Фаза  $\pm 0,5$

Фаза 1,5

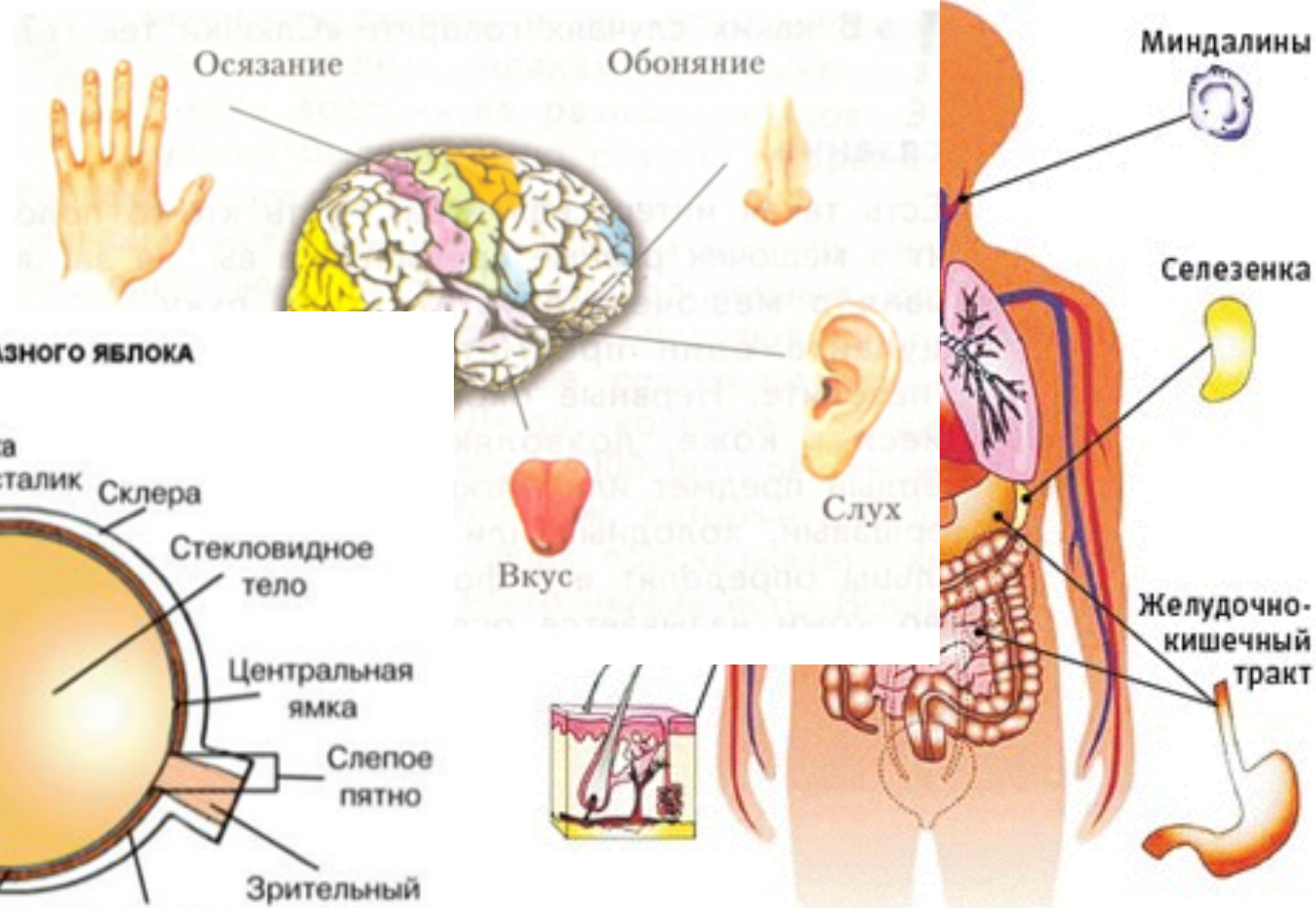
Фаза 2-3





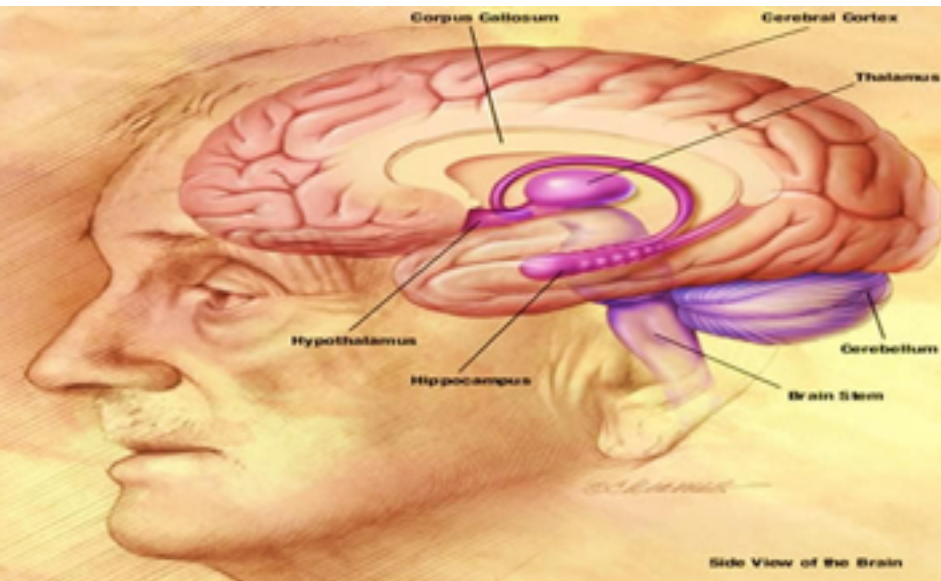
**Organoids: the next revolution in human biology has begun**

# Органы выполняют мало функций

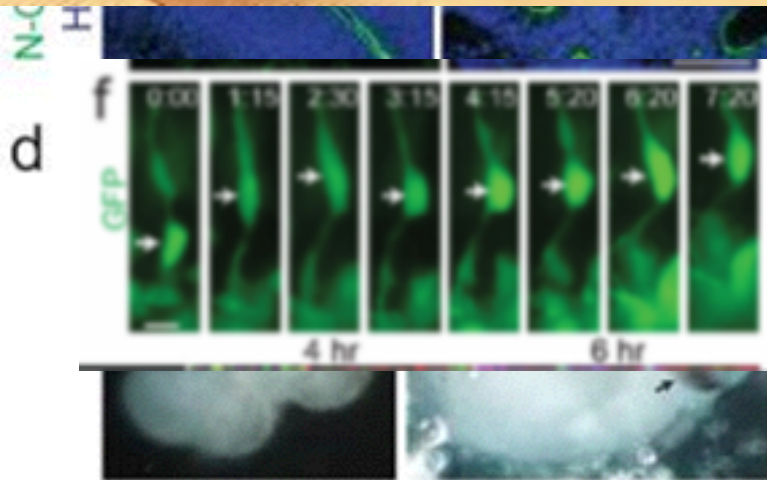
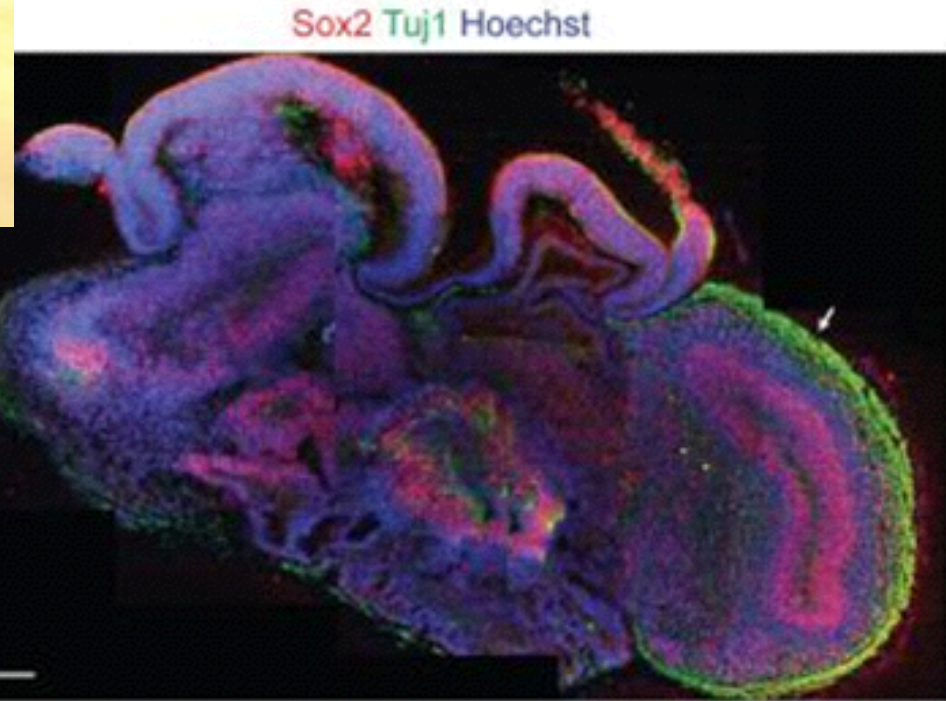




# Органод головного мозга человека

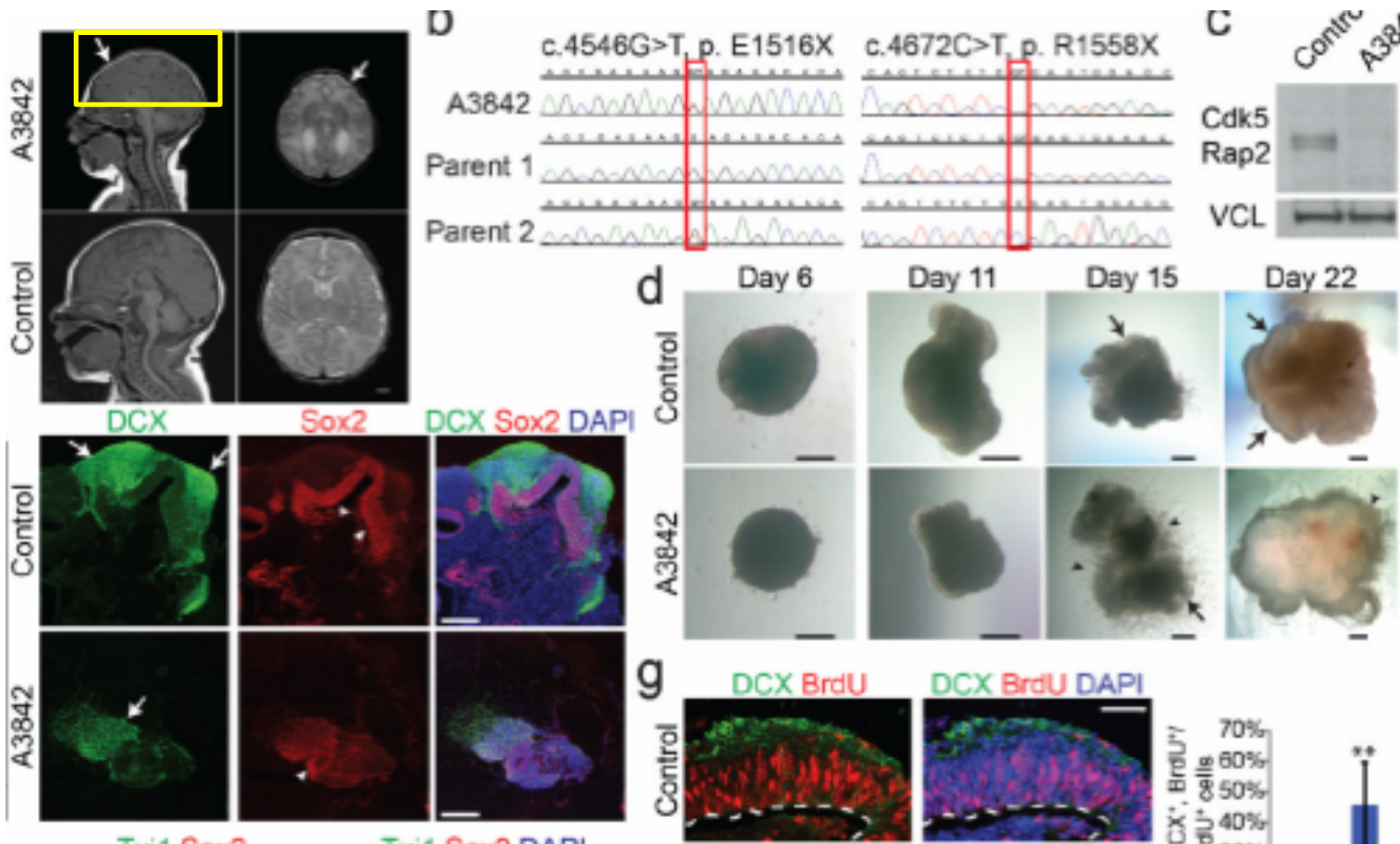


n media	Differentiation media	Differentiation media +RA
	Midline defect	Spina bifida



# И смоделировали заболевание- микроцефалию

А для доказательства, что именно из-за этой мутации, инактивировали ген А3842 в нормальных ИПСК и получили мутантный органоид



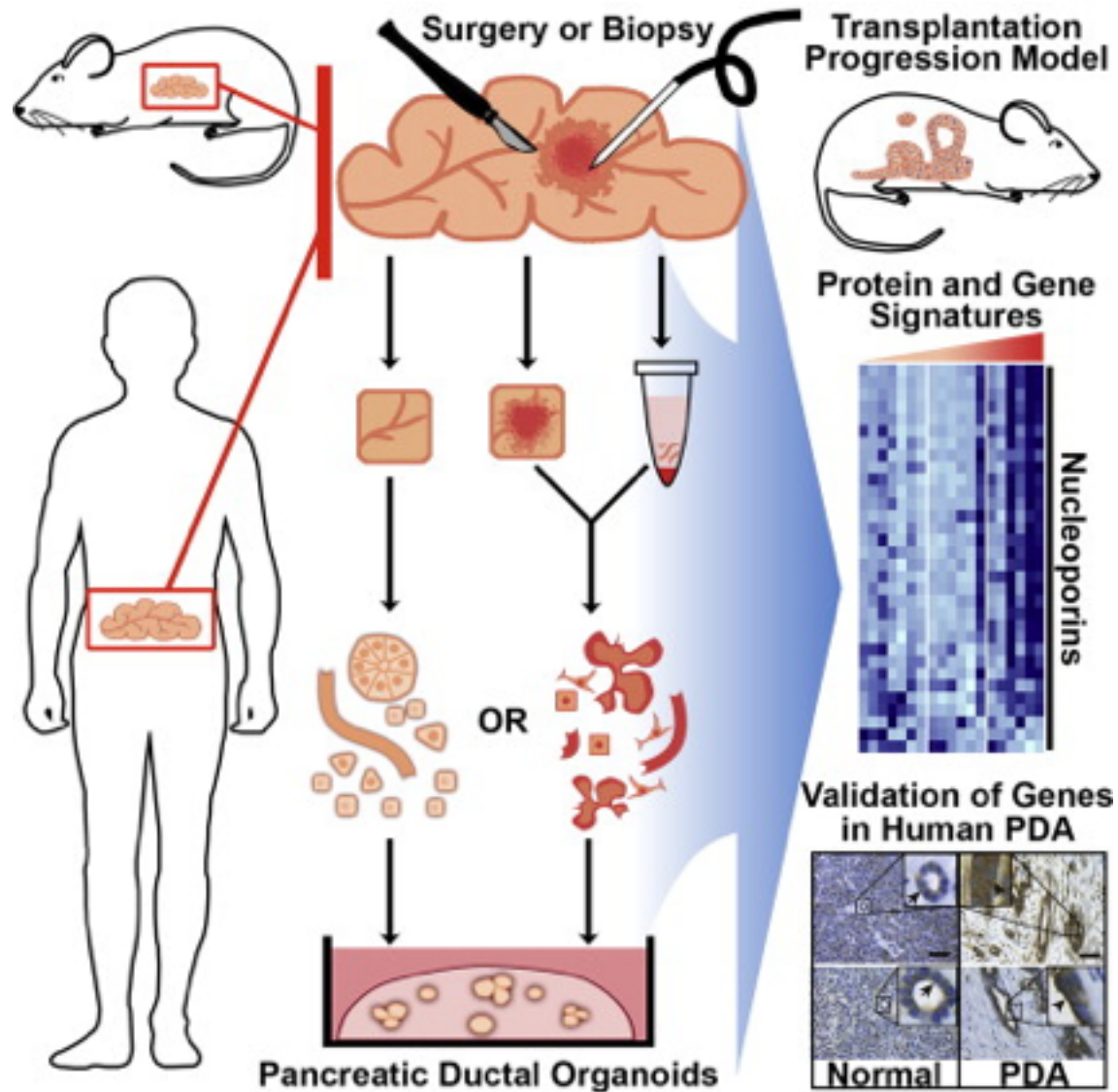
# *LGR-5 органоиды Ханса Клеверса*

Patient

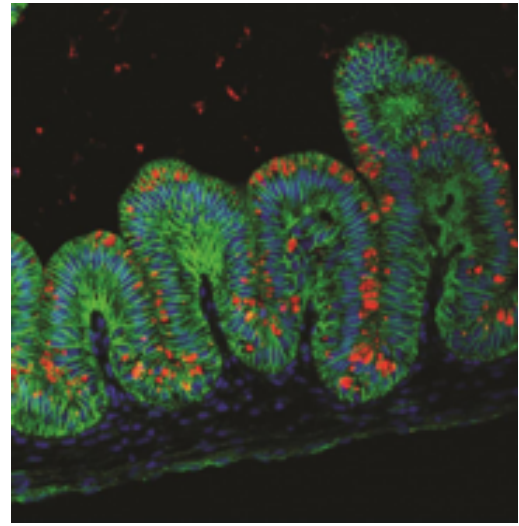
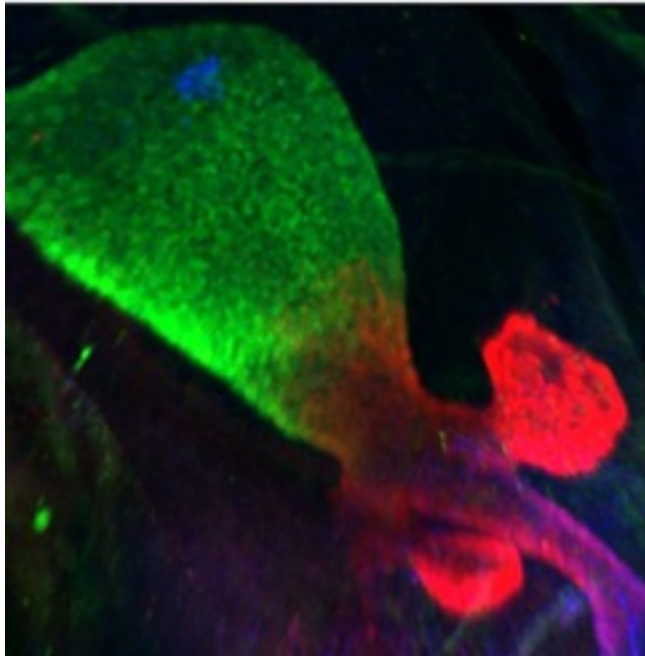
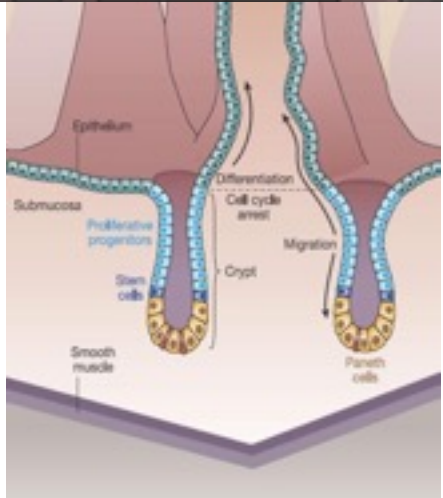
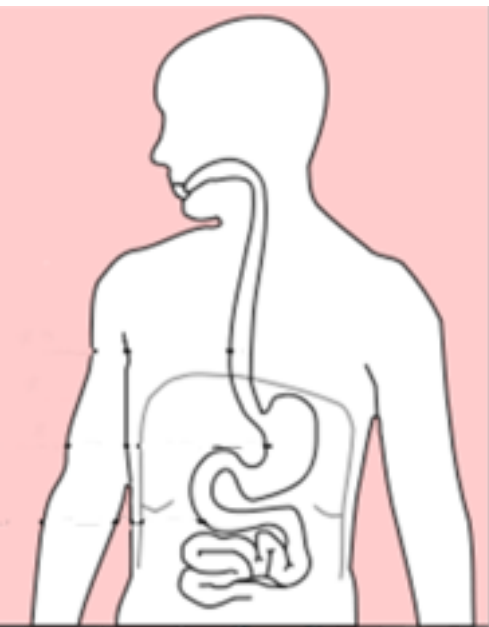


Создано в пробной версии программы "Экранная Камера"  
В полной версии этой надписи не будет. SCREENCAM.RU

# Органоиды для поиска мишеней противоопухолевой терапии



# Из стволовых клеток вырастили органоиды пищеварительного тракта человека, которые работали в мышах и болели в лаборатории



Органоид желудка

*H. pylori*

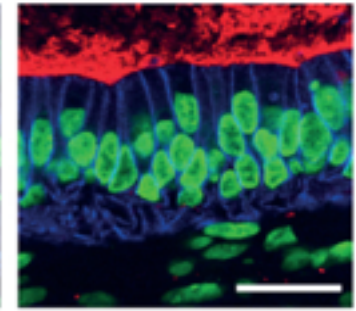
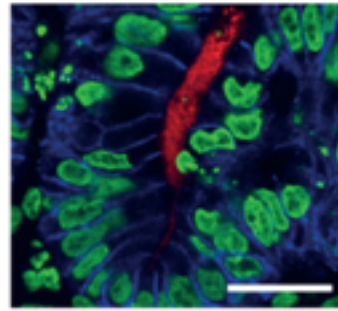
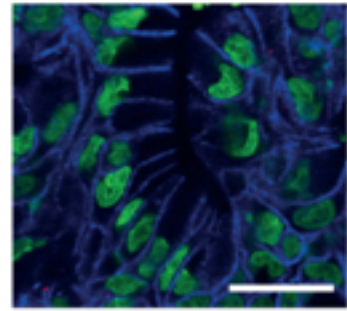
**b**

Control

G27

$\Delta$ CagA

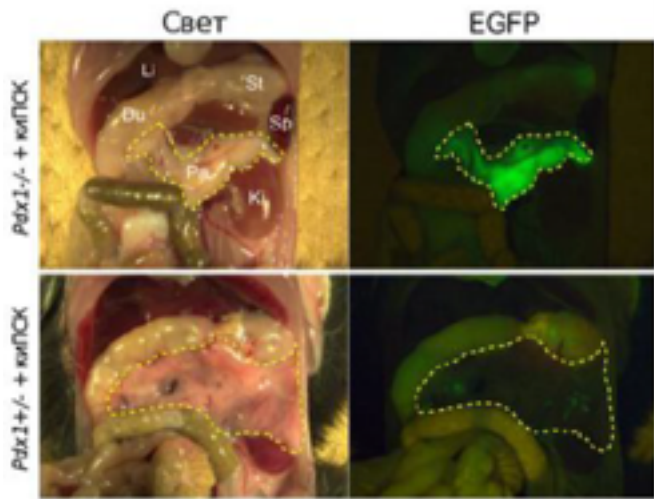
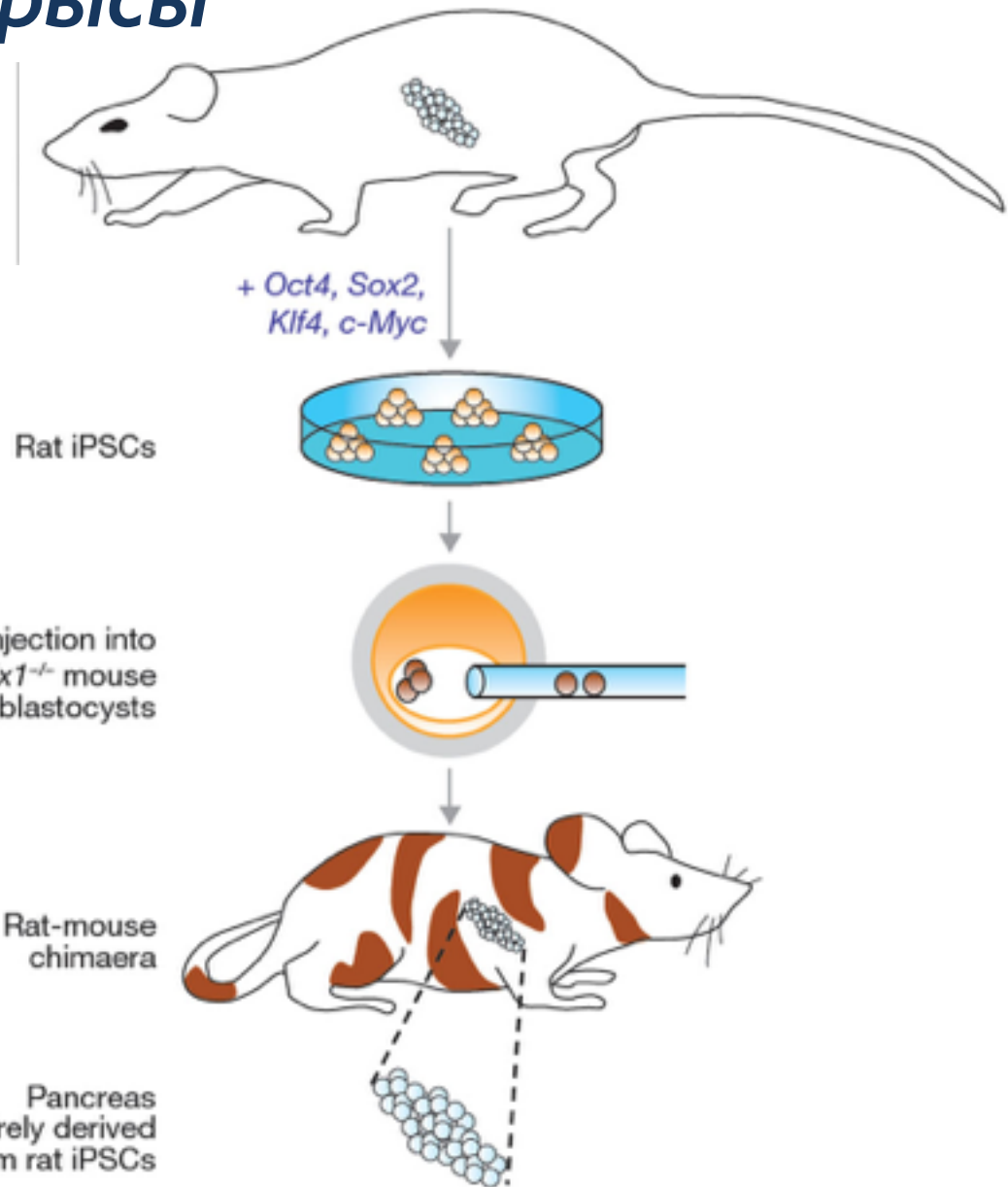
*H. pylori*  
DAPI CDH1



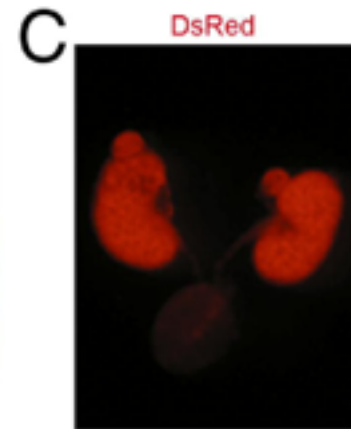
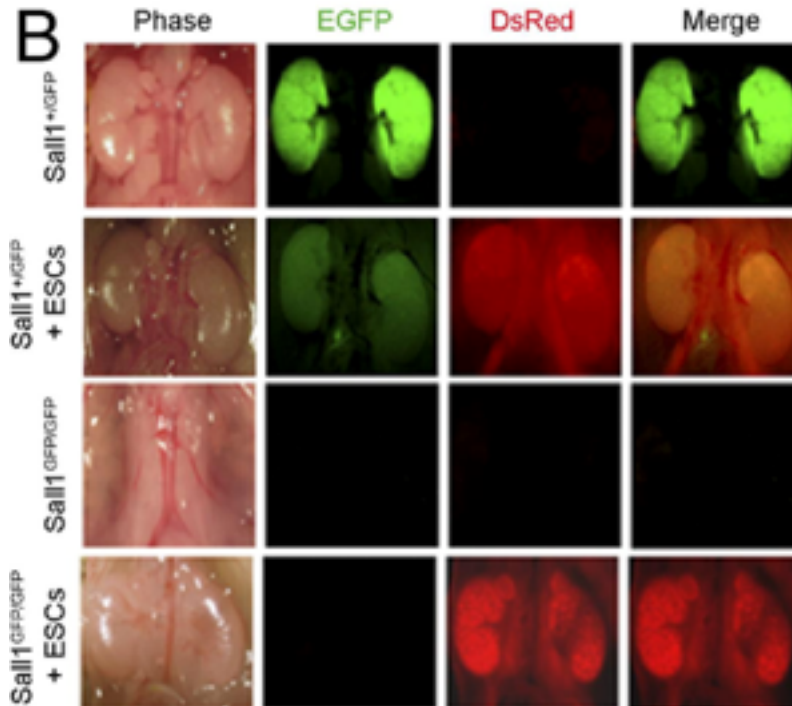
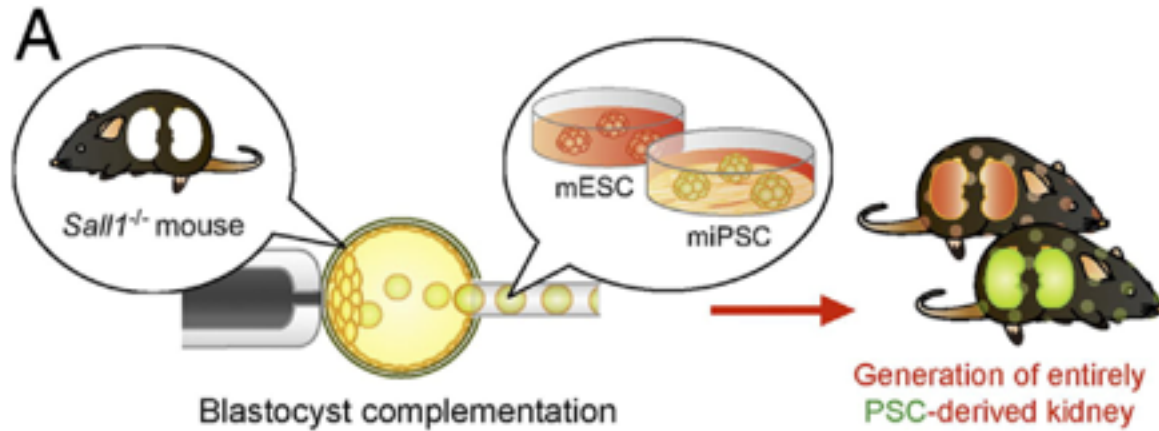
# Мыши с поджелудочной железой от... крысы

## Generation of Rat Pancreas in Mouse by Interspecific Blastocyst Injection of Pluripotent Stem Cells

Toshihiro Kobayashi,<sup>1,2</sup> Tomoyuki Yamaguchi,<sup>1,2</sup> Sanae Hamanaka,<sup>1,2</sup> Megumi Kato-Itoh,<sup>2,3</sup> Yuji Yamazaki,<sup>1,2</sup>  
Makoto Ibata,<sup>2</sup> Hideyuki Sato,<sup>1,2</sup> Youn-Su Lee,<sup>1,2</sup> Jo-ichi Usui,<sup>1,2</sup> A.S. Krivosy,<sup>3</sup> Masumi Hirabayashi,<sup>2,4</sup>  
and Hiromitsu Nakaguchi<sup>1,2\*</sup>



# Мыши с почкой ... от другой мыши



*Мы сегодня можем оценить (понять)  
только посредственную науку (идею)*



*действительно великую наука  
можно увидеть только в зеркале  
заднего вида*