

Össejtek, indukált össejtek

Dr. Pankotai Tibor, tudományos
főmunkatárs

BBTE, Haladó Genetika

Jelen tananyag a Szegei Tudományegyetemen
készült az Európai Unió támogatásával.

Projektazonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014

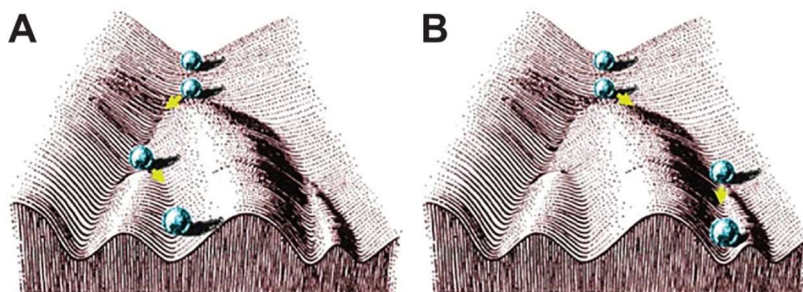
Olvasási idő: 45m perc.

Őssejtek, indukált őssejtek

1. A sejtek osztódási és differenciációs képességei.

Mitől őssejtek az őssejtek? A *Homo sapiens sapiens* is az „ősemberből” fejlődött, az ősembert tekintjük a mai modern emberek „előalakjának”, amiből több lépésen keresztül a mai humán populáció minden rasszával együtt kialakult. Az őssejt is ugyanilyen őznek tekinthető, hiszen egy eredőből származik az összes testi sejtünk. Az őssejteknek tehát az ősemberhez hasonlóan két nagyon fontos tulajdonsággal kell rendelkeznie, ezek a **differenciálódási**-, illetve a szaporodás, **önmegújítás** képességei.

A testünket felépítő sejtek különböző differenciációs tulajdonságokkal rendelkeznek. A korai embrió (morula) sejtjei **totipotensek**, azaz a belőlük származó sejtekből lesznek a majdani teljes organizmust felépítő és az extraembrionális – például placenta – szövetek egyaránt. Ezzel szemben néhány osztódással később a blasztociszta (hólyagsíra) ún. belső sejtömege (**Inner Cell Mass, ICM**) már **pluripotens**. A pluripotens sejtekből csak az embrionális szövetek fejlődnek, azaz minden olyan szövet, amely a 3 csíravonalból – endoderma, mezoderma és ektoderma – származtatható. Az ICM sejtek utód sejtjei már nem differenciálódhatnak szabadon bármivé, hanem **elkötelezettek** a 3 csíravonal sejtípusai létre hozására. Még tovább haladva az egyedfejlődés folyamatán jutunk el a **multipotens** sejtekig, amelyekből már csak egy leszármazási vonalhoz tartozó specializált szövetek erednek, tehát sokféle, de korlátozott számú sejtípusra képesek átalakulni. Ezek az ún. előalakok, vagy szöveti őssejtek, mint például a haemopoetikus őssejtek, amelyekből a vér alakos elemei differenciálódnak. Ezek a sejtek számos szövetben megtalálhatók – például csontvelő, zsírszövet, hajhagyma – és abból kinyerhetők, terápiásan felhasználhatók. A differenciációs plaszticitása a terminálisan differenciálódott, a speciális funkciókat ellátó szöveteket alkotó sejteknél már teljesen elvesznek. Hal **Waddington** az ún. **epigenetikai tájkép** modelljével a plaszticitás beszűkülését egy hegygel, a differenciálódó sejteket pedig golyókkal szemléltette (1. ábra). Minél szélesebb differenciációs potenciállal rendelkezik egy sejt, annál közelebb van a hegy csúcsához, ami a totipotens állapotot jelenti. A hegyen lefelé haladva megállók vannak, ahol a sejtek eldönthetik, hogy merre „gurulnak” tovább. A megállók stabil differenciálódási állapotokat jelentenek. A hegy völgyei a leszármazási útvonalakat jelenítik meg. Az egyes völgyek között, a gerincen



nincs átjárás, mint ahogy az egyes leszármazási útvonalakhoz tartozó szöveti őssejtekből sem

1. ábra: A Waddington féle epigenetikai tájkép.
(<http://jeb.biologists.org/content/218/6/816>)

alakulhat ki más vonalokhoz tartozó szövet, és a hegyoldal felé, tehát kevésbé differenciálódott állapotokba sem lehet visszajutni. Az őssejtek önmegújítási képessége abban rejlik, hogy osztódásuk során fenn tudják tartani differenciálatlan állapotukat. Statisztikusan igaz, hogy a keletkező utódsejtek egyike elkötelezetten marad, míg a másik differenciálódik. Ezt a mechanizmust **aszimmetrikus sejtosztódásnak** nevezzük.

2. A differenciáció mechanizmusa és újraprogramozás.

Sokáig úgy gondolták, hogy a sejtek differenciációja során a sejtek genetikai anyagot, kromoszómákat veszítenek, vagy kikapcsolják azokat a géneiket, amelyek működésére már nincs szükségük, azaz megváltozik a transzkripciós mintázatuk (lásd Waddington féle epigenetikai tájkép). Hiszen miért is tartaná fenn egy speciális sejt annak a lehetőségét, hogy egy más sejt típusra jellemző géneket kapcsolhasson vissza? Ez magában rejtené annak a veszélyét, hogy egyes gének nem megfelelően aktiválódnak.

Az 1960-as években Hadorn és Gehring *Drosophila melanogaster* modellorganizmussal végeztek sejt transzplantációs kísérleteket, amelyek során a lárvális imágó korongokból származó sejteket kifejlett állat potrohába helyezték át egymást követően több alkalommal. Az eredetileg a genitális struktúrák létrehozására determinált imaginális diszkusz sejtek ritkán ugyan, de „transzterminálódtak”, lábakká és a fejen található szervekké, esetleg szárnyá alakultak. Hasonló eredményre jutott Le Lievre és Le Douarin is, akik fürjek dúcléc sejtjeit transzplantálták csirkékbe. Az explantált dúcléc sejtek csonttá, porccá és kötőszövetekké alakultak, ami nem az eredeti madárembrióban való lokalizációjuktól függött, hanem hogy az átültetést követően milyen sejt környezetbe kerültek. A kísérleti elrendezés azt is lehetővé tette, hogy az eredeti embrionális sejtek sorsát kövessék, hiszen hisztológiailag eltértek a csirke sejtjeitől. Ezek az eredmények azt sugallták, hogy az embrió elkötelezett, stabil állapotú sejtjei tehát **plasztikusak** maradtak, hiszen sorsuk megváltozott, amikor egy, az eredetitől **eltérő extracelluláris mikrokörnyezetbe** kerültek.

A következő pontokban olyan kísérleti megközelítéseket tekintünk át, amelyek a sejtmagok újra programozásán keresztül a sejtek plasztikusságának megismeréséhez vezettek.

2.1. Sejtmag transzfer.

Az eljárást hétköznapi néven klónozásnak hívjuk. Definíció szerint a klónozás során egy differenciált szomatikus sejtből (**donor**) sejtmagját transzplantálják egy sejtmag nélküli petesejtbe (**recipiens**). Ebből a petesejtből pedig a sejtmagot szolgáltató testi sejtrel genetikailag megegyező utód, azaz klón fejlődik.

Az első klónozási próbálkozások az 1950-es években Briggs és King nevéhez fűződtek, akik Északi leopárdbéka (*Rana pipiens*) ebihalakat klónoztak korai blasztocisztából származó sejtmagok enukleált (sejtmag nélküli) oocitákba való bejuttatásával. Az eredményt nem sikerült differenciált szövetekből származó sejtmagokkal reprodukálni. Úgy gondolták, hogy a sejtek plaszticitásának elvesztése áll a sikertelenség hátterében. Az 1960-as években Gurdon Afrikai karmosbéka (*Xenopus laevis*) belsejtől származó sejtmagokat ültetett UV fényel enukleált petesejtbe, amelyekből ebihalak és kifejlett békák is kifejlődtek. Gurdon kísérletei bizonyították, hogy a sejtek specializációja **nem jár irreverzibilis genetikai**

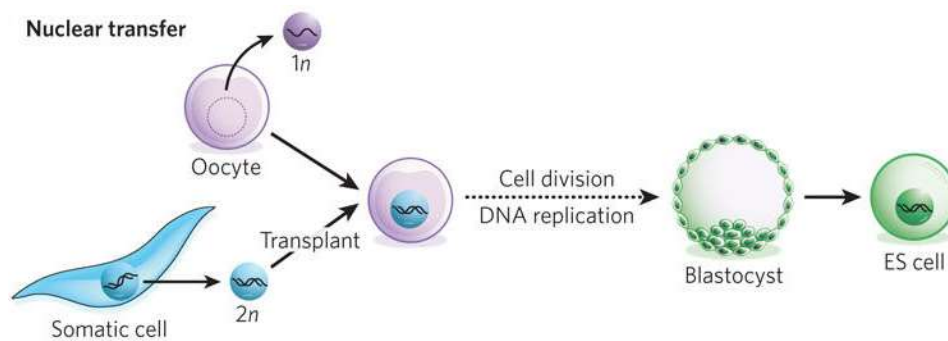
változásokkal, hiszen differenciált testi sejtek sejtmagjai minden olyan gént tartalmaznak, ami egy egész élőlény kifejlődéséhez szükségesek. Mi több, egy ilyen sejtmag aktiválható olyan **újraprogramozó faktorokkal**, amelyek a petesejtben jelen vannak. Tehát sejt differenciáció során nem a gén összetétel, hanem **gén expresszió változás** következik be, így maga a folyamat teljesen visszafordítható. Gurdon eredményei azonban nemcsak figyelmet és izgatottságot váltottak ki a tudóstársadalomból, hanem kritikákat is megfogalmaztak. Sokan úgy gondolták, hogy a klónok kontamináló, szöveti őssejtekből fejlődhetnek ki, amelyek nem terminálisan differenciáltak, hanem elkötelezettek. Ezt a nézetet erősítette az is, hogy más fajokkal nem tudták reprodukálni ezeket az eredményeket. 30 évig nem sikerült ezt az akadályt leküzdeni.

Az 1980-as években McGrath és Solter egerekkel kísérletezett. Sikerült klónokat előállítani zigótából származó sejtmagok enukleált zigotikus sejtekbe való juttatásával. Mivel azonban a donor sejtmag nem specializált szomatikus sejtől származott és a recipiens sem oocita volt ezeket az utódokat nem tekinthetjük definíció szerint klónoknak.

Az első igazi klónozott emlős 1997-ben született meg. Dollyt, a birkát, egy emlőhámsejt és egy nukleusz nélküli, nem fertilizált petesejt fúziójával hozták létre Wilmot és munkatársai. A fúziót ún. **fuzogén elektromos impulzussal** váltották ki. A stratégiájuk abban állt, hogy a klónozni kívánt sejteket szérum megvonással kiléptették a sejtciklusból G_0 fázisba. Úgy gondolták, hogy ez a lépés a kromatin szerkezet megváltozását okozhatja, ami elősegíti a sejtmag újraprogramozását. Egy évvel később Wakayama és munkatársai kifejlesztettek egy speciális enukleációs pipettát, amely ún. piezoelektromos impulzust is leadott. Ennek alkalmazásával sikeresen enukleáltak a birkáénál jóval törékenyebb egér petesejteket, ami a klónozás sikerességének kulcsa volt. Az eljárást, amit **szomatikus-sejt sejtmag transzfernek** (somatic-cell nuclear transfer, **SCNT**) nevezték el, és számos laboratóriumban sikerrel alkalmazták.

Azt a jogos kétséget, miszerint a sejtmagok újraprogramozódása mégiscsak kontamináló szöveti őssejtek, vagy stem sejtek miatt következik be Jaenisch és kollégái oszlatták el 2002-ben. Egereket klónoztak immunglobulin lokusz átrendeződésen átesett B limfocitákból. A donor sejtekben tehát ténylegesen végbement genetikai átrendeződés, ami mégsem akadályozta meg a teljes újraprogramozódást, tehát bármennyire specializált egy sejt, abban minden genetikai információ jelen van, ami egy teljes élőlény kifejlődéséhez szükséges.

Az SCNT nemcsak oocitákkal, hanem fertilizált petesejtekkel is sikeresen végrehajtható, ami azt bizonyítja, hogy az újraprogramozáshoz szükséges faktorok az egyedfejlődés ezen stádiumában, a fertilizációt követően, még mindig jelen vannak. Meg kell jegyezni, hogy a sejtmag transzfer egyik kísérleti eljárása során sem az intakt sejtmagot távolítják el a recipiens sejtekből. Valójában a kondenzált kromoszómák és mitotikus orsók komplexét vonják ki a meiotikus petesejtekből, vagy metafázisos zigotikus sejtekből, hiszen a sejtciklus ezen fázisaiban a sejtmag hártya már lebomlott. Így a normálisan a sejtmagban lokalizálódó újraprogramozó faktorok a citoplazmába kerülnek és a donor sejtmagot képesek aktiválni. Emlősök klónozásakor ugyanakkor a sejtmag recipiens sejtbe való injektálása csak a kezdet. A klón első sejtje belép az egyedfejlődési programba azzal, hogy osztódni kezd. Amikor eljut a blasztociszta állapotig, akkor implantálják **ál vemhes nőstényekbe** („béranya”), ahol az klón teljes kifejlődése megtörténhet (2.ábra).



2. ábra: A sejtmag transzfer folyamata.
(Yamanaka S, Blau HM. Nat (2010) 465:704-712.)

A klónozás hatásfoka általában nagyon alacsony, kevesebb, mint 1%. A klónozás hatásfoka nagyban növelhető – akár 20%-ra is egerek esetében – ha a szomatikus sejtmagot nem közvetlenül klónozzák, hanem ún. embrionális stem sejt (ES) állapotokon keresztül. Ilyenkor **nt-ES** sejteket (nuclear-transfer derived ES cells) hoznak létre, tehát a klón fejlődése során kialakuló blasztocisztákból izolálnak ES sejteket és újra sejtenyészetként növesztjük. Ezt több alkalommal is elvégzik, így vélhetőleg a differenciált sejtekre jellemző epigenetikai jellegek, amelyek azok génkifejeződési mintázatát fenntartják nagyobb hatékonysággal tűnnek el (**epigenetikai memória törlődése**), ami pedig a teljes sejtmagi újraprogramozódás alapfeltétele.

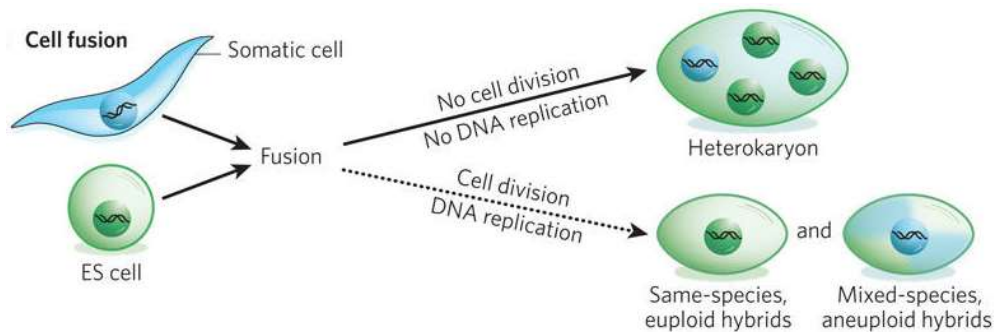
A klón és donor közti genetikai identikusság mennyire teljes? A válasz 100% a sejtmagi genom tekintetében. A klónok gyakran szenvednek súlyos tünetektől, mint például immunológiai problémák, túlsúly, gén expressziós és telomer zavarok, tumorok, rövid élettartam, ennek több oka is lehetséges. A donor sejtmag genomjában fellelhető összes szomatikus mutáció jelen lesz a klón összes sejtjében, hiszen az eljárás során lényegében csírasejt mutációkká válnak. A genetikai instabilitás pedig arra vezethető vissza, hogy a testi sejtek kromoszómáinak végei, a telomerek, a sejtosztódások során rövidülnek, így a klón az egyedfejlődését rövidebb telomer hosszal kezdi meg. A telomerek hossza egy határon túl nem rövidülhet normális esetben tovább, de a tumor sejteknél például ez nem gátja a sejtosztódásnak. A klónok mitokondriális genomja azonban nem egyezik meg a donoréval, hiszen a mitokondriumok anyai öröklődést mutatnak. Így a klónok mitokondriumai nem a donor, hanem a recipiens sejtől származnak. A genetikai egyezés tehát szigorúan a nukleáris genomra korlátozódik.

SCNT-vel nemcsak egereket és birkákat klónoztak, hanem házasított állatokat – például lovakat, kutyákat – azok hibridjeit (öszvér), illetve afrikai nagymacskákat és farkasokat is, sőt próbáltak kihalt félében levő fajokat is (Pireneusi kőszáli kecske). Ezek a példák mind ún. **reprodukciós klónozások**. Az SCNT eljárást sikeresen alkalmazták fagyasztott szövetekből származó donor sejtekkel is. Utóbbiak alkalmazása terápiás alkalmazásokban ígéretes lehetne (**terápiás klónozás**). Megjegyzendő, hogy a klónozás kapcsán számos etikai probléma merült és merül fel. Például, hogy a klónozott embriókból kinyert, genetikailag azonos embrionális őssejtek ugyan hasznosak lehetnek terápiás célból, de etikus-e szövetpótlás céljából embriókat létrehozni? 2003-ban az ENSZ határozatot hozott a klónozásról, miszerint a humán klónozás

minden olyan formája tilos, ami nem összeegyeztethető az emberi méltósággal és az emberi élet védelmével.

2.2. Sejtfúzió.

A sejtfúzió során két, vagy több típusú sejt összeolvadásával egy új, egyedi entitás keletkezik, amelyeken jól tanulmányozható **egy genom és citoplazma másik genomra gyakorolt hatása**. Az 1960-as években a transz-hatású represszorokat és tumor

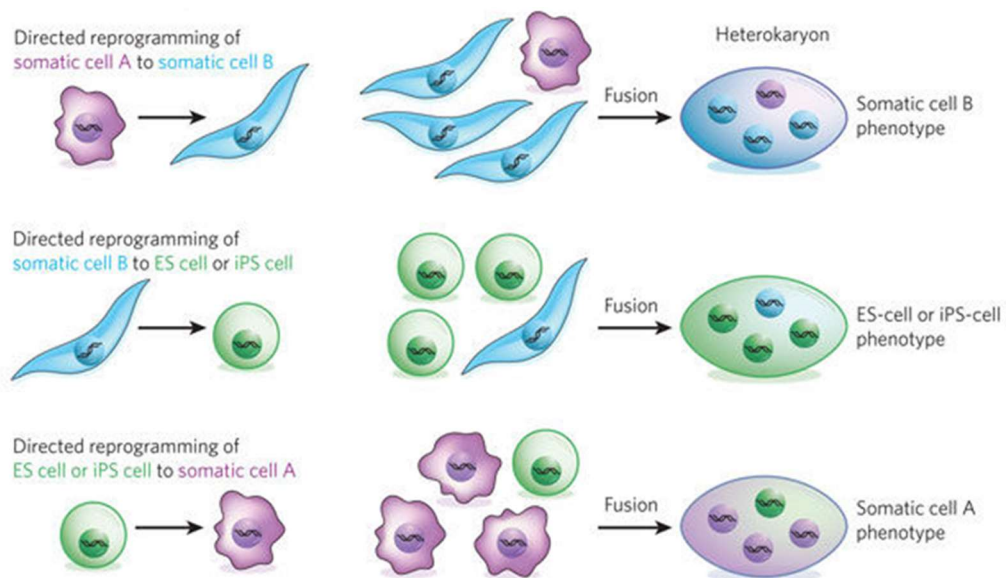


3. ábra: A sejtfúzió.
(Yamanaka S, Blau HM. Nat (2010) 465:704-712.)

szuppresszorokat is sejtfúziós kísérletekben azonosították. Egy évtizeddel később hasonló tanulmányok szolgáltatták az első bizonyítékot arra, hogy az emlős szomatikus sejtek differenciált állapota nem fixált és irreverzibilis, sokkal inkább **regulátorok közti egyensúly** irányítja és fenntartása **folyamatos regulációt** kíván. A sejtfúzió során ún. **hibridek** és **heterokarionok** keletkeznek. A hibridek képesek osztódni, mivel az eredeti sejtek sejtmagjai keletkezésük során összeolvadnak. Ezzel szemben a heterokarionok nem osztódnak és több, különböző sejtmagot tartalmaznak (3. ábra).

Az 1970-es években egér fibroblasztot fuzionáltattak hörcsög melanocitával, vagy patkány hepatocitával. A kísérlet eredményeképpen az egér fibroblasztból származó sejtmagban újra aktiválódnak az egyébként melanocitákra, illetve hepatocitákra jellemző melanin és tirozin-aminoxidáz gének. Tehát a gének kifejeződését nemcsak cisz-hatású DNS elemek, de transz-hatású represszorok is befolyásolták. Néhány évvel később ugyancsak hibridek előállításával fedezték fel a transz-hatású tumor szuppresszor fehérjét. Néhány esetben, amikor nem tumoros- és tumoros sejteket fuzionáltattak, a „normál állapot” domináns volt a transzformált állapottal szemben és a hibridekből nem alakult ki tumor. Kimutatták, hogy ez nem onkogén vesztés eredményeként következett be, mert sokáig kultúrában tartva ezek a hibrideket újra transzformálttá váltak (sok sejtosztódáson estek át). Mindazonáltal a hibridek tanulmányozása nehézkes, mivel szelektálni kell őket a fúziót követően, amihez elengedhetetlen, hogy osztódjanak, kolóniákat képezzenek egy kultúrában. Ehhez a fúziós partnerek sejtmagjának össze kell olvadnia, ami kromoszómavesztéshez és –átrendeződésekhez, az osztódások során pedig aneuploidiahoz vezetnek abban az esetben, ha több fajból származtak a kiindulási sejtek.

1983-ban mutatták ki ténylegesen először, hogy a korábban inaktiválódott gének újra aktiválhatóak emlős sejtekben. Blau és társai rövid életidejű, nem-osztódó, sok sejttagos heterokarionokat állítottak elő. Posztmitotikus, sok sejttagos egér izomsejteket és humán fibroblast sejteket használtak és azt tapasztalták, hogy a heterokarionban emberi izomra jellemző gének aktiválódtak. Ez bizonyította, hogy a sejtek differenciált állapota nem fixált és visszafordíthatatlan, hanem a géneket az adott sejtben megtalálható **szabályozó faktorok dinamius egyensúlya állandó szabályzás** alatt tartja. A heterokarionok alkalmazása több szempontból is előnyösnek bizonyult, hiszen a sejttagok intaktak maradtak, így még ha különböző fajokból származó sejteket fuzionáltattak sem alakult ki aneuploidia és egyéb kromoszómális problémák. Ugyanezen okból **sejtmag specifikus folyamatok** megfigyelését is lehetővé tették, azaz az egyes faj specifikus transzkripteket és a sejttag újraprogramozódását könnyen lehetett követni. Az újraprogramozódás irányát – a heterokarion fenotípusát – a **sejtmagok relatív aránya**, a **géndózis** határozza meg (4. ábra). A heterokarion azon sejtípus fenotípusát veszi fel, amely sejttagjai nagyobb számban voltak a fúzió során reprezentálva.



Sejt fúziós eljárással természetesen a pluripotencia kiváltását és az azt fenntartó

4. ábra: A heterokarionok fenotípusát a géndózis határozza meg.
(Yamanaka S, Blau HM. Nat (2010) 465:704-712.)

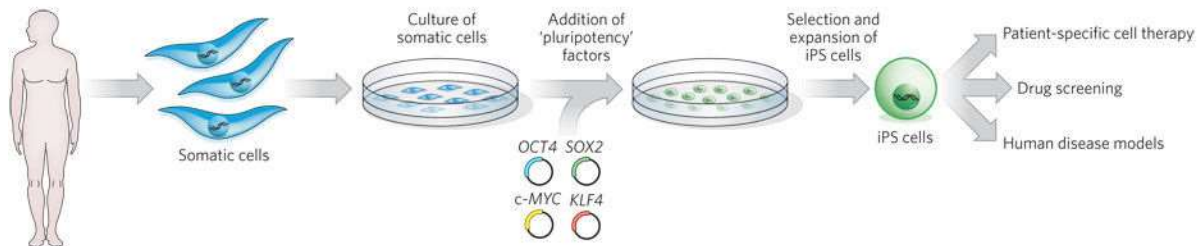
mechanizmusokat is lehetett tanulmányozni. Tada, Surani és munkatársai osztódó hibridekben figyelték meg szomatikus sejtek sejttagi újraprogramozását, úgy, hogy hím nemű ES sejteket fuzionáltak nőnemű felnőtt egerekből származó tímusz sejtekkel. Mivel a sejtek azonos fajból származtak, az aneuploidia kialakulását kiküszöbölhették. A tímusz sejtek újraprogramozódását ES sejtekké egy riporter gén követésével oldották meg. A riporter konstrukcióban a GFP kódoló szekvenciája egy csak pluripotens sejtekben kifejeződő transzkripciós faktor (Oct4) promóterének szabályzása alatt állt, ezáltal ha a tímusz sejtek ES

jelleget vettek fel a GFP fluoreszcens jelet képesek voltak detektálni. A hímek inkív X kromoszómáján található gének promóter régióinak vizsgálatával azt is kimutatták, hogy az újraprogramozott genomban a H3 és H4 hisztonok hiperacetilálódtak, míg a H3 hisztonok 4-es számú lizinjei globálisan hiper-di- és -tri-metilálttá váltak. Mivel ezek epigenetikai markerek, változásuk azt jelezte, hogy nemcsak egyedi gének kifejeződése változott meg, hanem az egész **epigenom** pluripotens állapotba konvertálódott. Ezzel a megközelítéssel más **pluripotens állapothoz köthető transzkripciós faktort**, például Nanog, is azonosítottak transzkriptomikai (sejtmagban indukálódó ill. represszálódó gének), kromatin (kromatin szerkezetben bekövetkező változások) és mutációs (gének szerepe a pluripotencia kialakításához) analízisekkel.

2.3. Transzkripciós faktor transzdukció.

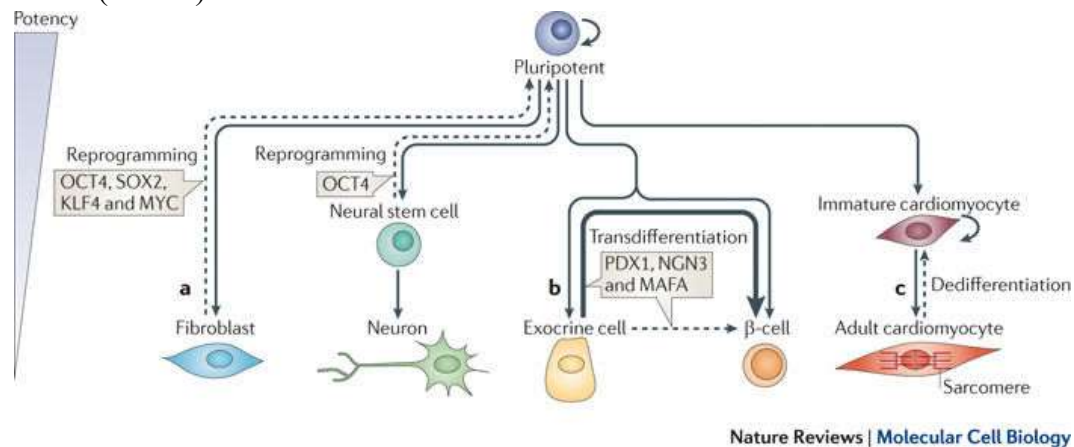
1987-ben Gehring és kollegái Drosophilából származó eredményei megmutatták, hogy egy szövet specifikus transzkripciós faktor mesterséges expressziója képes egy sejt sorsát megváltoztatni. Az *Antennapedia* gént, ami normálisan a lábak kifejlődéséért felelős, **ektopikusan kifejezve** olyan állatok fejlődtek ki, amelyek fején, a csáp helyén lábak voltak. A sejtfúziós kísérletek eredményi bebizonyították, hogy az ES és korai embrionális sejtek tartalmaznak olyan faktorokat, amelyek újraprogramozást és pluripotenciát képesek kiváltani szomatikus sejtekben (Tada és Surani kísérlete, lásd fent). Számosan próbálkoztak sikertelenül az ES állapot **mester regulátorainak** azonosítására. Úgy gondolták, hogy a pluripotens állapotba való újraprogramozás egy rendkívül komplex folyamat, ami közel 100 faktor együttműködésével valósul meg. Yamanaka és munkatársai azonban kimutatták, hogy mindössze **négy transzkripciós faktor kombinációja** elégséges ahhoz, hogy egér fibroblasztokból ES-re hasonlító, pluripotens sejteket hozzanak létre. Retrovirális vektorokat alkalmazva egy kisebb, 24 gént expresszáló mini DNS könyvtárat hoztak létre és juttattak be differenciált sejtekbe, ahol ezek a faktorok szimultán termelődtek. Ezek a gének ES sejtekben kifejeződnek és előzetes tanulmányok alapján, együttesen képesek voltak pluripotenciát kiváltani. A pluripotens állapotot egy olyan riporter segítségével állapították meg, amely az *Fbx15* gén promoterének kontrollja alatti neomycin rezisztencia gént tartalmazott. Azok a sejtek, amelyekben az *Fbx15* promotere aktiválódott neomycin rezisztens kolóniákat hoztak létre, amelyek morfológiája, növekedési sajátosságai és gén expressziós mintázata az ES sejtekével megegyezett. Sőt, ezek a sejtek egérbe injektálva **teratómákat** – olyan daganatok, amely mindhárom csírasejtből származó sejteket tartalmaznak – képeztek, ami a kiindulási sejtek pluripotens jellegét igazolta. A faktorokat a kísérleti rendszerből sorozatosan eliminálva azonosították az újraprogramozáshoz minimálisan szüksége kulcsfaktorokat, ezek az **OCT4, SOX2, KLF4** és a **c-MYC** voltak. Az ezek alkalmazásával létrehozott sejteket **indukált pluripotens sejteknek** (inuced pluripotent cells, **iPS**) nevezzük (5.ábra). Későbbi kísérletekben más, részben átfedő faktorokkal is sikerült indukált pluripotenciát kiváltani, a c-MY és Klf4 helyett a **Nanog** és **Lin28** alkalmazásával. A négy faktort kódoló transz géneknek csak az iPS sejtek létrehozásához szükségesek. Amikor a sejtek pluripotenssé válnak a retrovirális transz gének inaktívvá válnak és a négy faktort kódoló, a genomban levő, **endogén gének** aktiválódnak. Az iPS sejtek pluripotenciáját tehát nem kell mesterséges, szelekciós eszközökkel

fenntartani, mivel az **önfenntartó**vá válik a sejtek gyakorlatilag teljesen újraprogramozódnak. Mivel a retrovírusok a genomba integrálódnak ezzel tumor képződést válthatnak ki az iPS sejtek létre hozásához módszereket is alkalmaznak, például nem-integráló - , kivágódó vektorokat is alkalmaznak.



5. ábra: Az iPS sejtek létrehozásának folyamata.
(Yamanaka S, Blau HM. Nat (2010) 465:704-712.)

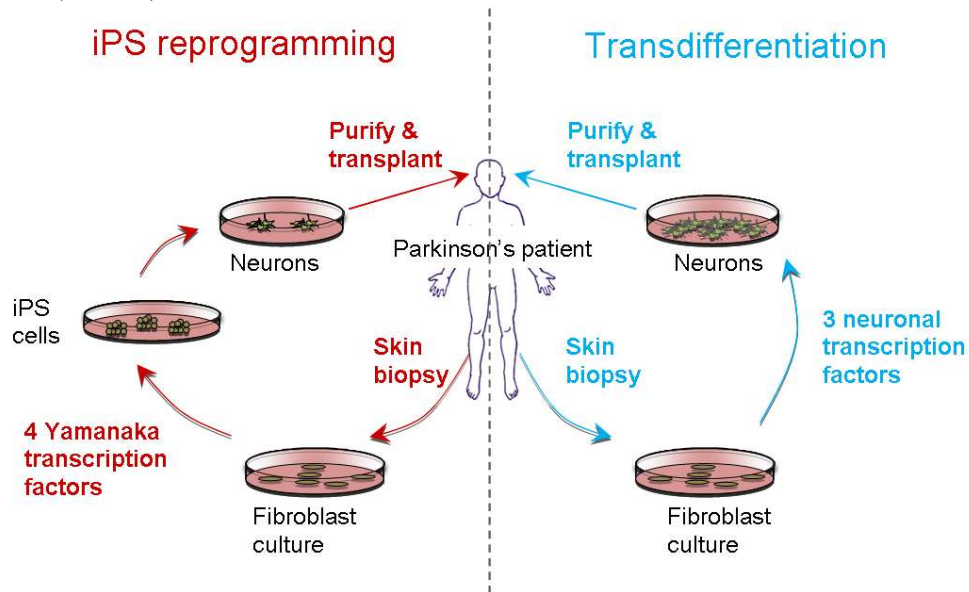
Transzkripciós faktor transdukciónal azonban nemcsak újraprogramozást lehet kiváltani. A megfelelő faktorok alkalmazásával transzdifferenciált és dedifferenciált sejtek is létrehozhatók. A **transzdifferenciáció** során egyféle differenciált sejtől más leszármazási vonalba tartozó sejt keletkezik, például egy exokrin sejtől β -sejt lesz. **Dedifferenciáció** akkor következik be, ha egy terminálisan differenciálódott sejt visszaalakul egy azonos leszármazási útvonalon belüli, korábbi állapotba, például érett kardiomiocitákból éretlen kardiomiociták jönnek létre (6. ábra).



6. ábra: Újraprogramozás, transzdifferenciáció és dedifferenciáció.
(Jopling C, Boue S, Belmonte JCI. Nat Rev Mol Cell Biol (2011) 12:79-89.)

Az indukált őssejtekből differenciált és növesztett szövetek terápiásan alkalmazhatók, mivel a donor szervezettel immunológiailag kompatibilisek, ám annak genetikai rendellenességeit is hordozni fogják. Őssejt terápiában felhasználható sejtek is előállíthatóak iPS újraprogramozással, vagy transzdifferenciációval is. A pluripotens sejtek veszélyt is rejtenek

magukban, mivel nem teljes differenciálódás esetén a transzplantáció után teratómákat képezhetnek (7. ábra).



7. ábra: Az iPS újraprogramozás és transzdifferentiáció alkalmazása összejt terápiában.

(<http://www.eurostemcell.org/cell-replacement-therapies-ips-technology-or-transdifferentiation>, Thomas Graf)