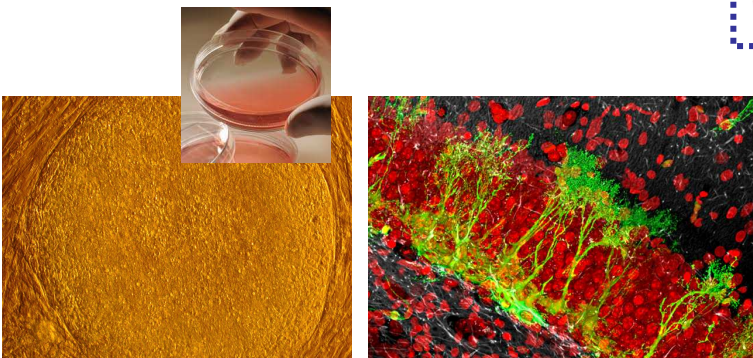
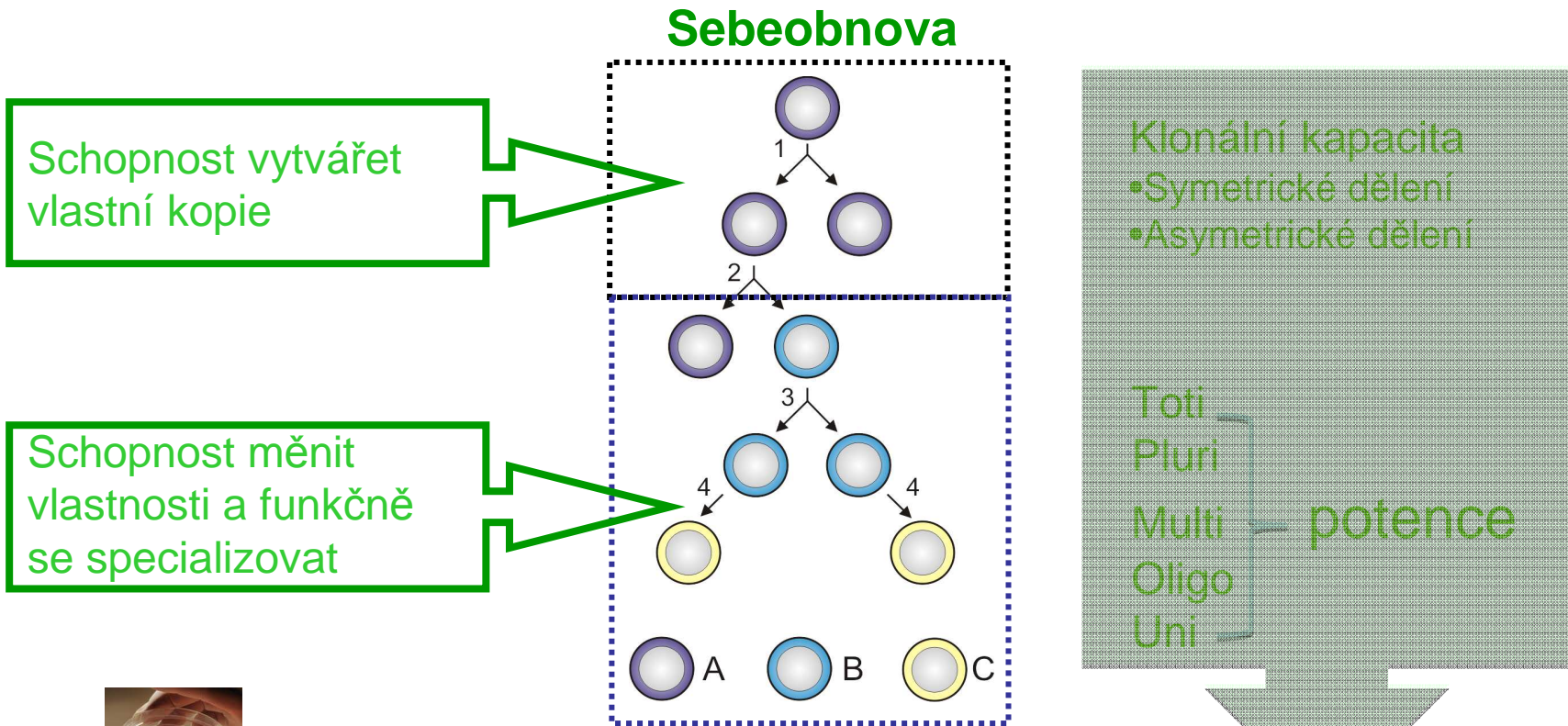


Kmenové buňky a strategie buněčné terapie



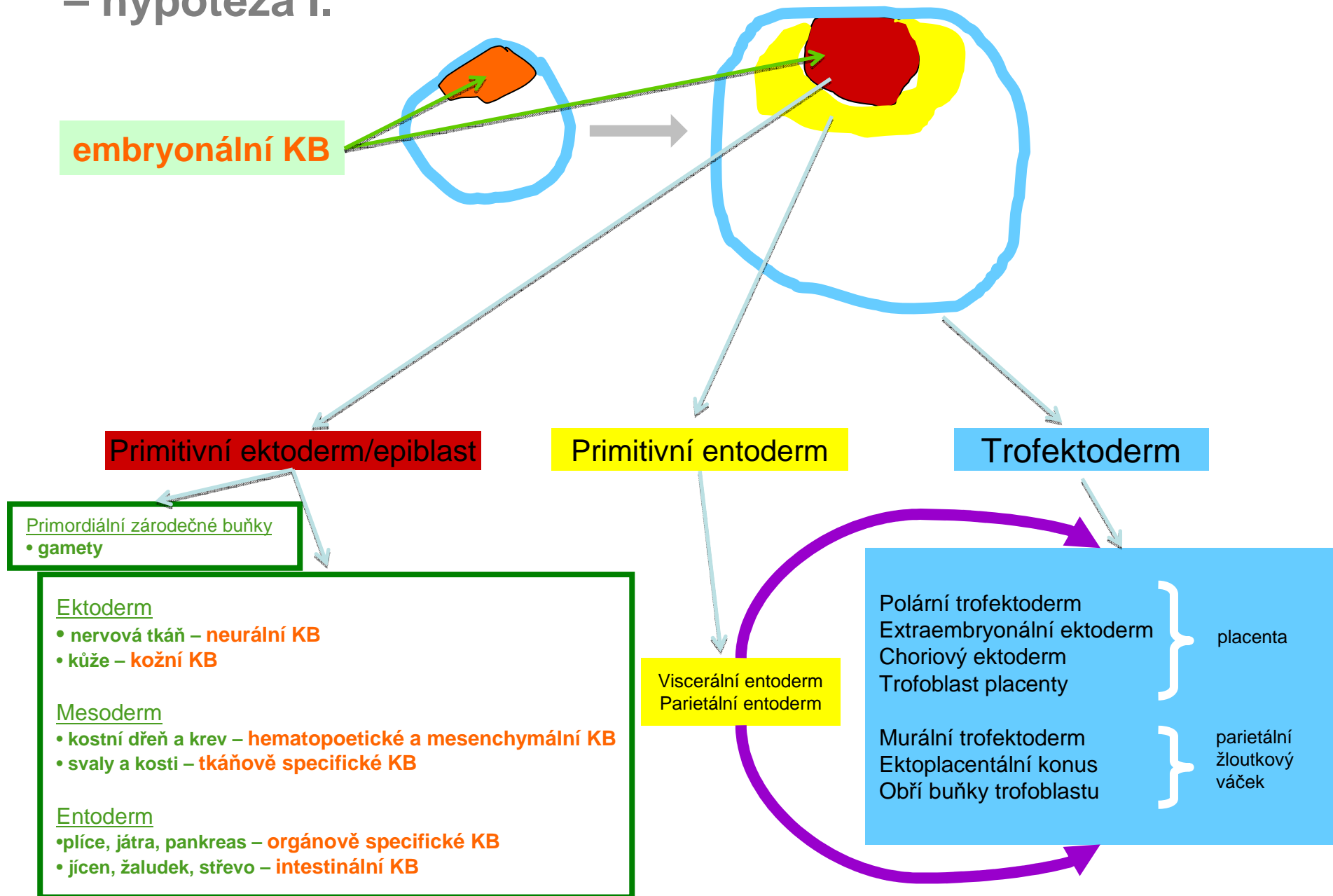
Vyjmenujte co nejvíce rozdílů mezi embryonálními kmenovými buňkami a tzv. dospělými kmenovými buňkami

Kmenové buňky: kriteria a definice

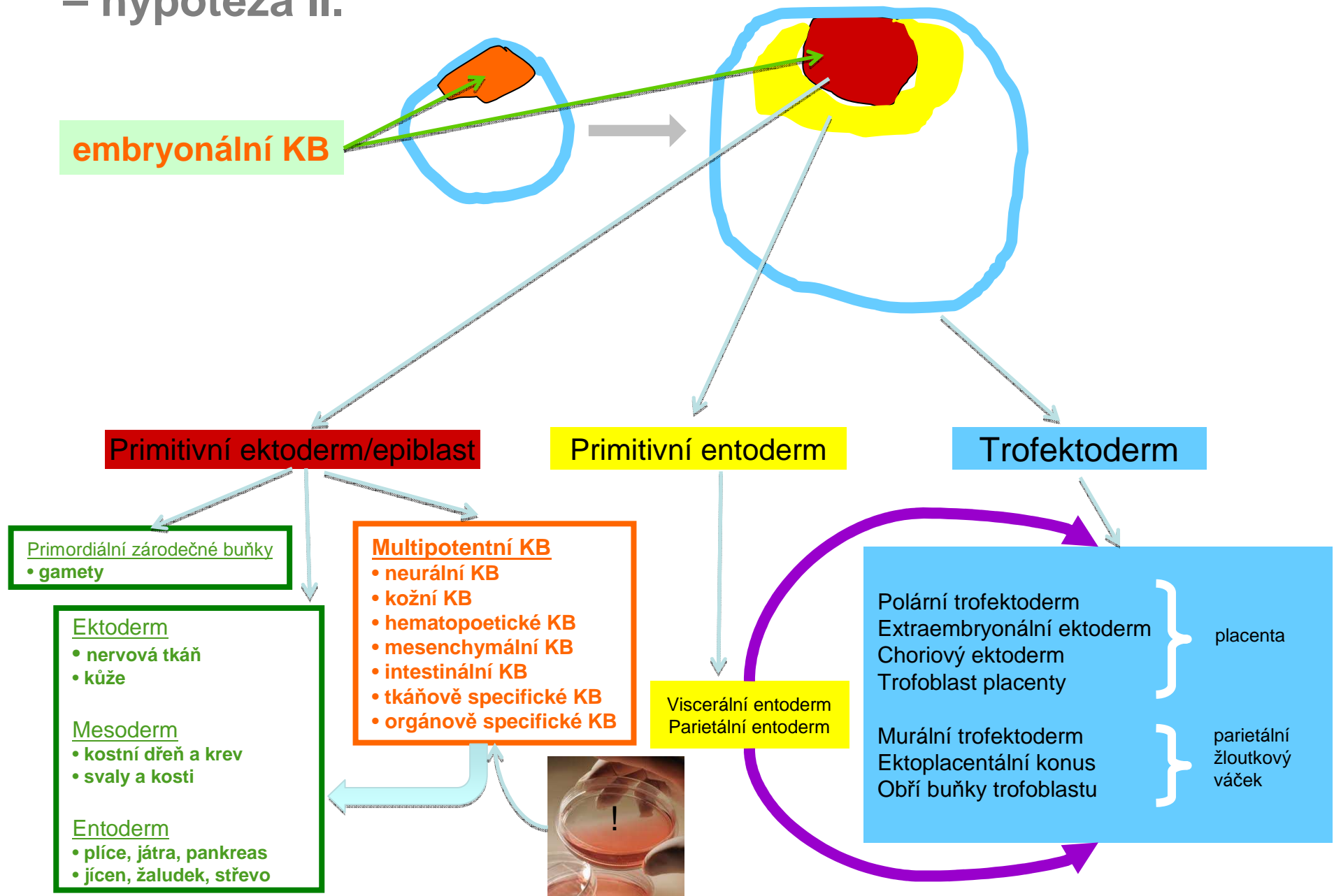


- Embryonální kmenové buňky
- “Dospělé” kmenové buňky
- Indukované pluripotentní kmenové buňky

Původ a vývojová ontogeneze kmenových buněk (KB) – hypotéza I.



Původ a vývojová ontogeneze kmenových buněk (KB) – hypotéza II.



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

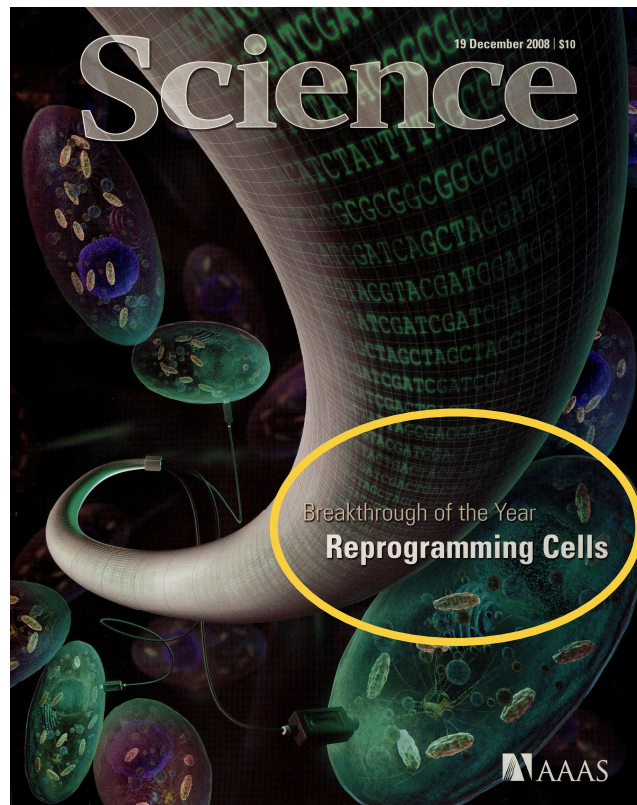
Kazutoshi Takahashi¹ and Shinya Yamanaka^{1,2,*}

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

²CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 339-0015, Japan

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

DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024



Albert Lasker basic medical research award 2009



John Gurdon
University of Cambridge



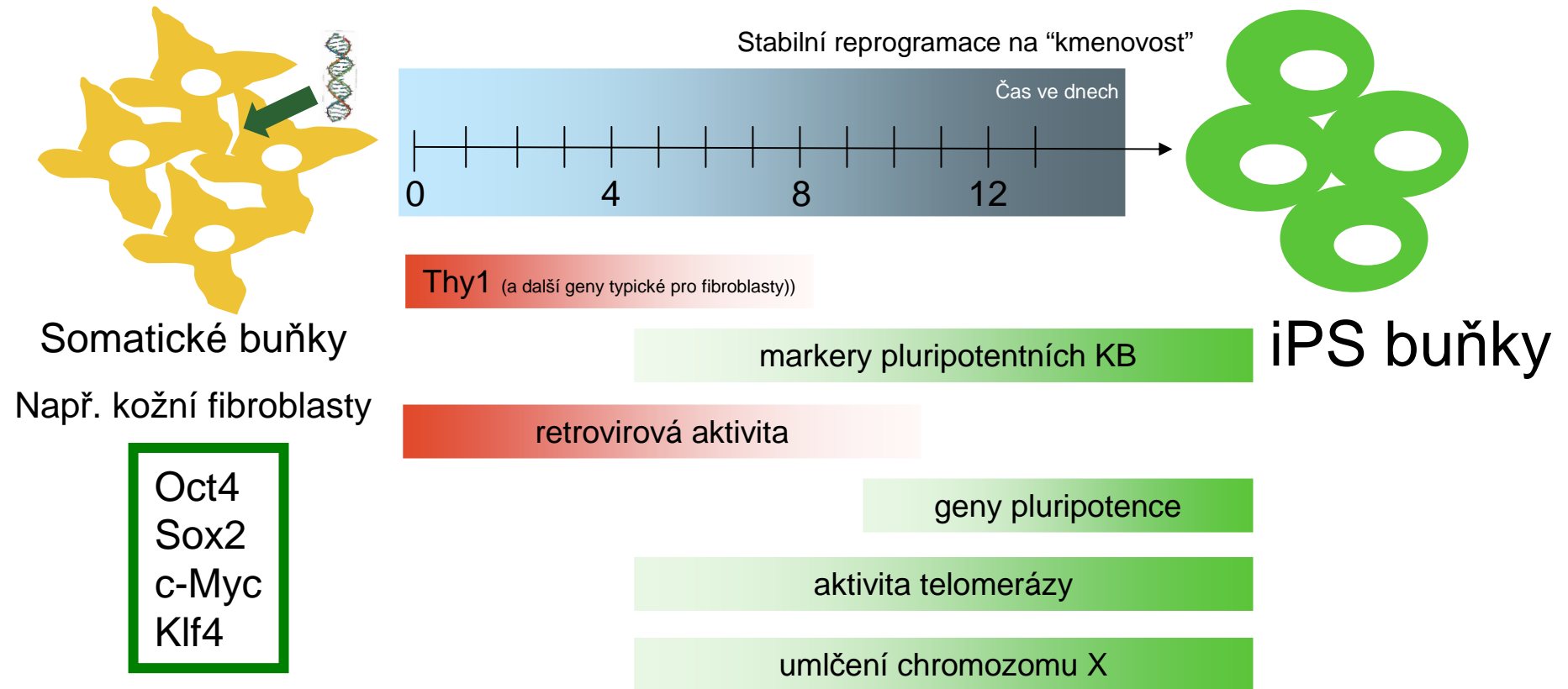
Shinya Yamanaka
Kyoto University



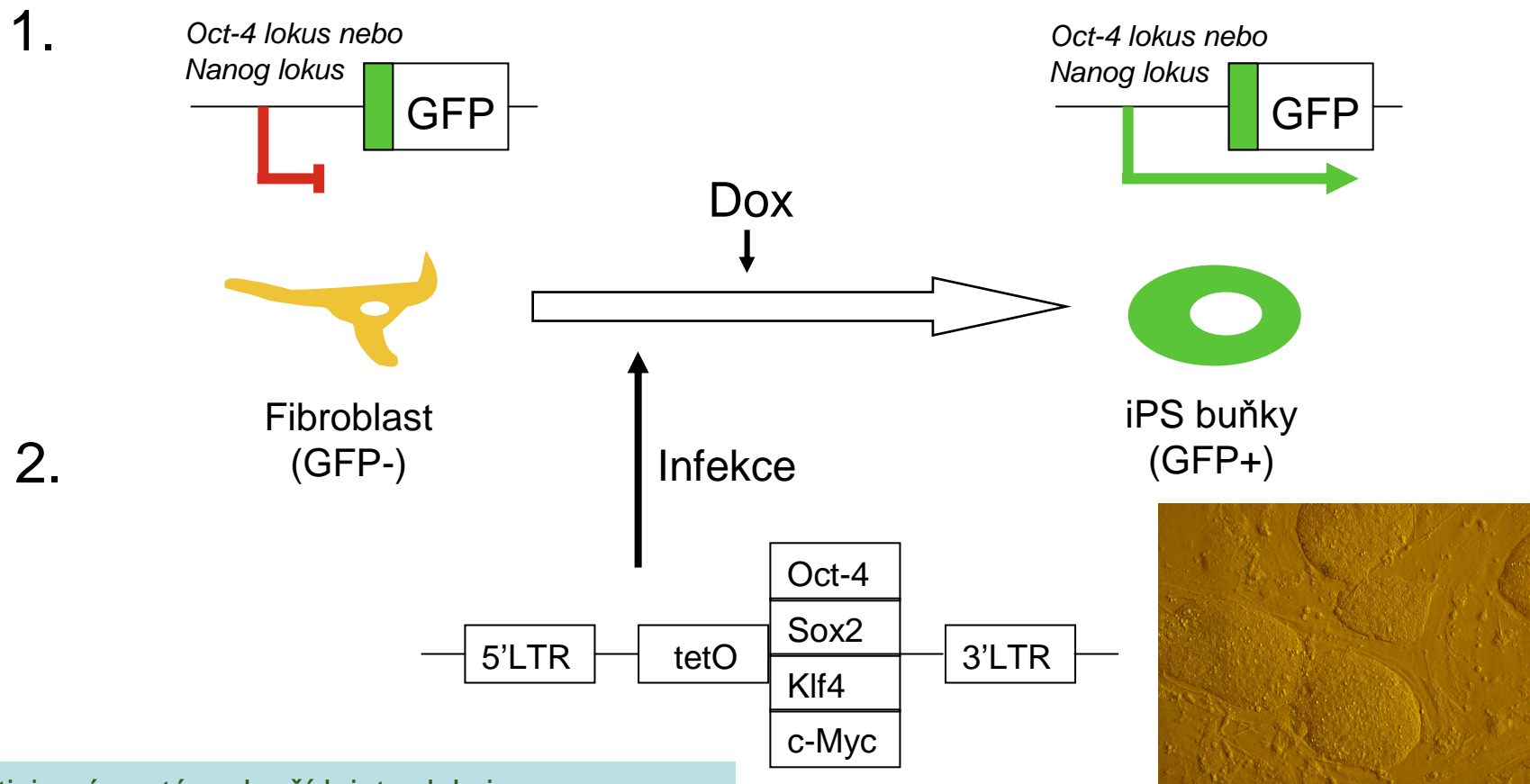
Indukované pluripotentní KB (Yamanaka 2006)

Alternativní zdroj pluripotence - **Indukované pluripotentní KB (iPS cells)**
- KB vytvořené ze somatických tj. diferencovaných buněk pomocí genetické metody

Kinetika reprogramace fibroblastů do pluripotentních KB - *relativně krátká cesta zpět*



Technologie derivace indukovaných pluripotentních KB pomocí indukovatelného lentivirového systému - dvoukrokový proces



- Lentivirový systém slouží k introdukci genetické informace (TF) do diferencovaných buněk
- Transkripční faktory reprogramují diferencované buňky na „kmenovost“ se všemi vlastnostmi

GFP = Green Fluorescent Protein

Historie objevů kmenových buněk (KB)

Od Prométhea k...



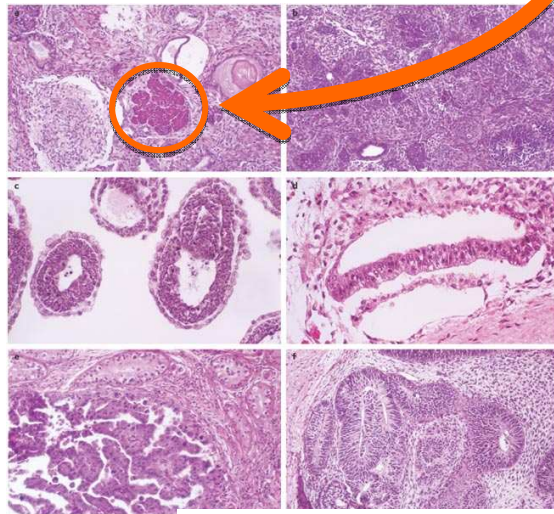
- „Omnis cellula e cellula“ - Rudolf Virchow 1855
- Buňky s regeneračním potenciálem v krvi -1917
- „Kolonie-formující“ buňky v kostní dřeni -1961

- Embryonální karcinomové buňky -1974
- Tkáňové a orgánové KB ~1980
- Myší embryonální KB -1981
- Embryonální KB z lidských blastocyst -1998
- Indukované pluripotentní KB (tzv. iPS cells) - 2006

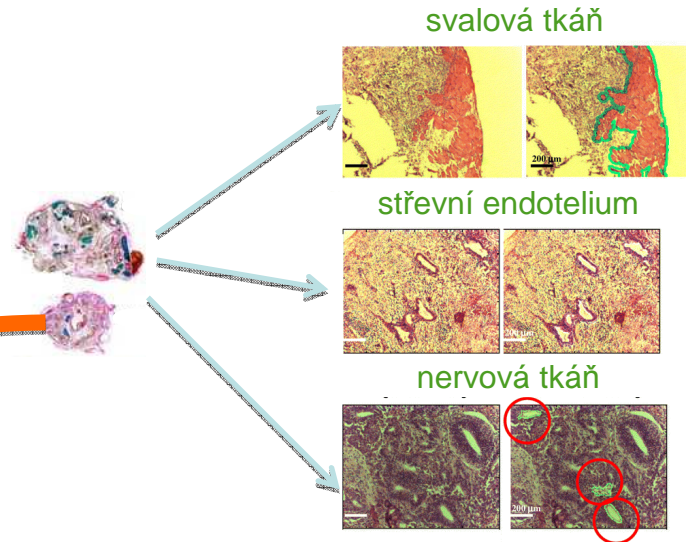
Možnost kultivací KB *in vitro* !!!

Kde je skutečný počátek éry pluripotentních KB in vitro?

1954 – Stevens & Little
“Spontánně” vznikající testikulární nádory,
teratokarcinomy, u myši kmene 129



Davor Solter, Nat Rev Genet., 2006



1964 – Kleinsmith & Pierce
Teratokarcinomy obsahují morfologicky
rozlíšitelnou populaci buněk, které mají
kapacitu diferencovat do různých buněčných
typů – **embryonální karcinomové buňky**



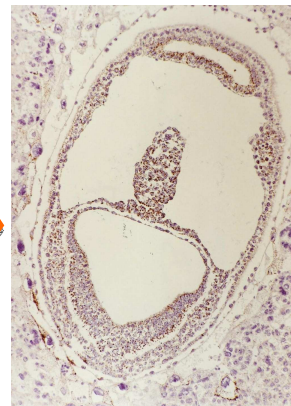
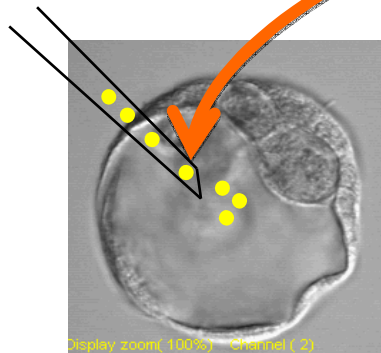
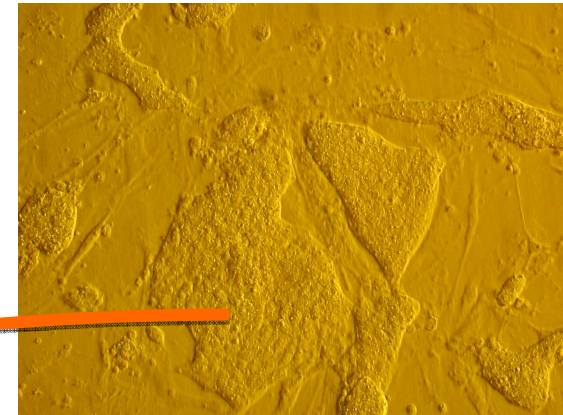
Gail
Martin

Martin
Evans

Buňky získané z teratokarcinomů a udržované *in vitro* jsou pluripotentní

1974 – Martin & Evans

Embryonální karcinomové buňky lze udržovat dlouhou dobu *in vitro* a stále si udržují původní morfologii a exprimují markery nediferencovaných buněk - **SEBEOBNOVA**



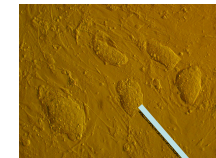
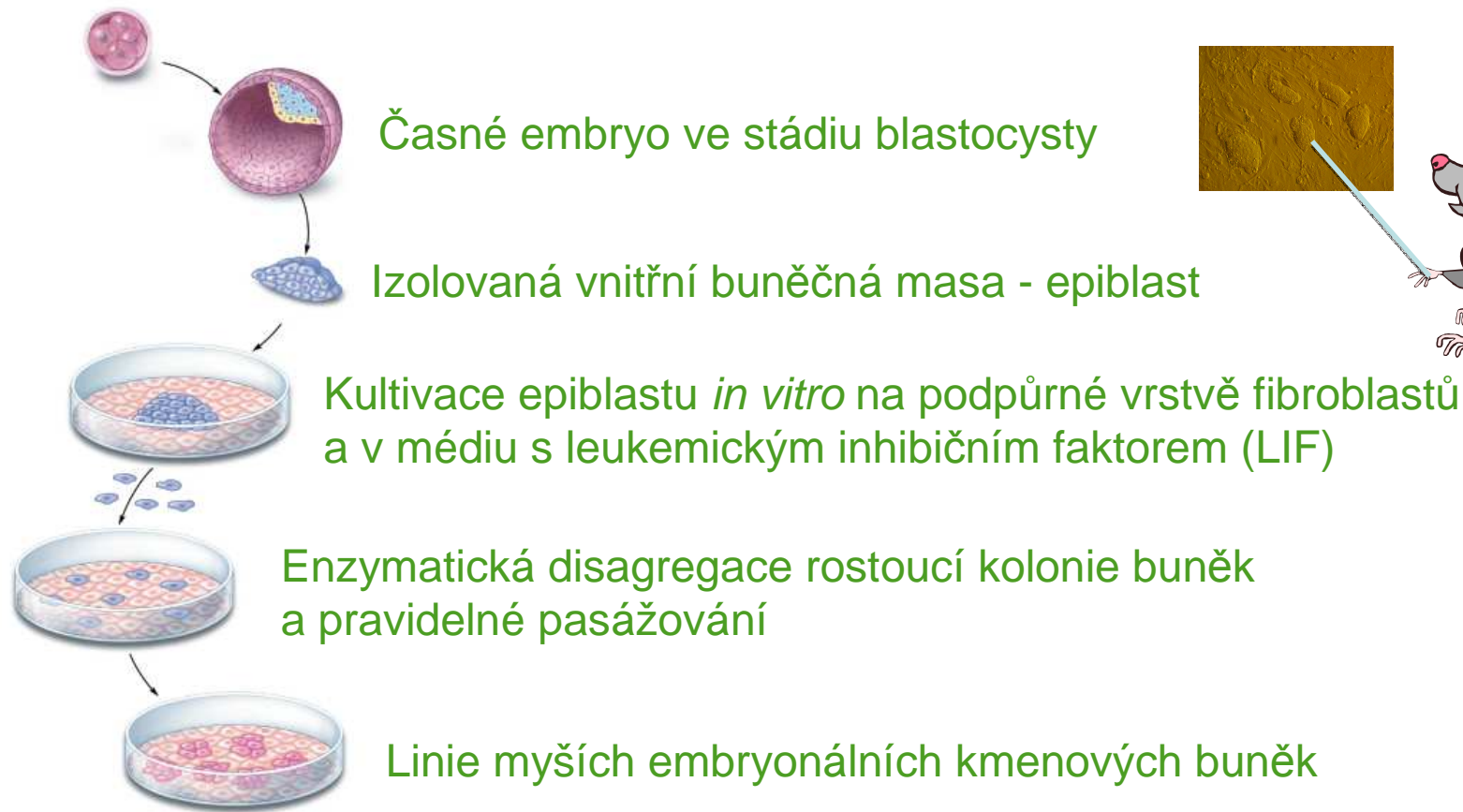
1974 – Martin & Evans

Po injekci embryonálních karcinomových buněk do embrya ve stádiu blastocysty je možné získat myši chiméry - **PLURIPOTENCE**

1981 – Martin & Evans

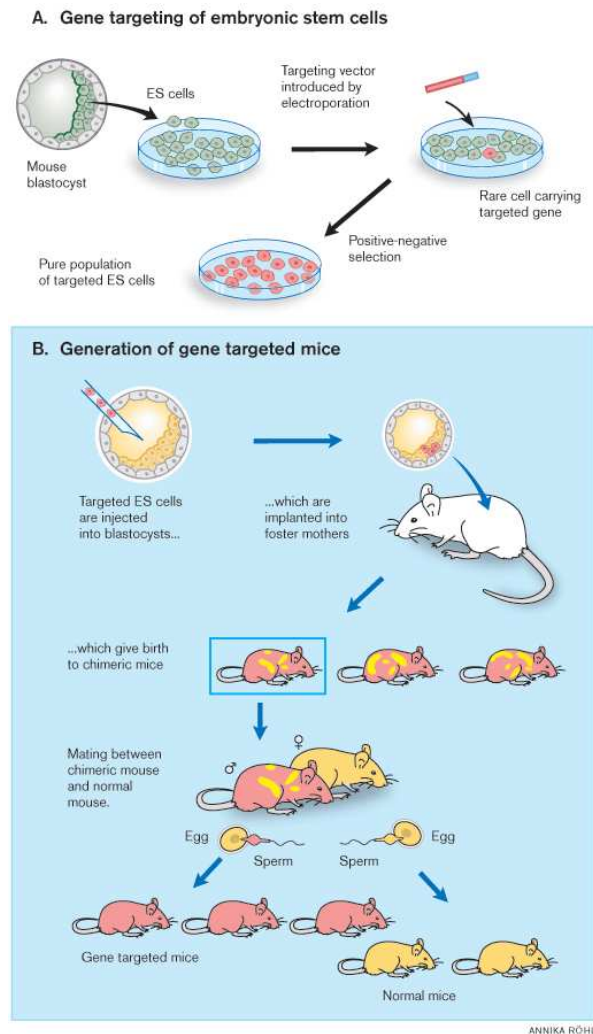
Linie pluripotentních kmenových buněk z myších embryí

– zásadní krok od pluripotentních buněk s nádorovým charakterem k normálním pluripotentním kmenovým buňkám



Nobelova cena za fyziologii a medicínu 2007

Vývoj technik pro produkci tzv. “knockout” myší prostřednictvím embryonálních kmenových buněk – možnost vytvořit živý organismus s požadovanou mutací v každé buňce těla



Sir Martin Evans

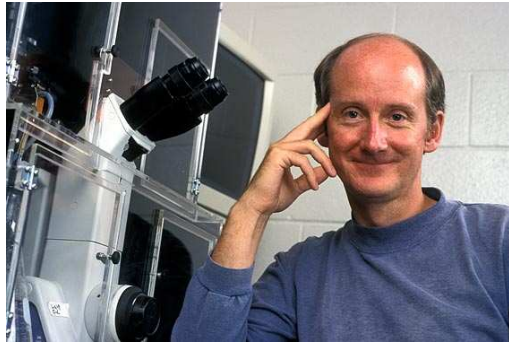


Mario R. Capecchi



Oliver Smithies

Embryonální kmenové buňky z lidských embryí v Madisonu a Brně



1998 - James Thomson

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 282 6 NOVEMBER 1998

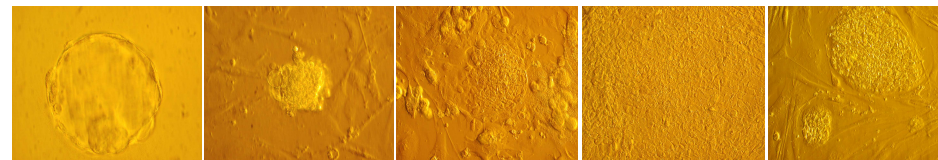
REPORTS

Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts

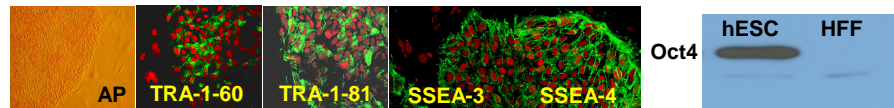
James A. Thomson,* Joseph Itskovitz-Eldor, Sander S. Shapiro, Michelle A. Waknitz, Jennifer J. Swiergiel, Vivienne S. Marshall, Jeffrey M. Jones



2002/3 – Aleš Hampl & Petr Dvořák



Derivace a charakterizace linií



Martina Vodinská
Táňa Košková
Klára Koudelková
Iveta Peterková

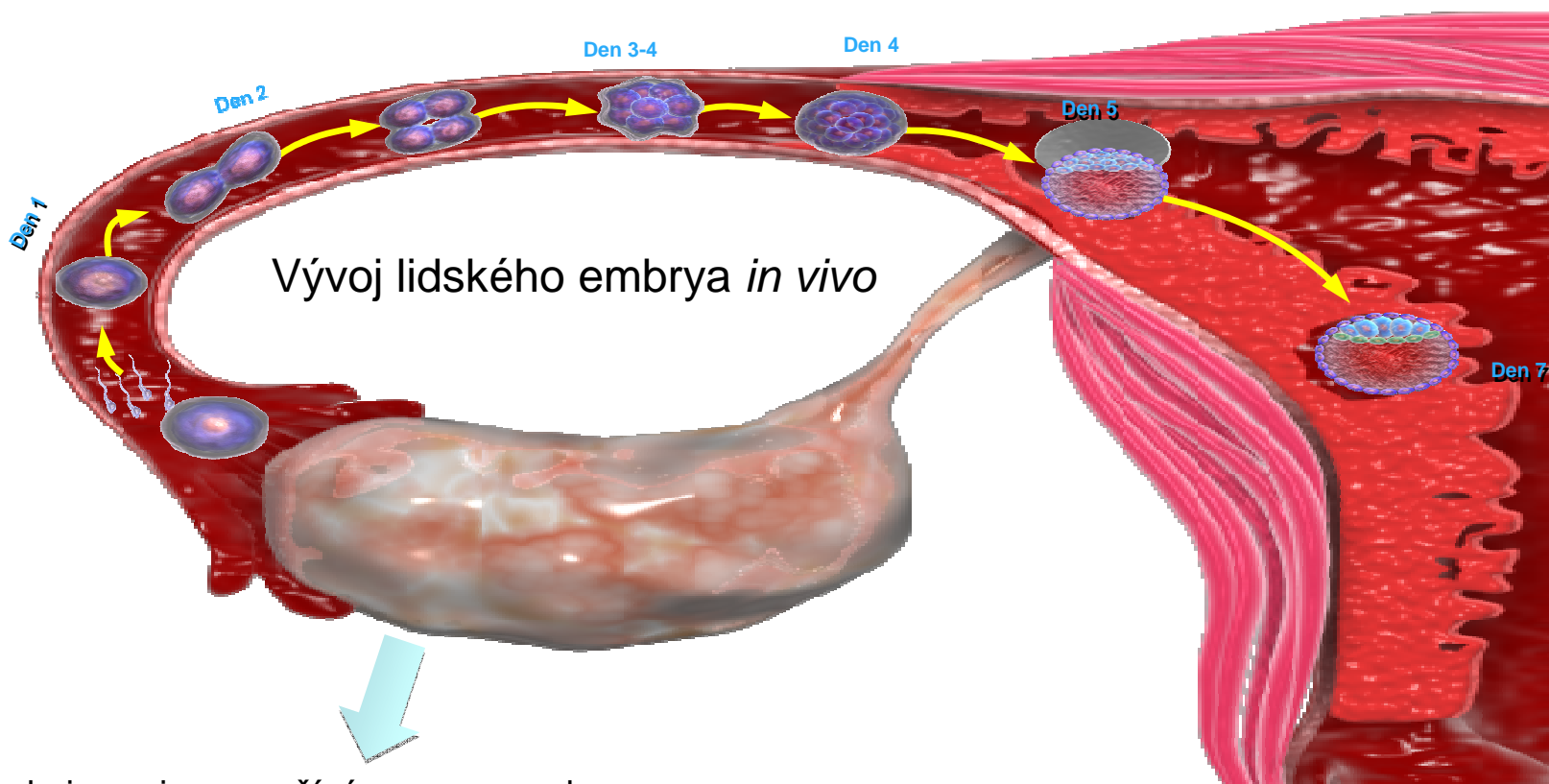
Czech stem-cell work heightens calls for EU ruling

Alison Abbott
Czech scientists say they have derived three human embryonic stem-cell lines from spare embryos stored at an *in vitro* fertilization clinic in Brno. This makes the Czech Republic the first of the eastern European countries poised to join the European Union (EU) to move into this controversial research area. It also adds to pressure on the EU to decide whether to fund research on newly derived stem-cell lines. This research is

allowed under strict ethical supervision in some EU countries, such as Britain and Sweden, but is banned in others, including Germany and Italy. Last week the Spanish government changed sides and approved a proposed law to allow the production of cell lines from spare embryos for research. The Czech Republic has no law controlling human embryonic stem-cell research. Eva Šyková, head of the Centre for Cell Therapy and Tissue Repair at Charles University in Prague, who developed the three cell lines

together with colleagues at the Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, says they are working to high ethical standards. They received informed consent from donor couples undergoing *in vitro* fertilization, she points out. The scientists are now characterizing the lines, and plan to study the cells' potential to develop into differentiated cells such as neurons, which they believe could have therapeutic potential. They presented their results at a meeting in Prague last month.

Etické a legislativní aspekty derivace kmenových buněk z lidských embryí



Pro derivace jsou používána pouze embrya získaná po fertilizaci a vývoji *in vitro*

&

- Embrya nepoužitelná pro léčbu
- Informovaný souhlas dárce
- Souhlas etické komise
- Dobrý vědecký důvod
- Potenciál pro medicínu

+

Year 2006

COLLECTION OF LAWS OF THE CZECH REPUBLIC

PROFILE OF THE REGULATION:

Title of the Regulation:
Act on Research on Human Embryonic Stem Cells and Related Activities and on
Amendment to Some Related Acts
Citation: 227/2006 Coll. Part: 75/2006 Coll.

=



Life cycle lasting r e g e n e r a t i o n



Self-renewal

Differentiation

Symmetrical

Asymmetrical

Totipotency

Pluripotency

Multipotency

Oligopotency

Unipotency

Embryonic stem cells

Induced pluripotent stem cells

} Manipulation *in vitro*

Unlimited expansion in undifferentiated state

Differentiation into virtually any cell type of adult body

Cell replacement therapy

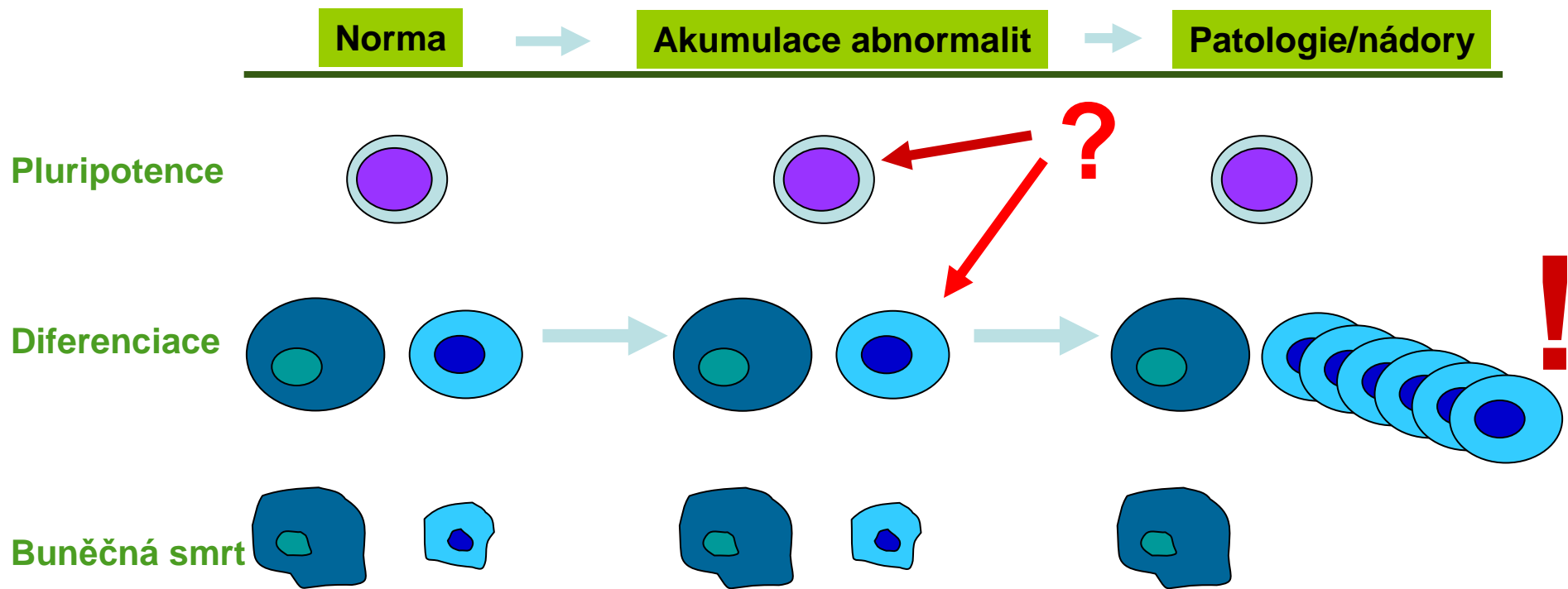
- Mechanisms of self-renewal
- Mechanisms of commitment and differentiation
- Mechanisms of cell division and cycling
- Genomic instability and DNA repair
- Development and testing new drugs
- Testing of (embryo)toxicity of new compounds

- Mechanisms of differentiation
- Mechanisms of differentiation arrest - the cancer paradigm
- Mechanisms of tissue and organ development
- Disease modeling
- Identification of new gene targets
- Drug and toxicity testing

Lidské pluripotentní kmenové buňky mají největší vědecký i aplikační potenciál:

- Protože je umíme množit v podmínkách *in vitro* aniž by diferencovaly
- Protože se relativně dobře studují
- Protože mají velkou diferenciační kapacitu a jsou vyvinuty účinné
diferenciační protokoly
- Protože jsou relativně snadno geneticky manipulovatelné

Pochopení molekulárních mechanismů, které řídí sebeobnovu a diferenciaci normálních KB představuje klíč k pochopení vzniku mnoha nádorových onemocnění !!!



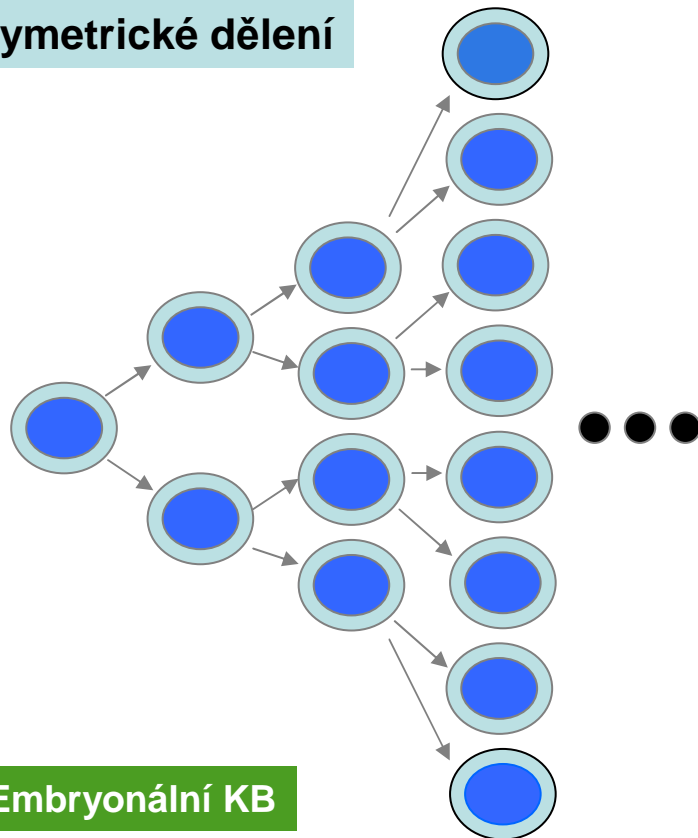
Hypotéza nádorových kmenových buněk

Nádory obsahují KB, které jsou schopné re-populovat nádor nebo mohou být dokonce jeho počátkem - např. nádory tlustého střeva a nádory mozku

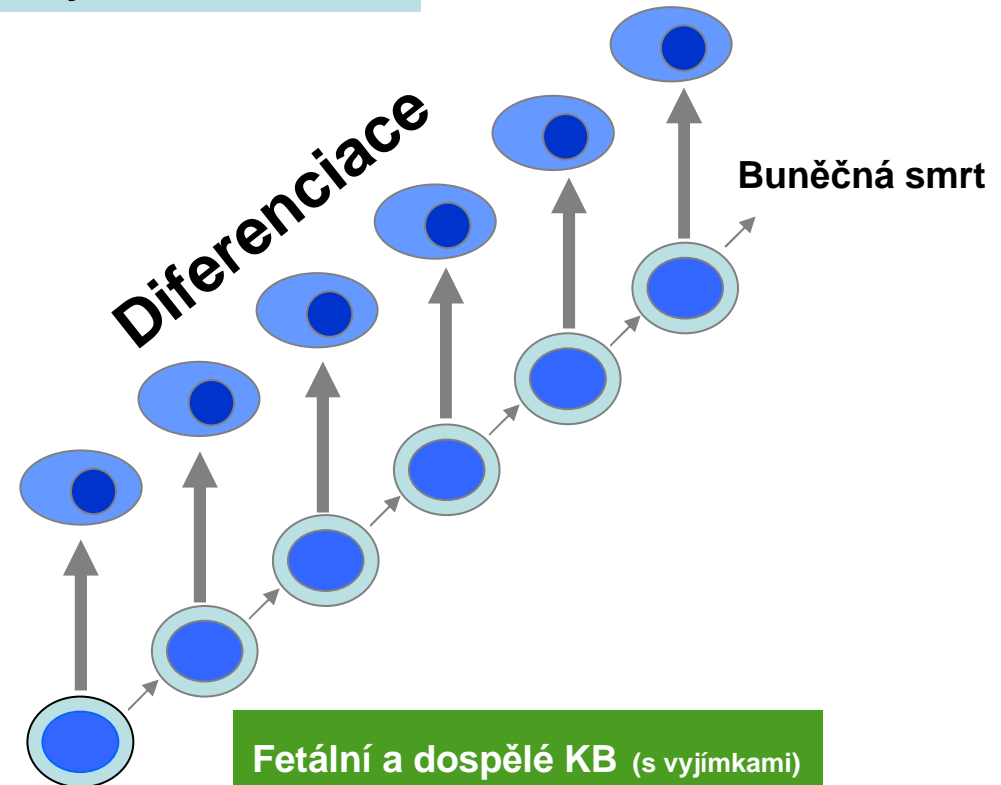
Mechanismus sebeobnovy kmenových buněk (KB)

Sebeobnova = tzv. self-renewal; nejdůležitější vlastnost kmenových buněk; schopnost vytvořit identické dceřiné buňky

Symetrické dělení



Asymetrické dělení

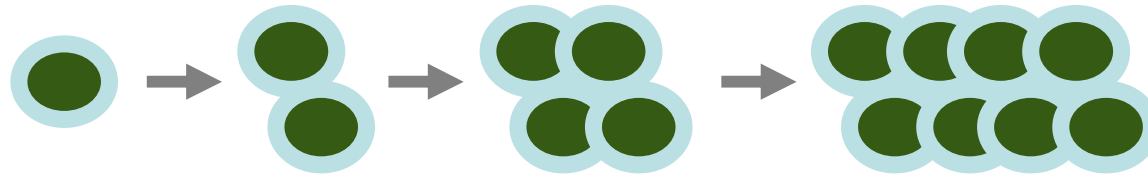


Kombinace obou mechanismů = neurální KB !!!

Kmenové buňky mají obecně velké jádro a málo cytoplazmy

Kapacita KB replikovat se *in vivo* a *in vitro*

Replikační kapacita = počet zdvojení populace



IN VIVO

Embryonální KB
Dospělé KB

-v podmínkách in vivo neexistují !!!
-po celý život (s výjimkami)

IN VITRO

Embryonální KB
Neurální KB
Dospělé KB

-neomezená
-neomezená (?)
-několik dělení

Pro srovnání



Somatické buňky

Transformované (nádorové) buňky

-0-50x

-neomezená

Diferenciační kapacita KB

totipotence → pluripotence → multipotence → oligopotence → unipotence

zygota

Embryonální KB

Hematopoetické KB

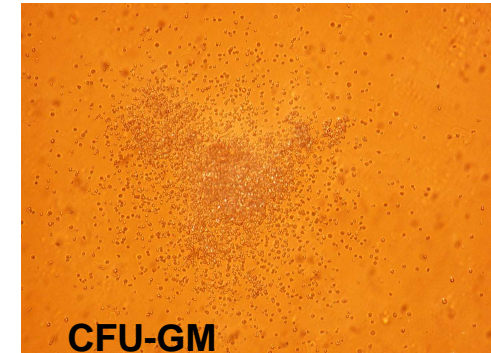
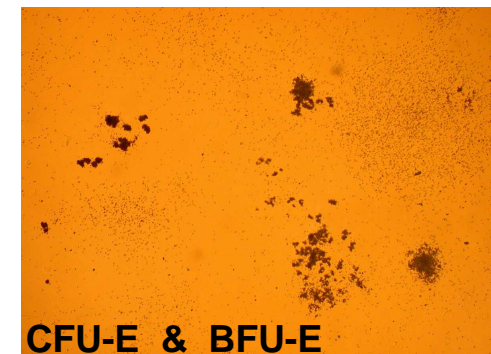
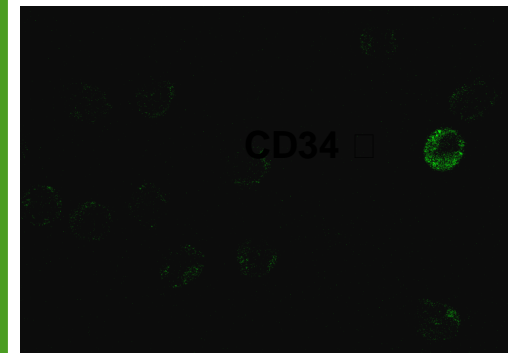
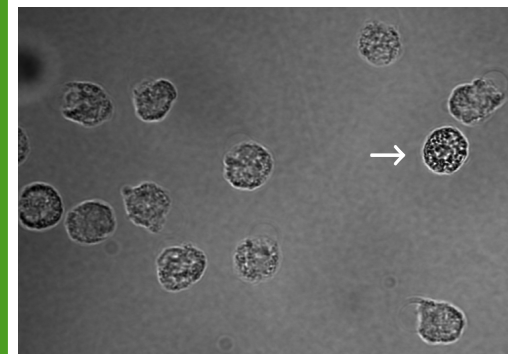
Gastrointestinální KB

KB prostaty

Nediferencované KB

Kolonie mnoha tisíc buněk

Neurony



Příklady

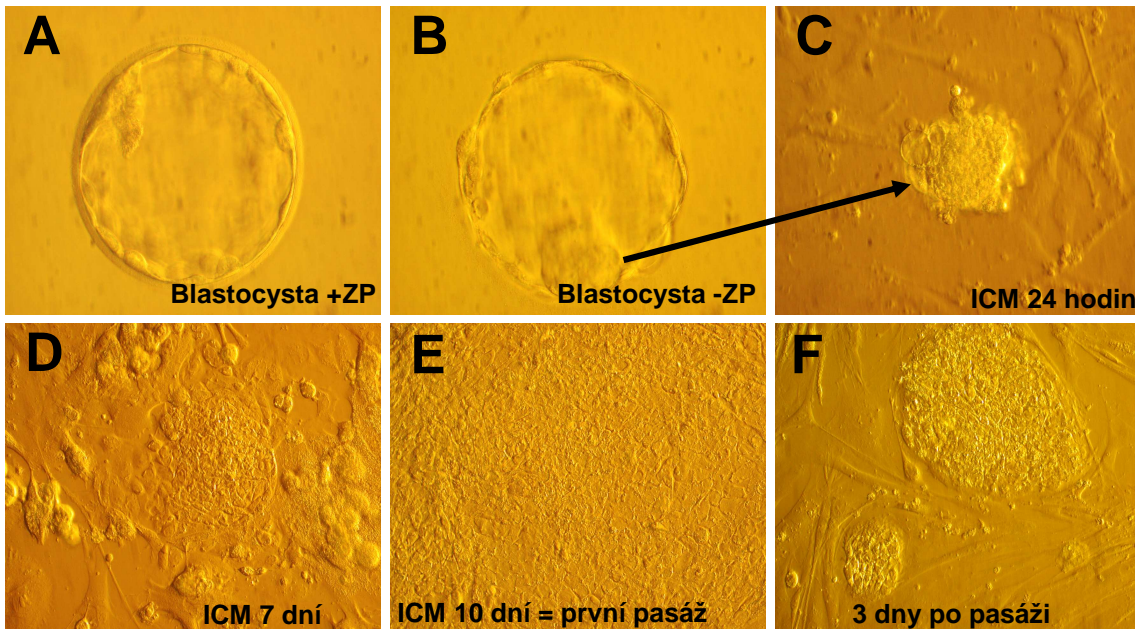
Linie KB - neomezený zdroj pluripotentních buněk

(“Dostupnost” kmenových buněk pro manipulace *in vitro*)

Příklady dospělých KB

Embryonální KB

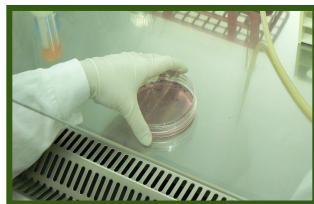
Hematopoetické KB



„niche“ KB

- mobilizace KB
- buněčné třídění

CD34+
CD133+
c-kit+
HLA-DR-
CD38-
CD71-
CD45-



Schopnost růst a replikovat se *in vitro*

Buněčná linie !!!

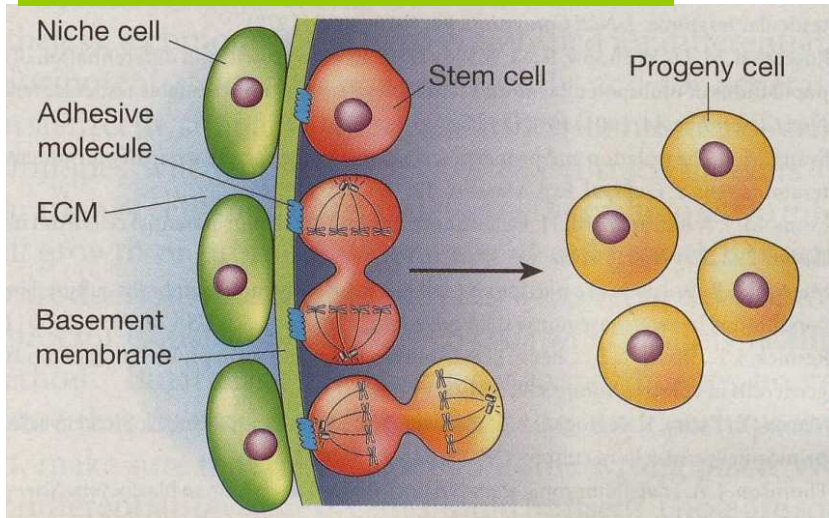
X

Buněčná subpopulace !!!

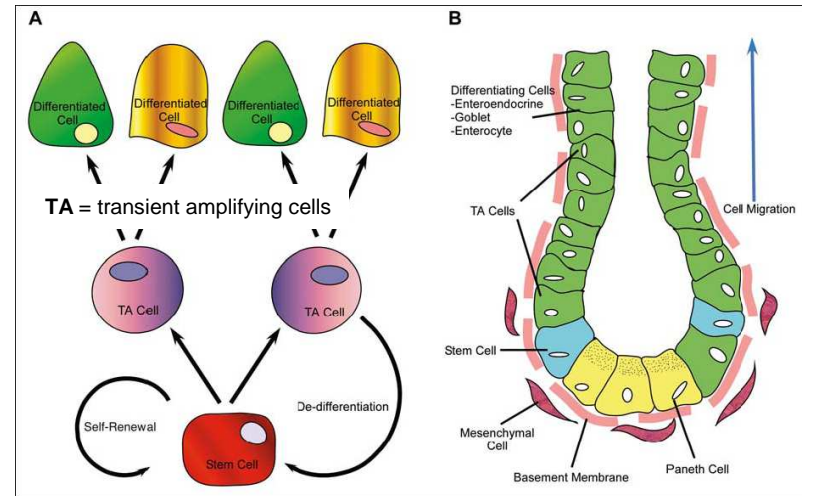
Možnost derivací linií KB jako modelů genetických onemocnění

Dospělé KB a jejich „niche“

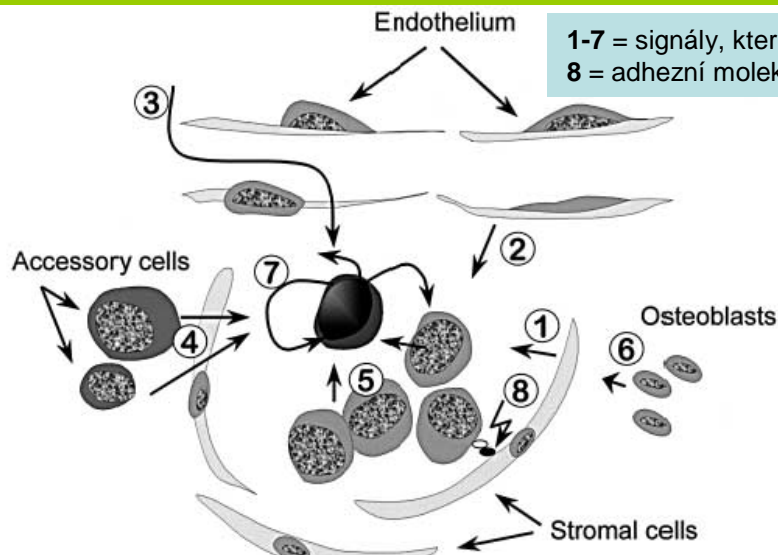
Obecná struktura a funkce „niche“



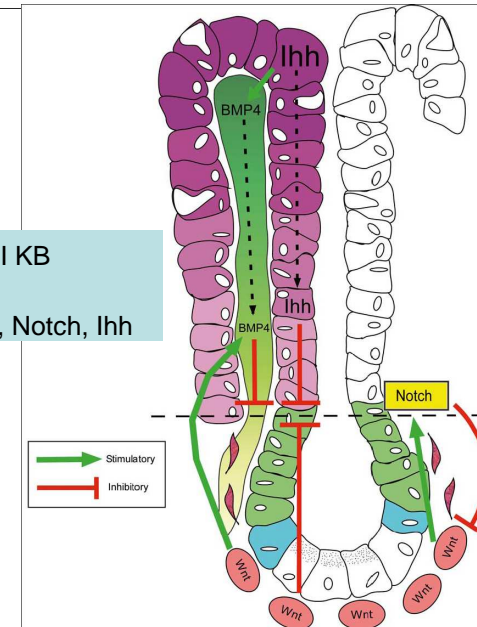
Hierarchie KB v jejich „niche“ (epiteliální GI KB)



Hematopoietické KB jsou v kostní dřeni

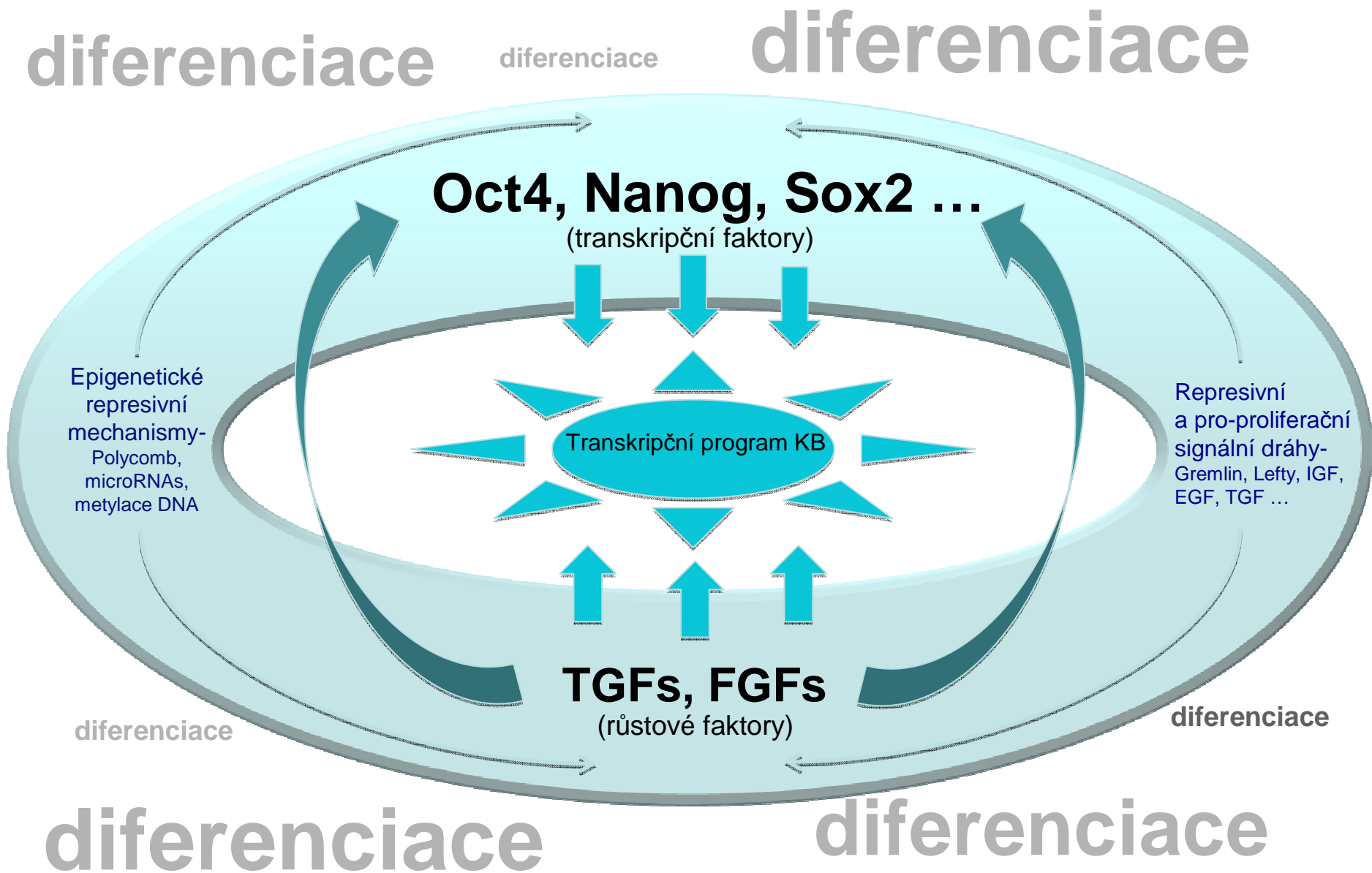


Signály, které definují „niche“ GI KB a regulují jejich proliferaci a diferenciaci - např. Wnt, BMP, Notch, Ihh



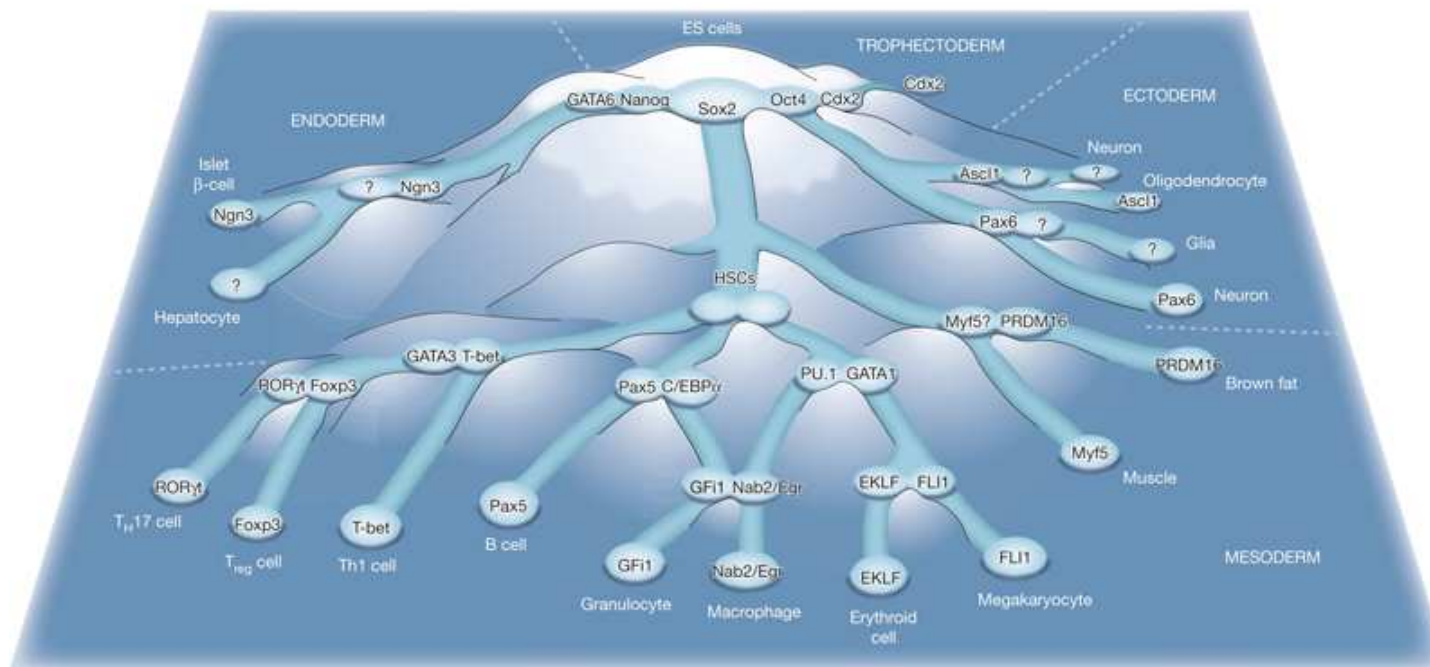
“Niche” je charakterizováno přítomností několika typů podpůrných buněk a mnoha signálními molekulami, které společně vytvářejí podmínky pro přežívání, případně diferenciaci KB

Tajemství kmenovosti pluripotentních kmenových buněk



Současný koncept diferenciacie KB *in vivo*:

Liniová diferenciacie embryonálných kmenových buněk ve “svažité krajině hlubokých údolí” (= STABILITA) a “vysokých kopců” (= NESTABILITA)



Thomas Graf & Tariq Enver *Nature* **462**, 587-594 (2009) doi:10.1038/nature08533

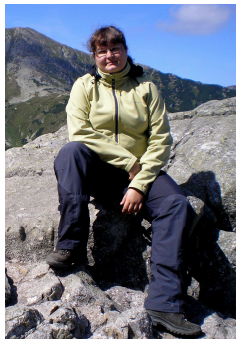
Transkripční a růstové faktory!

nature

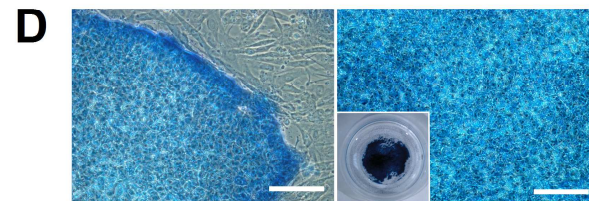
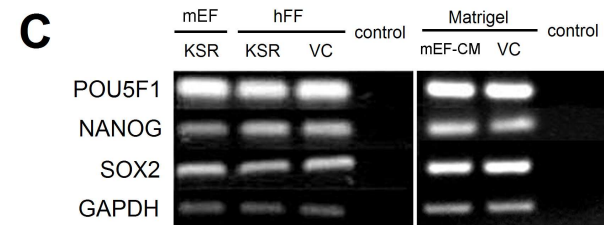
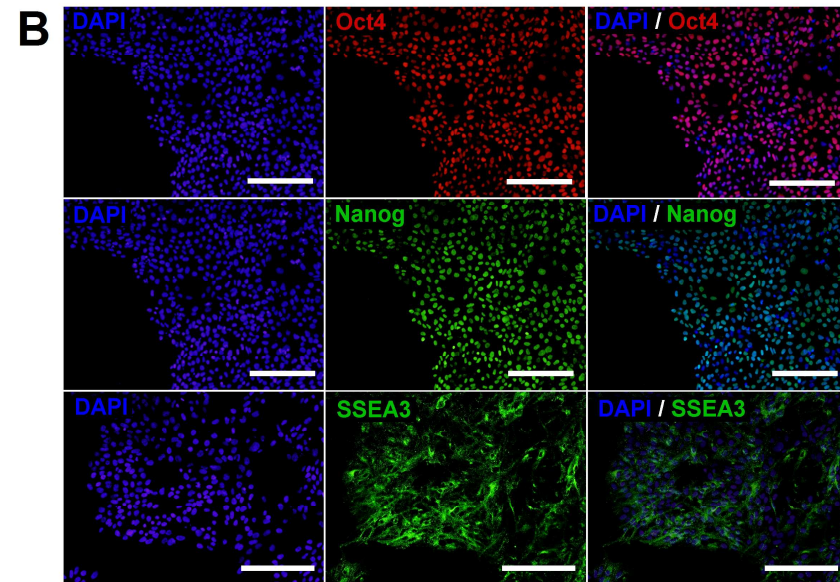
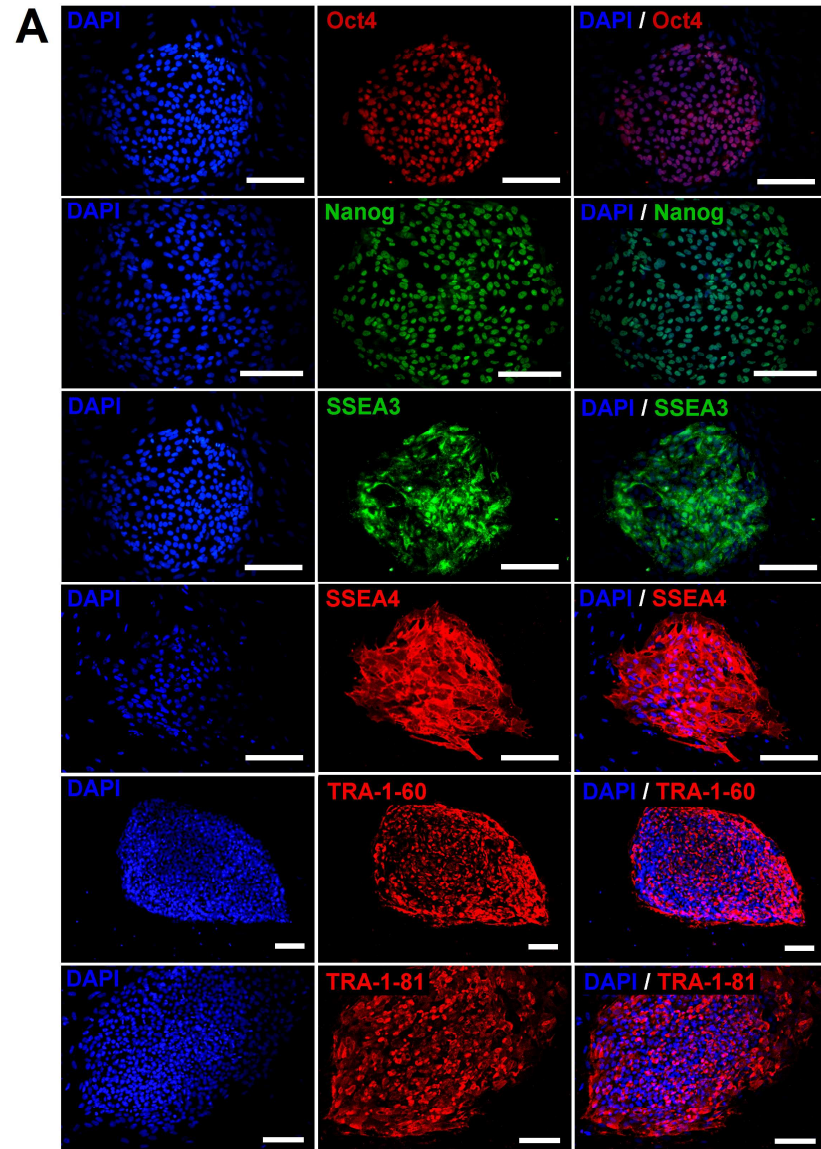
Hlavní překážky na cestě pluripotentních kmenových buněk z laboratoří k pacientům

- Lepší pochopení mechanismů sebeobnovy a vývoj nových kultivačních systémů
- Lepší pochopení mechanismů diferenciacce a vývoj “negenetických”
diferenciačních protokolů
- Problém “bezpečnosti” buněčných transplantátů derivovaných z pluripotentních KB
- Problémy rejekce KB imunitním systémem a omezené genetické diverzity linií
- Legislativní a etické překážky

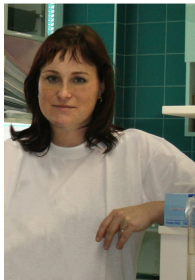
Humanizované kultivační podmínky a VegetaCell



Humanizované kultivační podmínky a VegetaCell

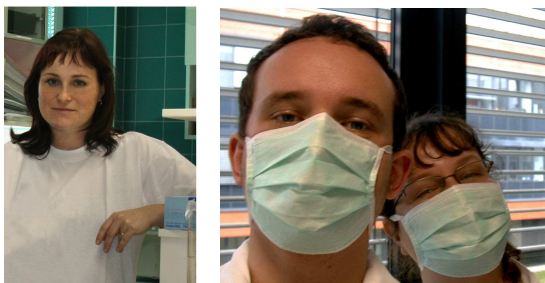
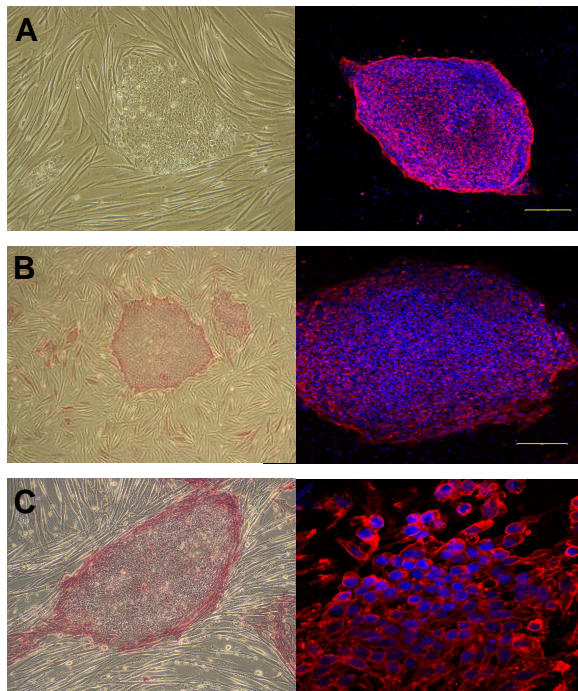


Humanizované kultivační podmínky a syntetické substráty

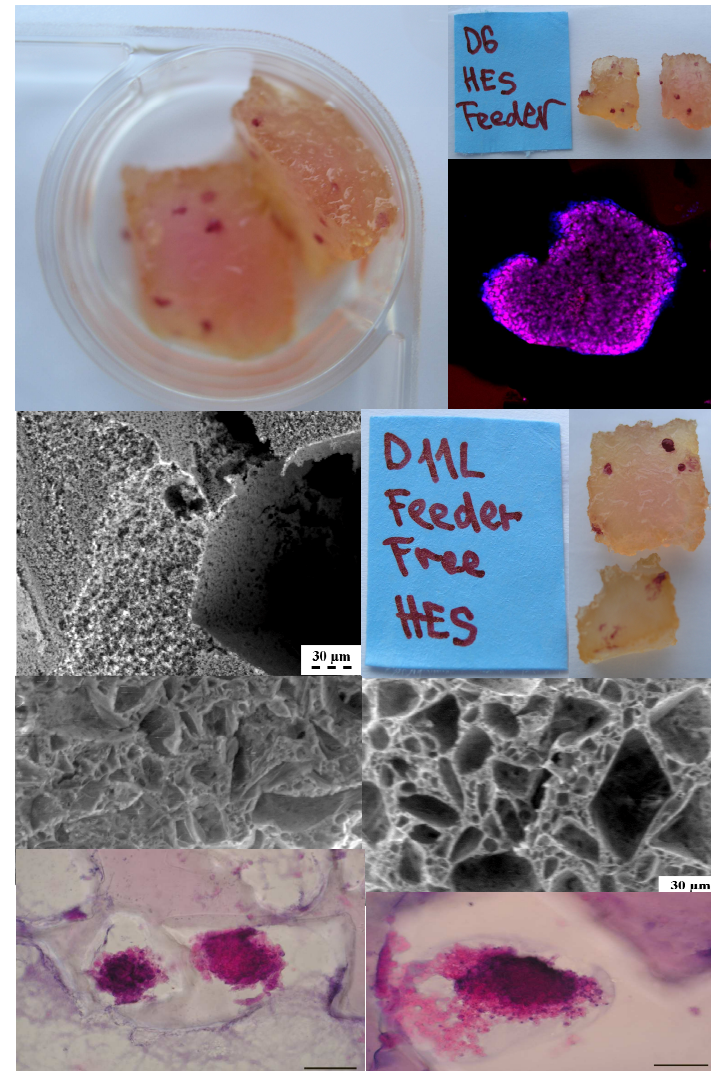


Humanizované kultivační podmínky a syntetické substráty

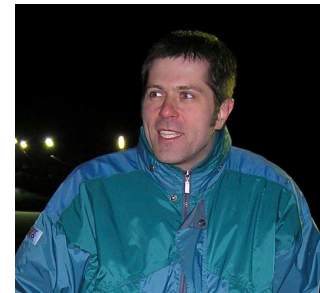
- (A) Human foreskin fibroblasts
- (B) hESC-derived fibroblasts
- (C) Humanized culture medium and human fibroblasts



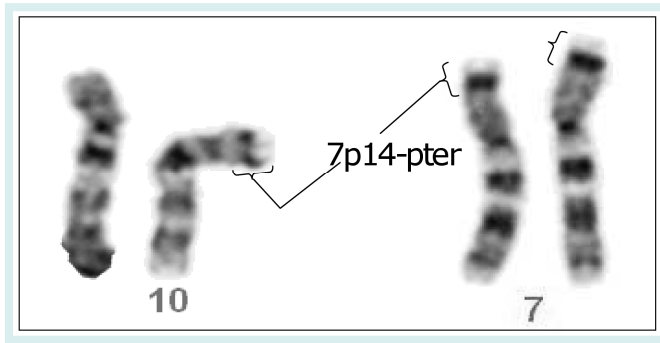
Hydrogels and collagen scaffolds for propagation and expansion of hESCs



Genomická nestabilita pluripotentních KB *in vitro*



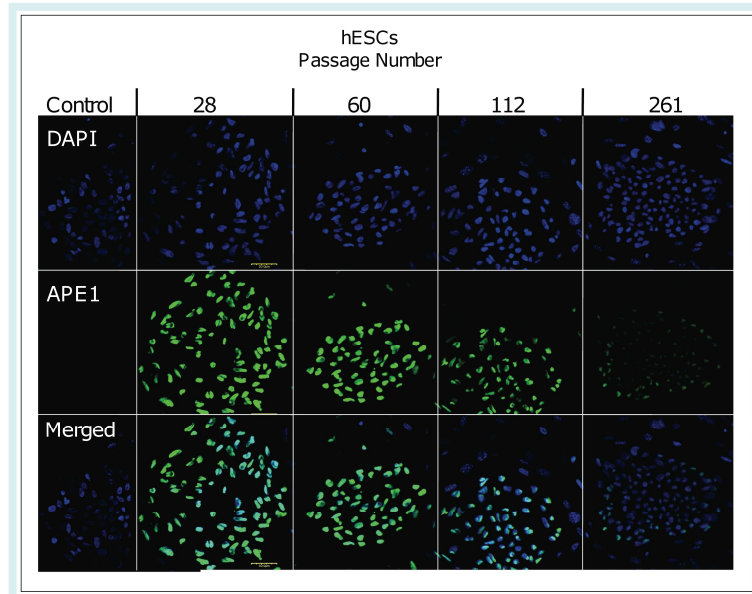
Genomická nestabilita pluripotentních KB *in vitro*



Numerical chromosomal abnormalities – gain or loss
 Large chromosomal aberrations >3Mb
 Small chromosomal aberrations <3Mb (CNV, LOH)

Possible mechanism – APE and BER ?

Sample	CN State	Type	Chr	Start	End	Size(kb)	%CNV	Start	Name of Variation	RefSeq Genes on the area
HS306 p35	3	Gain	4	q22.1	q22.2	1081	25	93332297	10054	<i>GRID2</i>
CCTL-12 p143	3	Gain	5	q14.2	q14.3	2534	2	81717787	22770	<i>XRCC4 VCAN HAPLN1 EDIL3</i>
I3.2 p55	3	Gain	10	q11.21	q11.22	1203	100	46010225	0136	<i>PTPN20B FRMPD2L2 FAM35B SYT15 GPRIN2 PPYR1 ANXA8 ANXA8L1</i>
H7 s6 p128	1	Loss	10	q21.2	q21.3	1288	15	63869872	30508	<i>ZNF365 C10orf22 EGR2</i>
H7 s6 p132	1	Loss	10	q21.2	q21.3	1288	15	63869872	30508	
H7 s6 Tera p125	1	Loss	10	q21.2	q21.3	1288	15	63869872	30508	
H7 s6 Tera p127	1	Loss	10	q21.2	q21.3	1288	15	63869872	30508	<i>NRBF2 JMJD1C REEP3</i>
HS401 p53	1	Loss	15	q11.2	q11.2	1009	100	18875309	0318	<i>HERC2P3 POTE15</i>
H1 p61	1	Loss	15	q11.2	q11.2	1243	100	18846092	0318	
H9 p25	3	Gain	15	q11.2	q11.2	1357	100	18732853	0318	
H9 p34	3	Gain	15	q11.2	q11.2	1434	100	18655531	0318	
HS237 p135	3	Gain	18	q21.32	q21.33	1713	19	56145790	3171	<i>MC4R CDH20 RNF152</i>
CCTL-14 p38	3	Gain	20	q11.21	q11.21	1829	38	29298698	35916	<i>DEFB115/116/118/119/121/123/124 REM1 HM13 ID1 COX412 BCL2L1 TPA2 MYLK2 FKBP18 DUSP15 TLL19 PDRG1 XKR7 C20orf160 HCK TM9SF4 PLAGL2 POFUT1 KIF3B ASXL1 C20orf112 LOC149950 COMMD7 DNMT3B MAPRE1 SPAG4L BPL1 BPL3 C20orf185</i>
CCTL-14 p49	3	Gain	20	q11.21	q11.21	1831	38	29298698	35916	



- Why do they occur? What could be the source?
- Can we manipulate with mechanism(s) of their genesis?
- What could be their biological significance *in vivo*?



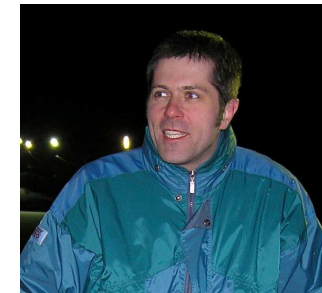
nature biotechnology
 nature.com | journal home | current issue | research | resources | abstract
 NATURE BIOTECHNOLOGY | RESEARCH | RESOURCES

High-resolution DNA analysis of human embryonic stem cell lines reveals culture-induced copy number changes and loss of heterozygosity

Eliisa Niemi, Reija Anttila, Nelli Riihimäki, Lingling Kong, Neil Harrison, Dennis Kitzberg, Leontine Bergmann, Joseph Robinson-Evans, Christa Hübner, Paul Drenth, Dori Hovatta, Teruo Okamoto, Toshi Tani, Wei Gu, Oliver Brüggen, Duncan Baker, Erika Mäkitie, Henry C Moore, Heiko Behrman, Peter W Andrews, Chyi Yui-Hsia & Riitta Lahesmaa

Nature Biotechnology 28, 371–377 (2010) | doi:10.1038/nbt.1615
 Received 24 June 2009 | Accepted 18 February 2010 | Published online 28 March 2010

Abstract
 Prolonged culture of human embryonic stem cells (hESCs) can lead to adaptation and the acquisition of chromosomal abnormalities, underscoring the need for rigorous genetic analysis of these cells. Here we report the high-resolution study of hESCs in culture using an Affymetrix SNP 6.0 array containing 908,000 probes for single nucleotide polymorphisms (SNPs) and 946,000 probes for copy number variations (CNVs). Analysis of 17 different hESC lines maintained in different laboratories identified 843 CNVs of 50 bp–3 Mb in size. We identified, on average, 5.0% of the total of heterozygous SNPs and 8.6% of the CNVs changed in culture between early and late passages of the same line. Thirty percent of the genes identified with CNVs also had altered expression compared to controls with normal copy number status, of which 34.6% were found to be involved in cancer. Furthermore, LOH of the copy of chromosome 16, which has not been observed previously in hESCs, was detected.




Potřebujeme nové linie lidských embryonálních KB když máme indukované pluripotentní KB?

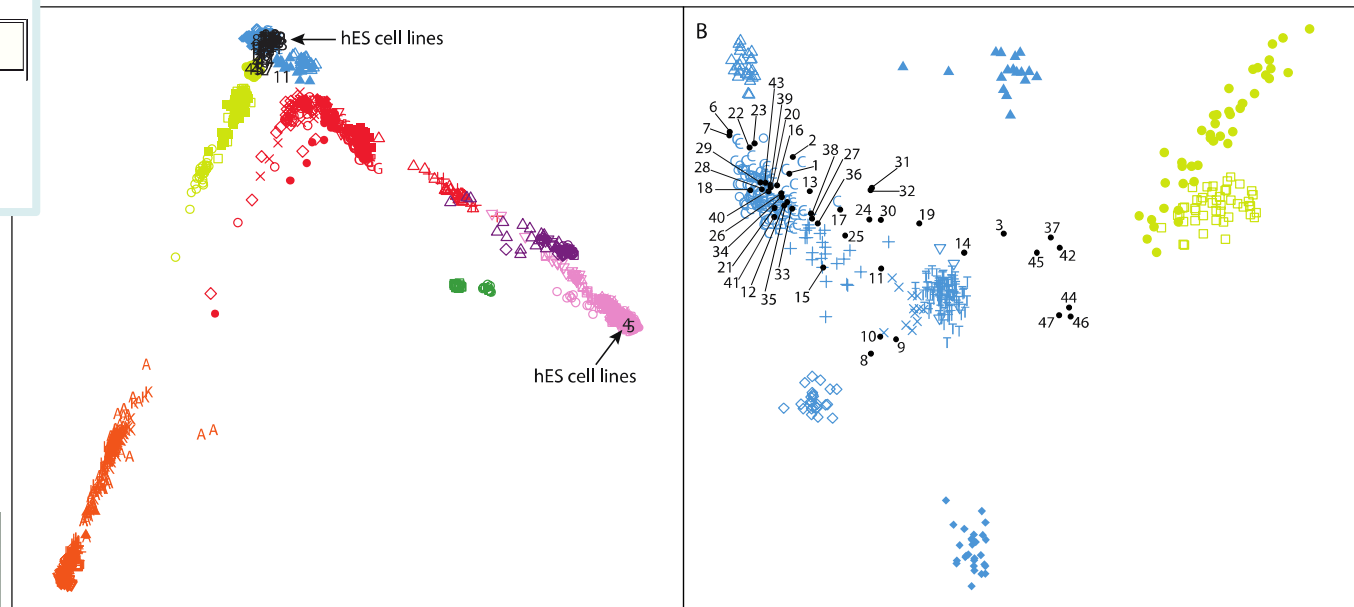
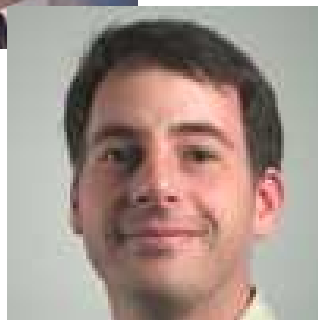
Buněčné banky a registry linií pluripotentních KB a populační diverzita existujících linií lidských embryonálních KB

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

CORRESPONDENCE



Lack of Population Diversity in Human Embryonic Stem-Cell Lines



Masaryk University (Czech Republic)	Spanish Stem Cell Bank / CIPF (Spain)	18 HUES8	31 HUES26	NSCB / UCSF (USA)
1 CCTL-6	8 VAL4	19 HUES10	32 HUES27	42 UC06 (HSF6)
2 CCTL-8	9 VAL5	20 HUES12	33 HUES28	
	10 VAL7	21 HUES14	34 HUES42	NSCB / WICell (USA)
NSCB / Technion (Israel)	11 VAL10b	22 HUES16	35 HUES44	43 WA01 (H1)
3 TE03 (I3)		23 HUES17	36 HUES45	44 WA07 (H7)
	Harvard University (USA)	24 HUES18	37 HUES49	45 WA09 (H9)
NSCB / ES Cell International (Singapore)	12 HUES2	25 HUES19	38 HUES53	46 WA13 (H13)
4 ES02 (HES-2)	13 HUES3	26 HUES20	39 HUES62	47 WA14 (H14)
5 ES03 (HES-3)	14 HUES4	27 HUES21		
6 ES05 (HES-5)	15 HUES5	28 HUES22	NSCB / Novocell (USA)	
7 ES06 (HES-6)	16 HUES6	29 HUES23	40 BG01 (BGN-01)	
	17 HUES7	30 HUES24	41 BG03 (BGN-03)	

hES cell lines

reference samples

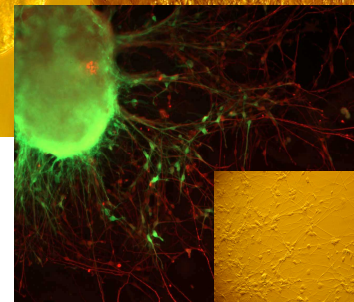
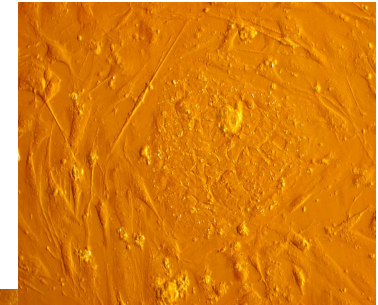
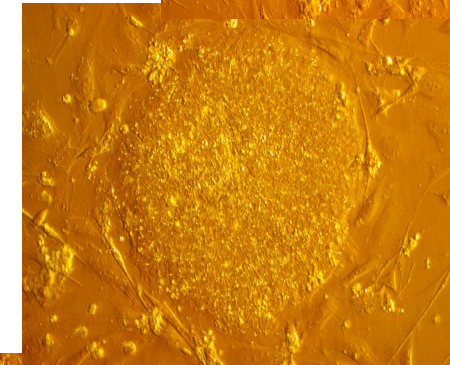
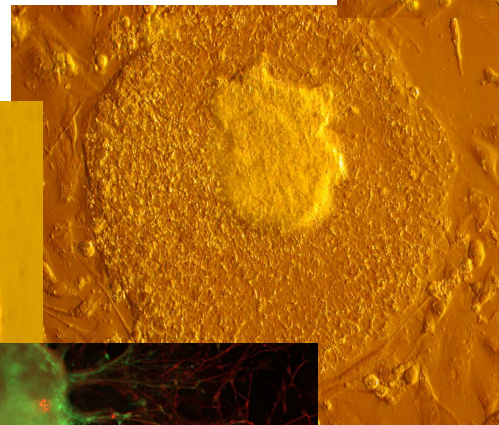
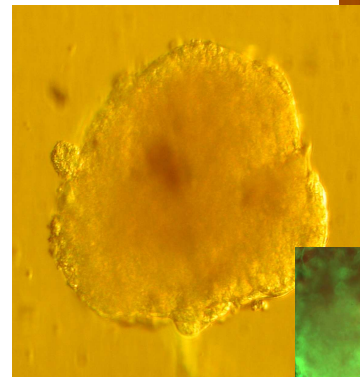
<ul style="list-style-type: none"> Africa Europe Middle East C/S Asia East Asia Oceania America 	<ul style="list-style-type: none"> Adygei Balochi Bantu Kenya Bantu (S. Africa) Basque Bedouin Biaka Pygmy Brahui Burusho Cambodian Colombian Dai Daur Druze French Han Han (N. China) Hazara Hezhen Italian Japanese Kalash Karitiana Lahu Makrani Mandenka Maya Mbuti Pygmy Melanesian Miao Mongola Mozabite Naxi Orcadian Oroqen Palestinian Papuan Pathan Pima Russian San Sardinian She Sindhi Surui Tu Tuja Tuscan Uyghur Xibo Yakut Yi Yoruba 	<ul style="list-style-type: none"> ASW (African American) CEU (N. & W. European) CHB (Han Chinese) CHD (Han Chinese) GIH (Gujarati) JPT (Japanese) LWK (Luhya) MKK (Maasai) TSI (Toscani) YRI (Yoruba)
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tolerable HLA mismatch?

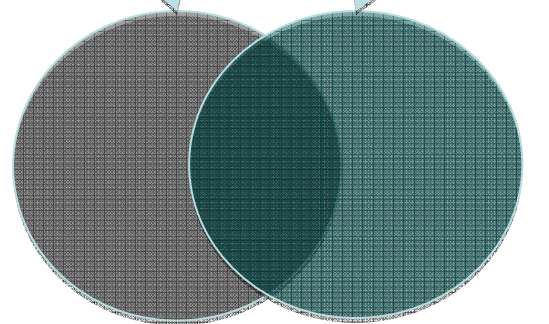
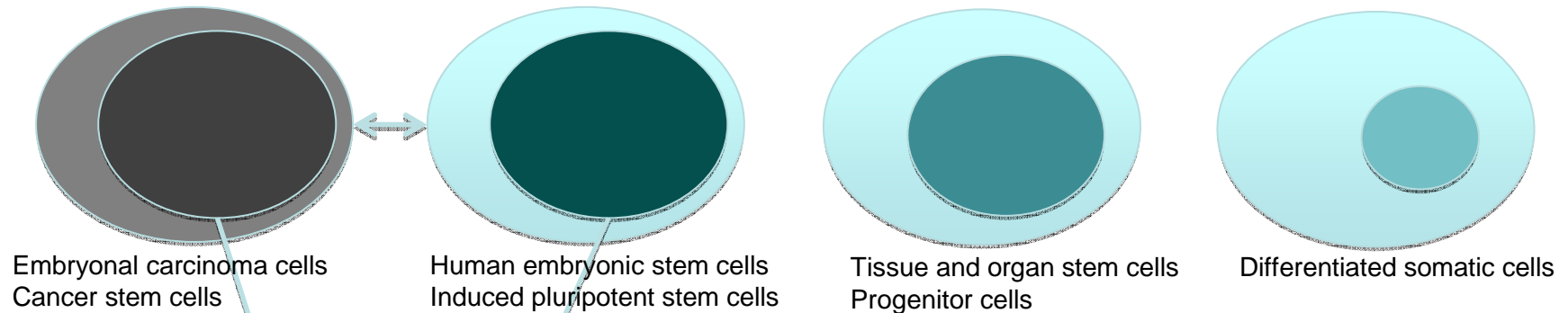
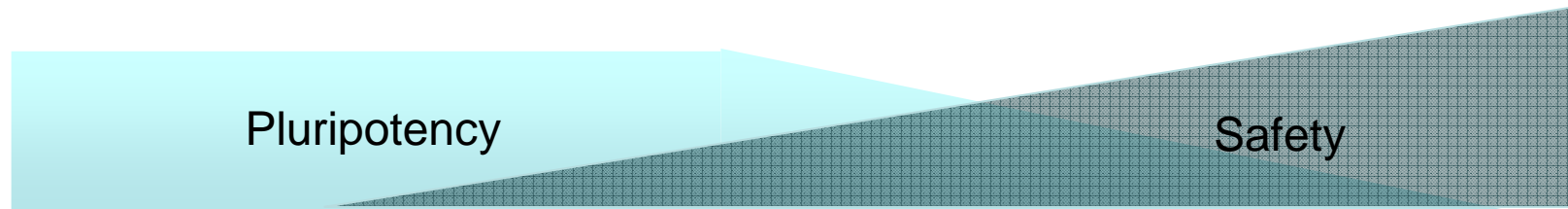
- Cell banks?
- Gene targeting?
- iPS cells?

Pokroky v diferenciaci lidských embryonálních KB - biologické modely a aplikace

- Neurony, astrocyty, oligodendrocyty
- Kardiomyocyty
- Insulin-produkující pankreatické buňky
- Krevní buňky
- Imunokompetentní buňky
- Endoteliální buňky
- Buňky trofoblastu
- Respiratorní buňky
- Osteoblasty
- Hepatocyty
- Melanocyty
- Buňky prostaty
- Zárůdečné buňky

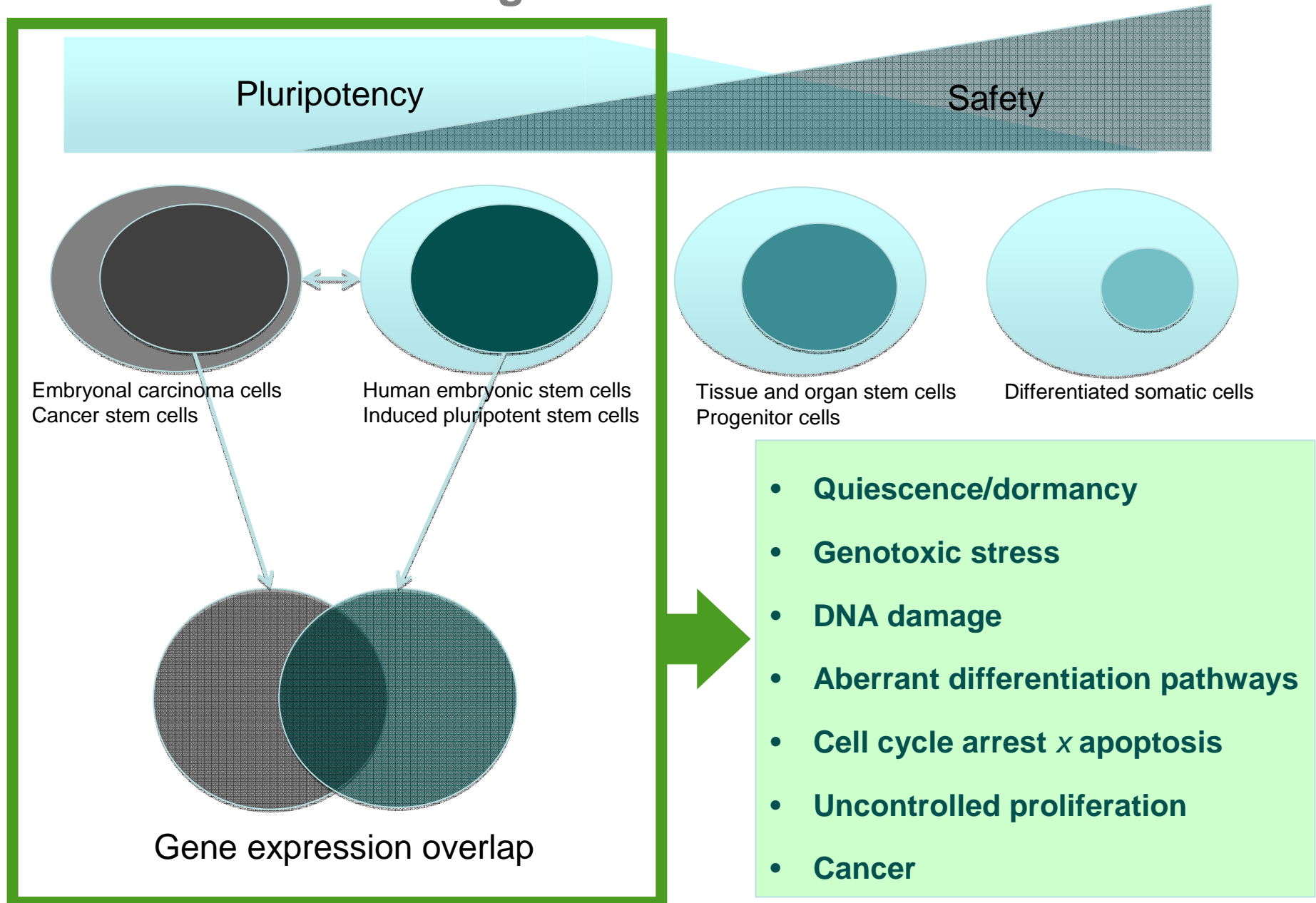


Tumor formation is still a concern!



Cancer stem cell hypothesis
Tumors are maintained by a small population of stem cells that might even be at the origin of a tumor and are the only cells capable of tumor re-initiation

...however pluripotent stem cells hold great promise for the understanding of human disease!



Pluripotent stem cells in treatment of human diseases

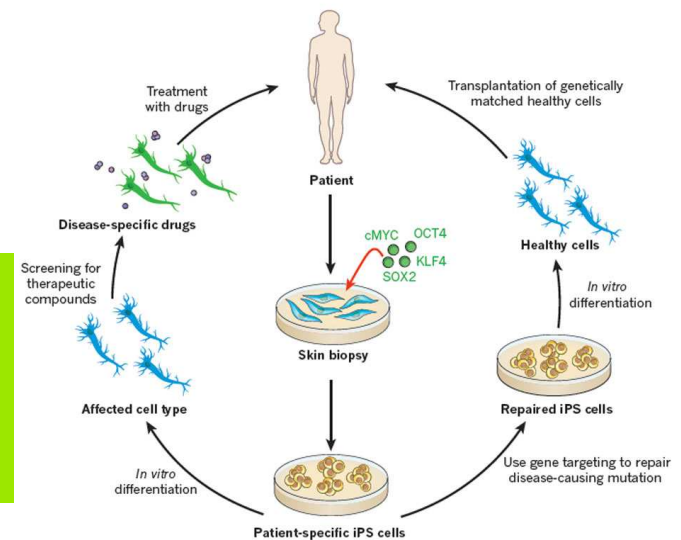
Three major access roads to get:

- Generation of mutant pluripotent stem cells for studies of the pathophysiology of diseases and drug development

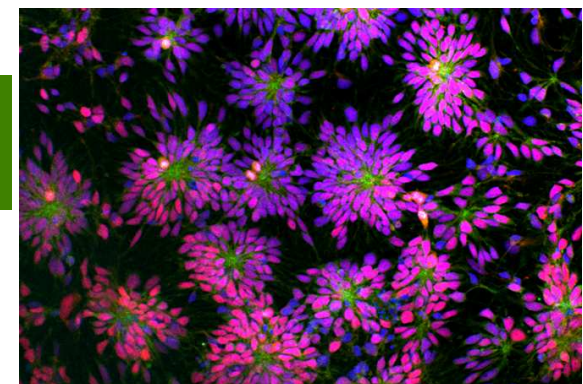
- *Ex vivo* repair of genetic mutations in patient-derived somatic cells that are reprogrammed into pluripotent stem cells (iPS cells) followed by differentiation into desired cell types and transplantation

- Replacement of missing or damaged cells by functional cells derived from pluripotent stem cells

← About 45 human diseases modelled with iPS cells
13 diseases phenocopied in differentiated cells



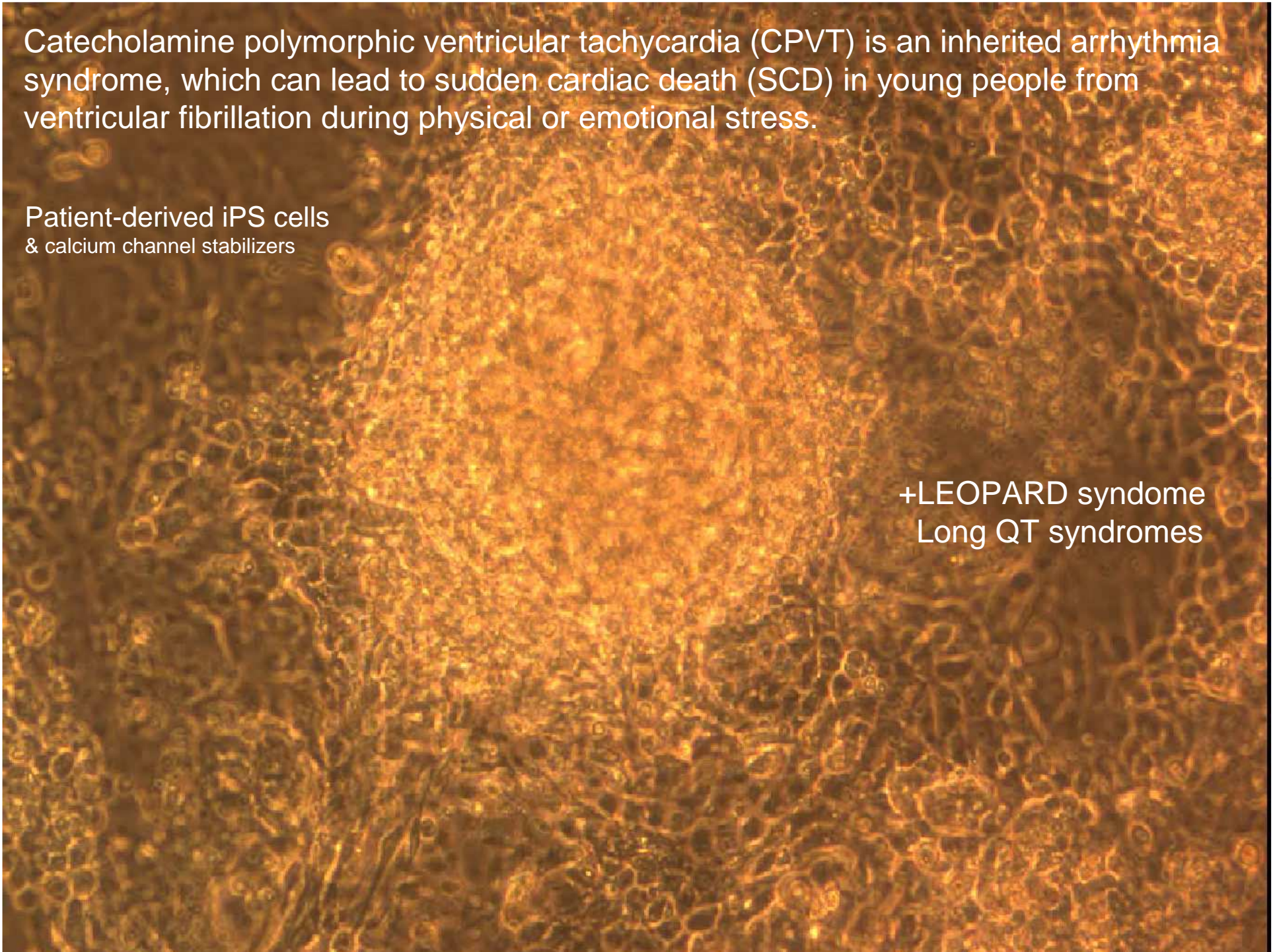
From Robinton and Daley, *Nature*, 481:295, 2012



Catecholamine polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) is an inherited arrhythmia syndrome, which can lead to sudden cardiac death (SCD) in young people from ventricular fibrillation during physical or emotional stress.

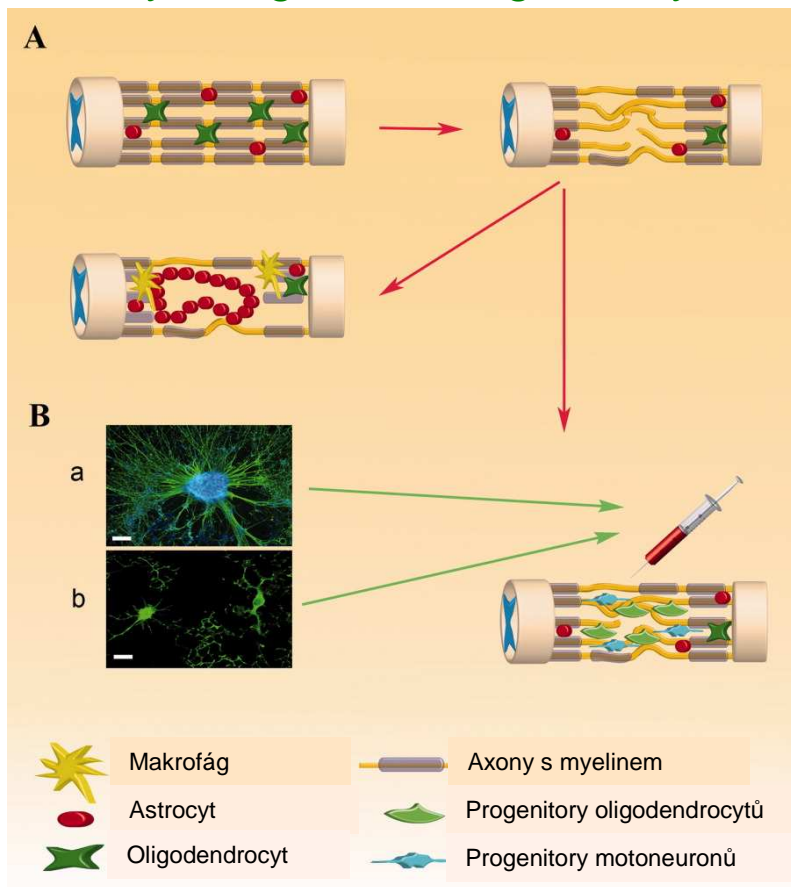
Patient-derived iPS cells
& calcium channel stabilizers

+LEOPARD syndrome
Long QT syndromes

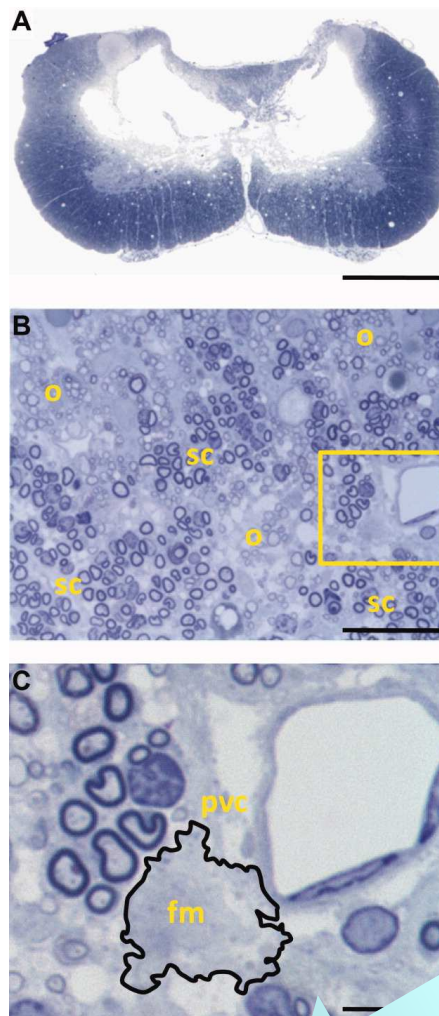


Příklad: traumatické poškození krční míchy, myelopatie a léčba kmenovými buňkami

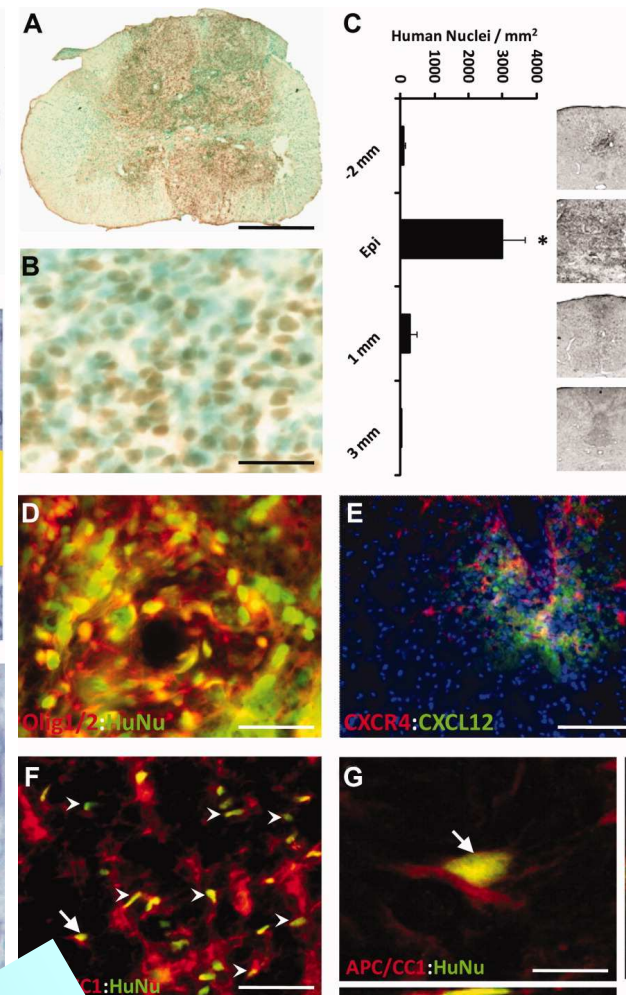
Patofyziologie a strategie léčby KB



Anatomie poškození



Stav po transplantaci



Výsledek: obnovení bílé a šedé hmoty v místě poškození
obnovení funkčnosti motorických neuronů
obnovení pohybových funkcí

Model: laboratorní potkan

Adaptováno ze Stem Cells, 2010

Phase 1 clinical trials using GMP-grade hES cells

- Spinal cord injury – *hES cell-derived oligodendrocytes*
- Stargardt macular dystrophy and dry age-related macular degeneration – *hES cell-derived RPE cells*



Thank you for your attention!



Petr Dvorak
Masaryk University
Brno, Czech Republic

Definice I.

- **Embryonální KB** jsou buňky embryonálního původu se schopností sebeobnovy, multiliniové diferenciaci *in vitro* a *in vivo*, klonogenní kapacitou, normálním karyotypem, dostatečnou proliferační kapacitou *in vitro* v definovaných podmínkách a schopností hlubokého zamrazení a rozmrazení bez výrazné ztráty životaschopnosti. Kombinace těchto vlastností je nazývána “kmenovostí” (stemness).

Definice II.

- **Dospělé KB** jsou buňky s klonálním potenciálem, které jsou za fyziologických podmínek přítomné v různých orgánech a tkáních, sebeobnovují se, a průběžně, nebo když dostanou vnější signál, začínají diferencovat a vytvářejí funkčně specializované buňky potřebné k regeneraci orgánů a tkání.

Definice III.

- **Indukované pluripotentní buňky** (tzv. induced pluripotent stem cells; iPS cells) jsou buňky vytvořené z dospělých diferencovaných buněk (tj. somatických buněk) pomocí „jednoduché“ metody - geny kodující několik (2-4) transkripčních faktorů jsou klonovány do virového vektoru a jednoduchým přidáním takových vektorů do *in vitro* kultury somatických buněk (např. fibroblastů) dojde za určitých podmínek k „reprogramaci“ buněk do pluripotentního embryonálního stavu.