

REVIEW
DERLEME

The Use of Induced Pluripotent Stem Cells in Medicine

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücrelerin Tıpta Kullanımı

Şefik Güran, Zehra Dilşad Çoban

ABSTRACT
ÖZET

Induced pluripotent stem cells with self renewal and differentiation abilities were established from mature cells by transcription factors. These cells may be used in regenerative medicine as embryonic stem cells. Recently a mutated gene in a cell obtained from a mouse which had a genetic disease was corrected by gene targeting techniques. These cells were converted into induced pluripotent stem cell by using transcription factor genes and transferred into the same mouse. As a result, the clinical findings of genetic disease mostly disappeared in the mouse. In this manuscript, the new uses of induced pluripotent stem cells in medicine were discussed.

Key words: Embryonal carcinoma stem cells, induced pluripotent stem cell, regenerative medicine, gen

Kendinin benzerini oluşturma ve tüm hücrelere farklılaşma özellikleri olan indüklenmiş pluripotent kök hücreler, fare olgun hücrelerinden transkripsiyon faktörleri eklenerek oluşturulur. Bu hücrelerin rejeneratif tıpta embriyonal kök hücre gibi kullanılabilme özelliği vardır. Son olarak yapılan bir çalışmada genetik bir hastalığa sahip fareden alınan hücredeki mutant bir gen, hedef geni düzelten teknoloji kullanılarak düzeltilmiştir. Bu hücre transkripsiyon faktör genleri aktararak indüklenmiş pluripotent kök hücre formuna döndürülmüş ve elde edilen hücreler aynı hasta fareye aktarılmıştır. Sonuçta farede genetik hastalığa ait klinik bulguların çoğunlukla düzeldiği görülmüştür. Bu yazıda uyarılmış pluripotent kök hücrelerin tıpta kullanımını konusundaki yeni gelişmeler ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Embriyonal karsinom kök hücreleri, uyarılmış pluripotent kök hücreler, rejeneratif tıp, gen

Giriş

Bir hücreye gen aktarımı ve buna bağlı ortaya çıkan yeni teknolojiler günümüzde büyük gelecek vaat etmektedir. Gen aktarımı metodları, başta genetik hastalıklar ve kanser olmak üzere birçok hastalıkta kullanılabilir. Bu yolla hatalı bir gen düzeltilebilir, aşırı aktif bir gen susturulabilir (gene silencing), delesyona uğramış veya inaktif olan bir genin yerine gen eklenebilir (1, 2). Ayrıca erişkin kişinin somatik hücrelerinden kök hücre benzeri uyarılmış pluripotent kök hücre-UPKH (induced pluripotent stem cell) elde edilebilir (3-5).

UPKH Elde Edilmesi

Embriyonal kök hücreler-EKH (Embryonal stem cell) embriyodan blastokist evresinde elde edilmektedir. EKH' ler uygun yönlendirildiğinde bir canlıya ait tüm doku ve organları yapabilme yeteneğine sahiptir. Ancak bu hücreler erişkin bir bireyde bulunmaz. Erişkinlerde bulunan kök hücreler az da olsa farklı oldukları için yeni bir canlı oluşturma veya tüm dokulara farklılaşma gibi yetenekleri sınırlandırılmıştır (6). Rejeneratif tıpta önemli olan o kişiye ait kök hücrelerin farklı dokuları oluşturabilme yeteneğidir. Bu nedenle kök hücre ile yapılacak rejeneratif tedavilerde kişiye özgün EKH özelliği gösteren hücrelere gereksinim vardır. Bu sorunun çözümünde en büyük adım 2006 yılında iki Japon bilim adamı tarafından atılmıştır. Yamanaka ve Takahashi embriyonal dönemde önemli olan dört transkripsiyon faktörünün genini (*Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4*, *myc*) erişkin somatik hücrelerine aktararak erişkin hücrelerini tekrar programlamışlar (reprogramming) ve EKH benzeri fonksiyonları olan hücreler elde etmişlerdir. Günümüzde uyarılmış pluripotent kök hücre-UPKH (induced pluripotent stem cell) olarak adlandırılan bu hücreler aynı EKH gibi kendini çoğaltma (self renewing) ve farklı dokulara değişebilme özelliklerine (pluripotency) sahiptir. Aynı zamanda organizma için önemli olan üç farklı germ yaprağını (ektoderm, endoderm ve mezoderm) içeren teratom benzeri yapılar oluşturabilmektedir (6). Bu nedenle bu hücreler doku mühendisliği çalışmalarına çok uygundur. Uygun koşullarda pankreasın Langerhans adacığın hücrelerine benzer forma döndürülüp diabetes mellitus tedavisinde kullanılabilir (7-9). İnsan ölümlerinde halen önemli bir yeri olan miyokard enfarktüsü gibi dejeneratif hastalıklarda tedavi edici rolü olabilir (10). Ancak İPKH elde etmede kullanılan *myc* geni onkogen yapısındadır. Kanser oluşturma potansiyelinden dolayı günümüzde *myc* geni kullanmadan UPKH elde etme çalışmaları yoğunluk kazanmıştır (11-13).

UPKH Uygulamalarında Karşılaşılan Problemler

Uyarılmış pluripotent kök hücre elde etmenin esasında viruslarla gen aktarımı vardır. Bu nedenle gen aktarımında olan tüm problemler UPKH' lerde de karşımıza çıkar. Günümüzde gen transferinde genellikle viruslar kullanılmakta-

Gülhane Askeri Tıp
Akademisi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı,
Ankara, Türkiye

Submitted/Geliş Tarihi
16.02.2012

Accepted/Kabul Tarihi
12.04.2012

Correspondance/Yazışma
Dr. Şefik Güran
Gülhane Askeri Tıp
Akademisi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, 06018 Etlik,
Ankara, Türkiye
Phone: +90 312 304 35 51
e.mail: sefguran@yahoo.com

©Copyright 2012
by Erciyes University School of
Medicine - Available on-line at
www.erciyesmedicaljournal.com
©Telif Hakkı 2012
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Makale metnine
www.erciyesmedicaljournal.com
web sayfasından ulaşılabilir.

dır. Virus ile aktarılabilecek genin büyüklüğü sınırlıdır. Virüsler hedef hücreye gen aktarımında oldukça yetersizdir. Aktarılan hücrede aktif bir genin ortasına yerleşerek istenmeyen mutasyonlar oluşturabilir. Viral yapı aktarılan hücrede kısa sürede fark edilmekte ve gen etkisiz hale getirilebilmektedir. Eğer UPKH insanda kullanılacaksa gen transferi ile ilgili sorunların da çözülmesi gereklidir (14, 15). Bu nedenlerle son yıllarda virus olmadan (virus free) gen aktarımı veya gen aktarılmadan (integration free) UPKH elde edilmesi yöntemleri denenmektedir (15, 16). Hücre DNA'sına özgün olan transpozonlar kullanılarak hedefe giden gen transferi yapılmaya çalışılmaktadır (gene transfer by piggyBac transposon) (15, 17, 18).

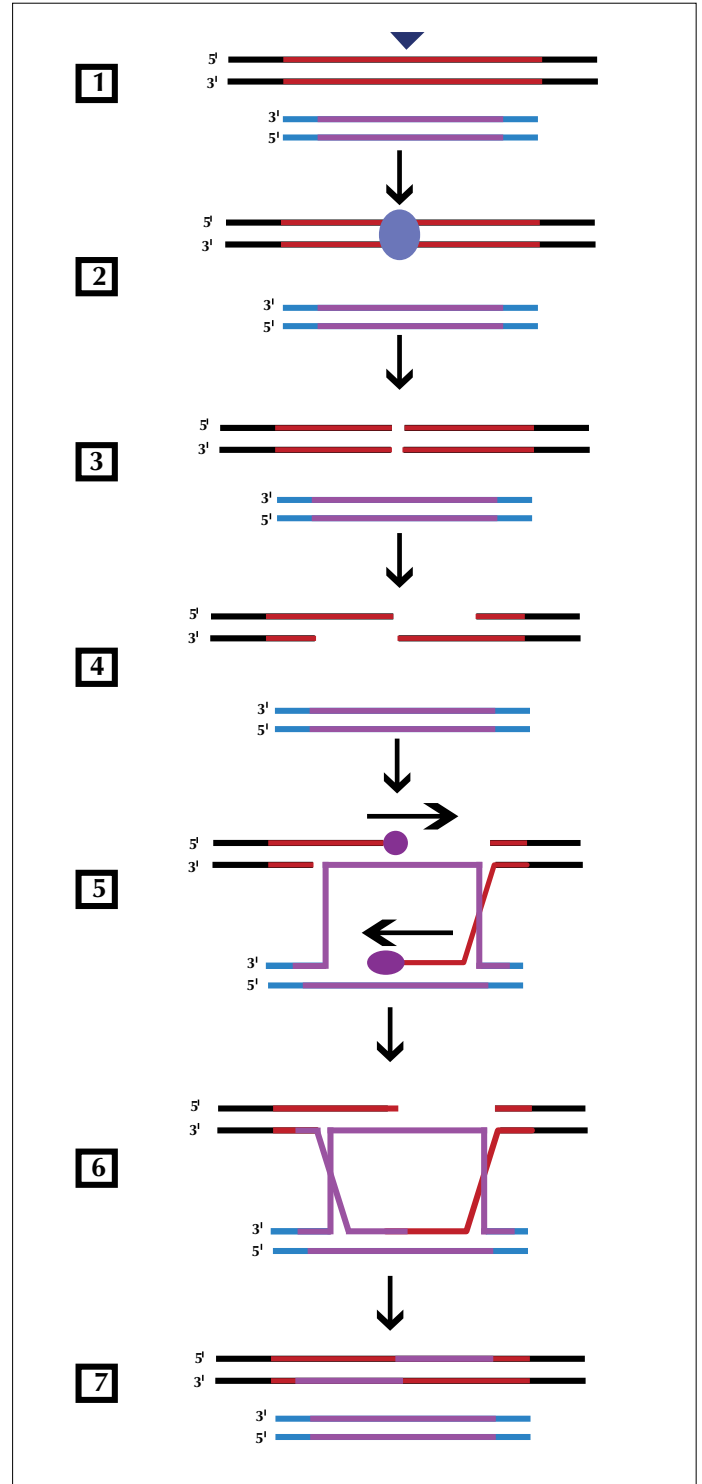
Uyarılmış pluripotent kök hücre protokolü basittir. Ancak bu protokolle halen UPKH elde etmede başarı oranı oldukça düşüktür. Bu nedenle bu süreçte hücrede bölünmeyi arttırmak için mayotik oositlere veya mitotik zigotlara çekirdek transferi denenmektedir. Bu yolla oosit ve zigot sitoplazmasında bulunan maternal transkripsiyon faktör Glis 1 gibi moleküllerin etkilerinden yaralanılmaya çalışılmaktadır (19, 20).

Uyarılmış pluripotent kök hücre ile EKH'ler fonksiyonları kadar morfolojileri, hücre yüzey belirteçleri (marker) ve gen ifadesi (expression) özellikleri açısından birbirine çok benzerler (21). Ancak yine de UPKH'leri EKH'lerden ayıran bazı özellikler tanımlanmaktadır (22). EKH'den elde edilen teratom için organizmada immün tolerans gelişirken, UPKH ile elde edilen teratomda immün rejeksiyon gelişmektedir. Mikroarray çalışmalarında UPKH'lerden elde edilen teratomda *hormad 1* ve *Zg 16* genlerinden aşırı protein yapımı tanımlanmış, aynı bulgu EKH ile elde edilen teratomda gösterilmemiştir. Çalışmalar UPKH'ler ile elde edilen teratomda immün rejeksiyona bağlı tümörün küçülmesinin bu tümöre karşı organizmada gelişen özgün T hücre cevabına bağlı olduğunu ortaya koymaktadır (23). UPKH'lerde EKH'lerde tanımlanmayan birçok genetik ve epigenetik değişiklikler saptanabilmektedir. Bu bulgular UPKH'lerden kanser oluşabileceğini göstermesi açısından önemlidir (9, 12).

Hastalıkların Tedavisinde UPKH Uygulamaları

Son yıllarda geliştirilen rekombinasyon teknolojisi ile gen düzeltme çalışmaları, UPKH çalışmaları ile birleştirilerek tek gen hastalıklarının tedavisinde kullanılır aşamaya getirilmiştir (24, 25). Normalde bir hücrede genetik yazılımı biri anneden biri babadan olmak üzere iki kopyadır. Hücre çoğalmasında ortaya çıkan genetik rekombinasyonda birbirinin kopyası olan bu alellerin yan yana geldiği bilinmektedir. Bu aşamada DNA'dan DNA sentezinde (replication) DNA polimeraz enzimi şeker fosfat omurgasından kopuk bir DNA dizisi ile karşılaştığında diğer aleldeki sağlam genetik dizinin kopyasından yararlanmakta, sentezi hatasız tamamlamaktadır (26).

Bu yöntem günümüzde özellikle tek gene ait mutasyonların düzeltilmesi aşamasında kullanılmaktadır. Hücre içinde hatalı gen bir özel restriksiyon enzimi aracılığı ile kesilir. Burada sık kullanılan restriksiyon enzimi hedef DNA'ya bağlandıktan sonra şeker fosfat omurgasını kesen "Zinc Finger Nuclease"-ZFN dir (27). ZFN ile hedef bölgede DNA kesimi yapıldıca DNA polimeraz enzimi hücreye aktarılmış normal geni kalıp olarak alır ve sentezi tamamlar. Bu yolla hücrede mutasyonlu olan bölgede mutasyon ortadan kalkarak, gen tamir edilmektedir (site directed gene correction) (27-29) (Şekil 1). Benzer yolla deney hayvanlarında belli gen mutasyonları da oluşturulabilmektedir (site-directed mutagenesis) (30).



Şekil 1. ZFN enzimi ile hücrede hedef genin düzeltilmesi

1. Üst sırada yer alan DNA dizisi hedef alınan belli bir gen bölgesidir. Gen ok ile gösterilen bölgeden hastalık ile ilgili mutasyonu taşımaktadır. Alt sırada yer alan DNA dizisi ise bu bölgeye vektör ile gönderilen mutasyon taşımayan gen bölgesidir.
2. ZFN enzimi hedef mutasyona sahip gen bölgesini tanıır, bağlanır.
3. ZFN enzimi nükleaz enzim aktivitesi ile DNA'yı keser.
4. Hücrede bulunan ekzonükleazlar kesilen bölgede 5' uca ait DNA'yı ortamdan uzaklaştırarak DNA sentezinde kalıp olarak alınacak 3'DNA bölgelerini açığa çıkarır.
5. Açıkta kalan DNA bölgeleri bu bölge ile ilgili normal geni taşıyan hücreye taşıyıcı vektör aracılığı ile aktarılan gen bölgelerini yanına çeker. DNA polimeraz kalıp olarak alınacak DNA dizisine göre mutant gen bölgesindeki eksik olan bölgeyi tamamlar.
6 ve 7. Elde edilen yeni DNA dizisi normal gen kalıp olarak alındığı için mutasyon taşımamaktadır (27-30)

Günümüzde orak hücre anemisi benzeri tablo oluşturmuş farelerde, yine aynı teknoloji kullanılarak orak hücre anemisinde etkilenen β -globin gen bölgesine ait mutasyon düzeltilebilmektedir. Sadece hematopoietik progenitor hücreler üzerinde yapılan bu çalışmada elde edilen hücrelerin farede kalıcı iyilik oluşturması için UPKH haline döndürülmesi gereklidir. Bu da özellikle myc geni dışında bırakılarak diğer üç transkripsiyon faktörü ile (*Oct 3/4*, *Sox2* ve *Klf4*) veya bunlara yine bir transkripsiyon faktörü olan *Nanog* geni eklenerek yapılmaktadır. Mutasyon taşımayan hücrelerin kök hücre benzeri yapıya dönmesinin ardından elde edilen UPKH'ler hasta fareye kemik iliği nakli ile aktarılmıştır. Bu gen tedavi uygulaması ile hasta farede orak hücre anemisine ait bulguların çoğunun düzeldiği gözlenmiştir (14, 27, 31).

Son yıllarda, erken yaşlanma ile karakterize genetik hastalıklarda hücrede çekirdek membranı kararlılığını sağlayan ve çekirdek membranını karyoplazmada bir kılıf gibi saran lamin moleküllerinin mutasyonları ortaya konmuştur (26, 32). Bu grup içinde yer alan nadir gözlenen de insan yaşlanması için bir örnek model olduğu düşünülen Hutchinson-Gilford Progeria Sendromunda lamin kodlayan LMNA genine ait bir nokta mutasyonu tanımlanmaktadır. LMNA geninde nokta mutasyonuna sahip hücrelerde gen tamiri ve oluşturulan sağlam hücrelerin UPKH olarak kullanımı ile farelerde klinik tabloda iyileşme sağlanmıştır (33).

Nöronların etkilendiği nöropsikiyatrik hastalıklarda, kişiye özgün uygun nöron hücrelerinin elde edilmesi tedavide yeni yaklaşım protokollerinin ortaya çıkmasını sağlayabilir. Bu amaçla nöroektodermal kökenli saç kılından alınan keratinositlerden elde edilen UPKH'lerin tekrar programlanması ile insan nöron hücrelerine benzer hücreler elde edilmiştir (3, 34, 35). Elde edilen nöron benzeri hücrelerin tümü ile nöronlara benzemez; farklılıklar özellikle UPKH' de gen ve genomda değil de bu genlere sonradan eklenen metil (CH_3) gibi küçük yapılarla oluşan değişiklikler nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Genin kendisinde değil de ona eklenen moleküllerde olan değişiklikler, epigenetik değişiklik olarak adlandırılır. Bu farklılıklar hücrede bazen aynı bir mutasyon gibi etki göstermekte, genin protein sentezinin bozulmasına veya durmasına neden olabilmektedir. Bu değişiklikler nedeni ile hücrelerde tümör oluşumu saptanabilmektedir (35, 36). Bu nedenle UPKH' ler ile nöron benzeri yapılar elde edilse de normal nöron yapısından farklı epigenetik değişikliklerin varlığı aynı bir gen mutasyonu gibi algılanmalıdır (35). Sonuçta bu hücrelerin insanda kullanımının önünde engel oluşturmayan bu epigenetik değişikliklerin de yakın gelecekte düzenlenmesi gereklidir. Ancak bu aşamadan sonra organizma için kanser oluşturma riski olmayan bir nöron yapılanmasına dönen UPKH nörodegeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılacaktır (37). Yazımızda tanımlanan teknolojilerin uygulanması teorikte kolay gibi algılsa da pratikte halen gen aktarımının efektif olmasının önünde ciddi sorunlar vardır. Birçok çalışmanın ancak çok azında hücreler UPKH yapılanması kazanmaktadır. Daha etkin ve problem oluşturmayan gen aktarım metodlarının bulunması çok önemlidir (10, 11, 14).

Ancak geni düzeltilen bir hücrede kök hücre benzeri UPKH edilmesi ile kalıtsal bir hastalıkta iyileşme sağlanması önemlidir. Görünen odur ki, gen aktarım teknolojilerde ortaya çıkacak gelişmelerle kalıtsal ve/veya yaygın dağılım gösteren pek çok hastalıkların kalıcı tedavileri mümkün olabilecektir (10, 11).

Teşekkür

Dr. Şefik Güran, 1992 yılında Gülhane Askeri Tıp Akademisinde lenfomalardaki genetik değişiklikler konusunda Doktorasını tamamlamış,

doktora sonrası çalışmalar için iki yıl Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York-USA' da bulunmuştur. Yaklaşık beş yıldır pluripotent kök hücreler konusunda deneysel çalışmaları ve konu ile ilgili yayınlanmış çalışmaları olması nedeni ile bu yazının hazırlanması Dr. Güran'dan istenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Candolfi M, Kroeger KM, Muhammad AK, Yagiz K, Farrokhi C, Pechnick RN, et al. Gene therapy for brain cancer: combination therapies provide enhanced efficacy and safety. *Curr Gene Ther* 2009; 9(5): 409-21. [CrossRef]
2. Guran S. [Proceeded diagnosis and therapy in eye diseases under the light of developments in molecular biology and genetics]. *Gulhane Medical Journal* 2011; 53(1): 74-6.
3. Nanou A, Azzouz M. Gene therapy for neurodegenerative diseases based on lentiviral vectors. *Prog Brain Res* 2009; 175: 187-200. [CrossRef]
4. Plath K, Lowry WE. Progress in understanding reprogramming to the induced pluripotent state. *Nat Rev Genet* 2011; 12(4): 253-65. [CrossRef]
5. Meir YJ, Weirauch MT, Yang HS, Chung PC, Yu RK, Wu SC. Genome-wide target profiling of piggyBac and Tol2 in HEK 293: pros and cons for gene discovery and gene therapy. *BMC Biotechnol* 2011; 11: 28. [CrossRef]
6. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76. [CrossRef]
7. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318(5858): 1917-20. [CrossRef]
8. Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature* 2009; 461(7260): 86-90. [CrossRef]
9. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Cassady JP, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 2007; 318(5858): 1920-23. [CrossRef]
10. Yoshida Y, Yamanaka S. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration. *Circulation* 2010; 122(1): 80-7. [CrossRef]
11. Zacharias DG, Nelson TJ, Mueller PS, Hook CC. The science and ethics of induced pluripotency: what will become of embryonic stem cells? *Mayo Clin Proc* 2011; 86(7): 634-40. [CrossRef]
12. Blum B, Benvenisty N. The tumorigenicity of diploid and aneuploid human pluripotent stem cells. *Cell Cycle* 2009; 8(23): 3822-30. [CrossRef]
13. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 2008; 26(1):101-6. [CrossRef]
14. Denèfle PP. Introduction to gene therapy: a clinical aftermath. *Methods Mol Biol* 2011; 737: 27-44. [CrossRef]
15. Wu G, Liu N, Rittelmeyer I, Sharma AD, Sgotta M, Zaehres H, et al. generation of healthy mice from gene-corrected disease-specific induced pluripotent stem cells. *PLoS Biol* 2011; 9(7): e1001099. [CrossRef]
16. Woltjen K, Michael IP, Mohseni P, Desai R, Mileikovsky M, Hämläinen R, et al. A piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009; 458(7239): 766-70. [CrossRef]
17. Kaji K, Norrby K, Paca A, Mileikovsky M, Mohseni P, Woltjen K. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. *Nature* 2009; 458(7239): 771-5. [CrossRef]
18. Wilson MH, Coates CJ, George AL Jr. PiggyBac transposon-mediated gene transfer in human cells. *Mol Ther* 2007; 15(1): 139-45. [CrossRef]
19. Egli D, Rosains J, Birkhoff G, Eggan K. Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. *Nature* 2007; 447(7145): 679-85. [CrossRef]

20. Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, Shibukawa R, Kodanaka I, Ichisaka T, et al. Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature* 2011; 474(7350): 225-9. [\[CrossRef\]](#)
21. Lako M, Armstrong L, Stojkovic M. Induced pluripotent stem cells: it looks simple but can look deceive? *Stem Cells* 2010; 28(5): 845-50.
22. Fong CY, Gauthaman K, Bongso A. Teratomas from pluripotent stem cells: A clinical hurdle. *J Cell Biochem* 2010; 111(4): 769-81. [\[CrossRef\]](#)
23. Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, Xu Y. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; 474(7350): 212-5.
24. Zou J, Mali P, Huang X, Dowey SN, Cheng L. Site-specific gene correction of a point mutation in human iPS cells derived from an adult patient with sickle cell disease. *Blood* 2011; 118(17): 4599-608. [\[CrossRef\]](#)
25. Terzi YK, Guran S. [The Biology of Stem Cells and The Role of Stem Cells in Hematological Malignancies]. *Cumhuriyet Medical Journal* 2012, 34(2): 235-41. [\[CrossRef\]](#)
26. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. DNA Replication, repair and recombination. *Molecular Biology of The Cell*. 5th ed. New York: Garland Science 2008. p. 263-328.
27. Sebastiano V, Maeder ML, Angstman JF, Haddad B, Khayter C, Yeo DT, et al. In situ genetic correction of the sickle cell anemia mutation in human induced pluripotent stem cells using engineered zinc finger nucleases. *Stem Cells* 2011; 29(11): 1717-26. [\[CrossRef\]](#)
28. Sancho-Martinez I, Nivet E, Izpisua Belmonte JC. The labyrinth of nuclear reprogramming. *J Mol Cell Biol* 2011; 3(6): 327-9. [\[CrossRef\]](#)
29. Kim JH, Kononenko A, Erliandri I, Kim TA, Nakano M, Iida Y, et al. Human artificial chromosome (HAC) vector with a conditional centromere for correction of genetic deficiencies in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(50): 20048-53. [\[CrossRef\]](#)
30. Wong GK, Chiu AT. Gene therapy, gene targeting and induced pluripotent stem cells: applications in monogenic disease treatment. *Biotechnol Adv* 2011; 29(1): 1-10. [\[CrossRef\]](#)
31. McCune SL, Reilly MP, Chomo MJ, Asakura T, Townes TM. Recombinant human hemoglobins designed for gene therapy of sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(21): 9852-6. [\[CrossRef\]](#)
32. Prokocimer M, Davidovich M, Nissim-Rafinia M, Wiesel-Motiuk N, Bar DZ, Barkan R, et al. Nuclear lamins: key regulators of nuclear structure and activities. *J Cell Mol Med* 2009; 13(6): 1059-85. [\[CrossRef\]](#)
33. Osorio FG, Navarro CL, Cadiñanos J, López-Mejía IC, Quirós PM, Bartoli C, et al. Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging. *Sci Transl Med* 2011; 3(106): 106-7. [\[CrossRef\]](#)
34. Petit I, Salman Kesner N, Karry R, Robicsek O, Aberdam E, Müller FJ, et al. Induced pluripotent stem cells from hair follicles as a cellular model for neurodevelopmental disorders. *Stem Cell Res* 2012; 8(1): 134-40. [\[CrossRef\]](#)
35. Guran S, Kence A, Gurata A, Akyerli CB, Sayın DB, Krabulut HG, et al. [Genetik terimler sözlüğü] 1. Baskı, Ankara: Semih Ofset; 2004,. p. 49.
36. Guran S, Yakıcıer C. [New horizon on molecular biology: biochip technology] *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2003; 23(5): 416-9.
37. Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, Kokubu Y, Südhof TC, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature* 2010; 463(7284): 1035-41. [\[CrossRef\]](#)