
Inducerade pluripotenta stamceller – nya löften och möjligheter för forskning och terapi

RAS TROKOVIC OCH DAN LINDHOLM

Stamceller är omogna celler med förmåga till självförnyelse och till att bilda kroppens olika celltyper. Det finns olika typer av stamceller där de nyligen beskrivna inducerade pluripotenta stamcellerna (iPSC) har en stor potential när det gäller medicinsk forskning och cellterapi. I denna artikel ges en kort beskrivning av bakgrunden till iPSC, deras biologi och potentiella användningsmöjligheter inom medicinen och för behandling av mänskliga sjukdomar.

Vad är en stamcell?

För att kunna besvara frågan vad iPSC egentligen är för något, måste vi först se på definitionen av en stamcell. Kännetecknade för en stamcell är dess inneboende förmåga till självförnyelse, en oändlig förmåga att dela på sig och ge upphov till två identiska kopior eller dotterceller. Stamceller kan betecknas som kroppens cellulära byggstenar som förekommer under fosterutvecklingen men även i den fullvuxna organismen. Embryonala stamceller bildar alla vävnader i kroppen medan vuxna, adulta stamceller utgör en vävnadsreservoar för att ersätta andra celler efter skada eller vid sjukdom. Denna förmåga till självläkning har gjort terapi med stamceller medicinskt attraktiva vid ett flertal mänskliga sjukdomar som påvisar förlust av specifika celltyper. Trots lovande utsikter att med stamcellsterapi kunna lindra sjukdom och höja livskvaliteten hos patienter, är forskningen med stamceller i flera länder kontroversiell speciellt i fråga om de embryonala stamcellerna. Detta beror på att mänskliga embryonala stamceller främst isolerats från aborterade foster, vilket har aktualiserat flera etiska frågeställningar. Den senaste utvecklingen på området med odling av iPSC från vuxna mänskliga celler innebär ett stort genombrott (1), och utökar våra möjligheter för medicinsk användning av stamceller både inom forskningen och

vid flera patientinriktade tillämpningar och terapi.

Stamceller med olika potens

Stamcellerna delar sig i princip oändligt men kan under inverkan av yttre faktorer och ett inre genetiskt program mogna ut eller differentiera till en eller flera olika celltyper. Beroende på sin potential att bilda andra

FÖRFATTARNA

PhD Ras Trokovic har doktorerat i utvecklingsbiologi 2003 vid Helsingfors universitet. Han har tidigare forskat vid Minerva men är nu forskare på Biomedicums Stamcellscentrum. Hans forskning gäller humana embryonala stamceller och betaceller i bukspottkörteln och understöds av ESTOOLS-konsortiet inom EU:s forskningsprogram.

MKD Dan Lindholm doktorerade år 1984 vid Helsingfors universitet. Han har varit professor i neurobiologi vid Uppsala universitet 1994–2007, och professor i cell- och molekylärbiologi vid Helsingfors universitet 2007. Han forskar nu på Minerva i hjärnans stamceller och i neurodegenerativa sjukdomar.

celltyper indelas stamcellerna i totipotenta, pluripotenta och adulta stamceller.

En *totipotent stamcell* uppstår vid befruktning genom fusion av en spermie och en äggcell som sedan delar sig vidare. Totipotenta stamceller utgör de allra tidigaste cellerna i embryot och kan ge upphov till alla embryonala och extraembryonala organ hos fostret.

De *pluripotenta stamcellerna* kan isoleras från det inre cellagret hos blastocysten och kan bilda de tre groddbladen under den tidiga utvecklingen.

Adulta stamceller har en begränsad differentieringsförmåga och förekommer i små mängder i vävnader hos den vuxna organismen, såsom i benmärgen och i hjärnan. Dessa stamceller lokaliseras till särskilda vävnadsnischer och kan normalt differentiera ut till celler som är typiska för just den vävnaden. Dock finns i litteraturen beskrivet att de olika vävnadsstamcellerna kan genomgå en så kallad transdifferentiering, dvs. omvandling av en form av celler till en annan, även om detta normalt sker i en ganska ringa utsträckning.

Vuxna stamceller har av många betraktats som det enda beaktansvärda alternativet för cellulära terapier med stamceller nu och i framtiden. De vuxna stamcellerna leder sällan eller aldrig till tumörbildning. Terapin med vuxna stamceller är därför inte kontroversiell och de används redan nu vid transplantation av blodstamceller vid behandling av leukemier och av andra blodsjukdomar. Vuxna mesenkymala stamceller kan användas i flertal kliniska tillämpningar för att ersätta vävnad eller främja läkningsprocessen. Transplantation av autologa stamceller har även den fördelen att man undviker immunologiska reaktioner i form av avstötning av transplanterade organ, vävnader eller celler. I Finland gjordes nyligen en banbrytande insats när det gäller tillämpningen av stamcellsterapi för vävnadsrekonstruktion av käkbenet efter avlägsnandet av en tumör (2). Behandlingen gick ut på att från bukfettet hos den opererade patienten först odla celler till att bilda benceller inne i en titanmodell som motsvarade käkbenet. Den rekonstruerade benbiten opererades sedan några månader senare in i patientens överkäke som ersättning för den förlorade benvävnaden (2).

Stamceller från navelsträngen räknas även till adulta stamceller och används för terapi vid bl.a. blodsjukdomar. Med tanke på preventiv medicin har det även framförts att man generellt kunde ta till vara stamceller från navelsträngen i samband med ett barns födsel,

och frysa ner dessa celler för framtida behov senare i livet som ersättning för vävnader efter skada eller vid sjukdom. Denna typ av verksamhet finns delvis redan i USA men har inte slagit igenom i större utsträckning. I Finland är det Röda Korsets Blodtjänst som har hand om verksamheten med navelsträngsstamceller, vilket regleras av Läkemedelsverket och i framtiden även av biobanklagen som är under beredning (3).

Trots sina uppenbara terapeutiska fördelar har vuxna vävnadsstamceller även sina begränsningar. Det har att göra med deras ringa antal, svårigheten att isolera och kultivera dem samt deras förmåga att ge upphov till endast ett fåtal vävnadsspecifika celltyper.

Embryonala stamceller (ES)-celler är pluripotenta celler som kan odlas i cellkultur och instrueras till att under rätta betingelser mogna ut till olika celltyper i kroppen. De första fynden när det gäller mänskliga stamceller gjordes redan på 1960-talet av de kanadensiska forskarna, Ernest McCulloch och James Till (4). ES-celler isolerades sedan från möss 1981 (5, 6) och från primater så sent som 1995 (7). I slutet på 1990-talet gjordes sedan de första försöken med humana ES-celler (8).

ES-celler kan användas till att besvara grundläggande biologiska frågor om livets ursprung, den tidiga celldifferentieringen, och samspelet mellan gener och yttre faktorer vid embryo- och organogenesen. Förutom detta är ES-cellerna viktiga i terapisyfte samt för diagnostiska och andra ändamål. Som ovan nämnts är bruket av humana ES-celler förknippat med en hel räckta både etiska och praktiska problem, vilket gjort det svårare att forska om dem i vissa länder. I Finland och i Sverige samt i vissa andra länder har man tillåtit forskning på humana ES-celler från befruktade ägg i syfte att lindra och bota svåra sjukdomar. Det är viktigt att inse att all forskning med mänskliga ES-celler genomgår rigorös kontroll och kräver godkända etiska tillstånd. Forskningen har även gått framåt med stormsteg och gett nya insikter så gott som varje månad. Med avseende på terapiförsök har myndigheten Food and Drug Administration (FDA) i USA nyligen godkänt bruket av oligodendrocytprekursorer från humana ES-celler. Oligodendrocyterna bildar det skyddande myelinet kring nervcellens axonen, och prekursorererna används för utvärdering av behandling av subakuta ryggmärgsskador hos människa. Det finns självfallet även risker med ES-cellsterapi, där risken för tumörbildning är en allvarlig möjlighet att beakta.

Tabell I.

Framställning av iPS-celler hos olika arter med en kombination av transkriptionsfaktorerna, KMOS.

Faktorer för induktion av iPS-celler (referens)	Kommentarer: IPS-celler
Celler från MUS och MÄNNISKA	
KMOS (1, 10, 11)	Den första rapporten om iPS-celler med könsöverföring
KOS (12).....	utan c-Myc
KMOS (13).....	med plasmiduttryck utan DNA-integration
OS (14).....	tillsats av kemikalier och utan c-Myc
O (15).....	från vuxna neuronala stamceller
MOS (16)	utan K-faktorn
KMOS (17, 24).....	med tillsats av rekombinanta protein
KMOS (18, 21, 22).....	med transposonuttryck
KMOS (23).....	utan virala vektorer och genom tillämpning av gensystemet Cre/Lox
RÅTTA	
KOS (19)	med KOS och kemiska inhibitorer
APA	
KMOS (20).....	från Rhesusapan
GRIS	
KMOS (39).....	från gris

Nukleär reprogrammering

Humana ES-celler kan isoleras från överblivna provrörsembryon eller skapas genom somatisk cellkärnsöverföring. I det sistnämnda fallet avlägsnas cellkärnan hos det befruktade ägget och ersätts med en kärna tagen från en vuxen kroppscell.

Historiskt sett gjordes de första försöken med nukleär programmering av John Gurdon redan på 1960-talet i försök med grodyngel (8). Han kunde visa att man genom att ersätta cellkärnan hos ett groddagg med en cellkärna från en mogen grodcell kunde skapa en högst normal groda. Denna styrningsmekanism kan liknas vid ett byte av programkortet i en dator mot ett nytt med annan information. Praktiskt innebär den nukleära omprogrammeringen att den vuxna cellens information dvs. dess uppsättning av aktiva läsbara gener förändras till att motsvara den som är karakteristisk för kärnan hos en omogen cell.

Efter de första lyckade experimenten fortsatta man med nukleär reprogrammering i flera laboratorier, och man klonade bl.a. fåret Dolly, vilket skapade stora rubriker över hela världen (9). Sedermera har flera andra djurarter klonats och delar av denna verksamhet har även blivit kommersiell – på både gott och ont. Lärdomen av alla dessa försök är att nukleär reprogrammering visserligen är möjlig men att metoden är bemängd med tekniska svårigheter, såsom en låg frekvens av lyckade försök

och med en otäck möjlighet att skapa ibland mindre livsduglig avkomma. Utvecklingsbiologiskt sett visade experimenten med nukleär programmering att celldifferentiering inte är en irreversibel process och att den kan styras av gener som ligger latenta i vuxna celler men som reaktiveras under vissa omständigheter liknande dem i en embryonal äggcell. Hur många och vilka dessa gener eventuellt var, förblev länge höljt i dunkel. När man sedan fick svaren på dessa frågor var de lika oväntade som eleganta.

Inducerade pluripotenta stamceller

I experiment med cellstyrning kunde den japanska forskaren Shinya Yamanaka nyligen visa att endast fyra transkriptionsfaktorer (protein som i ett nätverk reglerar uttrycket av andra gener) behövs för att reprogramera en vuxen bindvävs cell (fibroblast) till en pluripotent stamcell med förmåga att bilda andra celltyper (1, 10). De fyra gener det rörde sig om har fått namnen Klf4, c-myc, Oct4 och Sox2 (KMOS) och de är alla högt uttryckta i tidiga stamceller. Med hjälp av retrovirus kunde dessa KMOS-gener uttryckas i vuxna fibroblaster för att bilda pluripotenta stamceller som därför kallades inducerade pluripotenta stamceller (iPS-stamceller). De nya rönen publicerades hösten 2006 och formligen revolutionerade stamcellsforskningen (10). För sina bedrifter tilldelades Shinya Yamaka,

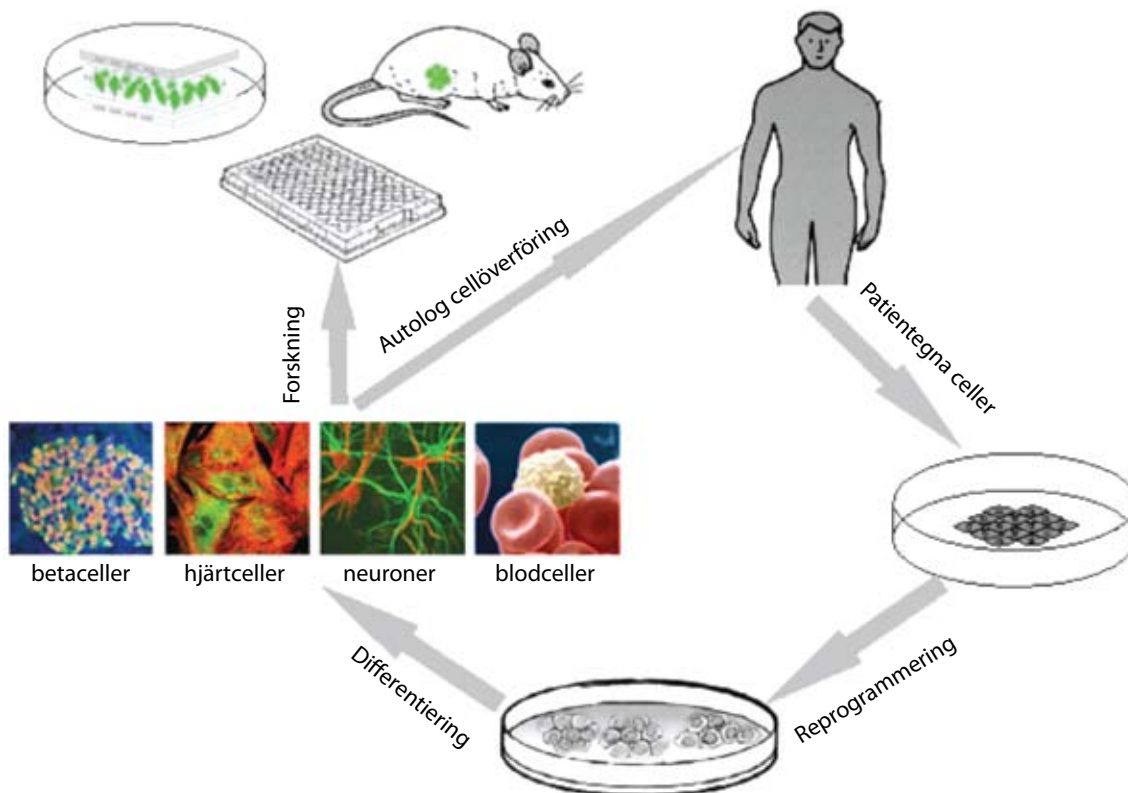
nu 47 år, i oktober 2009 det renommerade Laskerpriset i USA tillsammans med John Gurdon, pionjären inom studier av nukleär reprogrammering. The Lasker Awards anses vara en av medicinens förnämsta utmärkelser, och till saken hör att flera Laskerpristagare senare även förlänats Nobelpriset.

De första försöken med iPS-celler gjordes med fibroblaster från mus och sedan med mänskliga fibroblaster från hudbiopsier. Det visade sig att det tämligen enkelt och förutsägbart går att framställa iPSC hos de flesta arter inklusive människa, apa, gris, gnagare efter uttryck av de fyra KMOF-faktorerna (Tabell I). Det har även visat sig att iPSC går att få fram utgående från nästan alla vuxna celltyper. Förutom fibroblaster har man sålunda använt sig av celler från blodet, levern, magen,

bukspottskörteln, nerv- och fettvävnad, och från keratinocyter m.fl., (Tabell I). Nyligen har dessutom maligna eller immortaliserade celler använts för att bilda iPS-celler, och i med detta kan man närmare studera grundläggande frågor som gäller humana cancerformer och tumörbildning (32, 33).

iPS-cellerna och medicinen

När det gäller förhållandet till övriga stamceller är iPS-cellerna i allt väsentligt lika ES-cellerna, och liksom dessa kan iPS-cellerna ge upphov till i princip alla de över 200 olika celltyperna i kroppen. Den uppenbara fördelen med iPS-celler är att man framställer dem från vuxna celler och slipper använda fostervävnad. Med tanke på olika mänskliga



Figur 1.

Möjliga tillämpningar av iPS-celler inom medicinen. Patientegna celler tas exempelvis från hudbiopsier och odlas i cellkulturer att bilda iPS-celler genom nukleär reprogrammering. Dessa differentieras sedan till specifika celltyper som kan användas i forskningssyften eller vid transplantation av vävnader eller cellaggregat till patienten. De patientegna iPS-cellerna kan fungera som en modell av sjukdomen i cellkulturer samt användas för farmakologisk prövning av olika läkemedel och för analys av mekanismer och signalvägar som orsakar sjukdomsförloppet hos patienten. Detta förfarande kan på sikt leda till mer rationella och skräddarsydda terapier för olika sjukdomar i framtiden.

sjukdomar är en annan fördel att iPSC kan framställas från patientegna celler. Dessa kan differentieras enligt behov till den celltyp som man önskar studera och senare användas för cellbehandling eller vid transplantation. En attraktiv idé härvidlag är att iPSC-cellerna och deras cellderivat används för farmakologisk testning av olika läkemedel för behandling av specifika sjukdomar (Figur 1). Det är även möjligt att medels iPSC skapa sjukdomsmodeller i provrör och forska vidare på dessa med gängse cell- och molekylärbiologiska tekniker. Exempel på sådana tillämpningar finns redan i fråga om ett antal viktiga mänskliga sjukdomar (Tabell II). Nuvarande patientnära möjligheter och terapigebit när det gäller iPSC-cellerna visas schematiskt i Figur 1. Det är klart att andra möjligheter för medicinsk användning och manipulation av iPSC-cellerna tillkommer framöver när väl kunskapen om dessa celler ökar.

I detta nu är flera viktiga frågor obesvarade om iPSC-cellernas biologi och vilken potentiell roll dessa celler kan spela inom medicinen. De första försöken med iPSC förutsatte retroviralt uttryck av de fyra KMOSgenerna (1, 10). Detta kan i princip leda till ogynnsamma effekter på genuttrycket och t.o.m. orsaka tumörbildning. Denna nackdel har man därför på olika sätt försökt kringgå bl.a. genom att använda sig av andra vektorkonstruktioner eller genom att framställa iPSC-stamceller med ett mindre antal faktorer. Bland fyrväpplingen KMOS är speciellt c-myc-transkriptionsfaktorn en viktig onkogen i cellen och behövs för celldelningen. Men c-Myc kan även bidra till tumörbildning under vissa omständigheter och ett transient uttryck av faktorn vore därför att föredra. Därutöver har färsk forskning visat att proteinet p53 vilket är en känd tumörsuppressör (motverkar tumörer) även påverkar iPSC-cellbildningen (33–35) som därför även bör beaktas noggrant (36). Det är uppenbart att frågor om säkerhet och kontroll av celldifferentieringen och en eventuell tumörbildning är lika viktiga och aktuella aspekter med hänsyn till terapier med iPSC-stamceller som de är för ES-cellerna (37). Vi vet tyvärr ännu för litet om detta, men forskningen på det här området är stadd i snabb utveckling och nya rön kommer att öka våra kunskaper även i dessa frågor. Det är troligt att det i framtiden blir möjligt att framställa iPSC-celler med ett antal kemikalier eller efter tillsats av bestämda småmolekylära substanser eller läkemedel och på ett sätt som är både snabbare och enklare än det nuvarande förfarandet (38).

Tabell II. Exempel på iPSC-celler från patienter med olika sjukdomar.

Sjukdom	Referens
Gauchers sjukdom typ II	25
Duchennes muskeldystrofi	25
Downs syndrom	25
Parkinsons sjukdom	25, 26
Juvenil diabetes mellitus	25, 27
Huntingtons sjukdom	25
Lesch–Nyhans syndrom	25
Amyotrofisk lateralskleros	28
Spinal muskulär atrofi	29
Fanconianemi	30
Familjär dysautonomi	31

PhD Ras Trokovic
Biomedicums stamcellscentrum
Haartmansgatan 8
00290 Helsingfors
ras.trokovic@helsinki.fi

Prof. Dan Lindholm
Medicinska Forskningsinstitutet Minerva
Biomedicum 2U
Stockholmsgatan 8
00290 Helsingfors
dan.lindholm@helsinki.fi

Referenser

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861–872.
2. Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J, Mauno J, Lindqvist C, Kontio R, Miettinen S, Suuronen R. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 38: 201–209.
3. Kääriäinen H: Biobanker-vad är det frågan om? *Finska Läkaresällskapets Handlingar* 2009; 16813–15.
4. Wu AM, Siminovitch L, Till JE, McCulloch EA. Evidence for a relationship between mouse hemopoietic stem cells and cells forming colonies in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 59:1209–15.
5. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292:154–156.
6. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7634–38.
7. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282:1145–47.
8. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*. 1962;10:622–640.

9. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810–813.
10. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006 25;126:663–676.
11. Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007; 448: 313–317.
12. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Okita K, Mochiduki Y, Takizawa N, Yamanaka S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol.* 2008; 26: 101–106.
13. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 2008; 322: 949–953.
14. Huangfu D, Osafune K, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, Chen S, Muhlestein W, Melton DA. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nat Biotechnol.* 2008;26:1269–75.
15. Kim JB, Greber B, Araúzo-Bravo MJ, Meyer J, Park KI, Zaehres H, Schöler HR. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature* 2009;461:649–653.
16. Lysiotis CA, Foreman RK, Staerk J, Garcia M, Mathur D, Markoulaki S, Hanna J, Lairson LL, Charette BD, Bouchez LC, Bollong M, Kunick C, Brinker A, Cho CY, Schultz PG, Jaenisch R. Reprogramming of murine fibroblasts to induced pluripotent stem cells with chemical complementation of Klf4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 8912–17.
17. Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, Trauger S, Bien G, Yao S, Zhu Y, Siuzdak G, Schöler HR, Duan L, Ding S. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 381–384.
18. Yusa K, Rad R, Takeda J, Bradley A. Generation of transgene-free induced pluripotent mouse stem cells by the piggyBac transposon. *Nat Methods* 2009;6:363–369.
19. Li W, Wei W, Zhu S, Zhu J, Shi Y, Lin T, Hao E, Hayek A, Deng H, Ding S. Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors. *Cell Stem Cell* 2009; 4:16–19.
20. Liu H, Zhu F, Yong J, Zhang P, Hou P, Li H, Jiang W, Cai J, Liu M, Cui K, Qu X, Xiang T, Lu D, Chi X, Gao G, Ji W, Ding M, Deng H. Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell* 2008; 3: 587–590.
21. Kaji K, Norrby K, Paca A, Mileikovskiy M, Mohseni P, Woltjen K. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. *Nature* 2009; 458: 771–775.
22. Woltjen K, Michael IP, Mohseni P, Desai R, Mileikovskiy M, Hämäläinen R, Cowling R, Wang W, Liu P, Gertsenstein M, Kaji K, Sung HK, Nagy A. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009; 458: 766–770.
23. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, Hargus G, Blak A, Cooper O, Mitalipova M, Isacson O, Jaenisch R. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 2009; 136: 964–977.
24. Kim D, Kim CH, Moon JI, Chung YG, Chang MY, Han BS, Ko S, Yang E, Cha KY, Lanza R, Kim KS. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 472–476.
25. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, Lensch MW, Cowan C, Hochedlinger K, Daley GQ. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134:877–886.
26. Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Soldner F, Broccoli V, Constantine-Paton M, Isacson O, Jaenisch R. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:5856–61.
27. Maehr R, Chen S, Snitow M, Ludwig T, Yagasaki L, Golland R, Leibel RL, Melton DA. Generation of pluripotent stem cells from patients with type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:15768–773.
28. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Golland R, Wichterle H, Henderson CE, Eggan K. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 2008;321:1218–21.
29. Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009; 457: 277–280.
30. Raya A, Rodríguez-Piñá I, Guenechea G, Vassena R, Navarro S, Barrero MJ, Consiglio A, Castellà M, Rífo P, Sleep E, González F, Tiscornia G, Garreta E, Aasen T, Veiga A, Verma IM, Surrallés J, Bueren J, Izpisua Belmonte JC. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009; 460: 53–59.
31. Lee G, Papapetrou EP, Kim H, Chambers SM, Tomishima MJ, Fasano CA, Ganat YM, Menon J, Shimizu F, Viale A, Tabar V, Sadelain M, Studer L. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 2009; 461:402–406.
32. Utkal J, Polo JM, Stadtfeld M, Maherali N, Kulalert W, Walsh RM, Khalil A, Rheinwald JG, Hochedlinger K. Immortalization eliminates a roadblock during cellular reprogramming into iPS cells. *Nature* 2009; 460:1145–48.
33. Marión RM, Strati K, Li H, Murga M, Blanco R, Ortega S, Fernandez-Capetillo O, Serrano M, Blasco MA. A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity. *Nature* 2009; 460: 1149–53.
34. Hong H, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Kanagawa O, Nakagawa M, Okita K, Yamanaka S. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53-p21 pathway. *Nature* 2009; 460:1132–35.
35. Kawamura T, Suzuki J, Wang YV, Menendez S, Morera LB, Raya A, Wahl GM, Belmonte JC. Linking the p53 tumour suppressor pathway to somatic cell reprogramming. *Nature* 2009;460:1140–44.
36. Krizhanovskiy V, Lowe SW. Stem cells: The promises and perils of p53. *Nature* 2009; 460:1085–86.
37. Miura K, Okada Y, Aoi T, Okada A, Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Ohnuki M, Ogawa D, Ikeda E, Okano H, Yamanaka S. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol.* 2009;27:743–745.
38. Lin T, Ambasudhan R, Yuan X, Li W, Hilcove S, Abujarour R, Lin X, Hahm HS, Hao E, Hayek A, Ding S. A chemical platform for improved induction of human iPSCs. *Nat Methods.* 2009 Oct 18.
39. Ezashi T, Telugu BP, Alexenko AP, Sachdev S, Sinha S, Roberts RM. Derivation of induced pluripotent stem cells from pig somatic cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106:10993–98.