

# Cambiando la identidad celular para crear una verdadera medicina personalizada

Changing cell identity to create true personalized medicine

Mohammed A. Mostajo-Radji<sup>1,a,b</sup>, Leonardo M.R. Ferreira<sup>1,b,c</sup>

## Resumen

El Premio Nobel 2012 en Fisiología o Medicina fue concedido a Sir John Gurdon y Shinya Yamanaka por sus avances en la reprogramación celular. Estos descubrimientos no sólo cambiaron nuestra visión del proceso de diferenciación celular, pero también tienen el potencial de revolucionar la medicina. Proporcionando una breve contextualización histórica y un resumen sucinto de las metodologías actuales, presentamos los principales avances en la investigación básica, así como sus posibles aplicaciones en la clínica. Esta revisión tiene como objetivo proporcionar un panorama general del estado actual sobre el campo de reprogramación celular y sus implicaciones terapéuticas.

**Palabras claves:** reprogramación celular; células madre; pluripotencia; medicina personalizada.

## Abstract

The 2012 Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded to Sir John Gurdon and Shinya Yamanaka for their breakthroughs in cellular reprogramming. These discoveries not only changed our view of the process of cell fate determination, but also hold the potential to revolutionize medicine. By providing a brief historical context and a succinct summary of the current methodologies, we present the major advances in basic research, as well as their potential applications to the clinic. This review aims to provide a concise overview of the current state of the field and its implications for therapy.

**Keywords:** cellular reprogramming; stem cells; pluripotency; personalized medicine.

Experimentos en reprogramación nuclear, han desafiado la idea de que cambios genéticos son responsables de la subdiferenciación de linajes celulares. En 1962, Sir John Gurdon demostró que el núcleo de células diferenciadas de intestinos de *Xenopus laevis*, podían generar animales sanos al ser transferidos a huevos enucleados. Es muy interesante que, al tomar células de embriones clonados, parcialmente desarrollados y transferirlos a nuevos huevos enucleados, el éxito era significativamente mayor<sup>1</sup>. Complementados con la generación de la oveja Dolly, el primer mamífero clonado de células diferenciadas<sup>2</sup>, estos experimentos demostraron que cambios epigenéticos reversibles son los responsables de la diversidad de tejidos en un organismo.

Las células madres embrionarias son naturalmente pluripotentes, ya que tienen dos características específicas: la capacidad de auto-renovarse y la posibilidad de ser diferenciadas en cualquier tipo de célula en el cuerpo<sup>3</sup>. Una pregunta fundamental que quedó por ser explorada en los experimentos en clonación, plantea lo siguiente: ¿cuáles son los factores necesarios para revertir estos cambios epigenéticos, y llevar a las células a un estado embrionario? Experimentos en fusión celular dejaron en claro que factores de transcripción son necesarios y suficientes para alterar el paisaje epigenético de las diferentes células<sup>4</sup>. Sin embargo, no fue hasta que el japonés Shinya Yamanaka generó células pluripotenciales inducidas (iPS, por sus siglas en inglés) mediante la introducción de factores exógenos a células epiteliales de ratones y humanos, que

estos factores fueron identificados<sup>5,6</sup>.

Si bien la reversión a estado embrionario fue elegantemente demostrada, la conversión directa de un linaje celular a otro, sin pasar por un estado embrionario, es de mayor interés, ya que permitiría la rápida producción de células necesarias para pacientes afectados por diferentes enfermedades<sup>7</sup>.

En esta revisión bibliográfica se discutirán los diferentes procesos de reprogramación, tanto directa como a través de la formación de células iPS, seguida por diferenciación *in vitro* (figura 1). Además, se debatirán las ventajas de la reprogramación en la medicina personalizada y la investigación científica.

## Pluripotencia inducida: La prueba máxima de conservación genética y plasticidad celular

Las primeras pruebas de que pluripotencia puede ser inducida a los diferentes tipos de células provenientes de los experimentos en clonación. Si bien la oveja Dolly fue el primer mamífero formalmente clonado<sup>2</sup>, esta fue derivada de células mitóticas mamarias. Es por esto que, la clonación de Dolly no dejó en claro si todas las células terminalmente diferenciadas adultas pueden ser inducidas a pluripotencia. De hecho, los autores no estaban seguros si la célula donante era terminalmente diferenciada o si era una célula progenitora en las glándulas mamarias. La clonación de ratones a partir de linfocitos maduros B y T, en la cual el genoma había sido recombinado<sup>8</sup>, y la clonación a partir de neuronas postmitóticas del bulbo olfatorio<sup>9</sup>, demostraron inequívocamente que células terminalmente diferenciadas pueden dar origen a animales sanos. Aunque la clonación exitosa ha sido obtenida de múltiples células donantes, esta no ha sido definida en todos los tipos de células. Por ejemplo, Yagi y colegas fallaron en clonar animales sanos a partir de neuronas corticales postnatales<sup>10</sup>.

Las células madres embrionarias son pluripotentes y son

<sup>1</sup>Department of Molecular and Cellular Biology; Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University. Cambridge, Massachusetts, United States of America.

<sup>2</sup>Biocientífico; <sup>3</sup>Investigador de Células Madre y Biología Regenerativa; <sup>4</sup>Bioquímico

<sup>5</sup>Correspondencia a: Mohammed A. Mostajo-Radji,

Dirección: 7 Divinity Avenue, Cambridge, MA, 02138, United States of America.

Correo electrónico: mmostajoradji@fas.harvard.edu

Recibido el 6 de noviembre 2012. Aceptado el 19 de noviembre de 2012

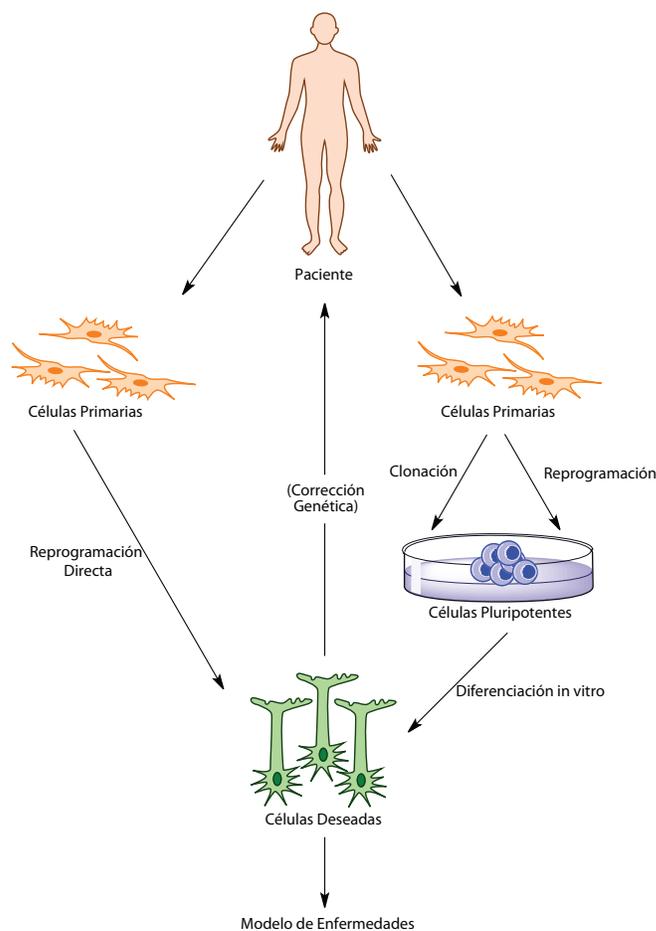
el estándar de oro en el campo de la pluripotencia inducida. Las primeras células madres embrionarias mamíferas fueron derivadas en 1981<sup>11</sup>. Sus contrapartes humanas fueron obtenidas en los años 90<sup>12,13</sup>. Sin embargo, su uso es extremadamente controversial, ya que son obtenidas a partir de la masa celular interna de blastocitos, y por tanto, este proceso destruye necesariamente al embrión en desarrollo<sup>14</sup>. Una manera de esquivar los problemas éticos y técnicos de generar células madres, ya sea por derivación directa a partir de un embrión o por clonación, es la inducción a pluripotencia en células diferenciadas<sup>7</sup>. La investigación revolucionaria de Yamanaka y otros colegas, ha demostrado que la expresión forzada de solamente cuatro factores de transcripción, es suficiente para reprogramar células adultas a un estado equivalente al embrionario<sup>5,6</sup>. Aunque el trabajo original fue desarrollado en fibroblastos, estos principios han sido mantenidos en múltiples sistemas<sup>7,15</sup>, incluyendo neuronas postmitóticas postnatales<sup>16</sup>.

Originalmente, las células pluripotenciales inducidas (iPS) fueron obtenidas a través de infección viral<sup>5,15</sup>. Lamentablemente, estos métodos integraban el genoma viral dentro del receptor, disminuyendo las aplicaciones médicas, ya que la integración viral ha sido anteriormente asociada con el desarrollo de tumores, y con la expresión residual de los factores exógenos<sup>17</sup>. Desde entonces, métodos alternativos han sido desarrollados. Es de gran relevancia mencionar a los métodos basados en expresión de ARN<sup>18,19</sup> y administración directa de proteínas recombinantes<sup>20</sup>.

Problemas adicionales en la generación de células iPS para usos médicos incluyen el difícil mantenimiento de las mismas en cultivos *in vitro*; y las diferencias entre las células iPS y células embrionarias naturales. Recientes avances desarrollados por Chad Cowan y colegas, han optimizado el cultivo, retención y modificación genética de células pluripotentes; usando medios de cultivos sin productos animales<sup>21</sup>. Finalmente, las diferencias y similitudes entre células iPS y células madres embrionarias han sido sujetas a extenso análisis por distintos grupos. Hasta el momento no se han encontrado diferencias consistentes entre células iPS y células embrionarias *bona fide*<sup>22,23</sup>.

### Reprogramación directa: Forzando células a cambiar su identidad

Aunque la producción de células iPS es muy atractiva para el campo de la medicina, esta también tiene algunas desventajas, como ser la baja eficiencia de reprogramación y los largos tiempos requeridos para la derivación, validación y diferenciación en el tipo de células deseadas<sup>7</sup>. Sorprendentemente, varios grupos han logrado reprogramar directamente un tipo de células terminalmente diferenciadas en otro subtipo, sin necesidad ir por el estado embrionario. Inicialmente, investigadores de la Universidad de Pennsylvania, demostraron la conversión directa de fibroblastos, condroblastos y células epiteliales a mioblastos; gracias a la sobreexpresión de factores de transcripción necesarios para el desarrollo musculoesquelético<sup>24</sup>. Estos resultados inspiraron la búsqueda de combinaciones necesarias para generar otros tipos de células directamente. Uno



**Figura 1. Aplicaciones de la reprogramación celular en la medicina.**

Existen dos maneras de generar células específicas para pacientes. La manera más rápida es por la reprogramación directa de células donantes a células deseadas. Sin embargo, la manera más utilizada es la inducción de pluripotencia en células donantes, ya sea a través de clonación o de reprogramación. Estas células pluripotentes pueden posteriormente ser diferenciadas en células deseadas. Las células deseadas son después utilizadas para modelar enfermedades *in vitro* o para ser transplantadas nuevamente al paciente.

de los primeros ejemplos proviene del sistema inmunológico, donde se logró la conversión de linfocitos B a macrófagos<sup>25</sup>. Ejemplos adicionales incluyen la reciente conversión directa de fibroblastos en cardiomiocitos<sup>26</sup> y células Sertoli<sup>27</sup>.

La producción directa de células del sistema nervioso ha sido una prioridad para el campo de la reprogramación. Recientemente, Huang y colegas han generado células madres neuronales a partir de fibroblastos<sup>28</sup>. Sorprendentemente, estas células pueden generar neuronas y células glía *in vitro*. Adicionalmente, neuronas maduras y funcionales, como ser neuronas dopaminérgicas y motoras, pueden también ser obtenidas a partir de fibroblastos<sup>29,30</sup>.

Idealmente y para uso en terapia médica, la reprogramación directa se debería lograr *in vivo*, es decir, dentro del organismo del paciente. Lamentablemente, este proceso es extremadamente difícil y muy pocos avances se han realizado en el área. Sin lugar a duda, el pionero en este tema es el grupo dirigido por Douglas Melton en Harvard. A través de elegán-

tes experimentos, este grupo logró convertir directamente células exocrinas de páncreas en células  $\beta$ , que exitosamente producen insulina<sup>31</sup>. Notoriamente, dos grupos independientemente reportaron la conversión *in vivo* de fibroblastos a cardiomiocitos<sup>32,33</sup>. Estos avances han abierto las puertas a nuevos enfoques para revolucionar la medicina moderna.

### La Medicina Personalizada: ¿Una Realidad?

La posibilidad de utilizar células paciente-específicas, para generar células pluripotentes que pueden renovarse infinitamente y diferenciarse *in vitro* en cualquier célula del cuerpo, ofrece grandes esperanzas en el ámbito de la medicina personalizada<sup>34</sup>. Varios protocolos han sido establecidos para obtener diferentes células diferenciadas de gran interés, para tratamiento médico de enfermedades degenerativas<sup>35</sup>. Por ejemplo, un reciente reporte demostró la diferenciación de células pluripotentes en adipocitos blancos y marrones<sup>36</sup>. Similarmente, la obtención de células  $\beta$  productoras de insulina ha sido lograda, aunque con menor éxito<sup>37,38</sup>. En el campo de la neurociencia, diferentes neuronas motoras han sido obtenidas al tratar células pluripotentes con combinaciones de factores de transcripción y drogas<sup>39,40</sup>. De gran importancia para terapias en salud reproductiva, fascinantes experimentos han producido oocitos y espermatozoides a partir de células iPS<sup>41,42</sup>. Finalmente, no podemos olvidar la creación *in vitro* de células progenitoras sanguíneas<sup>43</sup>, que pueden convertirse en una fuente ilimitada de sangre altamente pura y segura para transfusión.

Indiscutiblemente, la aplicación más grande de la reprogramación celular y el desarrollo de células iPS es el tratamiento y corrección de mutaciones genéticas que dan origen a enfermedades actualmente incurables. Como prueba de principio, el grupo de Rudolf Jaenisch demostró por primera vez que es posible curar la anemia de células falciformes, usando una combinación de reprogramación celular e ingeniería genética. Brevemente, este grupo tomó fibroblastos de ratones que llevaban la mutación genética que causa la anemia. Estos fibroblastos fueron reprogramados a células iPS, y las mutaciones fueron corregidas por recombinación homóloga, para luego ser diferenciadas a progenitores sanguíneos. Después de un trasplante autólogo en animales enfermos, esta anemia fue curada permanentemente<sup>44</sup>.

En humanos, células iPS son principalmente utilizadas

para modelar enfermedades genéticas *in vitro*, y visualizar síntomas tempranos en el desarrollo de estas. Con este enfoque, actualmente se han obtenidos importantes pistas que pueden acelerar la detección y tratamiento de desordenes degenerativos, como ser la enfermedad de Alzheimer<sup>45</sup> y de Parkinson<sup>46</sup>. Además, estos métodos también han sido aplicados a la enfermedad de Huntington; en la cual se han podido corregir las expansiones CAG, que dan origen a fenotipo particular de este desorden<sup>47</sup>. Finalmente, uno de los experimentos más impresionantes de este año es la eliminación del cromosoma extra causante del Síndrome de Down en células iPS, derivadas de fibroblastos de pacientes afectados por esta enfermedad<sup>48</sup>. Aunque esta técnica no puede ser utilizada para reemplazar todos los tejidos de los afectados, es de particular interés para la generación de células progenitoras sanguíneas. Utilizando un enfoque similar al demostrado por Rudolf Jaenisch en anemia de células falciformes<sup>44</sup>, trasplantes autólogos podrían ser realizados en pacientes con Síndrome de Down, para eliminar la alta susceptibilidad a leucemia y otros desordenes sanguíneos característicos de la enfermedad.

El ámbito de reprogramación se ha desarrollado a un paso tan acelerado que es muy difícil predecir los avances que podremos conseguir para el final de esta década. Sin embargo, todas las historias discutidas en esta revisión indican claramente que la reprogramación tendrá un papel fundamental en la medicina moderna. Es razonable pensar que en el futuro cercano, científicos y especialistas médicos trabajaran mano a mano para ofrecer terapias altamente innovadoras para enfermedades actualmente consideradas incurables. Claro está, que esfuerzos son necesarios para apoyar la creación de bancos internacionales de células iPS, como es sugerido por el Premio Nobel Shinya Yamanaka y otros<sup>49</sup>. Estas instituciones facilitarían en gran magnitud los accesos a estas tecnologías, y por tanto acelerarían la realización de todas las promesas de las células madres pluripotentes a la medicina personalizada.

**Agradecimientos:** agradecemos a Sasha Mostajo y Kristian Herrera, por su valioso aporte al desarrollo de este manuscrito. Adicionalmente, deseamos felicitar de manera formal a Sir John Gurdon y Shinya Yamanaka, por haber ganado el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012, por sus investigaciones en reprogramación nuclear.

**Conflictos de interés:** los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

### Referencias bibliográficas

1. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol* 1962; 10: 622-40..
2. Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer of a cultured cell line. *Nature* 1996; 380: 64-66
3. Hanna JH, Saha K, Jaenisch R. Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues. *Cell* 2010; 143(4): 508-525.
4. Silva J, Chambers I, Pollard S, Smith A. Nanog promotes transfer of pluripotency after cell fusion. *Nature* 2006; 441(7096): 997-1001.
5. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* 2006; 126 (4): 663-676.
6. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131(5): 861-72.
7. Masip M, Veiga A, Izpisua Belmonte JC, Simon C. Reprogramming with defined factors: from induced pluripotency to induced transdifferentiation. *Mol Hum Reprod* 2010; 16(11): 856-68.
8. Hochedlinger K, Jaenisch R. Monoclonal mice generated by nuclear transfer from mature B and T donor cells. *Nature* 2002; 415 (6875): 1035-1038.
9. Eggan K, Baldwin K, Tackett M, Osborne J, Gogos J, Chess A, et al. Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature* 2004; 428(6978): 44-9.
10. Makino H, Yamazaki Y, Hirabayashi T, Ka-

- neko R, Hamada S, Kawamura Y, et al. Mouse embryos and chimera cloned from neural cells in the postnatal cerebral cortex. *Cloning Stem Cells* 2005; 7(1): 45-61.
11. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-156.
  12. Bongso A, Fong CY, Ng SC, Ratnam S. Isolation and culture of inner cell mass cells from human blastocysts. *Hum Reprod* 1994; 9(11): 2110-7.
  13. Thomson JA, Itskovitch-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391): 1145-7.
  14. Ramalho-Santos J. Human procreation in uncharted territory: new twists in ethical discussions. *Hum Reprod* 2011; 26(6): 1284-7.
  15. Stadtfeld M, Hochedlinger K. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev* 2010; 24(20): 2239-63.
  16. Kim J, Lengner CJ, Kirak O, Hanna J, Cassady JP, Lodato MA, et al. Reprogramming of postnatal neurons into induced pluripotent stem cells by defined factors. *Stem Cells* 2011; 29(6): 992-1000.
  17. Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, Tian S, Stewart R, Slukvin II, et al. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science* 2009; 324(5928): 797-801.
  18. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010; 7(5): 618-30.
  19. Anokye-Danso F, Trivedi CM, Juhr D, Gupta M, Cui Z, Tian Y, Zhang Y, Yang W, Gruber PJ, Epstein JA, Morrissey EE. Highly Efficient miRNA-Mediated Reprogramming of Mouse and Human Somatic Cells to Pluripotency. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 376-388.
  20. Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4(5): 381-4.
  21. Schinzel RT, Ahfeldt T, Lau FH, Lee YK, Cowley A, Shen T, et al. Efficient culturing and genetic manipulation of human pluripotent stem cells. *PLoS One* 2011; 6(12): e27495.
  22. Guenther MG, Frampton GM, Soldner F, Hockemeyer D, Mitalipova M, Jaenisch R, et al. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2010; 7(2): 249-57.
  23. Bock C, Kiskinis E, Verstappen G, Gu H, Boulting G, Smith ZD, et al. Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines. *Cell* 2011; 144(3): 439-52.
  24. Choi J, Costa ML, Mermelstein CS, Chagas C, Holtzer S, Holtzer H. MyoD converts primary dermal fibroblasts, chondroblasts, smooth muscle, and retinal pigmented epithelial cells into striated mononucleated myoblasts and multinucleated myotubes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(20): 7988-92.
  25. Xie H, Ye M, Feng R, Graf T. Stepwise Reprogramming of B Cells into Macrophages. *Cell* 2004; 117: 663-676.
  26. Efe JA, Hilcove S, Kim J, Zhou H, Ouyang K, Wang G, et al. Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. *Nat Cell Biol* 2011; 13(3): 215-22.
  27. Buganim Y, Itskovich E, Hu YC, Cheng AW, Ganz K, Sarkar S, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into embryonic Sertoli-like cells by defined factors. *Cell Stem Cell* 2012; 11(3): 373-86.
  28. Ring KL, Tong LM, Balestra ME, Javier R, Andrews-Zwilling Y, Li G, et al. Direct reprogramming of mouse and human fibroblasts into multipotent neural stem cells with a single factor. *Cell Stem Cell*. 2012; 11(1): 100-9.
  29. Caiazzo M, Dell'Anno MT, Dvoretzskova E, Lazarevic D, Taverna S, Leo D, et al. Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts. *Nature*. 2011; 476(7359): 224-7.
  30. Son EY, Ichida JK, Wainger BJ, Toma JS, Rafuse VF, Woolf CJ, et al. Conversion of mouse and human fibroblasts into functional spinal motor neurons. *Cell Stem Cell* 2011; 9(3): 205-18.
  31. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to  $\beta$ -cells. *Nature* 2008; 455(7213): 627-632.
  32. Qian L, Huang Y, Spencer CI, Foley A, Vedantham V, Liu L, et al. In vivo reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature* 2012; 485(7400): 593-8.
  33. Song K, Nam YJ, Luo X, Qi X, Tan W, Huang GN, et al. Heart repair by reprogramming non-myocytes with cardiac transcription factors. *Nature* 2012; 485(7400): 599-604.
  34. Cohen DE, Melton D. Turning straw into gold: directing cell fate for regenerative medicine. *Nat Rev Genet* 2011; 12(4): 243-52.
  35. Ferreira LM, Floriddia EM, Quadrato G, Di Giovanni S. Neural Regeneration: Lessons from Regenerating and Non-regenerating Systems. *Mol Neurobiol* 2012; 46(2): 227-41.
  36. Ahfeldt T, Schinzel RT, Lee YK, Hendrickson D, Kaplan A, Lum DH, et al. Programming human pluripotent stem cells into white and brown adipocytes. *Nat Cell Biol* 2012; 14(2): 209-19.
  37. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Velasco I, Ravin R, McKay R. Differentiation of Embryonic Stem Cells to Insulin-Secreting Structures Similar to Pancreatic Islets. *Science* 2001; 292: 1389-1393.
  38. Zhang D, Jiang W, Liu M, Sui X, Yin X, Chen S, et al. Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells. *Cell Res* 2009; 19(4): 429-38.
  39. Miles GB, Yohn DC, Wichterle H, Jessell TM, Rafuse VF, Brownstone RM. Functional properties of motoneurons derived from mouse embryonic stem cells. *J Neurosci* 2004; 24(36): 7848-58.
  40. Takazawa T, Croft GF, Amoroso MW, Studer L, Wichterle H, Macdermott AB. Maturation of spinal motor neurons derived from human embryonic stem cells. *PLoS One*. 2012; 7(7): e40154.
  41. Easley CAT, Phillips BT, McGuire MM, Barringer JM, Valli H, Hermann BP, et al. Direct differentiation of human pluripotent stem cells into haploid spermatogenic cells. *Cell Rep*. 2012; 2(3): 440-6.
  42. Hayashi K, Ogushi S, Kurimoto K, Shimamoto S, Ohta H, Saitou M. Offspring from Oocytes Derived from in Vitro Primordial Germ Cell-Like Cells in Mice. *Science*. En prensa 2012.
  43. Xu Y, Liu L, Zhang L, Fu S, Hu Y, Wang Y, et al. Efficient commitment to functional CD34+ progenitor cells from human bone marrow mesenchymal stem-cell-derived induced pluripotent stem cells. *PLoS One* 2012; 7(4): e34321.
  44. 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): 1920-3.
  45. Israel MA, Yuan SH, Bardy C, Reyna SM, Mu Y, Herrera C, et al. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature* 2012; 482(7384): 216-20.
  46. Devine MJ, Rytten M, Vodicka P, Thomson AJ, Burdon T, Houlden H, et al. Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the alpha-synuclein locus. *Nat Commun* 2011; 2: 440.
  47. An MC, Zhang N, Scott G, Montoro D, Wittkop T, Mooney S, et al. Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2012; 11(2): 253-63.
  48. Li LB, Chang KH, Wang PR, Hirata RK, Papanopoulou T, Russell DW. Trisomy Correction in Down Syndrome Induced Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2012; 11(5): 615-619.
  49. Yamanaka S. Induced Pluripotent Stem Cells: Past, Present, and Future. *Cell Stem Cell* 2012; 10(6): 678-684.