

La riprogrammazione genetica

Carlo Alberto Redi

*Direttore scientifico Fondazione I.R.C.C.S. Policlinico San Matteo,
Pavia*

Brevemente esaminate le attuali strategie sperimentali per la, e le basi molecolari della, riprogrammazione genetica di cellule somatiche terminalmente differenziate presenterò i risultati più recenti ottenuti al riguardo dal laboratorio di Biologia dello Sviluppo della Università di Pavia.

Recenti indicazioni suggeriscono che quando fibroblasti murini NIH-3T3 sono esposti in coltura ad estratti cellulari di staminali embrionali, la gran parte dei fibroblasti inizia ad esprimere il gene *Oct-4*, forma colonie dall'aspetto simile a quelle formate dalle staminali embrionali e forma corpi embrionali che si differenziano nei tre foglietti germinali. In effetti, tra le diverse strategie sperimentali per giungere all'ottenimento di staminali embrionali, l'uso di estratti cellulari per ottenere una riprogrammazione genetica di cellule somatiche differenziate terminalmente, per ottenere quindi una de-differenziazione, può essere considerato una via estremamente promettente (sia sotto il profilo strettamente scientifico sia sotto il profilo delle querelle etiche sullo statuto dell'embrione) per giungere alla produzione di quantità di staminali pluripotenti. È dunque di cruciale importanza che diversi laboratori giungano a sperimentare protocolli che si dimostrino affidabili nel produrre transdifferenziazione cellulare prima di avviare ben più ambiziosi progetti di terapie cellulari. Nel laboratorio da me diretto stiamo svolgendo una intensa attività di studio sulla capacità di riprogrammazione genetica esercitata da estratti di cellule staminali e di oociti su fibroblasti murini del tipo STO e NIH-3T3.

Tra i principali risultati ottenuti, tre sono di particolare rilievo al fine di corroborare questo tipo di strategia: - la conferma della capacità di attivare processi di riprogrammazione genetica da parte degli estratti oocitari e di staminali embrionali, sebbene su una percentuale molto bassa (~0.04 - 0.06%) e con la induzione di due soli marcatori della staminalità, espressione del gene *Oct-4* e positività per la attività della

fosfatasi alcalina; - l'aver chiarito che alcuni geni della staminalità vengono trascritti ma vi è una mancata traduzione dei trascritti stessi, in particolare di quelli di OCT-4, SSEA-1 e dell'antigene di Forssman, in proteine; - la chiara dimostrazione che cellule staminali embrionali possono sopravvivere alle procedure impiegate per produrre estratti cellulari e quindi essere sorgenti di contaminazione ed essere espanse nelle successive fasi della coltura cellulare generando falsi positivi. La bassa frequenza di riprogrammazione può essere spiegata, come suggerito da Ian Wilmut (Editor di *Cloning and Stem Cell* che ha accettato il lavoro), dalla bassa percentuale di cellule somatiche terminalmente differenziate prone al processo di riprogrammazione, percentuale che coincide grosso modo con la percentuale di cellule stem-like presenti nella pelle di Mammiferi (~0.07%).

Sebbene poco consistente numericamente, questa frazione di cellule può però essere agevolmente selezionata, ben caratterizzata ed espansa in coltura.