

KÖK HÜCRELER

Tarih boyunca insanoğlunun en büyük hedeflerinden biri hastalıklara çare bulmak ve insan ömrünü uzatmak olmuştur. Çeşitli bitkilerden elde edilen karışımların binlerce yıl önce tedavide kullanıldığına dair bilgiler mevcuttur. M.Ö. 1534 yılına ait olduğu düşünülen bir papirüste çeşitli hastalıklardan ve tedavilerinden bahsedildiği saptanmıştır. İnsanoğlunun bilinç altındaki ölümsüzlüğe ulaşma isteği bugüne kadar tıp biliminin itici gücü olmuştur.

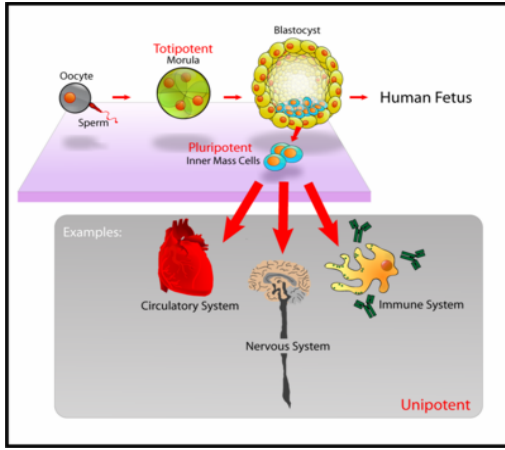
Genlerin yapılarındaki bozukluklara bağlı hastalıklarda (örneğin; kanser) , hastalığın kökenine yönelik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi belki de bu hastalıkların kesin ve kalıcı çözümü olacaktır. Ayrıca böbrek, kalp ve karaciğer gibi hayatsal organlarda ortaya çıkabilen hastalıklarda insan ölümlerinde ön sırada yer alıyor. Bu hastalıkların ilaçla tedavisi bazen mümkün olabilmekte; ancak kimi zaman organ yetmezlikleri kaçınılmaz bir son olmaktadır. Bu durumda da organ nakli gündeme gelmektedir. Ancak başka bir hastadan alınan organ genetik yapıdaki farklılık nedeniyle, vücut tarafından reddedilebilmektedir. Buna ek olarak, organ yetmezliği olan kişilerin sayısı , mevcut organ vericilerin sayısını kat kat aşabiliyor. Son yıllarda insanın herhangi bir hücresi kullanılarak deri, kemik ve kalp kası gibi çeşitli dokular üretilebiliyor. İnsanın kendi hücresinden meydana getirilen organların nakli, hem organ bağıışı azlığı problemini hem de vücudun organı reddetme olasılığını ortadan kaldırıyor.

Kök hücre nedir?

Farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme gücüne sahip hücrelerdir. 1960'lı yıllarda Kanada'lı bilimadamları Ernest A. McCulloch ve James E. Till yaptıkları çalışmayla insan kök hücreleri alanındaki çalışmalara öncü olmuşlardır.

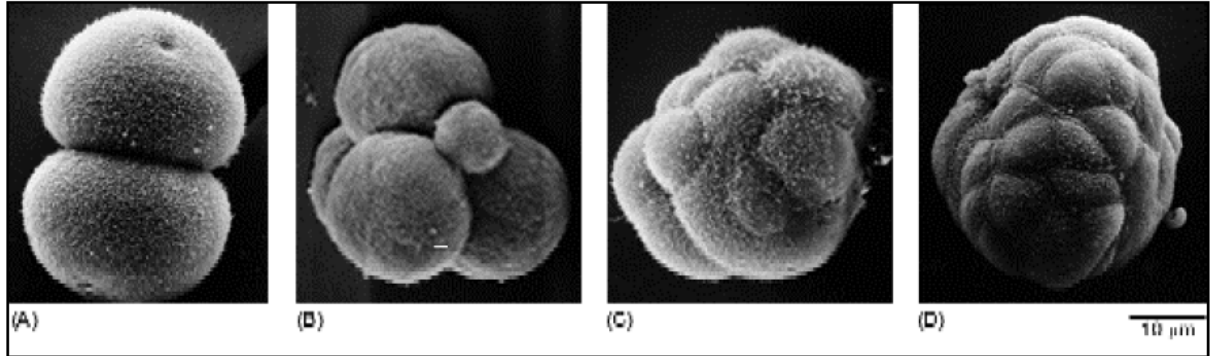
Kök hücrelerin özellikleri;

- Uzun süre bölünebilmeli ve kendini yenileyebilmelidir.
- Farklılaşmamış olmalıdır.
- Özelleşmiş hücrelere dönüşebilmelidir.



Bölünme ve farklılaşma özelliklerine göre kök hücreler, üç çeşittir: totipotent , pluripotent ve multipotent.

Bildiğimiz gibi memeliler için hayat zigot adı verilen tek hücreden başlar. Bu hücre totipotent bir hücredir ve yetişkin bir organizmanın meydana gelmesi için gereksinim duyulan bütün genleri taşımaktadır. Bu özelliğini 16 blastomerli evreye (döllenenmeden sonraki 5.gün) kadar sürdürür. Genlerin seçici aktivasyonu ve/veya inaktivasyonunun farklı gelişim potansiyelleri taşımalarına sebep olduğu bilinmektedir. Sınırsız bir gelişim potansiyeli olan zigotun aksine örneğin bağırsak epitel hücresi ya da bir granülosit yüksek oranda farklılaşmış hücrelerdir. Bu hücreler, gelişim kapasitelerine göre davranırlar ve bu sebeple diğer doku tiplerine dönüşme yetenekleri yoktur. Aynı zamanda bağırsak epitel hücreleri ve granülositler ileri bölünmeler geçirmezler ve "terminal farklılaşma"ya uğradıkları, yani farklılaşma sürecinin sonunda oldukları söylenebilir.



Şekil 2. Erken fazda fare embriyosunun SEM fotoğrafı.(Zona pellucida uzaklaştırılmıştır). (A) İki hücreli evre. (B) Dört hücreli evre (dört adet blastomerin yanı sıra polar cisimcik de görünüyor). (C) Sekiz-onaltı hücreli morula evresi; kompaktlaşma söz konusudur. (D) Blastosist

Embriyo 16 blastomerli evrede artık "blastosist" adını almakta; söz konusu gelişim evresine de blastula denmektedir. Blastosistin hücreleri blastosölü kuşatmaya başlarken, ortada adeta bir havuz vardır ve bu yapıyla kalın hücre tabakası tropoektoderm tabakasındaki hücre yığını ise "iç hücre kitlesi" olarak adlandırılmaktadır.

İç hücre kitlesi denen tabaka embriyonun gelişiminde son derece önemli bir role sahiptir; bir yetişkinin vücudunda bulunan tüm tabakaların kaynağı olan 3 temel embriyonik tabakanın (ektoderm, endoderm ve mezoderm) öncüsüdür. Bu hücreler pluripotent özellik taşırlar; endoderm, ektoderm ya da mezoderm kökenli hücrelere farklılaşabilirler ancak yeni bir canlıyı meydana getiremezler (totipotent değildir.).

Kök hücreler aynı zamanda embriyonun bundan sonraki gelişme dönemlerinde (fetusta), kordon kanında ve yetişkin vücudunda da özellikle kemik iliği ve yağ dokusunda bulunurlar. Embriyonik kök hücrelere göre gelişmenin daha sonraki basamaklarında görülen bu hücreler elde edildikleri döneme göre giderek daha sınırlı bir bölünme ve farklılaşma yeteneği gösterirler. Yetişkin kök hücreler daha çok elde edildikleri organ ve dokuya dönüşme eğilimindedirler ve multipotent kök hücreler olarak adlandırılırlar.

Yetişkinde her organ ve dokuda aynı sayı ve potansiyelde kök hücrelere rastlanmaz. Örneğin, beyinde bu hücreler oldukça az sayıda bulunmaktadır. Bu nedenle beyin hasarlarında bir kemik veya doku gibi organ yenilenmesi olmaz, hasar genellikle kalıcıdır ve ciddi sonuçlar doğurur. Günümüzde, araştırmacılar yetişkin dokulardan elde edilen kök hücrelerin diğer organ ve dokulara farklılaşması yönünde çalışmalar yapmaktadırlar.

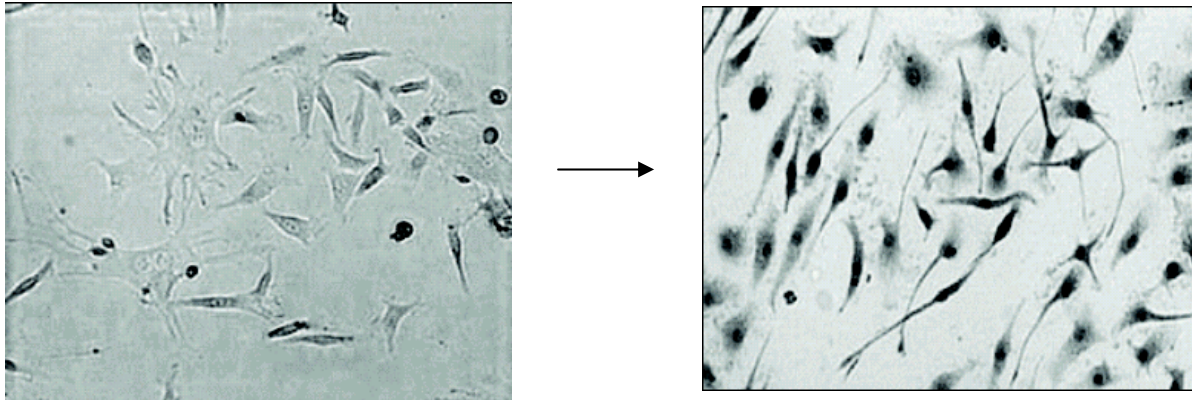
Kök hücrelerin farklılaşmaları

Embriyonik gelişim süresince döllenmiş yumurtadan bir çok hücre tipi meydana gelmektedir. Bir canlının tüm vücut hücrelerinde genom aynıdır, hücrelerin farklılaşmasını sağlayan genlerin ifade edilmesi ya da edilmemesidir. Erken dönemli embriyonun hücreleri arasında, bölünme öncesinde yumurtada bulunan sitoplazmik bileşenlerin eşit olmayan dağılımından kaynaklanan farklılıklar vardır. Fakat, çoğu embriyonal hücrelerin çevrelerindeki yerel değişikliklerden etkilenmekte oldukları bir gerçektir.

Aynı zamanda hücreSEL çeşitlenmede, hücrelerin birbirleriyle ve çevreyle olan etkileşimleri de rol oynamaktadır. Memeli yumurtaları, simetrik olmaları nedeniyle istisnai bir durum yaratırlar. Bundan dolayı, erken memeli embriyosundaki tüm hücreler başlangıçta birbirine benzerdir ve ancak birbirleriyle etkileştiklerinde değişirler.

Normal gelişim koşulları ve komşu hücrelerden ayrılan fare embriyo hücreleri, ilerideki aşamalarda embriyonik kök hücrelerinin elde edilebileceği teratokarsinomaları oluşturmak üzere çoğalırlar. Fakat, normal bir embriyoya implante edilirlse, hücreler normal davranışlarına geri döner ve çevresel şartlara bağlı olarak farklılaşıp sağlıklı bir hayvanın oluşumuna katkıda bulunurlar.

Washington Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Gerard Bain ve David I. Gottlieb ile çalışma arkadaşları, fare embriyonik kök hücrelerinin bir A vitamini türevi olan retinoik asitle muamele etmekle, bu hücreleri sinir hücrelerine dönüşmelerini uyarmışlardır. Bu basit kimyasal madde hücreler üzerinde gösterdiği bu etkisini, sadece nöronlar tarafından kullanılan bir dizi geni aktive ederken, hücre farklılaşması ile ilgili diğer yolları ifade eden genleri inhibe ederek ortaya koymuştur. Kan hücreleri hakkında yapılan bir diğer çalışmada da benzer bir başarı elde edilmiş; bazı özel büyüme faktörlerinin embriyonik kök hücrelerden kaynaklanan hücreleri, kandaki tüm tiplerini üretmek üzere uyardıkları gözlenmiştir.



Şekil 3. Nöroblastlara farklılaştırılmış fare embriyonik kök hücreleri

Embriyonik kök hücreler, herhangi bir özel müdahaleye gerek olmaksızın bazı yararlı dokuları üretebilmektedirler. Araştırmacılar bu tür transformasyonların meydana gelmesini sağlayabilir ve istedikleri hücre tipi neyse bu yönde bir seçim ve yönlendirme yapabilirler. Indiana Üniv. Tıp Fakültesi'nde Loren J. Field ve ark. bunu başaramışlardır. Basit fakat etkin bir yöntem uygulayarak kendiliğinden farklılaşan kalp kası hücreleri - veya kardiyomyositleri- %99'un da üstündeki bir saflıkta elde edebilmişlerdir.

Field ve grubu, bu amaca ulaşabilmek için öncelikle kendini sadece kardiyomiyositlerde ifade edebilen bir antibiyotik-dirençlilik genini fare embriyonik kök hücrelerine vermişler, hücrelerin farklılaşmasına olanak sağlandıktan ve bu geni kaybetmiş hücreleri ölmelerine neden olacak kadar antibiyotikle muamele ettikten sonra saf kardiyomiyositleri elde edebilmişlerdir. Bu hücreler yetişkin bir farenin kalbine transplante edildiğinde kardiyomiyositler gelişebilmiş ve sağlanabilen en uzun bir periyod olan 7 hafta boyunca canlı kalabilmişlerdir.

Embriyonik kök hücreler

Embriyonik kök hücre denilince blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilen pluripotent özellikteki hücreler kastedilmektedir. Bu hücreler üç embriyonik germ tabakasına farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Üç germ tabakası bir yetişkindeki 220'den fazla hücre tipini oluşturur. Bazı farklılaşmış pluripotent hücreler yetişkinlerde multipotent hücreler (örneğin kemik iliğinde) olarak bulunabilirler ancak bu hücrelerin farklılaşma yetenekleri sınırlıdır.

Sınırsız olarak kendilerini yenileyebilmeleri ve plastisite (farklı hücre tiplerine dönüşebilme) yetenekleri sebebiyle rejenatif tıp'ın en önem verdiği konulardan biri embriyonik kök hücre araştırmalarıdır. Embriyonik kök hücreler 1981 yılında ilk kez bağımsız iki grup tarafından fare embriyosundan elde edilmiştir. İnsan embriyonik kök hücreleri 1994 yılında izole edilebilmiş , 1998 yılında ise kültüre edilebilmiştir.

Kök hücreler teratoma (teratokarsinoma) adı verilen bir kanser tipinin alanizi sırasında kaeşfedilmiştir. 1964 yılında araştırmacılar teratomadan izole edilen tek bir hücrenin farklılaşmadan kültürde kaldığını gözlemişlerdir. Bu tip kök hücreler embriyonik karsinoma hücreleri (EC) olarak isimlendirilirler.

Ayrıca embriyonik primordial germ hücrelerinin de (EG) kültüre edilebildiği ve farklı hücreleri oluşturmaları için uyarılabildikleri fark edilmiştir.

Embriyonik kök hücrelerinin laboratuvar ortamında büyütülebilmesi için değişik kültür yöntemleri üzerine çalışmalar devam etse de, gelişimleri için destek hücrelere ihtiyaçları vardır. Ayrıca başkalaşmamış yapılarının korunması için yetiştirildikleri kültür ortamlarının LIF (Leukemia inhibitory factor), B-FGF gibi ajanlar ile desteklenmesi gerekir.

Bazı araştırma ve geliştirme Laboratuvarlarında bu amaçla Balb/c inbred farelere ait 12-14 günlük fetuslardan elde edilen embriyonik fibroblast hücreleri destek hücresi olarak kullanılmaktadır.

Hücrelerin bölünme kapasitesini , bir bakıma ömrünü belirleyen faktörlerden biri, telomerler ve telomeraz aktivitesidir. Telomer ökaryotik hücrelerin kromozomlarında bulunan özgül bir gen bölgesidir. Tekrarlayan "TTAGGG" bölgesinden oluşur. Bu bölge kromozom degradasyonunu önler ve replikasyonu güçlendirir. Böylece hücreye çoğalma yeteneği kazandırır. Birçok kanser hücresinde ve embriyonik kök hücrelerde bu gen bölgesinin aşırı aktivitesi görülür. Bu nedenle kök hücreler uzun süre boyunca bölünebilirler. Özellikle birçok kanser tipinde bu genin supressor genlerinde inaktivasyon vardır. Apoptosiste ise telomeraz aktivitesinin inhibisyonu gerçekleşir. Ayrıca sadece embriyonik kök hücreler ve kanser hücrelerinde ifade edilen ve transkripsiyon faktörü olarak da görev yapan Oct-4 geninin hücrelere bölünme yeteneği kazandırdığı düşünülmektedir. Oct-4 geninin farklılaşmış hücrelerde ifade edilmediği gösterilmiştir.

Embriyonik kök hücre hatlarını oluşturma sürecinin çeşitli aşamalarında kültürasyonu yapılmış hücreler , embriyonik kök hücrelerin temel özelliklerini taşıyıp taşımadıklarını kontrol etmek amacıyla test edilmektedir. Bu süreç karakterizasyon olarak bilinmektedir. Uygulanan testler:

- Mikroskop incelemesi
- Yüzey marker varlığının saptanması
- Karyotip analizi
- Pluripotensi özelliklerinin test edilmesi

Embriyonik kök hücrelerin tanımlanabilmeleri için erken dönemde ifade edilen belirteç (SSEA-1,3,4, TRA-1-60 ve 81) veya gen ürünlerinin (OCT-4) immunositokimyasal yöntemlerle boyanması tekniği kullanılmaktadır.

Embriyonik kök hücrelerin kullanım alanları

- o Hücre terapi çalışmaları
- o Gen tedavisi çalışmaları
- o İlaç endüstrisi
- o Embriyoloji

Yetişkin kök hücreleri

Ölen ya da hasar gören hücreleri yenileme özelliğine sahip yetişkinlerde farklılaşmış dokularda bulunan farklılaşmamış hücrelerdir. Somatik kök hücreler olarak da adlandırılırlar.

Kemik iliği, kas, göz, sinir, karaciğer ve deri gibi dokularda bulunurlar. Bölünebilme ve kendilerini yenileyebilme özellikleri vardır. Multipotenttirler.

Özel koşullar altında doku-spesifik yetişkin kök hücreleri diğer dokulara ait hücre tiplerine farklılaşabilirler bu olgu çapraz farklılaşma ya da plastisite olarak adlandırılır.

Yetişkin kök hücrelerini tanımlamak için kullanılan testler:

- Farklılaşarak oluşturdukları hücre tiplerinin saptanması
- İzole edilip kültürasyonu yapılarak, bir başka canlıya aktarılması ve orijin hücreleri yeniden oluşturup oluşturmadığının kontrol edilmesi
- İzole edilip kültürasyonu yapıldıktan sonra kültür ortamına yeni maddeler ekleyerek hangi hücrelere farklılaştıklarının gözlenmesi

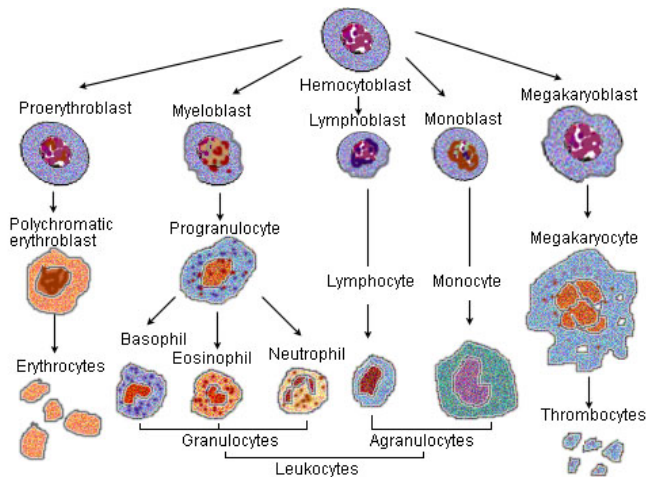
Kord kanı kök hücreleri

Doğum henüz tamamlanmadan önce ya da doğumdan bitince placentanın ayrılmasından hemen sonra umbilikal kord veninden toplanır. HLA antijeni uyumlu aile bireylerinde kullanılabilir.

Hematopoietik kök hücreler (HSC)

Hematopoietik kök hücreler tüm kan hücrelerinin öncüleridir.

[myeloid hücreler (monositler, makrofajlar, bazofiller, eosinofiller, eritrositler, megakaryositler/plateletler ve bazı dendritik hücreler) ve lenfositler (T-hücreleri, B-hücreleri, NK-hücreler, bazı dendritik hücreler)]



Hematopoietik doku hücreleri kısa dönem ve uzun dönem rejenerasyon kapasitelerine göre multipotent, oligopotent ya da unipotent öncülerdir.

Hematopoietik kök hücreler yetişkinlerde, uyluk, kalça, göğüs, kaburga ve diğer kemiklerde kemik iliğinde bulunurlar. Hücreler kalça kemiğinden direkt şırınga ile alınabileceği gibi, G-CSF (granülosit koloni uyarıcı faktör) benzeri bir sitokin muamelesi sonrasında kandan da elde edilebilir. Klinik ya da araştırma amaçlı kullanım için kord kanı, plesenta, periferik kan diğer kaynaklardır. Deneysel amaçlar için , hayvanların fetal karaciğer, fetal dalak ve aorta-gonad-mezonefronu (AGM) hematopoietik kök hücreler için yararlı kaynaklardır.

Hematopoietik kök hücreler morfolojik olarak lenfositlere benzerler; yapışık değildirler (non-adherent), yuvarlaklırlar ve yuvarlak bir çekirdeğe sahiptirler. Sitoplazmanın çekirdeğe oranı küçüktür.

Mezenşimal kök hücreler (MSC)

Pek çok hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir. İn vitro ve in vivo'da osteoblastlara, kırıkta hücrelerine (kondrosit), kas hücrelerine (miyosit), adipositlere , nöronal hücrelere ve pankreas beta hücrelerine farklılaşabildikleri gösterilmiştir. Mezenşimal kök hücreler , kemik iliğinde, kasta ve umbilikal kord'da bulunan Wharton peltesi'nde bulunmaktadır.

Mezenşimal kök hücreler osteojenik uyarı ile (askorbik asit, inorganik fosfat ve dexamethasone varlığında) osteoblastlara dönüşürler. TGF- β (transforming growth factor-beta)'nın ise kırıkta oluşumunu uyardığı belirlenmiştir.

Mezenşimal kök hücrelerin kendilerini yenileme ve multipotensi kapasiteleri oldukça yüksektir. Ancak nakil için kullanıldığında donörün yaşı ve kültür süresi gibi faktörler bölünme ve farklılaşma kapasitelerinde azalmaya yol açabilmektedir.

Nöral kök hücreler

On yıl öncesine kadar sinir sistemi hücrelerinin kendilerini yenileyemedikleri düşünülüyordu. Ancak 1990'lı yıllarda yapılan araştırmalarda insan beyinde nöral kök hücrelerin olduğu anlaşıldı. Bu kök hücreler, fetusun beyin ve sinir sistemini oluşturan kök hücrelere benzemektedirler. Nöron, astrosit ve oligodendrositleri oluşturmaktadır.

Nöral kök hücrelerin keşfi sinir sistemini etkileyen hastalıkların tedavisi için çok önemli bir adım sayılmaktadır. Laboratuvar şartlarında kök hücrelerden istenilen sinir hücreleri elde edilebilmektedir.

Johns Hopkins Üniversitesi'nde 2001 yılında yapılan bir çalışmada felçli farelerin çoğu bu yöntemle iyileştirilebilmiştir. Sinir sistemini etkileyen bir virus verilerek felç edilen farelerin omuriliğine kök hücrelerden elde edilen sinir hücreleri yerleştirilmiştir. Üç ay sonra felçli farelerden çoğunun kol ve bacaklarını kımıldatabildikleri görülmüştür. Çeşitli sebeplerle omurilikte meydana gelen hasarların düzelebilmesi için kopan sinirlerin etrafındaki myelin kılıfın onarılması gerekmektedir. Araştırmacılar hayvan deneylerinde kök hücreleri kullanarak bu sinirleri tamir etmeyi başarmıştır.

Kök hücre nakli Parkinson ve Alzheimer gibi sinir sisteminde meydana gelen hastalıklar için de umut vaat etmektedir. Parkinson hastalığı, beyinde hareketlerimizi kontrol eden merkezlerdeki dopamin üreten hücrelerin ölmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Hastalığın tedavisinde **levadopa** adı verilen bir ilaç kullanılmaktadır. Bu ilaç hastalığı tam olarak tedavi etmese de şikayetleri azaltmaktadır ancak uzun süre kullanım sonucunda ilacın etkisi giderek azalmakta ve yan etkileri ortaya çıkmaktadır. Fetustan elde edilen sinir sistemi hücrelerinin Parkinson hastalarına nakledilmesiyle beyinde dopamin üretiminde artış sağlanabilmektedir.



Adipoz doku kök hücreleri (ASC)

İnsan yağ dokusundan genellikle liposuction metoduyla izole edilmiştir. Pek çok özellikleriyle kemik iliğinde bulunan mezenseimal kök hücrelere (MSC) benzerler. Kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonları daha az acı vericidir.

Laboratuvar ortamında insan adipozit kök hücrelerinin kemik, kıkırdak, yağ, kas hücrelerine farklılaşabildiği gösterilmiştir, gelecekte uygulamaların gelişmesiyle nöronlara farklılaşabilmeleri de olasıdır.

Son çalışmalara göre adipozit kök hücrelerinin ciddi kemik hasarlarının onarımında kullanılabileceği öne sürülebilmektedir.

Amniyon sıvısı kök hücreleri

İçerdiği hücreler fetal kök hücreler olarak tanımlanır. Hücrelerin OCT-4 genini ifade ettikleri gösterilmiştir. Mezenşimal kök hücrelere benzerler. Kemik, kıkırdak ve adipoz dokulara ve düz kas hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Kemik iliği mezenşimal kök hücreleriyle kıyaslandığında daha fazla telomerez aktivitesi gösterirler.

Meme kök hücreleri

Meme kök hücreleri puberte, gebelik ve meme kanseri sürecinde meme bezlerinin gelişimini sağlar. İnsan ve fare dokularından izole edilmiştir. Fare bezden alınan tek bir myoepitel hücresinin tüm organı yenileyebildiği gösterilmiştir.

Kök hücrelerle tedavi edilebilen hastalıklar

- ✓ Kalp hastalıkları (koroner damar hastalığı)
- ✓ Sinir sistemi hastalıkları (Parkinson, omilik ve beyin hasarları)
- ✓ Otoimmün hastalıklar (diabet, eklem romatizması, glomerulonefrit)

Kök hücre çalışmalarının tarihçesi

- **1960'lar** J. Altman ve G. Das tarafından yetişkinlerde nörogenez görüldüğüne dair ilk kanıtlar (beyinde kök hücre aktiviteleri) rapor edilmiştir.
- **1963** McCulloch ve Till fare kemik iliği hücrelerinin kendilerini yenileyebildiğini göstermişlerdir.
- **1969** İki kardeş arasında başarıyla kemik iliği nakli gerçekleştirilmiştir.
- **1978** İnsan kord kanında hematopoietik kök hücreler keşfedilmiştir.
- **1981** Fare blastosistinin iç hücre kitlesinden embriyonik kök hücreler elde edilmiştir.
- **1992** Nöral kök hücrelerin in vitro kültürü yapılmıştır.
- **1994** İnsan embriyonik kök hücreleri izole edilmiştir.

- **1995** A.B.D. Başkanı Clinton insan embriyosu ile ilgili çalışmaları yasaklayan yasayı imzalamıştır.
- **1997** Löseminin hematopoietik kök hücrelerden köken aldığı anlaşılmıştır ve kanser kök hücreleri ile ilgili ilk doğrudan kanıt elde edilmiştir.
- **1998** J.Thomson ilk embriyonik kök hücre kültürünü yapmıştır.
- **2000** Yetişkin kök hücrelerinin plastisite yeteneği rapor edilmiştir.
- **2003** S.Shi yetişkin kök hücre kaynağı olarak çocukların ilk dişlerinin kullanılabileceğini keşfetmiştir.
- **2004-2005** H.Woo-Suk insan oositinden bir kaç insan embriyonik kök hücre hattı yarattığını iddia etmiştir.
- **Ağustos 2006** K.Takahashi ve S.Yamanaka tarafından "Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors" adlı makaleyi yayımlamışlardır.
- **07/01/2007** A.Atala amniyotik sıvıdan kök hücre elde ettiğini rapor etmiştir.

Kaynaklar

1. <http://stemcells.nih.gov/>
2. <http://www.news.wisc.edu/packages/stemcells/>
3. <http://stemcells.nih.gov/info/basics>
4. <http://ink.primat.wisc.edu/~thomson>
5. <http://www.stemcellresearchfoundation.org/>
6. <http://www.stemcells.wisc.edu/>
7. www.wikipedia.org
8. <http://www.stemcellthera.com/>