

提起现代生物技术,令人印象最深的恐怕就是克隆技术,1997年“多莉羊”的诞生,让克隆这个词一下子家喻户晓。

世界首例体细胞克隆猴诞生的新闻一爆出,就成为热点。事件背后有些什么辛酸和难点,在谈到体细胞克隆猴背后的艰辛历程时,让中科院神经科学研究所非人灵长类研究平台主任孙强在汇报中一度哽咽落泪。



孙强

他们让精子的亲吻唤醒了沉睡的美人

世界首例克隆猴诞生 有你想不到的艰难

哺乳动物的体细胞克隆技术

这项任务该如何完成?首先科普一下哺乳动物体细胞克隆技术。

体细胞克隆就是将体细胞培养后,注入去除遗传物质的卵子内,通过人工方式激活后再送入受体,最终发育成个体的一个过程。体细胞克隆猴,就是利用猴子的体细胞,复制出相同的个体。

体细胞对应的是胚胎细胞,胚胎细胞具有发育全能性且数量有限,发育全能性通俗来讲,就是我们每个人都是由一个受精卵开始,然后发育成人。早期的胚胎细胞可以通过分裂胚胎的方法分出双胎,但这并不是实际意义上的克隆。

体细胞克隆的过程首先需要取得体细胞,科研人员可以在体外培养过程中进行基因编辑等操作。体细胞需要借助于卵母细胞的胞质才能具有全能性。科研工作者将卵母细胞去核(这在技术上和操作上是最难的),然后把体细胞和去核的卵母细胞融合并激活,重新构建成

体细胞克隆的关键节点

介绍一下体细胞克隆技术的几个关键节点。百万精子中一枚精子最后进入卵子形成受精卵,同时把卵子激活,这个激活过程很重要,所以在发育生物学上有一个很经典的比喻,叫精子的亲吻唤醒了沉睡的美人。

体细胞克隆这个过程胚胎没有自然受精,需要通过显微操作技术,去除细胞核再注射融合到一起,胚胎在发育到囊胚期开始着床,着床后便无法进行人工干预,所以关键步骤就是如何去激活。灵长类包括人在内在四细胞阶段只要有激活信号,细胞就会卵裂,但是在四细胞之后,只有启动正常的核基因组,才能完成

一个克隆胚胎,将克隆胚胎移植进受体动物,让它像早期正常的受精卵一样去发育,然后经过卵裂、着床,最后变成克隆后代个体。

克隆流程说起来简单但做起来却很难。1997年诞生了多莉羊,小鼠、猪随后都克隆成功,2005年克隆狗成功诞生,而非人灵长类体细胞克隆的研究从2002年开始,有文献报道的实验室很多,美国、德国、日本也包括中国的实验室也都投入研究,但直至2017年尚未有非人灵长类体细胞克隆动物出生的报道,问题出在哪里?

一是猴子的繁殖能力低,传代时间长。猴子的怀孕周期是160天,从小猴子出生到性成熟可以怀孕生育需要4-6年的时间。二是遗传背景复杂,猴子的父亲母亲都不一样,其基因来源不一样,遗传背景就不一样,这样导致个体差异大,对实验干扰就会很严重。基于此,一直以来全世界各国的科研人员都在想各种办法来努力攻克这个难题。

后续的发育,也就是说胚胎细胞从一个细胞依次分裂为2、4、8个细胞对的过程最为关键。核基因组启动前,体细胞核要经历一个回复到早起胚胎核状态的过程,称之为基因重编程,如果能把这个过程控制好,就能提高体细胞胚胎的发育率。

体细胞增殖总结下来有四个节点,第一是有一个体细胞组成的胚胎,第二是能够把胚胎激活,第三要能够启动核基因组,最后一个节点是把胚胎放在子宫和输卵管里,让它们着床发育成个体。除了最后一个节点无法控制,我们从前三个节点想办法干预。

体细胞克隆猴的诞生

科研人员将卵母细胞的去核操作从小鼠实验开始,把小鼠的卵母细胞固定住,用很细的针把核去除掉,这项工作比较容易操作。但是换成猴子的卵母细胞就并非易事了,由于猴子细胞不透明,在显微镜下看不到细胞核,需要通过偏振光才能把细胞核显示出来,经过长时间的训练,团队成员刘真博士已经做到10秒内取出一个猴子卵母细胞核,整个过程需要极其快速精确,因为这个过程对卵母细胞损伤很大,如果细胞有损伤,后续的工作便无法进行。

猴子实验比较特殊,要根据月经周期,需要在月经期前3天开始打针持续十几天。研究人员用了127枚卵母细胞,做了109个重构胚胎,对21只猴子受体进行移植,获得了6只怀孕受体,最后只有两只个体顺利出生。但用供体6只的数量与2只存活个体数量比较,我们的技术成功率大约为30%,灵长类的繁殖的成功率为5%左右,从这个角度看,团队实现了突破。

最后,两只克隆猴“中中”和“华华”通过DNA亲子鉴定,通过27个微卫星位点分析证明核基因组信息与供体体细胞完全一致。

体细胞克隆猴技术获得突破后,下一步的首要工作就是要通过提升克隆猴的成功率,构建出一大批具有完全相同遗传基因的猴群。这是制作脑科学研究和人类疾病动物模型的关键技术。体细胞克隆猴的成功诞生,突破了生命科学研究和人类疾病研究中急需的非人灵长类动物模型制作的关键技术,实现了在较短时间内(一年)大量生产遗传背景高度一致的非人灵长类实验动物和疾病动物模型,必将极大促进生命科学基础研究和转化医学发展研究。

■综合新浪科技、澎湃新闻
图片来源:新浪科技