成果与应用

山羊连续细胞核移植

杜　森

（发育生物学研究所　北京 100080）

动物育种要想得到一种理想的表型并保持这种表型是比较困难的。科学家们由于受到50年代以后在两栖类和鱼类进行一系列有关细胞核移植工作的启示，认为哺乳动物同样可以用细胞核移植手段来获得克隆动物。在1986年英国的Willadson获得世界上第一头核移植绵羊之前20年，我国著名科学家童第周教授就曾经说过："哺乳动物同样可以用细胞核移植的方法来研究其核质关系的问题，这样对人类癌细胞分化的研究更有直接的关系"。随着研究工作的进展，科学家们进而认识到通过有性繁殖进行系统选育获得新表型，而后再以无性繁殖的方式保存和扩增这种新表型的群体，就可能按照人们预期目的，定向培育和快速繁殖有经济价值的动物。

当前哺乳动物的无性繁殖概括起来有四条途径：(1)胚胎切割，将胚胎一分为二或一分为三，最多可一分为四，分别移植、培养、直至出生；(2)一代细胞核移植；(3)连续细胞核移植（或称继代核移植、再克隆、再复制），就是利用第一代核移植所得的一部分重构胚进行移植、培养直至出生，一部分重构胚作为施主细胞进行第二代核移植，再以第二代核移植所得的重构胚作为施主细胞进行第三代核移植，这样重复进行无性的传代；(4)全能性的胚胎干细胞作为施主细胞进行细胞核移植。前两种方法所得的克隆动物数量是有限的，第4条途径当前除了在小鼠获得了全能性的胚胎干细胞株以外，在其它动物均未获得，难度很大。因此无论从理论还是从实际应用的角度来考虑，第3条途径即连续细胞核移植的途径是比较切实可行的。

关于连续核移植的工作，美国Stice(1993)发表了第一篇关于牛连续细胞核移植的试验。我国从1991年开始，中国科学院发育生物学研究所与江苏农学院合作，选择山羊开展研究，分别把山羊8至16细胞期胚胎的分裂球和囊胚期胚胎的内细胞团的细胞作为原提供核细胞，移入去核的卵子内，经一系列处理获得重构胚，并重复继代，最终把重构胚移入11只受体母羊，其中3只妊娠足月，产4只羊羔，这是世界上首次获得的连续细胞核移植山羊，从而使我国在该领域的研究水平跻身国际先进行列。

我们之所以用山羊为实验材料，因为山羊是有代表性的家畜，和牛同属偶蹄目，均系反刍动物，完善其细胞核移植和连续细胞核移植的技术体系，并从基础理论上深入研究某些影响核移植成功的因素，对牛和其它大家畜的无性繁殖均能直接提供技术和有关理论依据。此项成果的创新点在于：

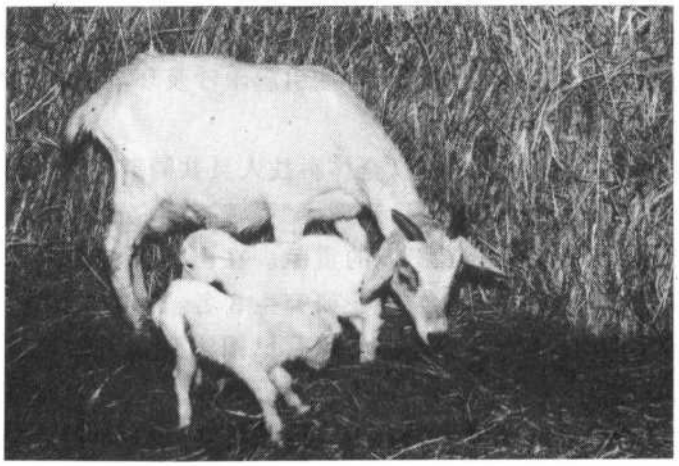
一、实验除了用早期胚胎(8—16细胞期)的分裂球外，还用早期囊胚期内细胞团的细胞，比Stice发表的用16—64细胞期的分裂球实验提高了一步，操作难度增加。

二、在继代核移植中，第一代与第二代发育率无差异(30%和29%)，而 Stice 发表的第二代核移植发育率明显低于第一代。

三、由第二代连续核移植所得的小羊羔已成熟并繁殖了正常的后代，这比 Stice 发表的工作更深入了一步，从这点可以证明原代供核细胞经连续核移植两代之后，它的全能性的特性没有发生变化，都维持了直接能形成各种类型的细胞和全部器官系统的遗传信息，而且保留了全部的遗传基因组。

此项研究成果不仅在理论上而且在实验中证明了哺乳动物的胚胎细胞全能性的特性也如同两栖类的细胞一样，可以用细胞核移植的方法代代相传，而不改变。同时在应用上为获得大量克隆动物群体，也就是大量地循环"拷贝"遗传性状一致的优良动物，成为可能。

今后的研究工作不仅在显微操作的技术环节上要加以完善化，同时要深入探索生物学因素对提高细胞核移植成功率的影响，如卵母细胞发育阶段的选择、卵母细胞激活的最有效手段、细胞核和细胞质发育的同步性等等。



这是我国用连续细胞核移植方法繁殖的山羊羔及受体母羊