

* 成果与应用 *

克隆大熊猫取得阶段性成果

陈大元^{*}

(动物研究所 北京 100080)

关 键 词 大熊猫体细胞, 兔卵母细胞, 全能性

大熊猫供核体细胞在兔卵胞质中可去分化而支持早期重构胚发育(克隆大熊猫研究第一阶段), 该项目首先得到中国科学院的支持, 后来国家科技部给予立项。异种克隆大熊猫是要重点解决异种克隆中的难题, 从而带动有关基础科研工作。克隆大熊猫研究是继第一只体细胞克隆绵羊“多莉”在英国诞生后提出来的。体细胞克隆表明, 已经高度分化的哺乳动物体细胞可以在去核(去除染色体)的卵母细胞中去分化并恢复全能性。体细胞克隆可以把某一个体的遗传物质完整地传递下去, 因而它对于保存并传播优良个体或者珍稀濒危动物的基因组具有重大意义。体细胞克隆已在绵羊、牛和小鼠等动物上获得成功, 但这些都属于同种克隆, 即供体细胞与受体卵母细胞均来自同一种动物。但对于濒危动物而言, 用同种克隆方法并不现实。例如大熊猫现存数量已不到 1 000 只, 虽然我国科技人员在有性繁殖的研究中取得一些成绩, 但由于大熊猫种群太小而很难获得卵母细胞, 因此有必要开展异种克隆技术研究。大熊猫异种克隆是将一种大熊猫体细胞核(如体外培养的大熊猫子宫上皮细胞核或其它细胞核)移植到另一种动物去核的卵胞质中。异种克隆涉及两大问题: (1) 虽然体细胞核在同种的卵胞质中能分化发育, 那么大熊猫体细胞核能否在异种卵胞质中去分化并支持早期胚胎发育?(2) 发育早期的重构胚能否着床并进行全程发育? 该项研究解决了第一个问题。

大熊猫材料由福州大熊猫研究中心提供。我们从一只死后 30 分钟的 12 岁雌性成年大熊猫上取得子宫上皮、乳腺、骨骼肌等组织。经胰蛋白酶消化 30 分钟后, 在含胎牛血清的培养基中, 放置于 37℃, 5% CO₂ 培养箱中进行体外培养, 传代 3-8 代的细胞用于核移植。移核前, 通过血清饥饿法处理使细胞周期处于 G0 期。受体卵母细胞来自日本大耳白兔, 经激素超数排卵获得成熟卵母细胞, 经透明质酸酶去除卵丘细胞。在显微操作仪上进行去核(除去第一极体和卵内的染色体组), 然后将培养好的大熊猫体细胞移植到兔卵母细胞的透明带下(即卵周隙中), 采用电融合仪输出的直流电脉冲使大熊猫的体细胞的膜与兔卵的质膜融合, 大熊猫体细胞核进入到兔卵胞质中, 建成重构卵。重构卵通过体外培养, 经卵裂各期发育至囊胚。实验共用 849 个兔卵母细胞, 分别以大熊猫子宫上皮细胞、肌肉细胞、乳腺细胞进行了核移植。

获得的重构胚需进行检测, 中国科学院动物研究所进行了重构胚染色体分析, 其结果, 重

* 动物研究所研究员
收稿日期: 2000 年 2 月 2 日

构胚细胞的染色体数目为 42 条, 与供体大熊猫细胞染色体数相同, 而与受体动物家兔的 44 条不同。

中国科学院昆明动物研究所对重构胚线粒体 DNA 和核 DNA 进行了分析, 通过大熊猫 DNA 特异性引物扩增重构胚线粒体 DNA 和核 DNA 获得了阳性条带, 对阳性条带进行测序, 结果证实所获阳性条带 DNA 碱基序列与标准大熊猫线粒体 DNA 碱基序列和核 DNA 碱基序列一致。在线粒体 DNA 获得证据后, 微卫星 DNA 分析再次证明异种克隆大熊猫的核来自培养的大熊猫供体细胞。

同种体细胞克隆的成功证明了已分化的体细胞可以在同种卵母细胞的胞质作用下去分化并恢复全能性, 这可能因为卵胞质中存在某种分化因子, 卵母细胞质的去分化特性是否具有种特异性? 我们的研究得到的结果, 证明了兔卵胞质也可使其他动物, 如大熊猫体细胞核去分化并支持早期发育。这些结果表明, 卵胞质使体细胞核去分化不具有种特异性, 据此我还可以肯定, 哺乳动物异种重构胚发育中, 异种细胞核与细胞质之间是相容, 异种核质是亲和的, 其中卵胞质起到了积极的作用。至于大熊猫异种重构胚能否在寄母子宫着床乃至进行全程发育, 这就是我们下阶段研究的任务。

* 简讯*

1999 年中国十大科技进展和世界十大科技进展

本刊讯 由 524 位中国科学院院士和中国工程院院士评选出的 1999 年中国十大科技进展和世界十大科技进展, 于 2000 年 1 月 6 日在北京揭晓。此次评选由中国科学院学部联合办公室、中国工程院学部工作部、《科学时报》社联合主办。

中国十大科技进展(按得票多少排序): (1) 我国载人航天工程第一艘试验飞船飞行成功; (2) 储氢纳米碳管研究获重大进展; (3) 我国科学家发现青藏高原上空存在“臭氧低谷”; (4) 我国发现迄今世界最古老的脊椎动物化石; (5) 我国推定出夏商周三代纪年; (6) 我国首次北极科学考察获硕果; (7) 上海医学遗传研究所成功培育出第一头携带人白蛋白基因的转基因牛; (8) 我国成功发射第一颗地球资源卫星; (9) 我国科学家成功克隆大熊猫胚胎; (10) 人血代用品研究与开发达到国际先进水平。

世界十大科技进展(按得票多少排序): (1) 人类第 22 对染色体密码被破译; (2) 科学家将光速降低到每秒 17 米; (3) 科学家设计出分子发动机; (4) 德国研制成可称量单个原子的秤; (5) 哈勃望远镜发现最遥远的天体; (6) 俄美科学家发现超重元素; (7) 旅美中国学者等发现具有胰岛素功能的天然化合物; (8) 美科学家利用猪细胞培育出动脉血管; (9) 朱棣文完成现代版“比萨斜塔实验”; (10) 澳科学家发现地球上最早的复杂生命形式。

(圆)