

“动物体细胞核移植”教学中的疑点分析

朱家华 周煜琳 (临沂大学生命科学学院 临沂 276000)

摘要 在初高中生物学教材中,对于动物体细胞核移植过程中怎样对核供体细胞进行处理有不同的表述。本文对该技术的发展历史、实验方法以及具体实验操作步骤进行梳理、分析和总结,为师生提供参考。

关键词 动物体细胞 核移植 科学思维 生物学教学

1 问题与观点

动物细胞核移植是动物细胞工程的常用技术。高中生物学教材选择性必修 3《生物技术与工程》对细胞核移植技术作出如下界定:动物细胞核移植技术是将动物一个细胞的细胞核移入去核的卵母细胞中,使这个重新组合的细胞发育成新胚胎,继而发育成动物个体的技术。但对比初高中生物学教材,该技术的具体表述有所不同。济南版初中生物学教材八年级下册的“现代生物技术”专题里谈到的克隆羊 Dolly 的培育过程中,需从白脸绵羊的乳腺细胞中取出细胞核,再植入受体的去核卵细胞中。而人教版高中教材选择性必修 3 中呈现的克隆高产奶牛的例子,从供体取到体细胞后,直接“将供体细胞注入去核的卵母细胞”,没有说明要

取出供体细胞核。那么,体细胞核移植过程中,到底向卵母细胞中注入“供体细胞”还是“供体细胞核”呢?

对于这个问题,中学生物学教师有两种常见观点:①从“保证成功率”的角度思考,细胞是一个完整的生命系统,保持供体细胞结构的完整性,才能够保证供体细胞核遗传物质的表达;②从“细胞质基因”的角度思考,供体细胞质中或许存在其他与高产相关的基因,“不能浪费”。事实究竟如何呢?

2 动物细胞核移植技术的历史回溯

1938 年,Spemann 提出胚胎细胞核移植(Somatic cell nuclear transfer, SCNT)这一构想^[1],是指将动物胚胎细胞核通过显微操作注入到去核卵母细胞中,构成重构胚,经过融合、激活、体外培养等手段,最终获得与

表 1 分析配子 a 概率为 5/8 和 1/3 的棋盘

	3/8A	5/8a
2/3A	1/4AA	5/12Aa
1/3a	1/8Aa	5/24aa

表 2 分析配子 a 概率为 5/6 和 1/4 的棋盘

	1/6A	5/6a
3/4A	3/24AA	15/24Aa
1/4a	1/24Aa	5/24aa

表 3 分析配子 a 概率为 5/12 和 1/2 的棋盘

	7/12A	5/12a
1/2A	7/24AA	5/24Aa
1/2a	7/24Aa	5/24aa

亲本雄牛是红褐色,基因型为 AA、Aa,产生的两种配子数量关系必为 $A \geq a$;亲本雌牛是红色,基因型为 aa、Aa,产生的两种配子数量关系为 $A \leq a$ 。根据表 1 可知, $A : a = 2 : 1$ 为雄配子之比, $A : a = 3 : 5$ 为雌配子之比。

对于雄配子的混合体系中,雄配子 A 的平均值为 2/3;基因型为 AA 的雄牛产生配子中 A 占比为 1;基因型为 Aa 的雄牛产生配子中 A 占比为 1/2,根据以上数

据,可得图 4。同理,两种雌性亲本基因型的比例推导见图 5。则亲本雄牛基因型及比例为 1/3AA, 2/3Aa,雌牛基因型及比例为 1/4aa, 3/4Aa。(参考答案 D。)

$$\begin{array}{l} \text{AA产生的雄配子A占比: } 1 \\ \text{Aa产生的雄配子A占比: } 1/2 \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \nearrow \\ \nearrow \end{array} \begin{array}{l} 1/6 \\ 2/3 \\ 1/3 \end{array} = \frac{1}{2}$$

图 4 以雄配子 A 平均值建构的十字交叉图

$$\begin{array}{l} \text{Aa产生的雌配子A占比: } 1/2 \\ \text{aa产生的雌配子A占比: } 0 \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \nearrow \\ \nearrow \end{array} \begin{array}{l} 3/8 \\ 3/8 \\ 1/8 \end{array} = \frac{3}{4}$$

图 5 以雌配子 A 平均值建构的十字交叉图

3 反思总结

通过对十字交叉法在遗传题型中的应用分析不难看出,十字交叉法是一种非常直观、简捷的确定组分比例大小的方法。但是也要注意它在遗传计算中的适用范围和关键的环节,如:此法一般适用于逆向思维类遗传题;a、b、c 均要为比值关系并且物理意义完全相等,才能运用自如,提高解题效率。

主要参考文献

- [1] 雍建红. 化学计算中的数学建模与应用探析[J]. 中国化学, 2021(10): 34-36. ◆

体细胞遗传物质一致的后代的技术。1952 年,Briggs 和 Kings 获得两栖动物——非洲豹蛙的胚胎克隆后代^[2]。随后,科学家以两栖动物为开端,初步建立并发展了该项技术。

1962 年,Gurdon 首次以爪蟾幼体中完全分化的小肠上皮细胞为核供体克隆出爪蟾个体,这项工作证明已经分化的细胞核不仅表达该细胞分化方向的遗传信息,而且还包含发育成一个完整个体所需要全部遗传物质。非洲爪蟾是有记载的第一例体细胞核移植动物^[2]。

从两栖动物水平迈向哺乳动物水平,研究人员又经历了艰难的探索。1997 年,以白面母羊的乳腺细胞为核供体,以黑面母羊的卵母细胞为卵供体的克隆羊 Dolly 在英国诞生。自 Dolly 问世以来,奶牛、小鼠、山羊、猪等诸多哺乳动物水平的体细胞核移植成功案例如雨后春笋般相继报道出来^[2]。

3 当前核供体细胞的具体处理方法

对核供体细胞的处理方法,不仅与不同研究时期的技术水平有关,还与选择的研究对象和实验材料密切相关。体细胞核移植包括:核供体细胞与受体细胞准备→细胞核移植→重构胚的融合、激活、培养和移植等过程^[1]。

核供体细胞是影响核移植效率的关键因素。选用合适的核供体细胞经过酶、磷酸盐缓冲溶液消化离心,并采用血清饥饿法、接触抑制法等进行同期化处理,即可得到处于相同分裂时期的分散的单个细胞。

常用的细胞核移植方法主要有两种,即细胞质内注射和透明带下注射^[3]。前者是用微型注射针将供体细胞的细胞核吸出,再注入去核卵母细胞质内;后者是直接供体细胞注入到去核卵母细胞透明带内,然后用病毒介导或者电脉冲等方式使两个细胞融合,因为这种方法操作简便,对卵母细胞损伤较小,现在较为常用。我国科学家于 2017 年底培育出的体细胞克隆猴“中中”和“华华”就是采用后一种方法^[4]。

细胞核移植后得到的重构胚在培养和移植前首先要进行激活。激活重构胚的原理是通过人为诱导,以改变重构胚中的钙离子浓度,模拟精子进入卵母细胞时所诱发的钙离子浓度变化,目前通常采用电刺激或离子霉素等化学试剂法^[1]。之后,对重构胚进行培养并移植,还要进一步进行表观遗传学修饰(实验对象不同,操作程序也不同。例如,培育克隆猴时,是先用调节表观遗传修饰的试剂处理后,再进行重构胚移植的)^[4]。总之,体细胞克隆胚胎的发育效率极低,整个过程高度复杂,任何一个环节出现失误,都将导致失败。

4 回应:体细胞核移植中,供体细胞核到底如何处理?

在大量实验操作中,通常采用直接将供体细胞注

入去核卵母细胞中的方式。从细胞工程研究专业人员的角度看,是否取出细胞核要“具体实验具体分析”。就目前的研究经验来看,不取出细胞核、直接注射供体细胞的原因是:在确保供体细胞质对重构胚的发育影响不大的前提下,可以简化操作,减少对卵母细胞的损伤,提高成功率。因此,高中生物学教材中高产奶牛的体细胞核移植实验操作是目前常用的操作技术,而教材中关于“细胞核移植技术”的概念界定也并无不妥——不管有无“取出”操作,供体细胞核仍是移植目标,细胞核移植仍是将一个细胞的细胞核移入去核的卵母细胞中。

5 进一步讨论:影响核移植成功率的关键因素

在实际操作中,有无“取出核”这步操作并非影响成功率的关键因素。在细胞核移植的过程中,对受体卵母细胞去核的操作更为关键;去核时间过长,环境中温度、湿度的变化,会对脆弱的卵母细胞产生影响;去核不完全,则会导致克隆胚胎染色体倍数异常,从而导致克隆胚胎发育异常;去核时丢失过多的卵胞质,又可能会由于卵胞质体积过小,无法提供足够的母源 mRNA 和蛋白质,导致核重编程效率下降,甚至是重构胚的死亡……目前,如何快速、高效、完全地将卵母细胞核去除,是该项技术的研究热点。

6 总结与反思

生物学是一门复杂性科学,复杂性是生命系统的固有属性,不确定性、概率性等是生命复杂系统的重要特点。Ernst Mayr 在 *The Growth of Biological Thought* 一书中写道:生物学中的概括几乎完全是几率性的,生物学只有一条普遍定律,那就是一切生物学定律都有例外。因此,学习生物学不能以片面、孤立的观点看待问题,要树立对立统一、普遍联系的唯物辩证思想;要做到理论与实践相结合,打破固有思维模式,培养生物学科学思维。

(基金项目:2021 年山东省本科教学改革研究重点项目“基于‘一主线二驱动三融合’的生物类创新创业人才培养模式探索与实践”,No.Z2021093)

主要参考文献

- [1] 赵鑫.水牛体细胞继代克隆及卵胞质对供体细胞核重编程作用的初步研究[D].南宁:广西大学,2019:1,26-27,5.
- [2] 廖兆蒂,刘真,孙强.核移植技术的建立与发展[J].中国细胞生物学报,2019,41(6):1032-1040.
- [3] 李智方.利用体细胞核移植及嵌合体技术制备荧光蛋白转基因猪的研究[D].南宁:广西大学,2015:3.
- [4] LIU Z, CAI YJ, WANG Y, et al. Cloning of macaque monkeys by somatic cell nuclear transfer [J]. Cell, 2018, 172(4): 881-887.◇