

技术原理、发展历程及应用 ——“人造精子”技术的几点思考

孙英梅

沈阳医学院, 沈阳 110034

摘要 人造精子能携带单倍体基因组遗传信息,与卵细胞融合并发育成半克隆个体。从技术原理、主要发展历程及应用等方面对这一前沿性技术进行了阐述。

关键词 人造精子;技术原理;发展历程;应用

近年来,随着细胞显微操作技术、干细胞技术的不断发展以及蛋白质组学、胚胎发育学等研究不断深入,科研人员已经研创出“人造精子”。成熟的精子是单倍体细胞,人造精子也是单倍体细胞,更准确地说是单倍体胚胎干细胞,是胚胎干细胞的一种,相对于正常二倍体胚胎干细胞,其核内只包含一套完整的遗传物质,细胞较二倍体干细胞小^[1-3]。人造精子既能保持精子的单倍体性,又能够与卵细胞结合,产生后代。

1 技术原理

正常的动物精子是单倍体细胞,人造精子亦如此。2009年,《Stem Cells and Development》杂志刊文介绍,英国科研人员首次造出能够使卵子受孕并生出健康宝宝的人造精子^[4]。2011年,Anton W和Josef M P团队相继建立了小鼠的孤雌单倍体胚胎干细胞。随后,李劲松和周琪带领的团队先后在体

外获得了小鼠的孤雄单倍体胚胎干细胞,这种孤雄单倍体可以通过卵母细胞注射的方法(称为ICAH-CI技术)代替精子使卵母细胞“受精”,进而产生半克隆小鼠^[5]。另外,为了解决一部分单倍体胚胎干细胞出现向二倍体衍变的现象,瞿超等通过过滤系统,富集并维持单倍体细胞的单倍体性超过30代^[6],从而确保这些单倍体干细胞基因组的单倍体性不会发生变化。

2 主要发展历程

20世纪70年代,Tarkowski A K和Rossant J^[7]及Kaufman M H^[8]开始研究如何构建小鼠单倍体胚胎并获得成功。进入80年代,Evans M J和Kaufman M H^[9]等科研人员成功研制出小鼠二倍体胚胎干细胞系,随后,这些科研人员按照相同的思路,拟建立小鼠单倍体胚胎干细胞系。通过将减数分裂Ⅱ期的卵母细胞进行激活,得到单倍体胚胎,

收稿日期:2020-06-30;修回日期:2020-08-27

作者简介:孙英梅,教授,研究方向为生命伦理学,电子信箱:xfklsym@sina.com

引用格式:孙英梅. 技术原理、发展历程及应用——“人造精子”技术的几点思考 [J]. 科技导报, 2020, 38(20): 134-136; doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2020.20.019

并希望构建单倍体细胞系,但实验结果是二倍体的细胞系,并不是预设的单倍体。后来才清楚,其原因是单倍体干细胞出现二倍体化。在过去30年间,科研人员一直致力于构建单倍体干细胞系,但始终没有突破性进展,这也使单倍体胚胎干细胞在高等动物研究中的应用受到很大影响。

KBM7是最早见诸报道的哺乳动物单倍体细胞系^[10],这是一株单倍体的癌症细胞系,是科研人员在慢性粒细胞白血病患者细胞系中分离出来的,在这株细胞系中,其他染色体都是单倍体,唯有8号染色体是二倍体,但因其来源于癌细胞,加之携带遗传信息的基因组并不稳定,导致KBM7的推广及应用受到很大限制。

2009年,新加坡国立大学Yi研究小组用青鳉鱼做实验,首次构建了脊椎动物单倍体胚胎干细胞系^[11],并将其细胞核移植到没有受精的卵细胞中,成功培育出后代并全部存活下来。同年,斯坦福大学瑞尼·瑞杰·佩拉科研团队宣布,已经研制出一种能够混合蛋白质和维生素的配方,该配方能助力人类胚胎干细胞向生殖细胞转化,从而使科研人员在实验室培育出有头部和短尾部的原始精子。

2011年,小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞系首次于体外成功建立,该成果由英国科学家Wutz实验室^[12]、奥地利科学家Penninger^[13]各自独立完成。2012年,小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞系由李劲松团队、周琪团队各自独立构建而成。科研人员通过剔除刚结合的受精卵中的雄原核,或者将第2次减数分裂中期的卵母细胞进行激活来获得孤雌单倍体胚胎干细胞;通过剔除刚结合的受精卵中的雌原核,或者激活注入精子头的剔除细胞核的卵母细胞的方法来获得孤雄单倍体胚胎干细胞;然后,使用流式细胞仪将得到的孤雌或孤雄单倍体胚胎干细胞分选富集;最后,完成孤雌或孤雄单倍体胚胎干细胞系的构建。科研人员发现,将小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞注射到成熟的卵细胞时,没有出现存活的后代,这表明,小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞系不具备受精功能,这也限制了其推广使用。但小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞系与之相反,利用ICAHCI技术,能够替代精子使卵母细胞“受精”并产生子代。

不过,通过上述技术孕育出来的小鼠,存活率并不高,最理想的也只有5%,且有半数的小鼠出现发育异常。近年来,经过不断探索,李劲松团队已经将小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞的子代存活率从5%提升到20%,且改良后的小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞也能够产生子代,存活率大约为15%。

3 应用

3.1 提高基因修饰效率

利用CRISPR-Cas9技术能进行基因编辑,也可以通过受精卵胞浆注射的方法快速获得遗传修饰的小鼠个体^[14],但此法得到的小鼠基因编辑效率不确定,存在嵌合体。而人造精子在这方面有明显优势。人造精子在细胞水平有很强的操作性,可为任何基因编辑提供支撑,能对多个目的基因同时修饰,ICAHCI技术对加快癌症、糖尿病或神经管畸形等疾病的研究功不可没。

3.2 有效预防、治疗遗传病

细胞分裂时,如果重要基因发生突变,最终会导致机体出现生理缺陷疾病。若生理缺陷是精子或卵细胞携带重要突变基因所致,那么这些生理缺陷疾病就被称作遗传性疾病。只有将患者的突变基因彻底修复,才能够保证这些遗传病不再传递下去,使用人造精子技术就可以实现这个目标。临床实践证明,无论是对单基因突变还是多基因突变导致的遗传病,人造精子的修复效果都很显著,是其他技术望尘莫及的。

3.3 解决男性不育问题及面临的难题

十几年来,男性不育率不断上升,其中精子稀少或死精是主要因素。一些科研人员表示,不久的将来,人造精子技术一定会为那些丧失生育能力的男性解决不育问题。但科学技术历来就是一把双刃剑,在人造精子可能为不育男性带来生育福音的同时,也会导致人类生殖繁衍方式的颠覆性改变,会使家庭成员之间的关系受到冲击。人类延续后代不单单与生理活动有关,还涉及心理、伦理和社会因素。

目前,该技术获得的受精卵只能培养出20%

的健康后代,将这种人造精子技术用在人类身上还为时过早^[15]。由于人造精子和自然状态下的精子在功能和结构上存在很大差别,因此,这项技术仍面临着许多技术与伦理问题。科研人员应该在伦理原则和法律法规的制约下,客观理性地对待这一热门研究,使其真正为人类带来福祉。

参考文献(References)

- [1] Bianchi E, Wright G J. Sperm meets egg: The genetics of mammalian fertilization[J]. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50: 93-111.
- [2] Yoshida S. Stem cells in mammalian spermatogenesis[J]. *DevGrowth Differ*, 2010, 52(3): 311-317.
- [3] Alberts B, Johnson A D, Lewis J, et al. *Molecular biology of the cell*[M]. New York: W. W. Norton & Company, 2014.
- [4] 科学家首次利用胚胎干细胞培养出人造精子[EB/OL]. (2009-07-18)[2020-07-23]. <http://news.sciencenet.cn/htmlnews/2009/7/221269.shtm>.
- [5] 钟翠青, 李劲松. “人造精子”与CRISPR-Cas9[J]. *生命科学*, 2015, 27(12): 1489-1493.
- [6] 张麟, 李劲松. “人造精子”介导基因编辑技术的建立与应用[J]. *生命的化学*, 2019, 39(1): 1-5.
- [7] Tarkowski A K, Rossant J. Haploid mouse blastocysts developed from bisected zygotes[J]. *Nature*, 1976, 259: 663-665.
- [8] Kaufman M H. Chromosome analysis of early postimplantation presumptive haploid parthenogenetic mouse embryos[J]. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 1978, 45: 85-91.
- [9] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos[J]. *Nature*, 1981, 292: 154-156.
- [10] Kotecki M, Reddy P S, Cochran B H. Isolation and characterization of a near-haploid human cell line[J]. *Experimental Cell Research*, 1999, 252: 273-280.
- [11] Yi M, Hong N, Hong Y. Generation of Medaka fish haploid embryonic stem cells[J]. *Science*, 2009, 326: 430-433.
- [12] Leeb M, Wutz A. Derivation of haploid embryonic stem cells from mouse embryos[J]. *Nature*, 2011, 479: 131-134.
- [13] Elling U, Taubenschmid J, Wirsberger G, et al. Forward and reverse genetics through derivation of haploid mouse embryonic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9: 563-574.
- [14] Wang H, Yang H, Shivalila C S, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering[J]. *Cell*, 2013, 153: 910-918.
- [15] 马亚宁. 人造精子育出基因可控小鼠有望成为重大疾病研究“加速器”[N]. *新民晚报*, 2017-04-18(7).

Technical principle, development and application —of "artificial sperm" technology

SUN Yingmei

Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China

Abstract The "artificial sperm" can carry the genetic information of a haploid genome, to fuse with an egg cell and to be developed into a semi clonal individual. In this paper, the technical principle, the main development process and the applications of this cutting-edge technology are reviewed.

Keywords artificial sperm; technical principle; development process; application ●



(责任编辑 王丽娜)