

研究发现修复基因印记异常大幅提高动物克隆效率

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/10109.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

体细胞核移植（SCNT）是指通过显微操作，将单个体细胞的细胞核移植到去核的卵母细胞中的技术过程。卵母细胞的细胞质能将体细胞核转变为“全能状态”，并发育成为完整的动物。希腊文“Klone”指的是通过扦插枝条来对植物无性繁殖的方法。由于与扦插繁殖有类似性，体细胞核移植也被称为动物克隆（Cloning）。

扦插到土壤中的枝条能否生根，是它是否能够成长为扦插植物的关键步骤。对于克隆胚胎来说，“生根”意味着在代孕母体的子宫内着床，进而形成有功能的胎盘。2006年，中国科学院动物研究所周琪课题组合作发现，尽管小鼠克隆胚胎的着床前发育率可达相当水平，但其移植后的“生根”过程，即着床后的发育存在显著的异常，而这些异常主要体现在胚外组织的发育异常。受限于研究手段，当时难以对克隆胎盘缺陷的本质做进一步阐释。

2017年，利用人工构建的孤雌和孤雄胚胎和早期胚胎测序技术，哈佛大学张毅实验室发现了H3K27me3控制的印记（亲本特异性单等位表达）蛋白编码基因，其中四个（Sfmbt2, Gab1, Smoc1, Jade1）在胎盘中受H3K27me3印记，在胎儿中不印记（双等位表达）。核移植重编程无法修正印记的缺陷。例如，对原始生殖细胞（不具备完整印记）进行克隆，无法获得具备完整印记的胚胎，也无法得到动物。一般认为，只有“印记正常”的供体细胞才能够被成功克隆。与很多情况下一样，对基础知识的更新挑战了“一般认知”：既然体细胞没有H3K27me3印记，也许所有的克隆胎盘都是“印记异常”的？这些异常对克隆胎盘的缺陷有什么贡献？

最近，中科院动物研究所、干细胞与再生医学创新研究院与中科院遗传与发育生物学研究所等机构的研究团队合作，鉴定了克隆胚胎的H3K27me3印记基因表达情况。和预期一致，这些基因在克隆胎盘中存在过度表达。要进一步证实这种过度表达对克隆缺陷的作用，则需要在供体细胞中单等位敲除四个H3K27me3印记基因。利用传统手段无法在细胞中一次性实现四个基因的单等位敲除，因此研究人员利用小鼠单倍体干细胞作为敲除载体，利用基因编辑技术成功获得了携带四个H3K27me3印记基因单等位敲除的体细胞——胚胎成纤维细胞。结果显示，这四个基因的敲除极大提高了体细胞克隆的效率，从0%（移植404枚野生型克隆胚胎出生0只）提高到最高14.2%（移植49枚四敲除克隆胚胎出生7只，实验共获得携带H3K27me3印记基因敲除的克隆小鼠39只）。

进一步研究发现，携带这四个基因的敲除的实验组克隆小鼠的体重与受精卵来源的小鼠一致，而对照组克隆小鼠的体重显著高于受精卵来源的小鼠。同时，实验组克隆小鼠的胎盘直径和重量也显著低于对照组克隆小鼠，与受精卵来源的小鼠一致。切片分析发现，这四个H3K27me3印记基因敲除之后，克隆胎盘的滋养层比例显著提升。滋养层提供胎儿与母体之间的物质交换，是胎盘“扎根”在子宫中的重要组成部分，也是胚胎正常发育的基础。野生型克隆小鼠的胎盘较大，可能在一定程度上保证了低滋养层比例下克隆胎儿的营养和气体交换。以上结果表明胎盘中H3K27

me3印记基因异常（双等位表达）是克隆动物胎盘异常的重要因素。

携带四个H3K27me3印记基因单等位敲除的克隆小鼠可以正常存活至成年，且这些成体小鼠的体细胞（尾尖成纤维细胞）在克隆中也展现出与胚胎成纤维细胞类似的克隆效率与表型的改善。这说明H3K27me3印记基因的单等位敲除对于克隆的提升不受供体细胞年龄的限制。通过将这些成体小鼠与野生型小鼠交配和基因分离，得到了四种携带不同单H3K27me3印记基因单等位敲除的小鼠。进一步克隆这些体细胞，发现Sfmbt2在提高克隆效率，增大滋养层比例上具有最大贡献，而Smoc1或Jade1敲除也在改善着床后发育上有不同程度的贡献。

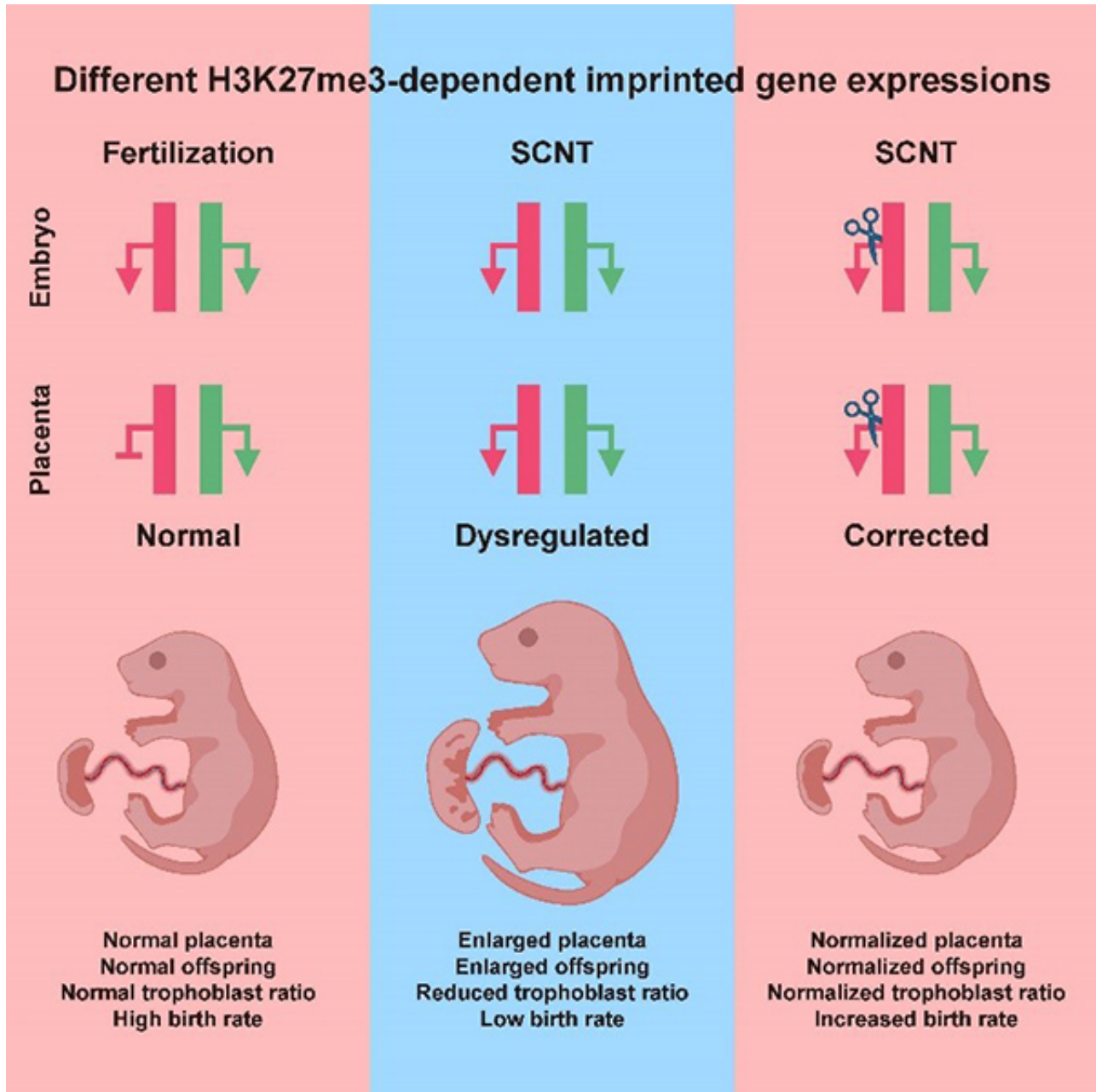
2010年，Ogura实验室报道单等位敲除Xist能显著提高小鼠克隆效率。实验发现，尽管Xist基因在克隆胎盘中也有过表达，但在提高成纤维细胞的克隆效率上，Xist敲除不如H3K27me3印记基因四敲除（或Sfmbt2单敲除）的效果显著。研究显示，小鼠的Xist印记同样依赖于胎盘特异的H3K27me3修饰，这些结果说明，异常的Xist印记可能也属于本研究所揭示的H3K27me3印记依赖的体细胞克隆障碍。本研究结果显示，胎盘的H3K27me3印记异常可能在体细胞克隆胚胎中广泛存在，是克隆胎盘过大这一常见克隆动物发育缺陷的重要贡献因素；修复胎盘中H3K27me3印记基因的表达异常能够恢复克隆小鼠的体重，支持了“克隆动物的胎儿过大，起因是克隆动物的胎盘过大”这一经典假设；找到了提高克隆效率贡献度最大的H3K27me3印记基因Sfmbt2；由于成纤维细胞是猪、牛、猴等大动物克隆中的广泛使用的供体细胞，本研究的结论或具有广泛应用前景。

相关研究成果发表于《细胞-干细胞》杂志。动物所、干细胞创新院

研究员周琪、李伟及遗传发育所

研究员陆发隆为文章共同通讯作者。该研究受到科技部、国家自然科学基金委、中科院、博士后基金等的资助。

[文章链接](#)



修复H3K27me3印记异常能提高克隆效率、改善克隆小鼠和克隆胎盘的发育表型

研究团队单位：动物研究所 遗传与发育生物学研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发