

# “复制”汪星人

## 中国科学家团队利用体细胞克隆技术 培育出了世界首例基因编辑克隆犬

7月28日,克隆犬“龙龙”出生满两个月了。“龙龙”一出生就不简单,因为它是中国首例完全自主培育的体细胞克隆犬,更是世界首例基因编辑克隆犬。该成果由中国科学院广州生物医药与健康研究院赖良学研究员带领北京希诺谷公司科研团队及广州生物院实验室团队完成。6月底,公安部南昌警犬基地将“龙龙”的血液样本,与另一只比格犬“苹果”进行DNA检测发现,“龙龙”与“苹果”同一认定几率大于99.99%,但排除与代孕母犬亲子关系。同时,赖良学研究员团队对“龙龙”与“苹果”的APOE基因进行鉴定发现,其基因敲除方式也完全一致。

“龙龙”28天

“苹果”30天

### “苹果”耳朵上 被取下极小块的皮肤组织

2016年底,世界首例动脉粥样硬化疾病模型犬“苹果”,在北京希诺谷公司诞生,“苹果”的名字源于APOE基因的谐音。研究团队的主要青年技术骨干王晓民介绍,“苹果”出生后,研究人员从其耳朵上取下极小块的皮肤组织,通过细胞体外培养,保存在液氮罐中,留待后续发力。“任何植物或动物的一个细胞,都包含了整个生物体的遗传信息,哪怕只是极小块的皮肤组织,通过细胞增殖后,都可以做无数次的实验。”

摸清“苹果”的发

情排卵规律后,团队拿到了它的成熟卵母细胞,然后进行克隆胚胎的构建。其过程是,先去掉卵母细胞的细胞核,“遗传物质都在细胞核中”;使“苹果”的体细胞从液氮中复苏,经电融合,将体细胞的细胞核转入去核的卵母细胞;激活重构的卵母细胞,克隆胚胎即构建完备。下一步就是把克隆胚胎移植到代孕犬的子宫,30天后,给代孕妈妈做B超检测显示,“代孕妈妈”怀孕了。2017年5月28日,世界首例基因敲除体细胞克隆犬“龙龙”诞生。

### 前后进行了100多次实验

犬不同于小鼠、牛、羊等生物,它很特殊,一直以来被认作是世界上最难被克隆的动物之一。2005年,世界首例体细胞克隆犬“史努比”在韩国诞生。此后,犬体细胞克隆技术就一直掌握在韩国人手中,从未被其他国家突破。“龙龙”的诞生,也标志着中国成为第二个独立自主掌握犬体细胞克隆技术的国家,同时,还首次实现了犬基因敲除体细胞克隆。

除了摸清犬发情规

律、获得成熟的卵母细胞外,最难的部分是电融合。犬卵母细胞中富含脂类物质,颜色较深,黏性很大,显微操作较困难,电融合的效率不高,“团队一直交流,不断调整参数去试,前前后后共进行了100余次实验,最终才成功。”王晓民说,实验最终攻克了电融合等一系列难题。“龙龙”的外观跟“苹果”看起来一样,但因为“龙龙”还小,目前在动脉粥样硬化疾病上,尚没有明确的表型。

### 克隆犬诞生过程



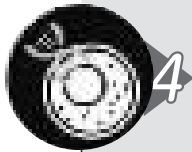
1 从“苹果”耳朵上取下极小块的皮肤组织,通过细胞体外培养,保存在液氮罐中。



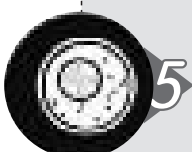
2 摸清“苹果”的发情排卵规律,拿到它的成熟卵母细胞。



3 先去掉卵母细胞的细胞核。



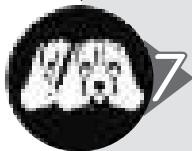
4 “苹果”的体细胞从液氮中复苏,经电融合,将其细胞核转入去核的卵母细胞。



5 再激活重构的卵母细胞,克隆胚胎即构建完备。



6 把克隆胚胎移植到代孕犬的子宫,30天后B超检测显示已怀孕。



7 又过一个月,“龙龙”降生。

### 科普

### 为何克隆犬此前鲜有闻之?

21年前,克隆羊“多莉”诞生,震动世界。此后,克隆牛、克隆猪等克隆动物陆续诞生,但对克隆犬,此前却鲜有闻之,这是为什么?

克隆犬的首要难题是成熟卵母细胞的获取。克隆包括三个主要的技术环节,一是成熟卵母细胞的获取及卵母细胞去核,二是克隆胚胎制备,三是克隆胚胎的移植。

成熟卵母细胞的获取有两个途径:体外成熟培养和体内输卵管冲卵获取。比如猪、牛、羊等动物,

可以去屠宰场获取被屠宰牲畜的卵巢,从卵巢的卵泡中取出未成熟的卵母细胞,经体外成熟培养后,便可用于后续的体细胞克隆。犬卵母细胞从卵泡中排出后处于GV期,是未成熟的卵子,需在输卵管中停留48~72小时达到成熟期(MII),而体外成熟培养效率极低,几乎无法满足克隆需求,因此只能通过体内成熟的方法获取体内成熟卵子,用于犬的体细胞克隆。

犬的发情周期长达几个月,发情期持

续10~15天,但排卵后从卵母细胞成熟到老化的间隔时间较短。因此,获取成熟且质量好的卵母细胞窗口期非常短。这就要求准确判断犬的排卵及卵子成熟的时间,才能获得处于理想状态的卵子,用于克隆胚胎的制备。而一旦错过卵子成熟的时间,下次排卵,就要等半年甚至一年。一只狗平均排卵7~8枚,“取得早没成熟,过晚又老化了。甚至同一批卵母细胞,也有的成熟早、有的晚。”王晓民说。

### 释疑

### 克隆犬可以用来做什么?

王晓民说,目前在韩国,克隆犬有多种用途,首先是克隆优良工作犬,如搜救犬、缉毒犬、导盲犬等,“这些犬有些特殊的技能,跟遗传因素影响比较大,而训练起来又非常难。”据报道,美国9·11事件中的“英雄搜救犬”,就被克隆出来。克隆技术也用来保护濒危犬科动物,如红狼、草原胡狼、灰狼等。建立疾病模型

后,再“复制粘贴”,克隆技术还能够制造更多的疾病模型犬,用于人类疾病的研究。

此外,犬是非常理想和成熟的实验动物,与人类在营养代谢、生理解剖等方面有很多相似点,而且犬温顺,配合度高,“比猪、猴子等动物都更听话”。赖良学说,目前团队在帕金森、自闭症、糖尿病等方面都有研究,如果有需要,也可以建

立犬疾病模型,进行药物筛选。王晓民说,目前国内克隆动物主要用于科学研究,包括疾病模型、药物研发、濒危物种保存等。赖良学说,在“龙龙”出生后,不少警犬基地就打来电话,希望进行合作。警犬珍贵,进口又较贵,团队后续也希望通过将基因编辑技术与克隆技术相结合,批量培育嗅觉、奔跑能力更强的警犬。

## 五味相辉映 举襄共品鲜 太太乐推新书解读鲜味文化

2017年7月26日,来自全国各地的数十位权威专家与媒体记者在上海太太乐食品有限公司欢聚一堂,共同见证行业内首部“鲜味”专著——《鲜味科学与鸡精调味料工艺概论》的出版。

太太乐总经理张西强先生指出,太太乐公司自成立以来,在专注于“让13亿人尝到更鲜美的滋味”的同时,也致力于鲜味文化的传播,追寻鲜味的历史渊源,揭开鲜味的科学之谜,让更多的人认识鲜、享受鲜。中国调味品协会副会长白燕女士对太太乐人为鲜味科学所做的贡献表示赞赏。

随后,太太乐董事长荣耀中先生就鲜味科学和与会嘉宾们做了精彩分享。现代科学研究表明,“鲜味”来源于多种呈味核苷酸、氨基

酸、多肽等物质,是优质蛋白质的滋味。1985年在夏威夷召开的鲜味研讨会上,鲜味正式被确定为人类第五种基本味,潜移默化地促进人类的生长发育和繁殖。

在我国,提味增鲜的调味品主要有鸡精和味精。味精的主要成分是谷氨酸钠,是以粮食为原料,经微生物发酵、提取、精制而成。而鸡精则是由多种鲜味物质复配而成的复合调味料,口味协调性好,滋味丰富、鲜美、醇厚,得到了大量消费者的衷心喜爱。

2016年12月,由太太乐人主编的《鲜味科学与鸡精调味料工艺概论》一书出版,它是鲜味行业内首次生动而系统介绍鲜味科学及其工业化发展之路的专著,有利于更多的社会大众熟悉鲜、了解鲜,并正确认识鲜味产品。包佳

### 延伸

### “复制版”宠物犬 会保留原来的记忆吗?

对爱养宠物的人来说,最值得期待的就是克隆宠物犬了。有报道显示,韩国公司推出宠物克隆服务,每只克隆小狗的价值约为10万美元,价格不菲。

克隆犬还留有原来的记忆吗?性格爱好是否一致?王晓民

说,克隆犬从基因层面来说,和它的原始版本并无二致,但它的成长仍有后天因素的影响,性格、爱好、记忆,这些因素不可遗传,被克隆犬的记忆只属于自己,克隆犬也会拥有只属于自己的记忆。王晓民查阅资料发

现,韩国方面有对克隆犬的健康状况做过研究,包括克隆犬的体重、体形、颅骨尺寸、骨板、血常规等的检测,与正常犬相比没有差别。克隆犬都很健康,没有出现一些重大疾病,寿命与正常犬也相一致。据《南方都市报》