

史上最著名的羊— 多利羊与克隆技术





改变生活的生物技术

- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？



改变生活的生物技术

- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？

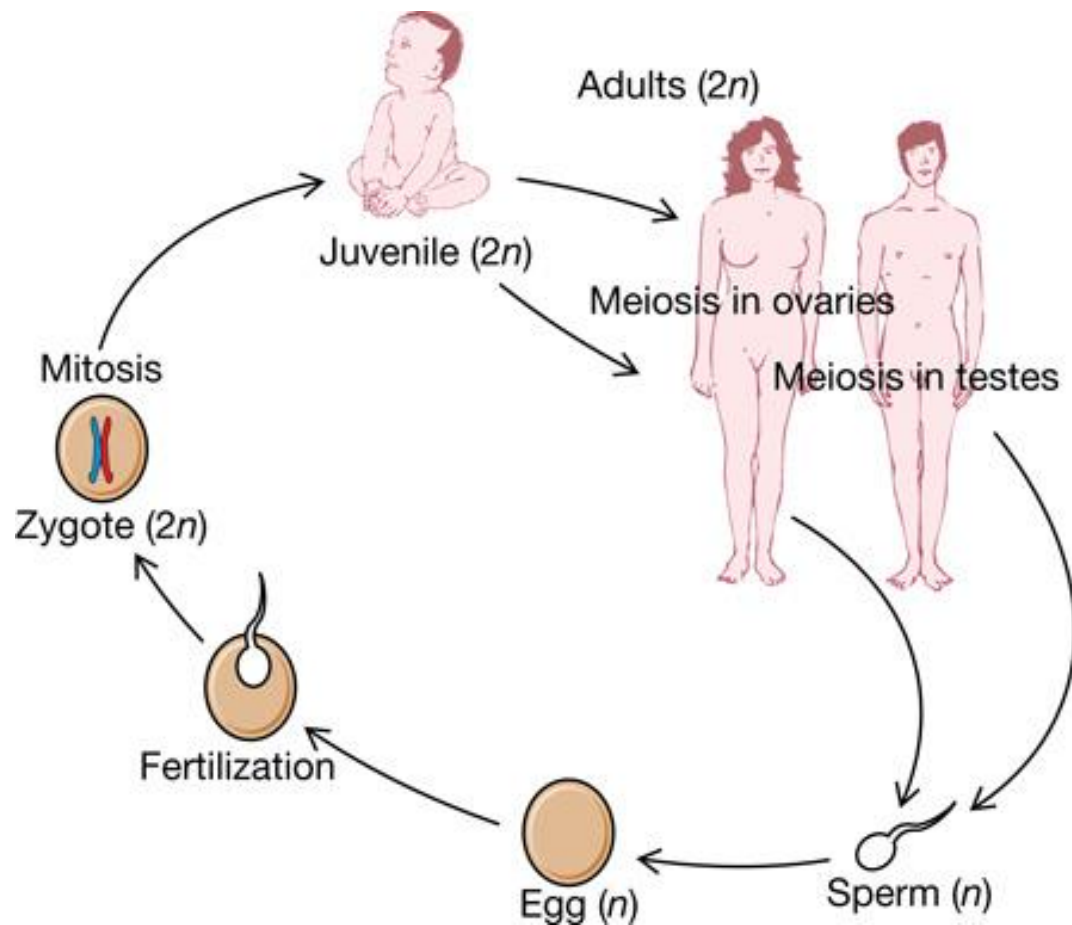
什么是克隆



克隆的植株

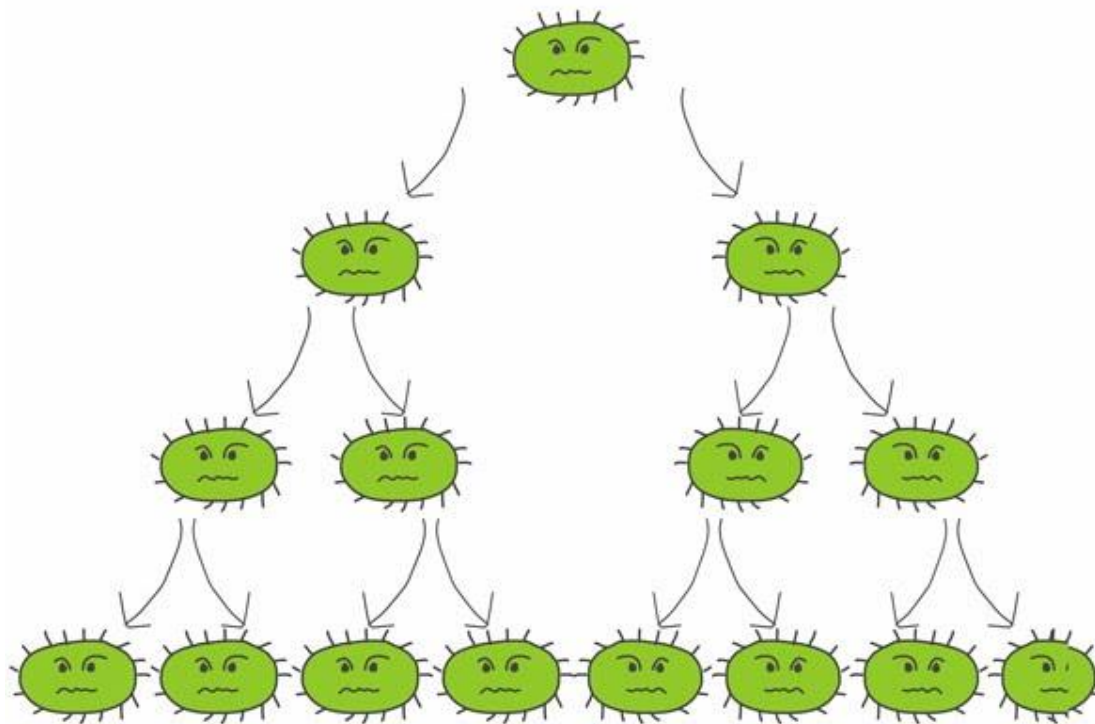
- 克隆，是英文“clone”的音译。
- 克隆由英国遗传学家J. B. S. Haldane提出。
- 动词：通过无性繁殖方式获得与出发个体基因型完全相同的后代。
- 名词：与初始个体基因型完全相同的后代。

有性生殖



有爹有妈，减数分裂，精卵结合

自然界中的克隆-无性生殖



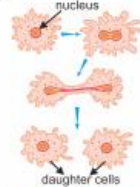
- 有妈没爹，有丝分裂，拷贝不走样

自然界中的克隆-无性生殖

LC7462

Types of Asexual Reproduction

Binary fission: A single parent cell divides into two daughter cells .
e.g. Amoeba, paramecium, bacteria.



Budding: Parent cell produces bud, it gets detached and develops into new individual e.g. Yeast, Hydra



Spore Formation:
Reproduces by forming spores. Under favourable conditions spores develop into new individuals. E.g. Fern, fungi, bacteria.



Fragmentation: Organism with filamentous body, break into two or more fragments. Each fragment grows into a new individual. e.g. Spirogyra



Regeneration: Organism's body breaks up into one or several parts. Each part develops into a new individual Ex-planaria, hydra etc.



Vegetative Reproduction:
Organism produces new individuals by a vegetative part of the plant. Ex- potato, onion, ginger, mint etc.



wikimedia commons; Author: Anca Mosoiu, wikimedia commons; Author: Spicywalnut, Frederic.marbac

© learnhive.com

BO6

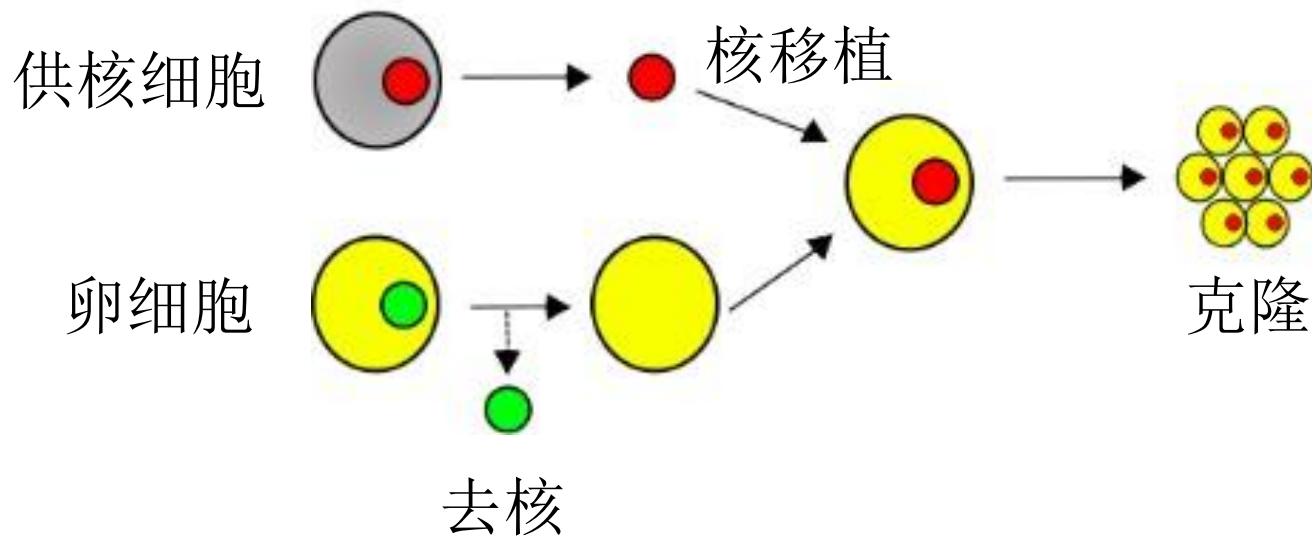
- 无性生殖分为：分裂生殖、出芽生殖、孢子生殖、断裂生殖，再生，营养生殖等。



什么是克隆技术?

- 目前的克隆技术, 主要指**动物克隆技术**。
- 从动物身上提取一个单细胞, 用人工的方法将其培养成胚胎, 再将胚胎植入雌性动物体内, 就可孕育出新的个体。
- 动物克隆的主要方法是**细胞核移植**。

细胞核移植



- 将供核细胞的核植入去核的卵细胞中，融合细胞发育成的个体是供核细胞的克隆。



卵细胞去核

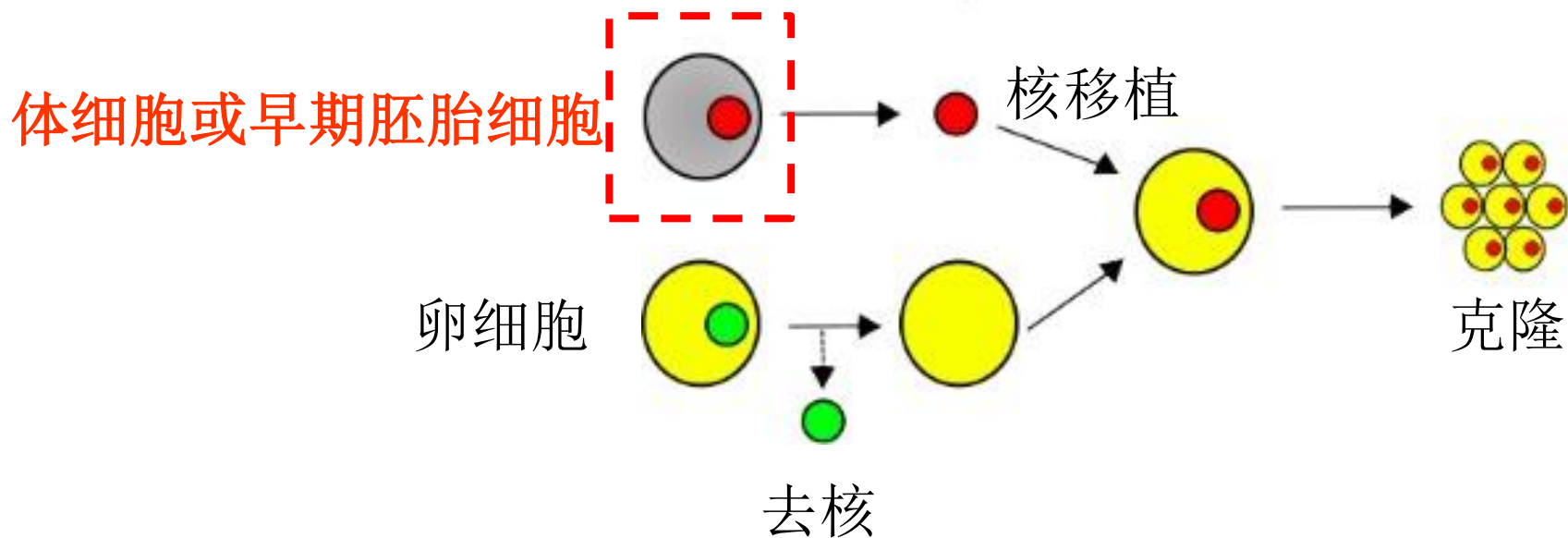




核移植

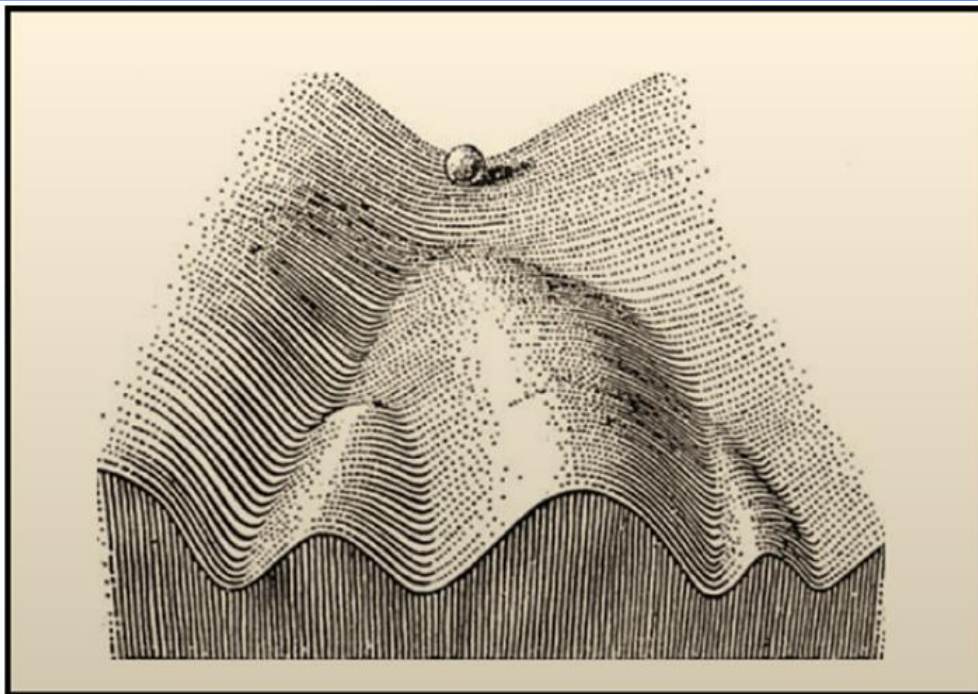


细胞核移植



- **胚胎克隆**指使用的核供体细胞来自多细胞阶段的胚胎。胚胎克隆无法实现对成体动物的克隆。
- **体细胞克隆（体细胞核移植）**指使用的核供体细胞来自动物体细胞。**体细胞克隆可以实现对成体动物的克隆。**

细胞分化

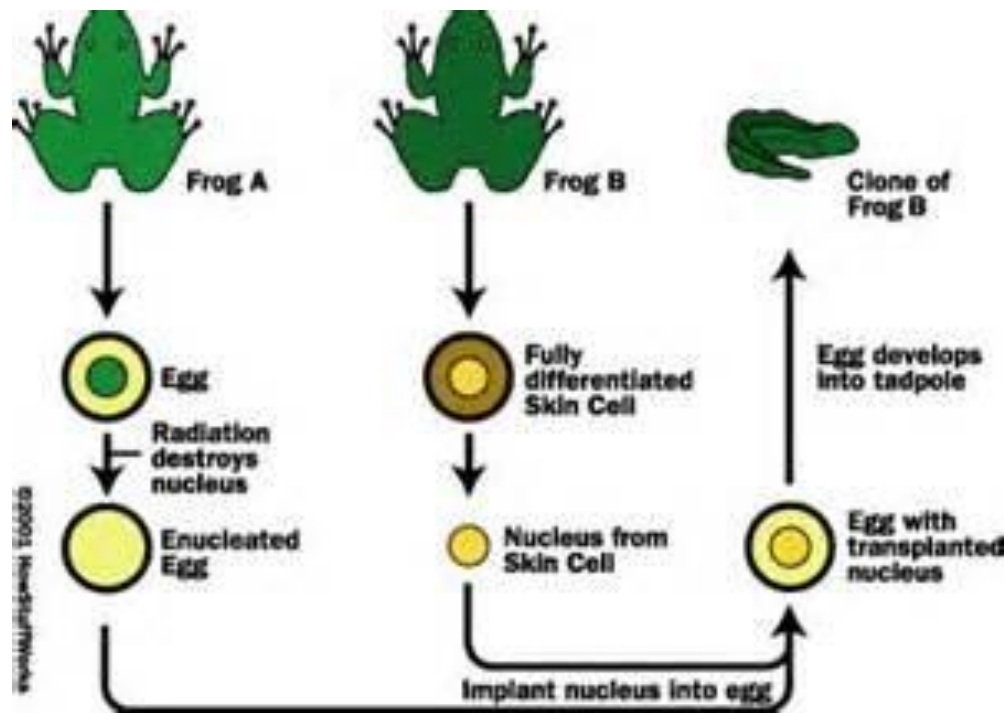


1942

C.H. Waddington

- 细胞不断分裂趋于专门化的现象被称为**分化**。
- 细胞分化后不能复原，好比是从山顶滚向谷底的球。
- 体细胞克隆好比是把谷底的球推回山顶。

第一次动物体细胞克隆实验



- 1962年, 英国发育生物学家John Gurdon将肠道皮肤细胞的细胞核植入青蛙的卵细胞中。被改造过的卵细胞发育成了一只蝌蚪。

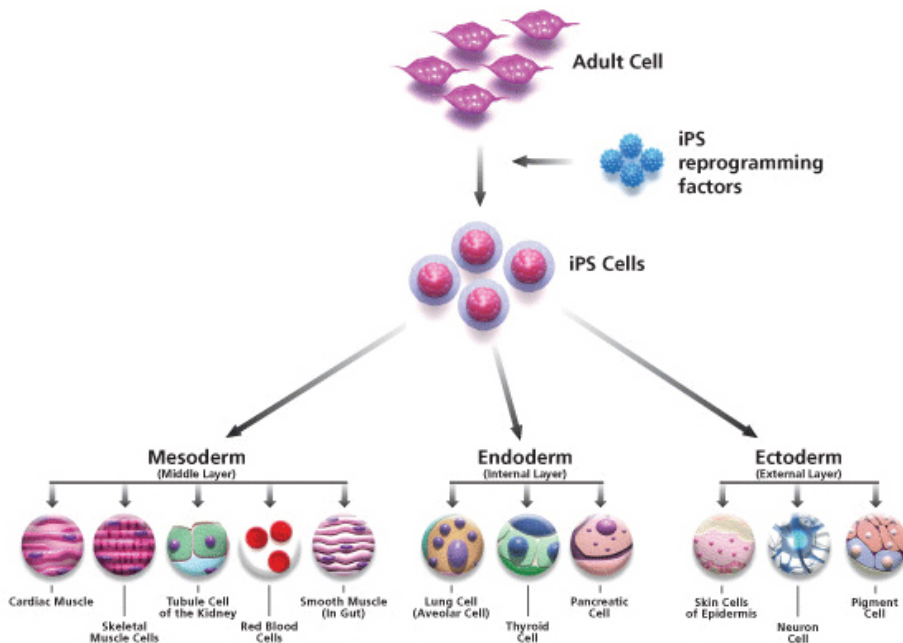
体细胞克隆之父



Sir John Bertrand Gurdon
University of Oxford

- Gurdon的实验说明分化后的体细胞的核中信息可以被卵细胞质重新编程，让一颗细胞发育成新的个体。
- 2012年，Gurdon与山中伸弥分享了诺贝尔生理学奖。

体细胞克隆的另一条路



Nature. 2009 3;461(7260):86

- 通过采用导入外源基因或小分子刺激等方法使体细胞去分化为**诱导多能干细胞**。
- 诱导多能干细胞可以发育成完整个体。



动物克隆的发展

- 1962年，Gurdon实验的核移植操作无法使体细胞核获得完全的分化潜能。
- 20世纪80年代，科学家们陆续获得了小鼠、羊、牛、兔和猪的克隆，但这些克隆属于胚胎克隆。
- 胚胎克隆依赖于早期胚胎，无法实现对成体动物的克隆。所以在实际应用上存在障碍。
- 体细胞克隆可以实现对成体动物的克隆，但哺乳动物的体细胞克隆一直未获成功。



克隆技术介绍

- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？

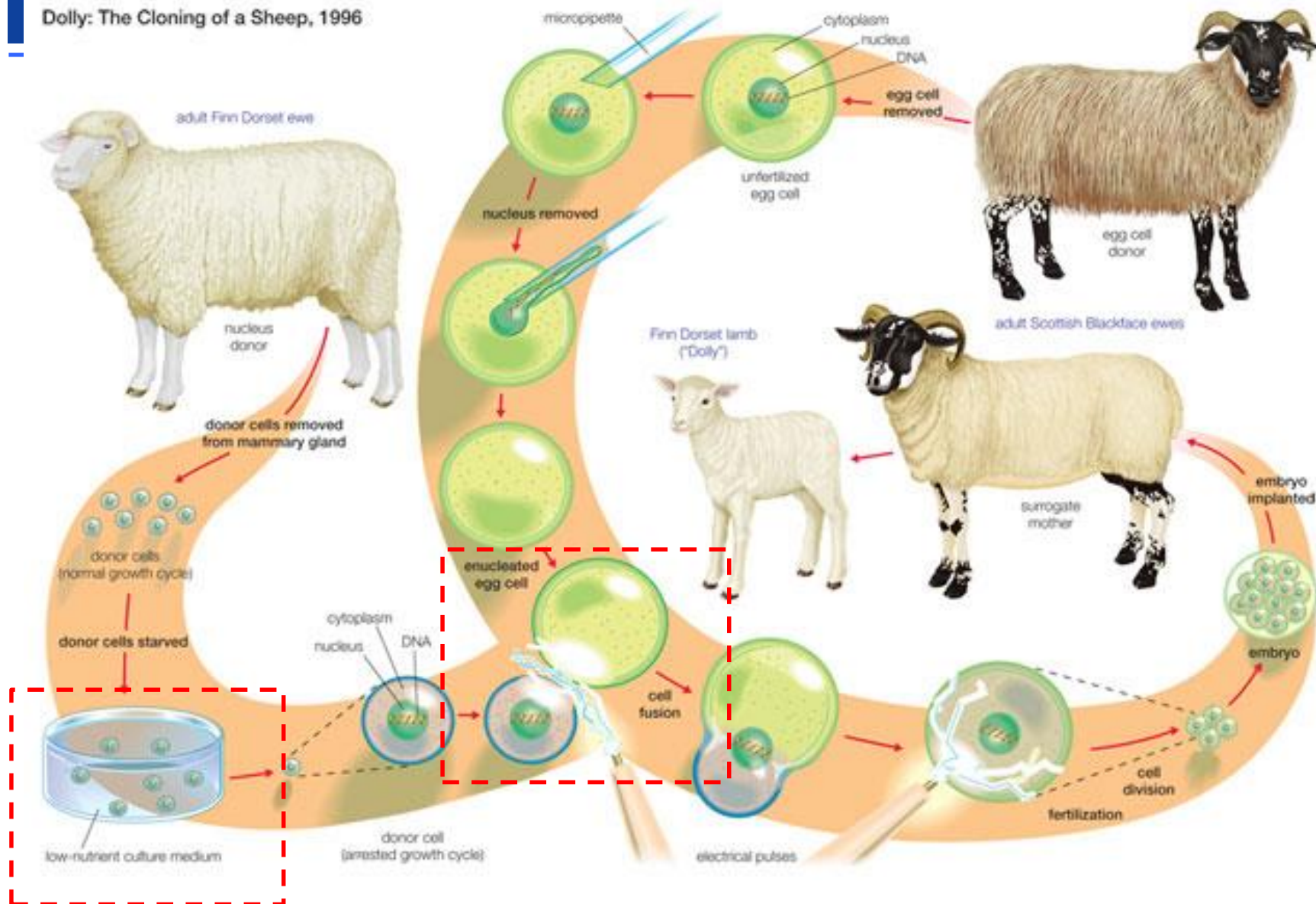


多利的诞生

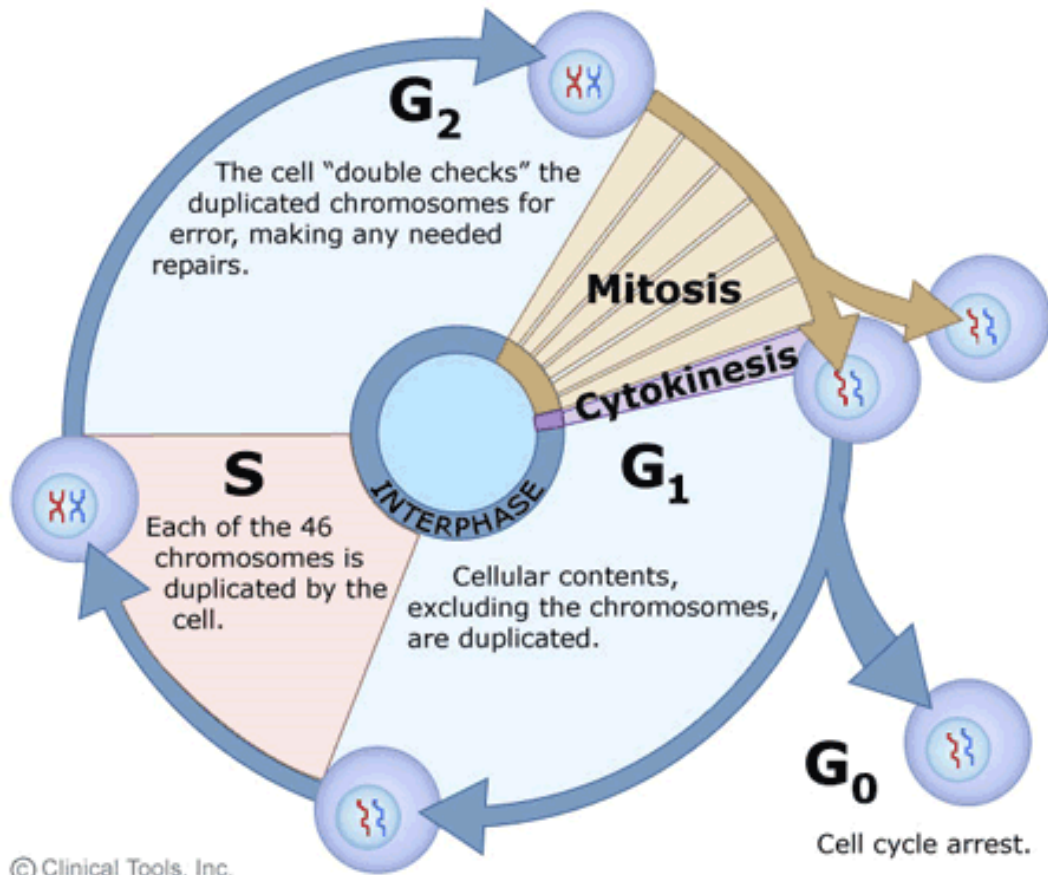


克隆多利之路

Dolly: The Cloning of a Sheep, 1996



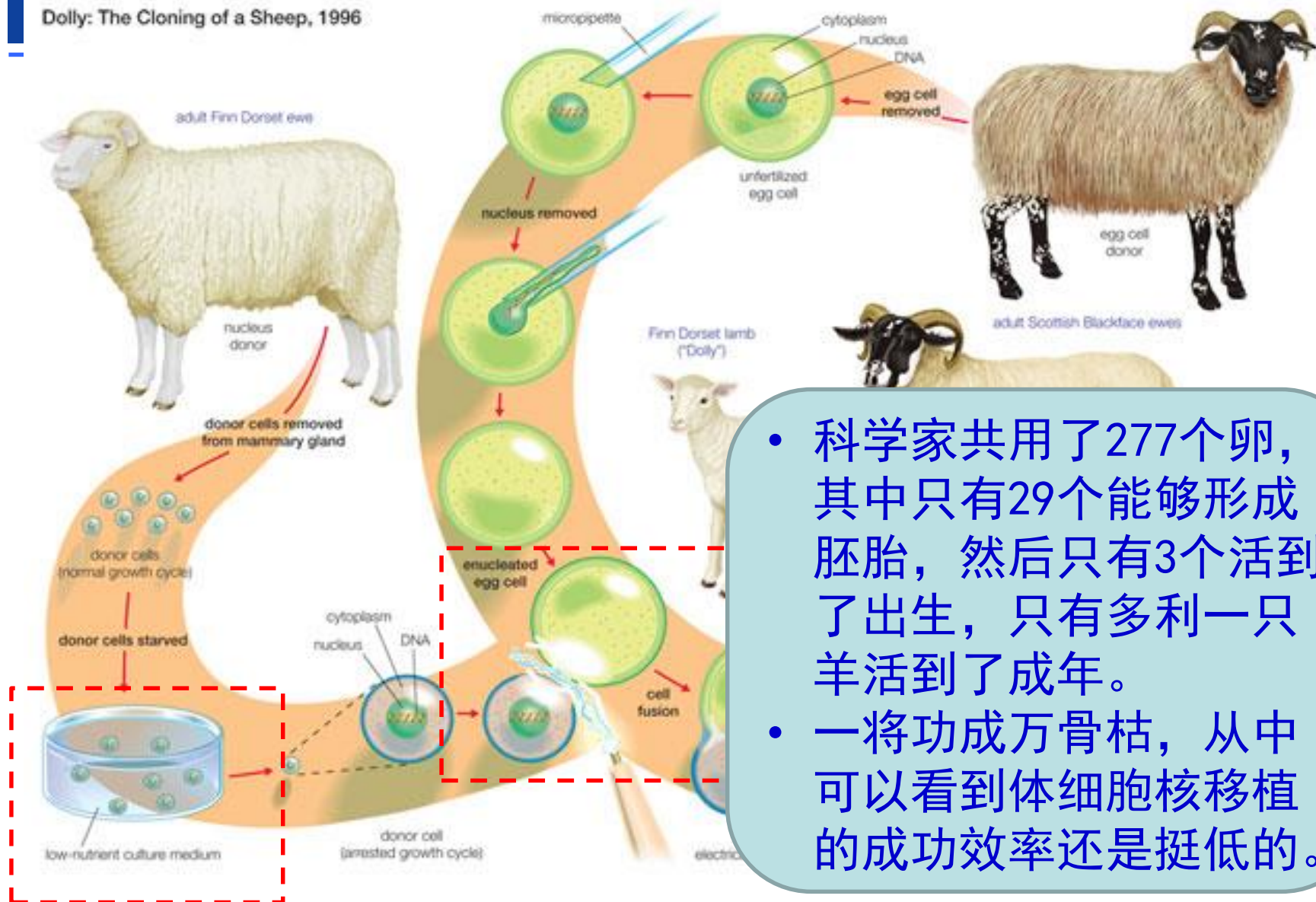
细胞周期



- 细胞周期 (cell cycle) 是指细胞从一次分裂完成开始到下一次分裂结束所经历的全过程，包括G₁, S, G₂, M期。
- 细胞停止分裂, 进入休眠状态, 即G₀期。在适宜刺激下, G₀期细胞可以再次进入周期。
- 选择G₀期细胞核进行移植, 是克隆羊成功的关键。

克隆多利之路

Dolly: The Cloning of a Sheep, 1996



- 科学家共用了277个卵，其中只有29个能够形成胚胎，然后只有3个活到了出生，只有多利一只羊活到了成年。
- 一将功成万骨枯，从中可以看到体细胞核移植的成功效率还是挺低的。

为什么多利那么出名？



- 多利是第一例体细胞克隆的哺乳动物。
- 在理论上证明了同植物细胞一样，分化了的动物细胞核也具有全能性，在分化过程中细胞核中的遗传物质没有发生不可逆变化。
- 在实践上证明了利用体细胞克隆动物，甚至克隆人在技术上是可行的。

多利的宝宝

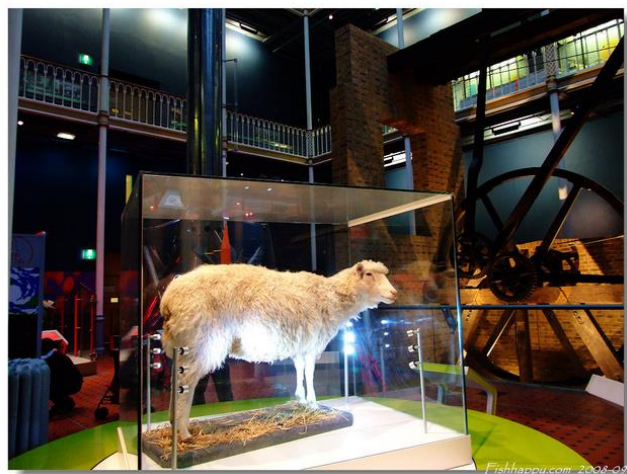
我当妈妈了!



多莉和邦尼

- 成年后的多莉与一只名叫戴维的威尔士山羊喜结良缘。
- 1998年，多莉生下一只雌性小羊羔“邦妮”。去世前，多莉总共诞下六只小羊羔。
- 克隆动物具有生育能力。

多利的早衰



多利的标本

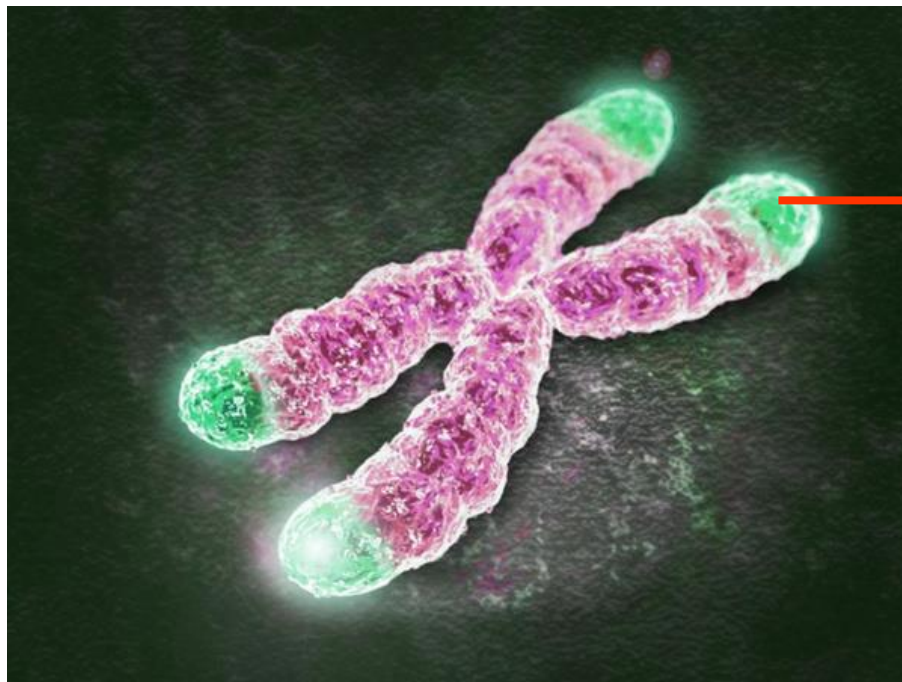
- 诞生：1996年7月5日
- 2001年：4岁，正处于青年期的多利，患上典型的老年疾病度关节炎。
- 2003年初，另一项老年性疾病“进行性肺炎”开始袭击多利。
- 2003年2月14日，“情人节”，多利以安乐死的方式告别这个世界，享年6岁，是正常绵羊寿命的一半。

多利早衰的原因



- 克隆动物出生时的衰老程度类似于供体。
- 克隆技术过程中存在物理化学伤害。
- 室内饲养环境。

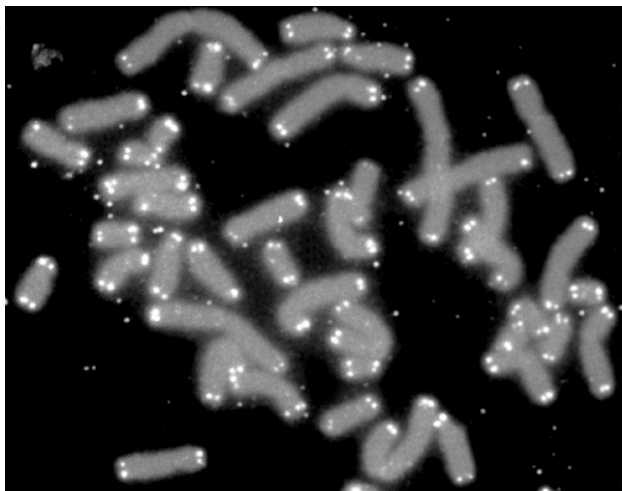
多利的染色体变短了



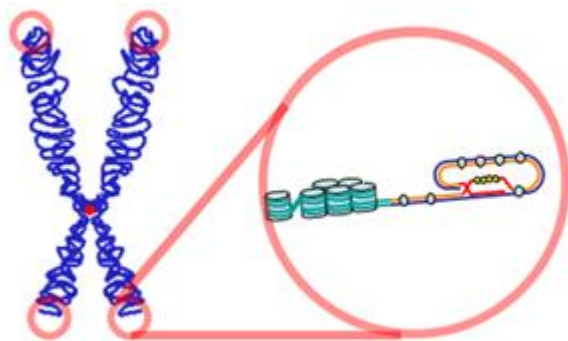
端粒

- 多利的染色体比同年齡的綿羊要短。
- 變短的原因是由於多利的端粒比正常端粒短20%。

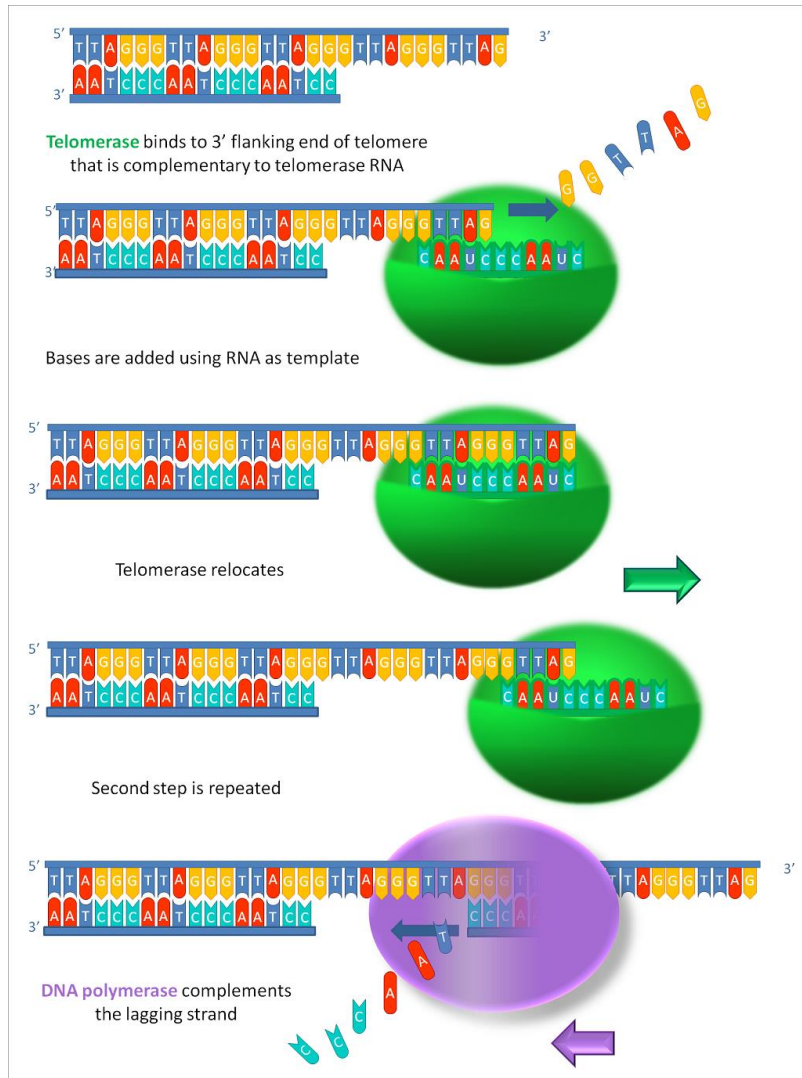
端粒是细胞寿命的计时器



- 端粒体位于染色体末端，由重复序列构成，端粒保护了染色体的末端。
- 端粒的长度与细胞的寿命有关，细胞每分裂一次，端粒就缩短约100bp，端粒长度缩短到只有3000~5000bp时细胞就停止分裂而死亡。



端粒酶负责延伸端粒



- 为了防止端粒缩短，细胞利用端粒酶来延伸端粒。
- 在正常人体细胞中，端粒酶的活性受到相当严密的调控，只有在一些必须不断分裂的细胞，例如造血细胞、干细胞和生殖细胞，才可以侦测到具有活性的端粒酶。
- 多莉的DNA来源于乳腺细胞，乳腺细胞中端粒酶活性很低，无法阻止端粒的缩短。因此多莉的DNA从一开始就与它的基因母亲一样“老”。

多利的CV

- 字: Dolly
- 名字来源: 美国乡村音乐女歌手 Dolly Parton
- 性别: 雌
- 编号: 6LL3
- 出生日期: 1996年7月5日
- 出生地点: 英国爱丁堡市罗斯林研究所
- 死亡日期: 2003年2月14日
- 死亡原因: 被确诊患进行性肺病后处以安乐死



Dolly Parton

多利的家庭状况

- 基因父亲
无
- 基因母亲
一只芬兰多塞特白面绵羊
- 借卵母亲(线粒体母亲)
一只苏格兰黑脸羊
- 代孕母亲(生育母亲)
另一只苏格兰黑脸羊
- 养父: Ian Wilmut, Keith Campbell
- 子女: 生育6名, 存活5名



多利的重生



- 原版多利的基因物质来源于一只母羊的乳腺细胞，当时取样后剩下的组织一直被冷冻保存。
- 2007年，Campbell利用冻存组织，克隆出了这4只新多利，它们是多利的百分百复制品。
- 体细胞克隆的可重复性。



克隆技术介绍

- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？

第一头克隆牛

- 1999年，第一头克隆牛Amy，在美国Connecticut大学通过剖腹产顺利诞生。该项工作由杨向中教授领导。
- 与Dolly等克隆动物不同，Amy的遗传物质来源于和生殖系统无关的体细胞：耳朵皮肤上皮细胞。
- 采用普通体细胞克隆，取材方便，对供体的年龄和性别也没有限制。



第一只克隆猫CC

A cat cloned by nuclear transplantation

Nature 415, 859 (21 February 2002) |
doi: 10.1038/nature723



- “遗传储存与克隆”公司（Genetic Savings & Clone, Inc）位于美国加州西部的索萨利托市，其创始人为德州富翁 Hawthorne，他因痛失爱犬而大力资助德州农工大学研究克隆宠物计划，旨在帮助人们克隆宠物伙伴。
- 2002年初，公司就培育出了全球第一只克隆猫CC，这令不少宠物主人兴奋不已。从2003年开始，公司把发展中心转向挣钱，致力于开发“克隆宠物”业务。克隆猫：5万美元/只

杂种动物的克隆：克隆骡



A Mule Cloned from Fetal Cells
by Nuclear Transfer
Science. 2003, 301(5636):1063.

- 2003年5月4日**第一头克隆骡降生。**
- 该项工作由Idaho大学和Utah州立大学的科学家完成。克隆骡被命名为“爱达荷宝石”。它是世界上第一头被克隆的马科动物，也是克隆杂种动物的首次成功尝试。
- **该成果将有助于克隆其他自身繁殖有困难的濒危动物，对研究癌症等疾病也有重要的参考价值。**



姐姐生妹妹：第一匹克隆马

- 2003年5月28日第一匹克隆马 Prometea 在意大利诞生。这是世界上首例哺乳动物生下它自己的克隆体。
- 科学家将 Prometea 的“妈妈”表皮细胞与去核卵细胞融合，在这个新细胞开始分裂成长到一定阶段后，专家将其移植到“妈妈”子宫内。
- 成功概率：1/800卵，1/17胚胎。
- Prometea 的诞生推翻了生殖系统将排斥任何“同自己基因完全相同的胎儿”
- 2005年，克隆赛马成功。



克隆马和它的“妈妈”

第一批克隆缉毒犬



- 2007年，首尔大学的韩国科学家从一只加拿大缉毒犬克隆了7只缉毒警犬，其中6头警犬在完成16个月的训练后顺利上岗。克隆成本10-15万美元/头。
- 克隆狗降低了打击犯罪的成本。自然出生的狗只有约30%能被训练成合格的缉毒犬，但是，韩国科学家称，使用克隆方法合格率可增到90%。
- 2009年，韩国海关已在主要机场和边界部署克隆缉毒犬。

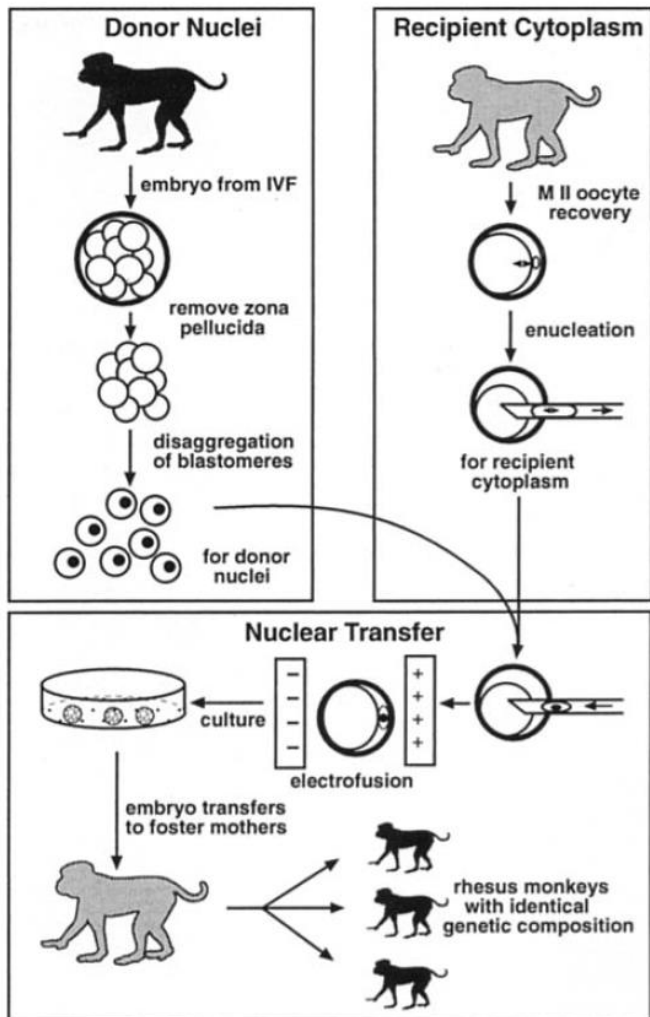
一滴血克隆老鼠



日本科学家用一滴血克隆出雌老鼠

- 2013年6月27日，日本理化研究所生物资源中心（Riken BioResource Centre）用老鼠尾巴上的一滴血，分离出其中的白血球细胞作为供核源，再利用克隆技术，成功再造了几十只“一模一样”的老鼠。
- 一小滴血液也能包含足够的遗传信息，该技术有助于繁殖和扩大珍稀物种。

第一只克隆猴



- 1997年,美国科学家采用胚胎克隆法克隆了恒河猴。供体细胞来自于发育早期的囊胚期细胞。
(Biol Reprod. 1997 Aug;57(2):454-9)
- 体细胞克隆猴尚未成功。

FIG. 1. Nuclear transfer. A schematic of the technology.



克隆技术：我国科学家的成绩



- 1990年代初，西北农林科技大学教授张涌成功培育出了世界上首批7头胚胎克隆山羊。
- 2000年，他们从成年羊的耳朵取下皮肤细胞，培养出了体细胞克隆羊“元元”和“阳阳”。这些工作奠定了他们在国内外同行中的地位。



张涌

我国的克隆牛

- 2002年1月，我国第一头克隆牛“**妥妥**”出生。由于器官异常，“妥妥”存活仅一个多小时后不幸夭折。更多的克隆牛随后诞生，存活5头。
- “妥妥”是我国第一头土生土长的克隆牛，是因为从培育克隆胚胎到克隆胚胎移植都是中国人在自己的国家完成的。遗传物质来源于优质成年牛的耳细胞。



妥妥



上海转基因研究中心的克隆动物



- 上海杰隆生物工程股份有限公司（上海转基因研究中心），成立于1999年1月，位于浦东国家级生物医药产业基地——张江高科技园区。



SP3179号波尔羊克隆羊



SP3179



CB-1



CB-2



CB-3



CB-4



CB-5



CB-6



CB-7



基因打靶体细胞克隆羊

A、获得了人乳铁蛋白基因打靶的体细胞及其克隆山羊（存活12头）



B、获得了人溶菌酶基因打靶的体细胞及其克隆山羊（存活5头）



C、获得了LOXP基因打靶的体细胞及其克隆山羊（存活16头）





克隆技术介绍

- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？

挽救濒危动物



- 1998年，中科院动物所研究员陈大元在异种克隆大熊猫时获得重大进展，将大熊猫的体细胞核放入兔子的去核卵母细胞中，成功发育成了囊胚。
- 有人认为国家应该把经费花在保护大熊猫的生态环境上，而非单纯“复制”大熊猫，克隆大熊猫就是反对大熊猫的自然繁殖。
- 2010年，克隆大熊猫已经“只差最后半步”，研究还是因种种原因无疾而终。陈大元已退休，大熊猫克隆也接近停滞。



快速扩大优质个体群



种畜



竞赛动物



警用动物

解决供体器官不足



- 2015年之前，超过65%器官移植的器官来源于死囚
- 从2015年1月1日起，中国已停止死囚器官使用，如今公民自愿捐献已成为唯一合法器官来源。



解决供体器官不足

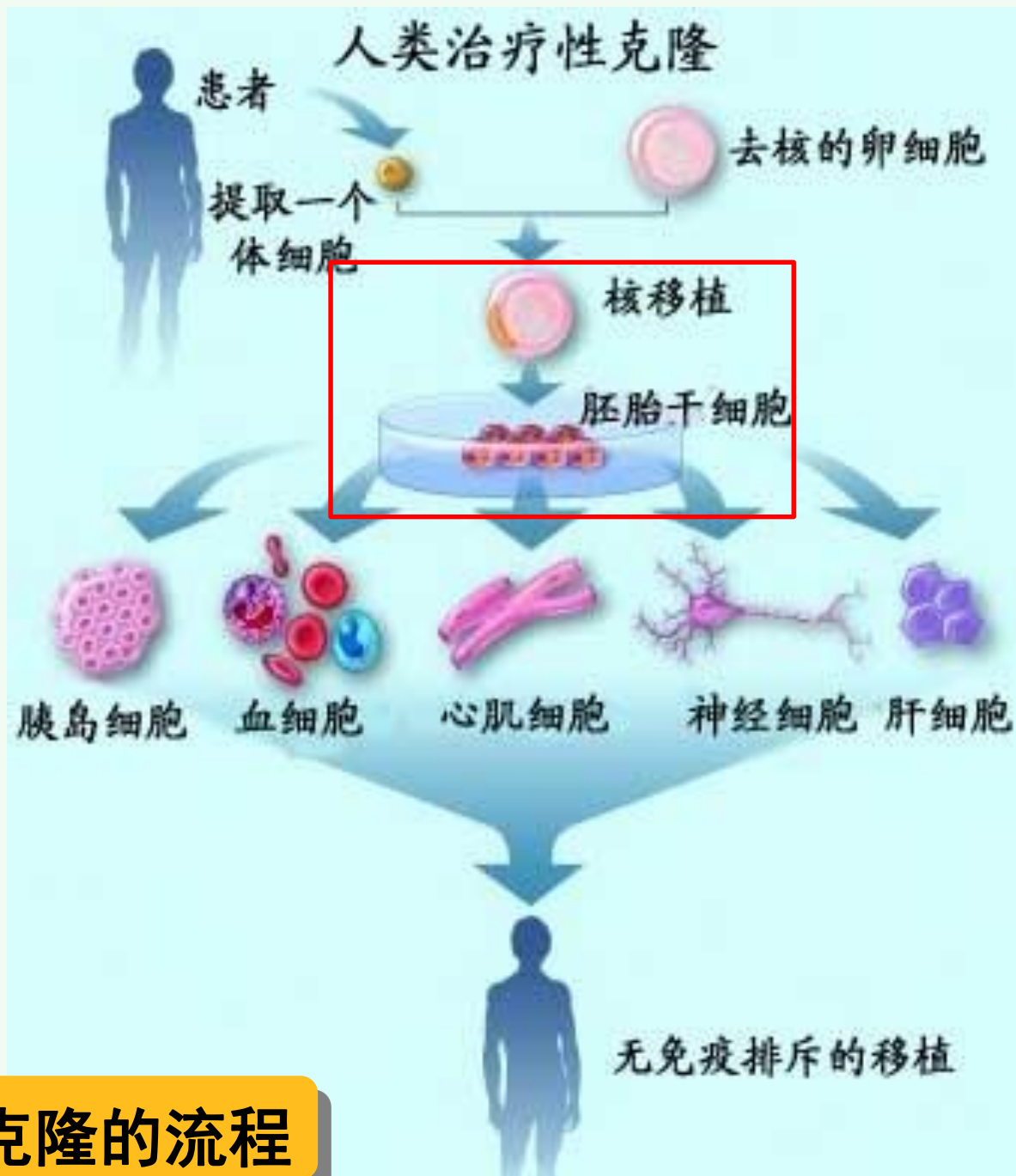
- **器官移植 (Organ transplantation)**

是将一个人健康的器官移植到病人体内的复杂手术，目的是替换病人因疾病丧失功能的器官。

- **治疗性克隆 (Therapeutic cloning)**

是指将病人体细胞核移植到去核的卵母细胞中，在核重新编程后，供体体细胞核重新获得发育的全能性，并可启动胚胎发育，产生携带有病人基因组的多潜能干细胞；然后经诱导分化成各种类型的替代细胞，来修复损伤组织或器官的过程。

- 治疗性克隆一旦成功，它将使器官培养工业化，解决供体器官不足的问题；它还将推动器官供应专一化，为病人提供特异性器官，人体中的任何器官和组织一旦出现故障，将像更换损坏的汽车零件一样可随意更换和修理。



关键是利用
体细胞克隆
技术获得胚
胎干细胞
(ES细胞)

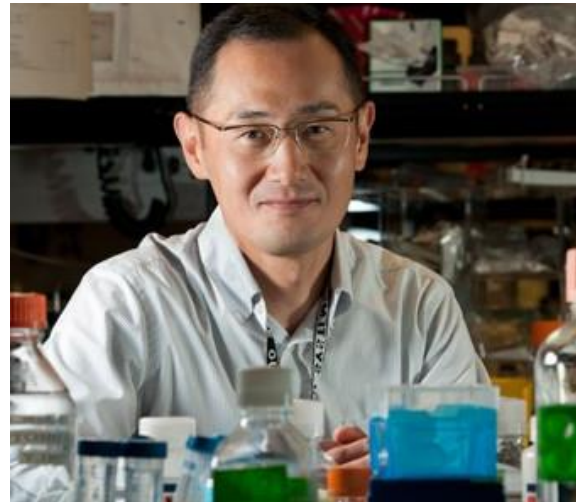
治疗性克隆的流程



体细胞克隆获得ES细胞



黄禹锡

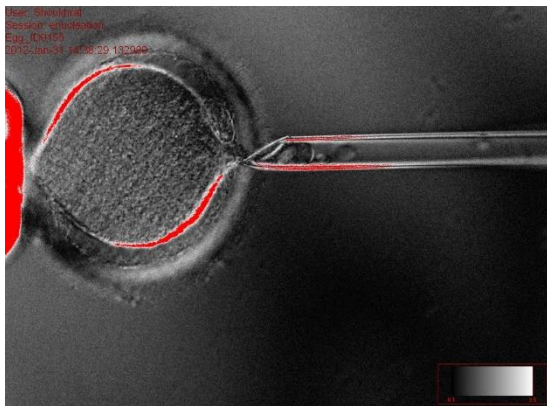


山中伸弥

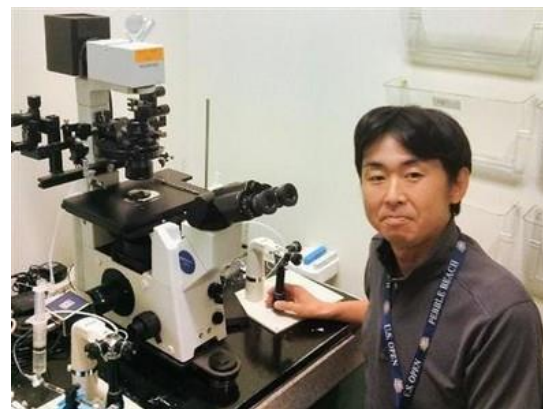
- 2004年，前韩国首尔大学教授黄禹锡宣布利用体细胞克隆技术成功制作了人类的ES细胞，但后被发现是假论文。
- 2006年京都大学教授山中伸弥研发了将体细胞直接诱导为多功能干细胞的策略(iPS细胞)，为治疗性克隆提供了一种全新的方法。



人类胚胎干细胞克隆首获成功



人卵细胞去核



立花真仁

- 2013年5月16日，美国俄勒冈健康科学大学研究员立花真仁等的研究小组在Cell网络版上发表文章，宣布已使用“体细胞克隆技术”，向女性提供的卵细胞内植入他人皮肤细胞的细胞核，首次成功制作了能够分化成各种组织的人类胚胎干细胞(ES细胞)。
- 体细胞克隆获得的ES细胞可以用于治疗性克隆，也可以用于生殖性克隆。

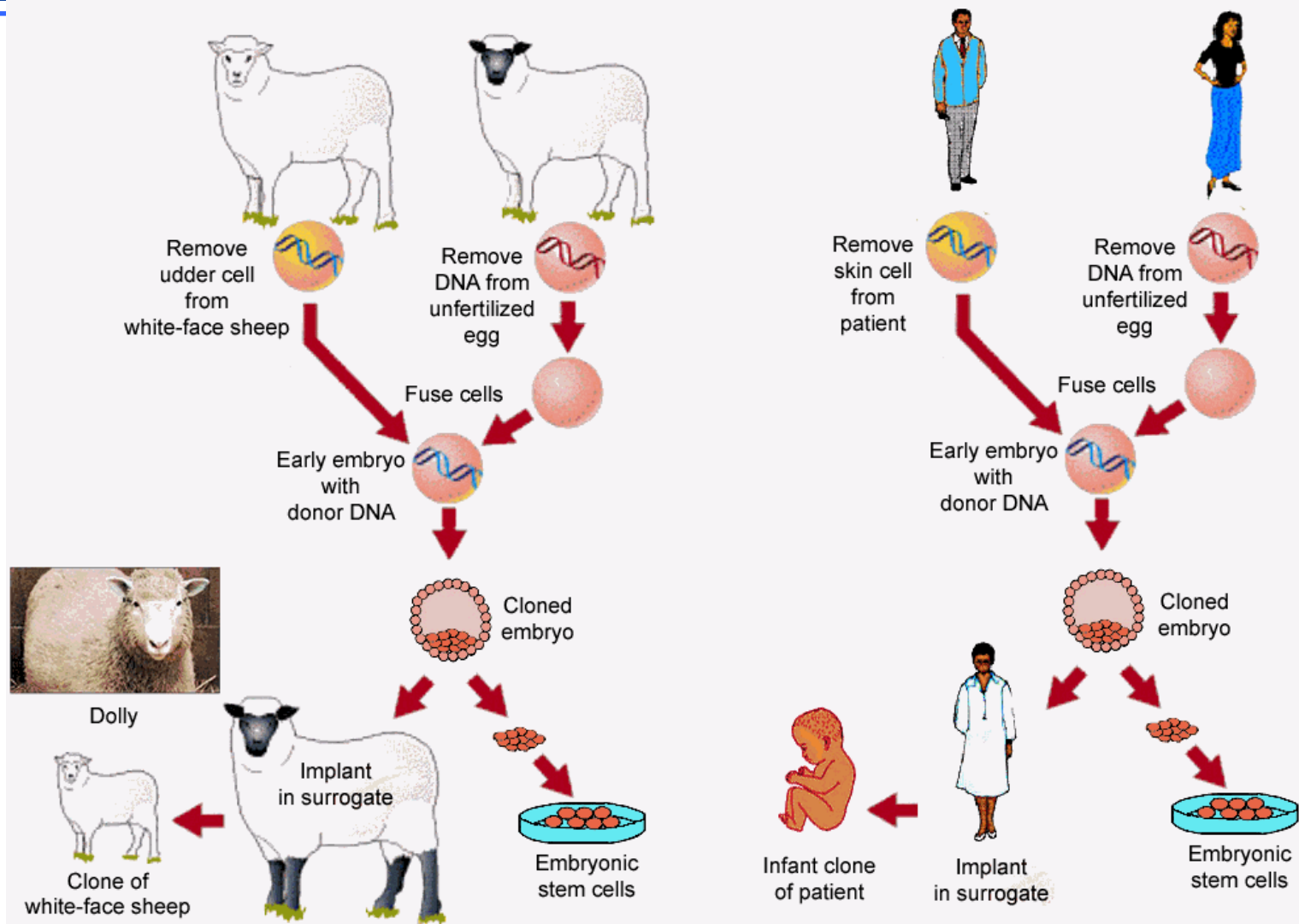


生殖性克隆

生殖性克隆 (Reproductive Cloning)

是对整个人的复制，即从被克隆的人身上取得细胞之后，将其植入被去除了遗传基因物质的卵细胞中，通过刺激使新卵细胞分化并形成胚胎，之后将胚胎植入母体的子宫里孕育。生殖性克隆产生的婴儿拥有与供体相同的遗传物质和生理特征，这就是“克隆人”。

生殖性克隆的路线





治疗性克隆与生殖性克隆的比较

项目 \ 类型		治疗性克隆	生殖性克隆
区别	目的	从胚胎中取出干细胞用于医学研究和治疗	用于生育，获得人的复制品
	水平	细胞水平	个体水平
联系		都属无性繁殖；产生新个体或新组织，遗传信息相同	



克隆技术介绍

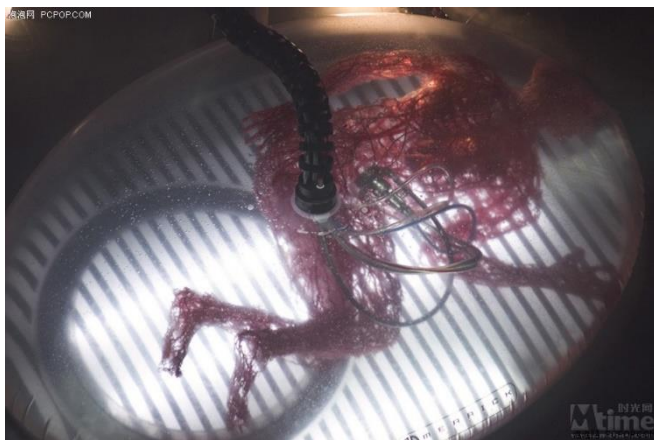
- 克隆的基本原理
- 史上最著名的羊-多利
- 克隆动物大集合
- 克隆技术的应用
- 我们离克隆人有多远？

克隆人



电影的成功激发了人们对克隆技术的浓厚兴趣

克隆人



“逃出克隆岛”中的生物公司为客户提供他们的克隆人。这些克隆人被用于向客户提供新鲜的器官。

这在现实中可能存在吗？不可能！

- **科学上的限制**

克隆人的技术没有成熟。

无法实现克隆人的快速生长，因此无法提供与客户尺寸相匹配的器官。

- **伦理上的限制**

人权不得侵犯，克隆人也是人



对于克隆人你是赞成还是反对？

网上调查：你是否赞同克隆人(共**3049**人参与)

赞成，可帮助不育夫妇	5%
赞成，可挽救被克隆者的生命	6%
赞成，可克隆人体器官拯救他人生命	52%
反对，技术不成熟	4%
反对，同化人的个性特征	4%
反对，担心克隆技术会被用于可疑目的	14%
反对，违背道德伦理	15%

克隆人体器官=治疗性克隆

法律对克隆技术应用的限制



法律上不允许克隆

1997年11月11日，联合国教科文组织第29届大会在巴黎通过的题为《世界人类基因组与人权宣言》的文件，也明确反对用克隆技术繁殖人。

2001年英国通过了《人类生殖克隆法案》，禁止人类生殖克隆，得到了科学界和医学界的支持。

其他国家也相继出台了关于禁止或限制克隆人的法律条文或规定



克隆 弊大于利



克隆之弊端



克隆之弊—生态层面

克隆将减少遗传变异，通过克隆产生的个体具有同样的遗传基因，同样的疾病敏感性，一种疾病就可以毁灭整个由克隆产生的群体。可以设想，如果一个国家的牛群都是同一个克隆产物，一种并不严重的病毒就可能毁灭全国的畜牧业。

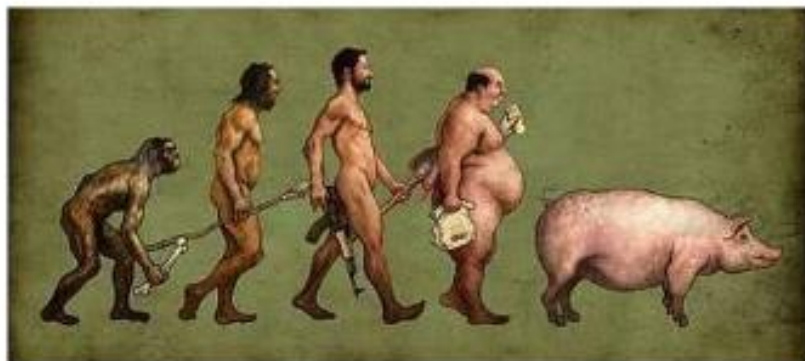
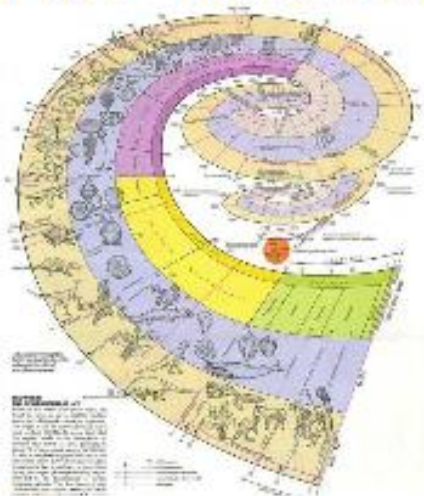


克隆之弊端



克隆之弊——生态层面

克隆技术的使用将使人们倾向于大量繁殖现有种群中最有利用价值的个体，而不是按自然规律促进整个种群的优胜劣汰。从这个意义上说，克隆技术干扰了自然进化过程。

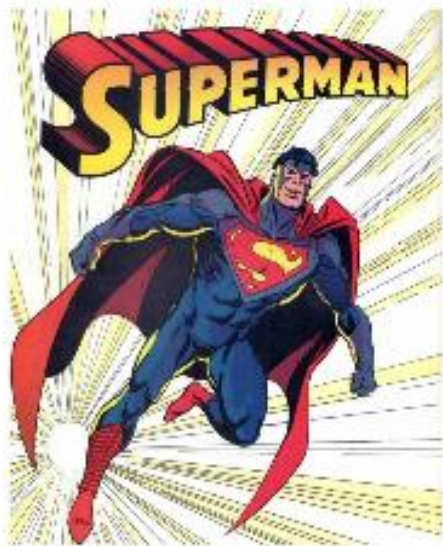


克隆之弊端



克隆之弊—文化层面

克隆技术也可用来创造“超人”，或拥有健壮的体格却智力低下的人。而且，如果克隆技术能够在人类中有效运用，男性也就失去了遗传上的意义。



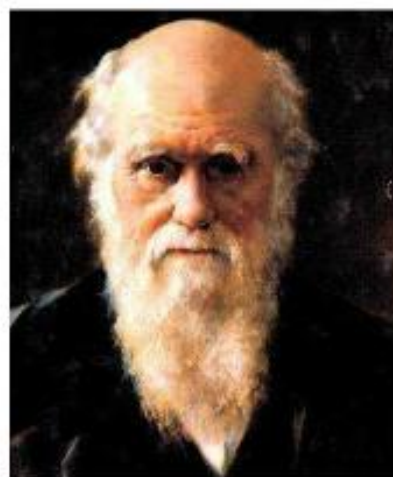


克隆之弊端



克隆之弊——经济层面

克隆技术是一种昂贵的技术，需要大量的金钱和生物专业人士的参与，失败率非常高。多莉就是277次实验唯一的成果。虽然现在发展出了更先进的技术，成功率也只能达到2-3%。



克隆 弊大于利

克隆的争论



克隆之弊—社会层面

克隆技术对家庭关系带来的影响也将是巨大的。一个由父亲的DNA克隆生成的孩子可以看作父亲的双胞胎兄弟，只不过延迟了几十年出生而已。很难设想，当一个人发现自己只不过是另外一个人的完全复制品，他（或她）会有什么感受？



克隆 弊大于利

- **佛教**：克隆违反因果律，一切事物都是因缘和合而成，轮回观念多少影响了他们对克隆的认同。佛教还认为复制人属于无性生命，缺乏了双亲的二代亲情和人类伦理尊严。

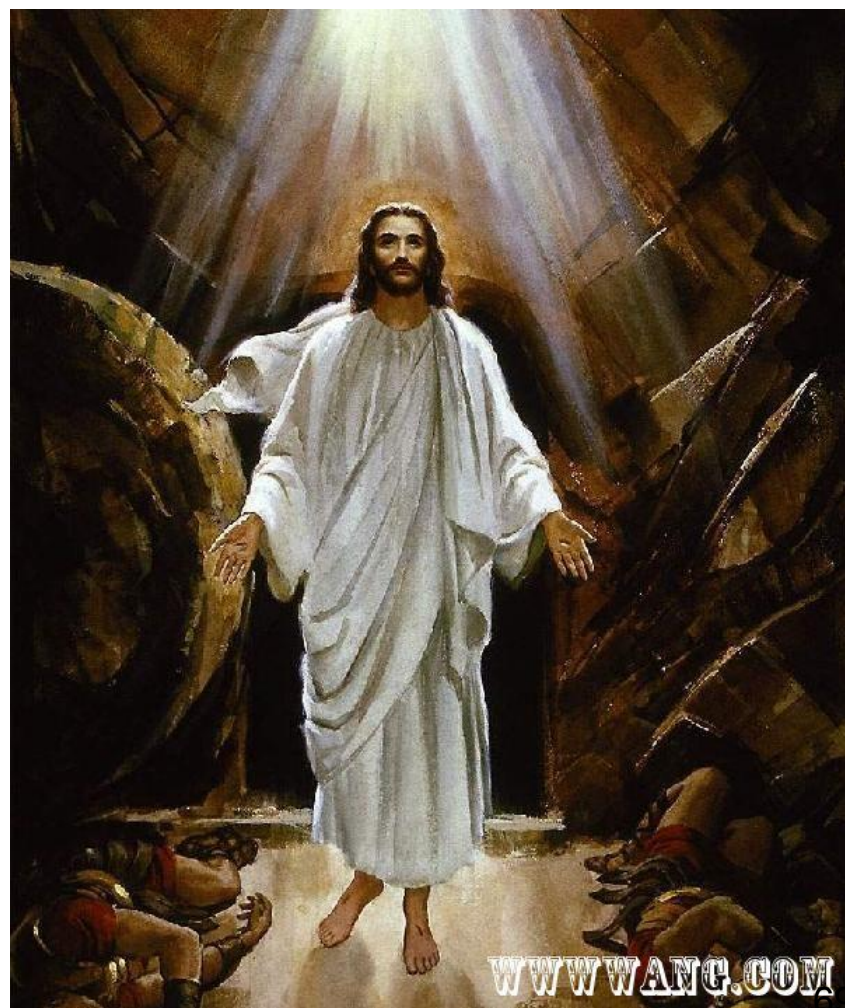


宗教对于克隆人的观点



道教：克隆是自然
法规的大逆转，
复制人的技术是
绝对违反天道的

- **基督教**：创世
观认为人是上帝创
造的，而克隆人将
人变为产品是基督
教不能接受的。



宗教对于克隆人的观点

- **天主教**：对生命科学的发展最为关注，他们肯定和赞许人类在科技上的成就，但也坚决反对克隆人。

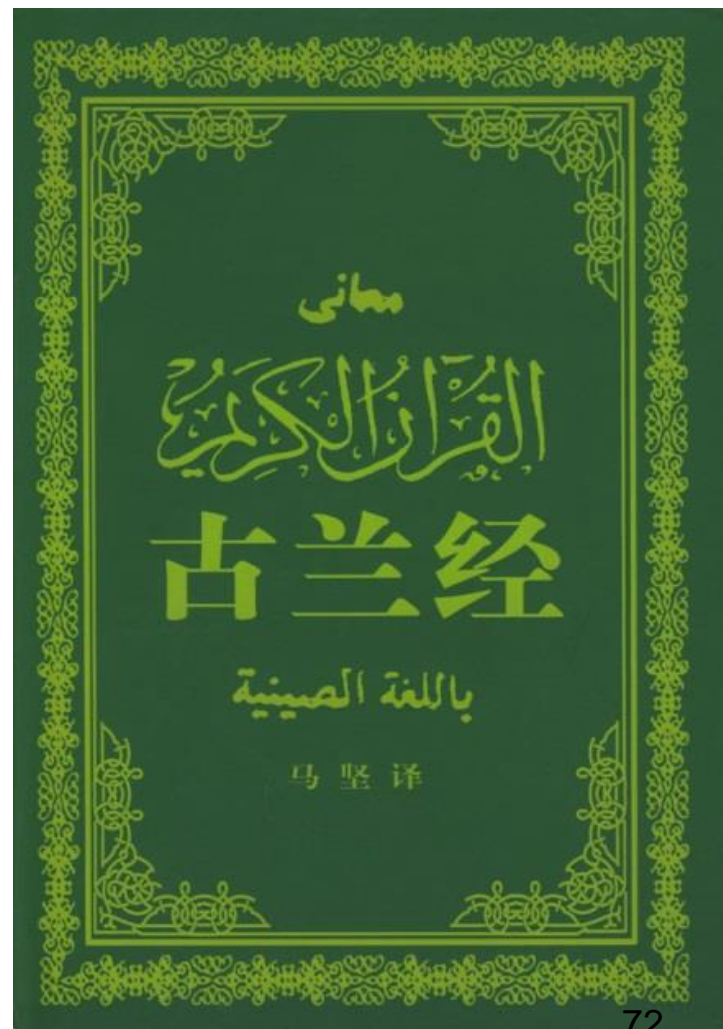




宗教对于克隆人的观点

- **犹太教：** 犹太教传统上强调人是上帝的伙伴，一些犹太思想家从《旧约全书》中《创世纪》篇得出亚当夏娃造人并有义务为了人的利益而改造它，包括承诺治愈和干涉自然以促进人类健康。犹太教传统上把不育看成疾病，因此，克隆人的研究符合治疗疾病的要求。犹太学者不认为那种对人的尊严的潜在的侵犯严重到足以构成禁止克隆人的理由，相反，只要人们尽力去减少对人尊严的伤害，克隆技术带来的益处会较大

伊斯兰教：伊斯兰教对克隆人的态度来自《古兰经》。一些人认为任何科研都不应受到限制，这是真主教人们更好地为他人服务的方法。因为《古兰经》明确提出真主安拉制造疾病并治疗疾病，所以，若克隆人技术可促进人类健康、可延续种族，则得到支持。





改变生活生物技术

谢谢大家！