

## III 什么是胚胎干细胞？

### A 早期胚胎发育的哪个时期对胚胎干细胞的产生最为重要呢？

顾名思义，胚胎干细胞来源于胚胎。具体而言，胚胎干细胞来自体外受精的受精卵发育而成的胚胎，在捐赠者知情同意下，捐献给相关机构以供研究之用。需要特别指出的是，这里所说的胚胎绝不是由女性子宫内所孕育的受精卵发育而来。胚胎干细胞通常来源于4至5天大小的胚胎，这个时期的胚胎是一个中空的细胞团，称作胚泡。胚泡由三层结构组成：滋养层（trophoblast），即包绕胚泡的一层细胞；囊胚腔（blastocoel），即胚泡内的空腔；以及内层细胞团（inner cell mass），由大约30个细胞组成，位于囊胚腔的一端。

### B. 如何在实验室内培养胚胎干细胞？

在实验室内对胚胎干细胞进行体外培养属于细胞培养技术之一。首先将人胚胎干细胞从活体胚胎上分离出来，也就是将胚泡内层细胞团转移至塑料实验室用培养皿中，培养皿内为营养肉汤成分的培养基。然后把转移至培养皿的细胞在培养皿表面分离涂布开来。培养皿内表面涂有一层小鼠胚胎皮肤细胞（小鼠成纤维细胞），该细胞已经经过处理，因而不会进行分裂增殖。该细胞层称作饲养细胞层，其作用是为转移至培养皿的内层细胞团提供一个可以贴附的表面；同时，饲养细胞层还会向培养基中释放营养物质，促进培养细胞的生长。最近，科学家们开始致力于开发

一种新的不依赖小鼠成纤维细胞的胚胎干细胞培养方法，如果能够成功，将是科学研究领域一项重大进步，因为新的方法将避免小鼠细胞内的病毒或其它大分子进入人类细胞中的危险。

将内层细胞团转移至培养皿培养数天后，细胞由于不断分裂增殖而逐渐布满整个培养皿。这时，需要实验人员将这些细胞培养物小心轻缓地从培养皿中移出，重新接种于若干个新的培养皿中，使其保持适当的细胞接种密度，这一过程叫做传代培养，在细胞培养的几个月内会重复多次进行。每经过一次传代培养的细胞都称作一代，值得注意的是，体外培养技术中所谓的“代”概念并不等于细胞生物学中“亲代细胞”与“子代细胞”中“代”的概念，事实上，培养过程中细胞经多次分裂已经产生多代子细胞。经过六个月或以上的培养，组成内层细胞团的最初的30个细胞增殖产生了数百万计的胚胎干细胞，这些细胞在培养过程中没有发生分化，是多潜能（pluripotent）细胞并且具有正常的遗传学特征（保持二倍体核型），被叫做胚胎干细胞系（embryonic stem cell line）。

一旦细胞系建立起来，就可以冻存运输到任何需要它们的实验室，以供进一步的培养和研究之用。

### C. 实验室中采用哪些实验方法对胚胎干细胞进行鉴定？

在胚胎干细胞培养过程中，研究人员会在特定的时间点对这些细胞进行相应检测，以确定它们是否具有胚胎干细胞的基本特征，这个过程称作细胞鉴定（cell

characterization）。

不过，在对胚胎干细胞进行鉴定这一点上，科学家尚未形成一套鉴定的标准方法。同时，科学家也表示，用于鉴定的多种方法也许并不能最确切的反映细胞的生物学特征和功能。然而，培养人类胚胎干细胞系的研究人员还是需要采取各种各样的实验，这些实验包括：

1. 对干细胞进行原代培养及数月的传代培养，以保证细胞能长期保持自我更新的能力；

细胞培养过程中，研究人员在显微镜下观察细胞，以确保细胞功能正常并保持未分化状态。

2. 采用特异性技术检测细胞表面标志，这些标志只会存在于未分化细胞上；

另外一项十分重要的检测，是针对名为Oct-4的蛋白质所进行的，这种蛋白专门由未分化细胞所分泌产生。Oct-4是一种转录因子，负责在适当的时间启动或关闭基因，在细胞分化和胚胎发育过程中具有非常重要的作用。

3. 显微镜下观察细胞染色体；

该方法可用于检测细胞染色体是否被损害或染色体数目是否发生改变。但该方法无法检测到细胞内是否发生遗传突变。

4. 确定细胞在冻溶和重新接种后是否可以传代培养；

5. 通过以下实验检测人类胚胎干细胞是否具有多潜能性：

a. 让细胞在培养过程自主分化；

b. 对细胞生长进行控制以使其向特定细胞类型分化；

c. 将细胞注射到免疫抑制小鼠体内，检测是否有良性畸胎瘤（teratoma）的形成。畸胎瘤是一种典型的含有多种细胞类型的

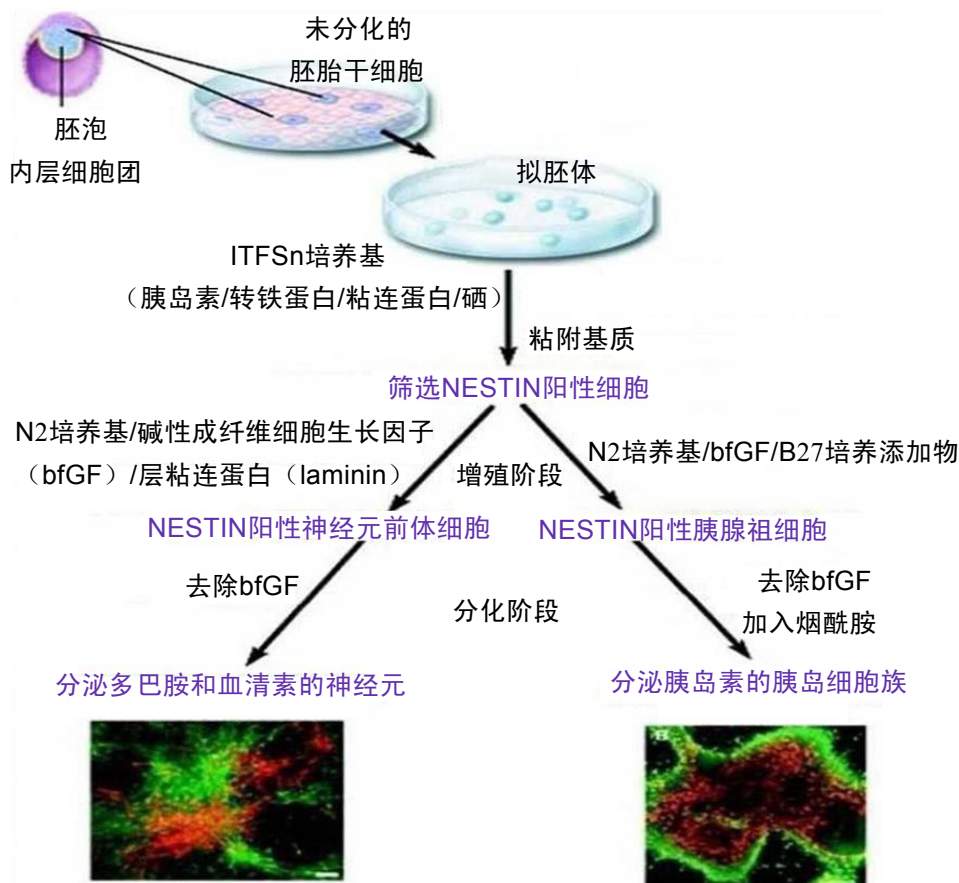


图1 小鼠胚胎干细胞的定向分化  
(directed differentiation)

肿瘤，包括处于各种分化阶段的细胞或部分分化的细胞类型；畸胎瘤的形成说明了胚胎干细胞可以向多种细胞类型分化。

#### D. 如何刺激胚胎干细胞分化？

只要为处于培养过程中的胚胎干细胞提供相应的环境条件，即可使其维持不分化状态（无特定功能的状态）。而一旦细胞粘附在一起形成拟胚体（embryoid bodies），便立即开始自主分化生长。这些细胞可以形成肌肉细胞，神经细胞以及许多其它类型的细胞。尽管细胞的自主分化说明了所培养的胚胎干细胞功能正常，但自主分化并不是获得特定类型细胞的有效方法。

因此，为了得到特定分化类型的细胞，如心肌细胞，血细胞，神经细胞等，科学家试图找到可以控制胚胎干细胞分化方向的手段，比如改变培养基的化学成分组成，改变培养皿表面状态，或向细胞内插入特异性基因进行细胞修饰。经过数年的试验研究，科学家已建立起若干使胚胎干细胞定

向分化的基本操作方法——或者可以叫做“秘方”（如 1所示）（想要获得更多更详细的有关胚胎干细胞定向分化的示例，请参阅《美国国立卫生研究院（NIH）干细胞报告：科学进步与未来研究之方向》第5章—第9章及附录B和附录C）。

如果科学家能够准确诱导胚胎干细胞向特定细胞类型分化，那么就有希望将这些定向分化的细胞用于某些疾病的治疗：将由人胚胎干细胞发育而来的定向分化细胞移植入相应患者体内，即可治疗诸如帕金森症、糖尿病、外伤性脊髓损伤（traumatic spinal cord injury）、浦肯野氏细胞变性（Purkinje cell degeneration）、杜兴氏肌营养不良（Duchenne's muscular dystrophy）、心脏病、失明或失聪等疾病。

原文检索：<http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics3.asp>