

高峰

(西南师范大学生命科学学院 重庆 400715)

编者按：1978年美国有人出了本书，杜撰了一个故事，说美国一科学家已成功地为一位百万富翁用体细胞繁殖了后代。由于作者再三坚持所写的事是绝对真实的，于是引起了一场持续时间较长的公众大辩论。辩论的主题就是“克隆人”。美国国会举行了数次听证会，邀请著名科学家出席，其中不乏诺贝尔奖的获得者。在向议员们说明有关技术发展过程时，他们从20年代的施佩曼结扎卵子谈到了戈登在蛙中用体细胞核所进行的移植实验。虽然科学家和传媒当时都指出从事这些工作的科学家从未把自己的工作称之为“克隆”，但由于是在“克隆人”的题目下展开的，就此造成了“克隆”一词用法的泛化和混乱。

高峰同志的这篇文章，分析了与克隆有关各概念之间的差异和用法，条理清楚，观点明确，言之有据，对如何规范化地使用这些名词很有帮助。当然，作者的观点并不代表本刊的观点，欢迎读者各抒己见，开展讨论。

世界上首只由成年体细胞经无性繁殖方式而获得完整个体的哺乳动物——克隆羊“多利”一经公开报道^[1]，立即在全球掀起了轩然大波，在科技界、政界、法律界、宗教界乃至广大民众中引起了强烈反响。讨论的内容除克隆羊或克隆动物本身外，还涉及自然科学、哲学、法学、政治学、伦理学及社会学等诸方面。

然而，笔者在阅读有关文献资料时发现，目前在克隆动物的宣传报道和学术论文中存在一些与克隆的经典概念不相一致甚至矛盾的问题。如果这些概念上的含混仅仅发生在大众传媒，尚可理解，因为那仅涉及科普知识的宣传与提高。然而，令人困惑的是，即使在最近出版的教材^[2]或发表的学术论文^[3,4]中，也出现了克隆定义上的分歧或相关概念的混用。这就不能不引起笔者的高度重视和疑惑。在此，特将一些与克隆动物有关的概念提出来并予以讨论，以达到统一和规范学术用语，推动学术繁荣和健康发展的目的。

一、克隆的概念

众所周知，“克隆”乃英文单词 Clone 的音译，它的中文意译为“无性系”或“无性繁殖系”。然而，目前对克隆概念的定义却发生了分歧，概括起来似可分为下列两种观点：

1. 克隆的经典概念

从词源学角度，Clone 来源于希腊文，表示用离体

的细枝或小树枝增殖的意思^[5]。1903年 Webber 将其引入园艺学，指由一个单细胞或共同的祖先经有丝分裂产生出的细胞或生物体所构成的一个群体，其繁殖方式是无性的^[6]。以后逐渐将克隆的概念应用于植物学、动物学和医学等方面，并形成了比较一致的定义：克隆是指由一个细胞或个体以无性方式重复分裂或繁殖所形成的一群细胞或一群个体，在不发生突变的情况下一个克隆内的所有成员具有完全相同的遗传构成^[7,8]。随着分子生物学的兴起和迅猛发展，尤其是 DNA 体外重组技术的建立，克隆这一概念被引入其中。它作为名词，是指所有携带着相同插入序列的重组 DNA 分子所构成的群体；它用作动词，是指利用体外重组技术，将一特定的基因或其他 DNA 序列插入到一个载体分子中的过程^[9]。

可以看出，在克隆的经典概念中下列5个条件或要素是至关重要的：1. 繁殖的方式必须是无性的；2. 克隆中成员间的遗传构成必须完全相同；3. 克隆在产生过程中没有突变发生；4. 因起始物和产物的不同，克隆可分为三个层次，即个体克隆、细胞克隆和基因克隆（分子克隆）；5. 克隆是一个群体概念，强调繁殖的后代是一个群体，而非单一的个体。

到目前为止，在植物、微生物以及分子生物学等领域，所有的学者都遵循克隆的这一经典概念，从未产生过异议。然而，在动物中，特别是克隆羊“多利”诞生以

后,克隆的经典概念似乎开始动摇。

2. 克隆的现代概念

或许是由于在目前的理论和技术水平下,在高等动物中尚不能由其体细胞经体外直接培养以获得新的个体,而必须将其体细胞或胚胎细胞的细胞核移入或融合于已去核的卵细胞,才能发育成完整新个体的缘故。一些动物学家,尤其是动物胚胎学家,将克隆一词引入到动物的核移植或细胞融合研究领域^[10]。克隆羊“多莉”问世以后,这种情形更加广泛。不仅将所有经核移植获得的动物个体称之为“克隆”动物,而且将过去的“核质杂种鱼”或“移核兔”也改称为“克隆鱼”或“克隆兔”^[3,4]。

这似乎对克隆的经典概念作了较大的扩展,并产生了克隆的新概念。笔者暂且谓之克隆的现代概念。其要点是:凡是不经过受精过程而获得新个体的方法就叫克隆^[2]。或者,凡是用核移植技术产生的动物都叫克隆动物^[3,4]。

二、核移植与克隆

核移植(Nuclear transplantation)是指将特定细胞的细胞核移入另一个已去核的未受精卵或细胞中的过程^[6,17]。按照克隆的现代概念,核移植显然属于克隆范畴。在动物中,两者甚至被视为同义词而互换^[3,4,10]。

然而,是不是所有核移植都产生遗传构成相同的后代(即经典概念上的克隆)呢?已有的研究表明,基因型相同的细胞间所进行的核移植,或用同一胚胎所进行的连续核移植(如用连续核移植获得的青山羊^[4]),无疑可产生遗传构成一致的后代群体(即经典概念上的克隆)。然而,在涉及不同的属(如鲤鱼与鲫鱼^[11])或不同的亚科(如金鱼与鳊鱼^[12])的核移植试验中,产生的后代出现了明显的形态差异,甚至出现了中间性状或中间类型^[11-13]。至于新闻报道中大肆渲染的“克隆猴”^[14]和“克隆猪”^[15],因为是用不同来源的胚胎或在不同品种间(兰屿猪与蓝瑞斯猪)进行的核移植,其后代也出现了明显的外观差异^[14],甚至性别差异(1公4母)^[15]。

由此可见,不同类型的核移植所产生的遗传效应是不同的。相同基因型间或同一细胞核来源的核移植,其遗传效应是趋同的,后代的遗传构成是相同的;不同基因型间或不同细胞核来源的核移植,其遗传效应是趋异的,后代的遗传构成是相异的。就遗传效应而言,上述两种类型的核移植的遗传效应同有性生殖中的自交与杂交的遗传效应是一致的。只有两种情况下的核

移植可产生遗传构成完全相同的后代群体,即符合克隆的经典概念。一种是同一基因型(品种)间的核移植;另一种是以同一种细胞(可取自细胞株、胚胎或体细胞等)的细胞核为细胞核供体所进行的连续核移植。

三、细胞融合与核移植

核移植包括去核和植入核这两个基本步骤。去核后的未受精卵或细胞在核移植中是作为细胞核的受体,而提供植入核的细胞在核移植中被称为细胞核的供体。早期的核移植均采用显微外科法去核和植入核。随后,这两个步骤都得到了发展,去核中除了采用显微外科法外,还建立了药物脱核法;在植入核方面更广泛采用了细胞融合法,它的采用不仅使核移植的动物种类由原生动物和两栖动物扩展到哺乳动物,而且使核移植的效率大为提高。融合技术也先后建立了病毒诱导法、PEG介导法和电融合法^[7,16]。

值得注意的是,在动物中通过细胞融合而实现的核移植,不是通常的两个完整细胞间的细胞融合,而是一个完整细胞与一个去核卵细胞间的一种特殊类型的细胞融合。按照细胞工程理论,这是一种不对称细胞融合(Asymmetry cell fusion),属细胞重组(Cell reconstitution)或细胞杂交(Cell hybridization)范畴^[7,17]。其融合产物因含有融合亲本之一的细胞核和两个融合亲本的细胞质,故称其为Cybrid,译为“胞质杂种”^[16,17]或“核质杂种”^[7]。

在植物中,通过不对称细胞融合建立的胞质杂交技术已成为将植物的叶绿体和(或)线粒体单向转移到(细胞质)受体原生质体的一种有效方法。在柑桔、水稻、油菜和烟草等作物中已获得了许多种内、种间及属间的胞质杂种再生植株,并实现了雄性不育或抗除草剂阿特拉津(Atrazine)等胞质遗传性状的转移^[18]。在柑桔中,叶片形态、染色体数目和mt-DNA限制性内切酶酶切电泳图谱及Southern印迹杂交图谱分析的结果表明,胞质杂种再生植株的染色体数目与细胞质受体的一致,但其叶片形态介于两个融合亲本之间,含有与细胞质受体亲本相似但不完全一致的线粒体基因组^[19]。

动物中,过去无论是两栖类、鱼类还是在哺乳类,都将核移植或不对称细胞融合获得的繁殖后代称为核移植动物、移核动物或核质杂种动物^[4,11,12]。在人类中的研究结果也表明,mt-DNA突变会引起人类疾病,临床症状有盲、聋、痴呆、运动障碍、肌肉衰弱、心力衰竭、糖尿病、肾功能不全、肝病等^[20]。

值得一提的是,人称“多利之父”的 Wilmot 在其论文中始终未用“克隆”一词,却将其核移植或细胞融合产物(即“多利”的体细胞起始物)称为重建胚(Reconstructed embryos)^[1]。

结 语

对比克隆的经典概念与现代概念,不难看出,它们的共同点仅在于均认同繁殖的方式必须是无性繁殖,甚至在这点上也不完全一致。因为在目前通过核移植实现的动物个体再生过程中,毕竟有一半(去核卵细胞)是有性生殖的产物;再者,去核卵细胞与另一完整细胞的融合虽然不是卵细胞与精细胞的结合而发生的受精过程,但也是介于受精与体细胞杂交(两个体细胞融合)之间的一种中间生殖方式。为此,笔者认为,目前的这种通过核移植或细胞融合实现的动物个体繁殖只是一种准无性繁殖(Quasi-asexual propagation)。

按照克隆的经典概念,不是所有的核移植动物都是克隆动物;而按照细胞工程理论,通过细胞融合实现的核移植是细胞融合中的一种特殊的融合方式,即不对称细胞融合,其融合产物应称作胞质杂种或核质杂种(Cybrid)。

克隆的现代概念仅注重繁殖的方式,而未考虑繁殖过程及后代在遗传学上与有性繁殖的根本差异。这种概念上的扩展已同业已建立的体细胞遗传学和细胞工程的理论及基本概念发生了尖锐的矛盾,引起了不同学者在认识上的混乱。它的出现是学科发展的必然?还是因深受新闻宣传或克隆之汉译“无性繁殖系”或“无性系”的影响而发生的误用或滥用?笔者在此抛砖引玉,望同行指教。

摘 要

克隆的定义似可分为经典概念与现代概念两种。对比二者,它们的共同点仅在于均认同繁殖的方式必须是无性繁殖,甚至在这点上也不完全一致。目前的这种通过核移植或细胞融合实现的动物个体繁殖是介于受精与体细胞杂交之间的一种中间生殖方式。即准无性繁殖(Quasi-asexual propagation)方式。按照克隆的经典概念,不是所有的核移植动物都是克隆动物;而按照细胞工程理论,通过细胞融合实现的核移植是细胞融合中的一种特殊的融合方式。即不对称细胞融合,其融合产物应称作胞质杂种或核质杂种(Cybrid)。

关键词:克隆 核移植 细胞融合

参 考 文 献

- [1] Wilmot I, Schnieke A E, McWhir J, et al., 1997, *Nature*, **385**: 810—813.
- [2] 瞿礼嘉、顾红雅、胡萃等编著. 1998, 现代生物技术导论, 北京: 高等教育出版社、施普林格出版社, p311—314.
- [3] 严绍颐, 1998, 生物科学进展, **2**(2): 22—30.
- [4] 秦鹏春、谭景和、杨增明, 1997, 生物技术通报, (4): 14—18, 48.
- [5] 陆谷孙主编, 1993, 英汉大词典(缩印本), 上海: 上海译文出版社, p322.
- [6] Rieger R, Michaelis A, Green MM, 1976, *Glossary of genetic and cytogenetics, classical and molecular*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg N. Y. p109—391.
- [7] 李汝淇主编, 1983, 中国大百科全书生物学——遗传学, 上海: 中国大百科全书出版社, p113—284.
- [8] Abereromble M *et al.*, 1980, *Dictionary of Biology*, Penguin Books, p69—70.
- [9] Oliver S G, Ward J M, 1981, *A dictionary of genetic engineering*, Cambridge University Press, p18.
- [10] Mckinnell R. G. 1978, *Cloning—nuclear transplantation in Amphibia*, University of Minnesota Press, Minneapolis, U. S. A.
- [11] 童第周, 1980, 中国科学, (4): 376—380.
- [12] 童第周、叶毓芬、陆德裕, 等, 1973, 动物学学报, **19**(3): 201—212.
- [13] Yan, S. Y. 1989, In: *Cytoplasm organization system* (Malacinski, G. M. eds.). McGraw-Hill Pub. Co., New York, p61—81.
- [14] 路透社华盛顿 3 月 2 日电, 美国去年八月已克隆成功猴子, 参考消息, 1997—3—4.
- [15] 台湾《中国时报》3 月 4 日报道, 台湾克隆猪已满六周岁了, 参考消息, 1997—3—10.
- [16] 王晓佳、谭远德, 1995, 生物工程学, 桂林: 广西师范大学出版社, 199—223.
- [17] 冯德培、谈家桢、王鸣歧主编, 1983, 简明生物学词典, 上海: 上海辞书出版社, p151—1101.
- [18] 周长久主编, 1996, 现代蔬菜育种学, 北京: 科学技术文献出版社, 49—67.
- [19] 高峰, 1989, 植物生理学通讯, (4): 62—65.
- [20] 王学敏、杨雨善、谢惠君等, 1998, 生命的化学, **18**(3): 43—46.