

在那里它们发出警报, 指挥机体免疫系统攻击如癌细胞等特异细胞。

小鼠移植实验表明, 这些可注射3D支架在宿主小鼠体内招募和吸引了数百万计的树突状细胞, 然后这些细胞分散到淋巴结, 触发了强有力的免疫反应。此外, MSR疫苗还可增强全身的辅助T细胞TH1和TH2血清抗体的细胞毒性T细胞水平。而且移植MSR在数月后会自然地发生生物降解及分解, 十分安全。

这些研究表明, 植入MSR可以作为多功能疫苗平台, 调节宿主免疫细胞功能, 激活适应性免疫应答, 预防疾病。

Kim J, Li WA, Choi Y, Lewin SA, Verbeke CS, Dranoff G, et al. Injectable, spontaneously assembling, inorganic scaffolds modulate immune cells *in vivo* and increase vaccine efficacy. *Nat Biotechnol* 2015; 33(1): 64-72.

朱丽华 整理

干细胞专题

干细胞研究进展消息

干细胞是人体及其各种组织细胞的最初来源, 具有高度自我复制、高度增殖和多向分化的潜能。干细胞研究正在向现代生命科学和医学的各个领域交叉渗透, 干细胞技术也从一种实验室概念逐渐转变成能够看得见的现实。干细胞研究已成为生命科学中的热点。鉴于此, 本刊就干细胞的最新研究进展情况设立专栏, 为广大读者提供了解干细胞研究的平台。

Cell: SOX17是人类原始生殖细胞分化的关键调节基因

英国剑桥大学和以色列魏茨曼科学研究所的科学家合作研究, 利用人类胚胎干细胞, 首次制造出了人类原始生殖细胞, 在完全体外条件下培养出成熟精子和卵子细胞。研究发表在近日的*Cell*杂志上。

原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)生成于胚胎发育的最初几个星期, 具有分化成为生殖细胞(精子和卵子)的潜力。之前, 日本科学家曾把小鼠iPSC成功分化成原始生殖细胞。科研人员发现, hESC自发分化为hPGC类似细胞(hPGCLC), 但是概率很小, 而且其中的关键调节因子尚未发现。

研究小组将hESC和hiPSC加入bFGF、TGF β 、1% KSR培养基培养2 d; 收集2 000~4 000个细胞, 在低吸附培养皿中加入BMP(bone morphogenetic protein)、LIF、SCF(stem cell factor)、EGF(epidermal growth factor)和ROCK(Rho-kinase)抑制剂, 诱导获得hPGCLC, 称之为“4i”培养。这些细胞聚集成为胚状体(embryoid), 对4 d的胚状体检测发现, 其表达NANOS3-mCherry、NANOG和OCT4, 前者是PGC特异标记, 后两者为多能细胞特异标记。

生物学家此次成功的关键是找到了合适的关

键基因——SOX17基因。SOX17是内胚层细胞重要的转录因子, 是hPGCLC最早的标志和关键调节因子。BLIMP1是其下游因子, 抑制内胚层和其他体细胞基因。对hPGCLC、胚胎hPGC和生殖细胞进行比较发现, 这些细胞都表达CD38表面标记, 是生殖细胞的共有特征。研究还发现, hPGCLC和PGC一样显示DNA甲基化的早期征兆。

“4i”培养可以高效地将hESC转化为原始生殖细胞, 转化效率约40%。科研人员希望此hPGCLC体外模型可以用于人类生殖细胞生物学的研究。

Irie N, Weinberger L, Tang WC, Kobayashi T, Viukov S, Manor YS, et al. SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate. *Cell* 2015; 160(1/2): 253-68.

Nat Commun: 成纤维细胞转变为功能性的黑色素细胞

美国宾夕法尼亚大学等单位的科学家成功将成纤维细胞转变为功能性黑色素细胞, 该项研究工作发表在*Nat Commun*杂志上。

研究小组选择了10个黑色素细胞形成相关的转录因子进行筛选, 结果发现, SOX10、MITF和

PAX3 这 3 个转录因子是黑色素细胞所必需的, 称之为 SMP3 组合。

研究人员利用 SMP3 组合, 先后将小鼠和人成纤维细胞直接转化为功能性黑色素细胞, 小鼠细胞需要 5 d, 人类细胞需要 14 d。研究发现, 人类细胞诱导获得的黑色素细胞 (hiMel), 激活黑色素特异性网络。在一个人工 3D 皮肤结构中, 人 iMel 正确整合到真皮表皮接合部(dermal-epidermal junction), 并产生和运输黑色素到周围角质细胞; 在体外皮肤重建测试中, hiMel 产生色素表皮和毛囊, 与正常黑色素细胞功能相同。

hiMel 的产生来自直接重编程, 绕过多能干细胞阶段, 将成纤维细胞直接转变为了黑色素细胞, 因此这些细胞不具有致癌性。这一优点使得这项新技术非常适合于色素沉着疾病和细胞替代治疗研究。

Yang R, Zheng Y, Li L, Liu S, Burrows M, Wei Z, *et al.* Direct conversion of mouse and human fibroblasts to functional melanocytes by defined factors. *Nat Commun* 2014; 5: 5807.

Cell Res: 利用CRISPR-Cas9技术对小鼠的精原干细胞进行基因编辑修复遗传缺陷

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松研究组、吴立刚研究组以及北京大学汤富酬研究组进行了一项合作研究, 他们利用 CRISPR-Cas9 技术在小鼠的精原干细胞中修复了遗传缺陷, 产生了完全健康的后代。相关研究论文日前在线发表于 *Cell Res* 上。

CRISPR-Cas9 技术可以用于断裂 DNA 的修复。2013年, 李劲松研究组利用 CRISPR-Cas9 技术治愈了小鼠的白内障遗传疾病。

此项研究中, 研究人员获取了携带遗传突变的白内障小鼠精原干细胞, 并将 CRISPR-Cas9 转入, 建立了一系列来自单个精原干细胞的细胞系。然后, 通过基因型分析、脱靶位点测序、特定印记基因甲基化鉴定和全基因组测序等手段, 筛选完全修复了

遗传缺陷的细胞, 将其移植到去除了生殖细胞的受体小鼠睾丸内后, 获得了100% 完全健康的小鼠。

CRISPR-Cas9 技术介导的生殖细胞遗传修复为人类基因治疗提供了一条新的思路, 今后的研究需要验证这一技术路线在人类的生殖细胞中实施的可行性。

Wu Y, Zhou H, Fan X, Zhang Y, Zhang M, Wang Y, *et al.* Correction of a genetic disease by CRISPR-Cas9-mediated gene editing in mouse spermatogonial stem cells. *Cell Res* 2015; 25(1): 67-79.

Stem Cell Reports: 精确修复肌肉萎缩症患者iPSC上的致病基因

日本京都大学的科研人员利用 iPSC 技术成功修复了引发肌肉萎缩症的致病基因。这一成果将有望促进开发出改善肌肉萎缩症症状的方法, 研究发表在近期 *Stem Cell Reports* 上。

杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)的发病原因是患者体内维持肌肉结构所必须的蛋白质dystrophin(抗肌萎缩蛋白)的合成基因出现变异, 产生异常蛋白质, 引起肌力减弱和肌肉萎缩。

研究人员采集了DMD病人的皮肤细胞, 培养出 iPSC。研究小组通过k-mer数据库对目标区域进行鉴别, 利用TALENs或CRISPR-sgRNAs精确修复了 iPSC 的致病基因——dystrophin移码, 同时不影响其他基因。待到 iPSC 发育成肌肉细胞后, 细胞内就出现了 dystrophin。

此项研究表明, 经过基因修复的 iPSC 可以恢复 dystrophin 蛋白。利用TALEN和CRISPR技术对患者 iPSC 进行基因修复是未来基因治疗的新策略。

Li HL, Fujimoto N, Sasakawa N, Shirai S, Ohkame T, Sakuma T, *et al.* Precise correction of the dystrophin gene in Duchenne muscular dystrophy patient induced pluripotent stem cells by TALEN and CRISPR-Cas9. *Stem Cell Reports* 2015; 4(1): 143-54.