

表現綠色螢光胚幹細胞聚合染色體四套胚移置後

所形成單源小鼠可以自然分娩

微生物、植物及某些低等動物可以行無性生殖，得到染色體基因組 DNA (genomic DNA, gDNA) 及粒線體 DNA (mtDNA) 完全相同的後代。高等哺乳動物以傳統育種選拔無法得到 gDNA 及 mtDNA 完全相同的個體，近交純系 (inbred) 小鼠是傳統方法的極至發揮，惟染色體遺傳基因同質性 (homozygosity) 約 98.6~99.9%，理論及實務皆無法為 100%。利用非傳統的生物技術可以產製 gDNA 及 mtDNA 完全相同的單源 (monoclonal) 高等哺乳動物。數種已發展出來的方法已証實可得到單源動物 (monoclonal animal)，其中小鼠胚幹細胞 (embryonic stem, ES cell) 與 4n 胚組合的方法可以簡單、易行的得到大量的單源動物。

多倍體 (polyploid) 植物、低等動物在現代科技下隨處可見，例如無子西瓜、牡蠣、泥鰱等；但純多倍體高等哺乳動物則極為罕見。染色體 4 套 (4n, tetraploid) 小鼠胚移置後，有相當比例可發育上來，並形成胎盤組織埋植，但極少比例能如正常 2n 胚發育超過 15 天以上而不被重吸收。目前確定小鼠 4n 胚基本上可有效形成胎兒部份胎盤及某種程度胎兒本體，但因為發育上的缺陷，無法有效支持到懷孕後期。

小鼠胚幹細胞株是目前最成功並且實際廣泛應用的細胞，其可從

桑椹胚解離後胚葉細胞 (blastomere)、囊胚、延遲埋植 (delayed implantation) 囊胚及內細胞群 (inner cell mass) 來源之細胞使其分裂而不分化建立之。胚幹細胞株是具有充分分化能力 (pluripotent) 的細胞，在適當條件下可以轉變成個體所有種類的細胞 (包括生殖細胞)，甚至一完整個體。不管建立胚源為何，目前可以確定，單純 $2n$ 胚幹細胞本身因為本身無法單獨形成有效胎盤及無方向性生長及分化，因此無法單獨得到由其組成胚胎而正常懷孕下去。胚幹細胞假如借助可以形成胎盤的部份，則有機會可以得到由胚幹細胞所形成的小鼠 (ES cell-derived mouse)。

Nagy et al. (1990, Development 110:815-21) 以 2 個電融合所得 $4n$ 4 細胞期胚和 10~15 個胚幹細胞做聚合 (aggregation)、胚移置；雖然可以得到完全由胚幹細胞所形成的「自然分娩」的仔小鼠，惟未有任何仔小鼠可存活。此等小鼠有正常體重、解剖上亦屬正常，此結果暗示胚幹細胞本身有機會形成完整且可以存活下去的仔小鼠。三年後，Nagy et al. (1993, PNAS, USA 90:8424-8) 報告，胚幹細胞和 $4n$ 胚聚合、移置後，懷孕第 18.5 天「剖腹產」得到完全由胚幹細胞所形成的仔小鼠，性成熟時具生育力。爾後不同實驗室皆證實相同結果。

小鼠 $4n$ 胚和胚幹細胞組合得到完全由胚幹細胞所形成後代的技術

並不困難(較體細胞核移植簡單很多，效率亦較好)，完全由胚幹細胞所形成的仔小鼠亦十分正常、健康(Schwenk et al., 2003. Mol. Cell. Biol. 23:3982-9)；惟現有結果皆以「剖腹產」為之，並以奶媽代養，實務上有其不方便性。

本研究室自行建立之小鼠胚幹細胞株—ESC 26 源自體表毛色為白色之近交純系 BALB/c 母小鼠，和體表毛色主要為白色或淡栗鼠色(light chinchilla)之近交純系 129/SvJ 公小鼠配種所得囊胚。ESC 26 進行綠色螢光基因轉染後，選殖到一株純系(ESC 26GJ9012-8-2)。ESC 26 及 ESC 26GJ9012-8-2 顯示具高度嵌合能力及性腺遺傳能力，後者並表現綠色螢光(Lee et al., 2003. J. Chin. Soc. Anim. Sci. 32:143-54)。與 ICR 或 ICR x B6CBAF1 染色體 4 套之 3~4 細胞期胚聚合、隔夜培養成桑椹胚或囊胚並移置入假孕母小鼠後，可重複得到「自然分娩」且由此胚幹細胞形成之小鼠；與 ICR, C57BL/6, BALB/c 配種顯示，此等小鼠具正常生殖能力(或同時表現綠色螢光)(李坤雄等，2003。中畜會誌 32:91)。此結果顯示，利用小鼠胚幹細胞與 4n 胚組合，例行產製由胚幹細胞所形成之正常小鼠的方法更趨實際；同樣模式，未來希望可以使用在家畜。

(李坤雄撰/莊景凱審)