

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00985

细胞命运转变——谱系重编程技术研究进展

孙红艳^{1,2}, 王锋¹, 曹文广²

1 南京农业大学动物科技学院动物胚胎工程中心, 南京 210095;

2 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193

摘要: 体细胞核移植和诱导多能干细胞技术表明已分化的体细胞可以转变命运。最近的研究再一次验证了成熟体细胞可以通过外源转录因子的导入, 直接重编程为其他类型的体细胞或祖细胞。这种重编程技术称为谱系重编程(Lineage reprogramming)。这项技术不仅在再生医学领域具有广阔的应用前景, 而且在动物生物技术中也应用广泛。它不但避免了伦理争议, 还提供了便利的重编程方法, 同时也为基因表达调控的研究提供了重要的手段。文章从谱系重编程的方式、谱系重编程的特点及应用前景等 3 个方面进行了综述, 旨在对相关领域的研究人员起到借鉴作用。

关键词: 体细胞; 谱系重编程; 转录因子; 命运转变

Cell fate switch: Lineage reprogramming

SUN Hong-Yan^{1,2}, WANG Feng¹, CAO Wen-Guang²

1. Center of Animal Embryo Engineering and Technology, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: It has been demonstrated that mature cells could switch their fate by the technologies for reprogramming, such as somatic cell nuclear transfer and induced pluripotent stem cells. Recently, this conclusion was further confirmed. It was found that mature differentiated cells could be directly converted into other somatic cells or progenitors with some defined transcription factors. This technology is called lineage reprogramming, which provides an attractive novel alternative to regenerative medicine and animal biotechnology. It is a more convenient and more effective system with less ethical issues. Moreover, lineage reprogramming technology could also facilitate researches on regulation of gene expression. This review highlights the procedures of reprogramming, its characteristics, and significant promise in biomedical applications.

Keywords: somatic cell; lineage reprogramming; transcription factors; fate switch

生命个体是由受精卵经过不断分裂和分化而来的。受精卵在发育过程中产生各种类型的体细胞和

成体干细胞, 它们各司其职, 维持生命活动。一般情况下, 由于胞质内特定物质的存在和相邻细胞间的

收稿日期: 2012-02-22; 修回日期: 2012-04-08

基金项目: 国家转基因重大专项“优质转基因肉羊新品种培育”(编号: 2011ZX08008-003)资助

作者简介: 孙红艳, 硕士研究生, 研究方向: 雄性生殖细胞重编程。E-mail: sunshy2772@163.com

通讯作者: 曹文广, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 转基因动物和雄性生殖细胞。E-mail: wgcao@yahoo.com

作用,使细胞发育受限,只能按照特定的方向分化,细胞命运不会改变,如肝脏细胞在机体内不会转变成神经细胞。但在某些条件下,细胞命运会改变。例如成年蝾螈(*Notophthalmus viridescens*)截肢后,结缔组织、软骨及肌肉细胞等可去分化为祖细胞,再分化成为新的四肢^[1];病理条件下,正常细胞会改变原有的形态和生理特性,形成癌细胞;精原干细胞在体内只能发育成精子,但通过体外培养可分化为多种细胞类型^[2]。有研究证明,体细胞核移植后胚胎会发生重编程,使细胞命运发生改变^[3,4],胚胎干细胞与体细胞融合^[5,6]或共培养^[7]后均能使体细胞获得干细胞特性;将ES细胞中起关键作用的基因导入体细胞,可将体细胞重编程为与ES细胞极为相似的诱导多能干细胞(Induced pluripotent stem cells, iPS细胞)^[8-11]。以上均表明,无论内在基因调控或外在环境条件改变,都可以使细胞重编程为新的细胞类型,改写细胞命运。

尽管ES细胞和iPS细胞在疾病模型构建、细胞治疗和改善动物性能等方面具有重要作用,但是ES细胞建系困难,iPS细胞易发生突变,存在免疫原

性、致瘤性等缺点,使其应用受限。因此,科学家借鉴iPS细胞技术和对转分化的研究,发现了谱系重编程(Lineage reprogramming)技术,为再生医学等提供了新的途径。谱系重编程,即一种末端分化的体细胞直接重编程为其他成熟细胞,不需经过多能细胞阶段的重编程方法。这种技术可操作性强,既避免了ES细胞存在的伦理道德和组织不相容等问题,又比iPS细胞具有诱导效率高、周期短、诱导过程简便等优势。

启动谱系重编程相对简便,少数重编程因子和特定的培养环境就可以实现重编程。谱系重编程可分为体内和体外重编程两种途径。例如在小鼠胰腺内过表达*Pdx1*基因可导致胰岛细胞再生^[12];体外培养的体细胞(成纤维细胞、视网膜上皮细胞或软骨细胞等)过表达肌细胞关键调控基因*MyoD*后,会表现出骨骼肌细胞的特性^[13,14],过表达*C/EBPs*基因可有效的将B淋巴细胞重编程为巨噬细胞^[15]。因此,明确细胞发育过程中的关键调控基因,理论上就可以实现细胞间的转变。表1对近期谱系重编程研究进展进行了总结。

表1 近期谱系重编程研究进展

供体细胞	诱导因子	目的细胞	参考文献
小鼠成纤维细胞	<i>Ascl1, Brn2, Myt1l</i>	神经元	[23]
	<i>Ascl1, Nurr1, Lmxla</i>	多巴胺神经元	[25]
	<i>Ascl1, Brn2, Myt1l, Lhx3, Hb9, Isl1, Ngn2</i>	运动神经元	[28]
	<i>Gata4, Mef2c, Tbx5</i>	心肌细胞	[32]
	<i>Hnf4a, Foxa1, Foxa2 或 Foxa3</i>	肝细胞	[33]
	<i>Gata4, Hnf1a, Foxa3</i>	肝细胞	[34]
	<i>Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	神经祖细胞	[35]
	<i>Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	心肌细胞	[36]
小鼠胰岛外分泌细胞	<i>Ngn3, Pdx1, Mafa</i>	胰岛β细胞	[20]
小鼠胎儿中胚层细胞	<i>Gata4, Tbx5, Baf60c</i>	心肌细胞	[22]
小鼠肝细胞	<i>Ascl1, Brn2, Myt1l</i>	神经元	[31]
人皮肤成纤维细胞	<i>Oct4</i>	造血祖细胞	[37]
	<i>NeuroD1, Ascl1, Brn2, Myt1l</i>	神经元	[24]
	<i>miR-9, miR-124, NeuroD2, Ascl1, Myt1l</i>	神经元	[29]
	<i>miR-124, Myt1l, Brn2</i>	神经元	[30]
	<i>Ascl1, Nurr1, Lmxla</i>	多巴胺神经元	[25]
	<i>Ascl1, Brn2, Myt1l+Lmx1a, FoxA2</i>	多巴胺神经元	[27]
	<i>Ascl1, Brn2, Myt1l, Lhx3, Hb9, Isl1, Ngn2</i>	运动神经元	[28]
	<i>Ascl1, Brn2, Zic1</i>	前脑神经元	[39]

1 体内谱系重编程

体内谱系重编程, 是在体内发生的重编程过程。即将转录因子直接转入特定组织内, 以完成对特定体细胞的重编程。由于重编程在细胞的天然生长环境中进行, 减少了环境条件对重编程的影响。

在细胞重编程过程中, 首先需要确定启动重编程的关键基因, 这些基因通常在目的细胞中特异表达而在供体细胞中不表达或很少表达。一般来说, 这些基因对细胞和组织的发育至关重要, 若基因缺失将导致个体发育异常。例如转录因子 *Pdx1* 具有促进胰腺的发育和胰岛 β 细胞的分化, 完善 β 细胞功能等作用^[16]。*Pdx1*^{-/-}小鼠胰腺发育不全, 易死于高血糖症; *Pdx1*^{+/-}小鼠胰腺发育正常, 但成年后出现糖尿病^[17]。而 *Pdx1* 过表达能够诱导体内肝脏细胞或胰腺细胞转分化为胰岛 β 样细胞, 诱导的细胞可表达 β 细胞特异性基因, 分泌胰岛素, 改善高血糖症, 但并不能实现细胞间完全转变^[16,18,19]。Zhou等^[20]通过对胚胎发育过程中胰腺特异性表达基因的筛选, 并结合基因敲除等手段, 发现 *Pdx1*、*Ngn3* 和 *Mafa* 3 个因子共同作用可将小鼠胰腺外分泌细胞转分化为胰岛 β 细胞(图 1)。诱导的 β 细胞在形态和基因表达等方面与胰岛 β 细胞相似, 且具有分泌 *VEGF* 因子和胰岛素等功能。

体内重编程的最大优势是环境优势, 天然生长环境保证了细胞的生长特性, 而体外培养时细胞的某些特性易丢失, 如 β 细胞在体外培养条件下容易转变为成纤维样细胞^[21]。研究证明, 来源

于相同胚层的细胞更易实现体内谱系重编程。如在胚胎发育过程中, 心肌细胞来源于中胚层。Bruneau研究小组成功将小鼠胎儿中胚层细胞转变为心肌细胞^[22]。该小组将与心脏发育相关的转录因子 *Gata4*、*Tbx5* 和 *Baf60c* 注射到发育 6 d 的小鼠胚胎中, 结果本该分化为胎儿四肢肌肉和羊膜的中胚层改变了分化命运, 成为具有收缩功能的心肌细胞, 而其他胚层则不会转变为心肌细胞。

2 体外谱系重编程

体外谱系重编程是细胞重编程过程在体外完成, 通过模拟细胞体内生长环境, 利用转录因子诱导体细胞重编程。此操作较为简便, 适合多种体细胞重编程, 有利于转录因子的功能和作用机理的研究。

2.1 细胞特异性因子诱导的谱系重编程

Werning研究小组^[23]从 19 个与神经发育相关的基因中筛选出 3 个基因, 将小鼠成纤维细胞重编程为功能性神经元(图 2)。将转录因子 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l* 共同作用于成纤维细胞, 3 d 后出现神经样细胞, 8 d 左右能表达神经特异性基因 *Tau*。诱导的神经元能产生动作电位, 形成功能性突触。2011 年该小组又实现了人成纤维细胞的重编程^[24]。由于人和小鼠的基因调控模式不同, 该小组在 3 因子基础上又添加了 *NeuroD1* 因子。但上述诱导的神经元并非单一类型的神经元, 而是谷氨酰胺能和 GABA 能神经元的混合体。

随后, Caizzo等^[25]利用 3 个神经特异性转录因

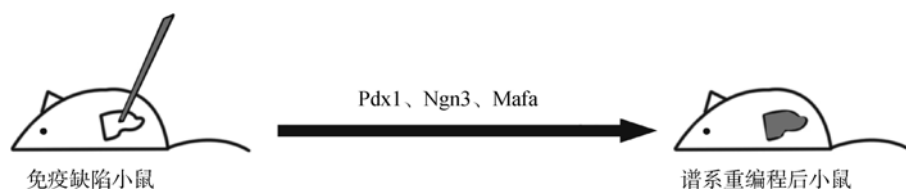


图 1 体内重编程胰腺外分泌细胞为胰岛 β 细胞

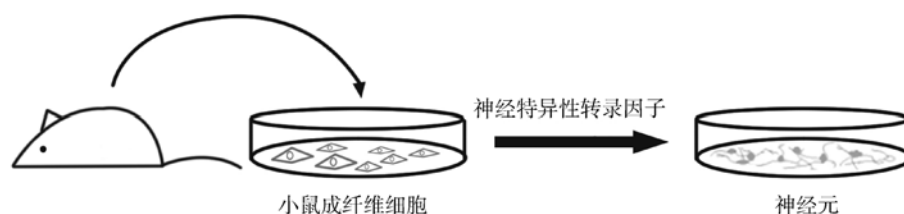


图 2 体外利用特异性因子重编程小鼠成纤维细胞为神经元

子, 将小鼠成纤维细胞重编程为单一神经元—多巴胺神经元。诱导的多巴胺神经元具有分泌多巴胺和自发电活动的能力, 而且诱导的神经元可整合到小鼠脑室中。2~6 周后, 细胞在脑室中形成复杂的神经元形态, 能表达多巴胺神经元特异性基因和蛋白, 并产生动作电位。而且, 研究小组还将人的成纤维细胞, 特别是帕金森病人的成纤维细胞诱导为多巴胺神经元。在诱导过程中使用的转录因子分别为 *Ascl1*、*Nurr1* 和 *Lmx1a*。虽然与 Werning 等^[23]用的重编程因子不完全相同, 但两者均使用了 *Ascl1* 因子。*Ascl1* 因子是神经发育关键因子, 属于 bHLH 家族, 能够调节神经祖细胞自我更新和神经元的分化, 促进 GABA 能神经元分化, 在周围神经系统参与植物神经元生成。*Ascl1* 基因敲除小鼠在交感神经、副交感神经和肠神经节等方面均表现出神经分化缺陷^[26]。Parmar 领导的研究小组也成功诱导出了人多巴胺神经元^[27]。他们首先用 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l* 将人成纤维细胞诱导成多种神经元的混合体, 再用多巴胺神经元特异性因子 *Lmx1a* 和 *FoxA2*, 将其重编程为单一的多巴胺神经元。这种策略为不同类型神经元的诱导提供了借鉴。Eggan 研究小组的诱导策略与 Parmar 小组^[27]相似, 同样将成纤维细胞重编程为单一的运动神经元^[28]。不同的是 Eggan 小组将 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l* 直接与运动神经元特异性转录因子共同诱导成纤维细胞的重编程。诱导的运动神经元具有释放神经递质, 形成功能性突触等特性。

以上重编程方法所用的载体大多是慢病毒载体, 所携带的外源基因会整合到宿主基因组中, 可能导致基因插入突变等问题, 从而影响诱导神经元的临床应用。因此, 开发更安全的载体是必要的。有研究小组发现 miRNA 可代替部分转录因子^[29,30]。Yoo 等^[29]利用 miR-9 和 miR-124 将人表皮成纤维细胞诱导为神经样细胞。诱导的细胞可表达神经特异性基因 *MAP2*。但仅使用 miRNA 重编程效率很低, 且形成的神经元功能不完全。因此, 仍需添加一部分转录因子。Ding 研究小组运用 miR-124 并结合两个转录因子 *Myt1l* 和 *Brn2*, 将人表皮成纤维细胞重编程为功能性神经元^[30]。

由于成纤维细胞的异质性, 细胞中可能混有间充质细胞。因此不清楚是诱导了体细胞重编程还是祖细胞分化。Marro 等^[31]很巧妙地解答了这个疑问:

利用转录因子 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l*, 实现了不同胚层终末分化细胞间的转变—将表达白蛋白的肝细胞(内胚层)重编程为功能性神经元(外胚层)。其在诱导效率、基因表达图谱和功能等方面与成纤维细胞来源的神经元相似。但肝细胞重编程时间比成纤维细胞长, 可能是肝细胞的表现遗传修饰比成纤维细胞更复杂所致。

除神经元外, 心肌细胞和肝细胞均能实现谱系重编程, 暗示了任何体细胞均具有谱系转变的能力。*Gata4*、*Mef2c* 和 *Tbx5* 是早期心肌发育核心转录因子, 它们之间相互作用, 共同调节心肌细胞基因表达。在成纤维细胞重编程过程中, *Gata4* 调节染色体结构, 使 *Mef2c* 和 *Tbx5* 分别与其特异性位点结合, 然后组蛋白和去 DNA 去甲基化, 启动重编程, 从而获得心肌细胞^[32]。心肌细胞的全基因组表达模式接近于新生儿心肌细胞, 具有自发收缩等功能。另有研究小组通过在成纤维细胞中异位表达肝细胞特异性转录因子, 将小鼠成纤维细胞转变为功能性肝细胞^[33,34]。

2.2 非特异性因子诱导的谱系重编程

利用重编程 iPS 细胞的 4 个转录因子 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *c-Myc*, 而非体细胞特异性因子, 通过改变细胞诱导条件, 可将体细胞重编程为不同于 iPS 细胞的细胞类型, 如神经祖细胞和心肌细胞^[35,36]。Kim 等^[35]通过异位表达该 4 因子, 将成纤维细胞重编程为神经祖细胞, 不需经过 iPS 细胞阶段(图 3)。诱导的神经祖细胞可表达神经元特异性蛋白, 产生动作电位和形成突触, 并可分化为不同的神经元及胶质细胞。尽管和诱导 iPS 细胞使用的转录因子相同, 但培养基有很大的调整: 采用神经元诱导培养基, 添加特异性神经生长因子, 不添加 LIF 和饲养层等对 iPS 细胞诱导起关键作用的物质。由此可见培养环境对细胞重编程的重要性。在心肌细胞培养基中, 表达这 4 个因子可将成纤维细胞重编程为心肌细胞^[36]。甚至三因子(无 *c-Myc*)就可以完成体细胞重编程。获得的心肌细胞可表达心肌特异性标记基因, 具有自发收缩能力。同样的, 在造血细胞培养条件下, 单独过表达 *Oct4* 也可以将人皮肤成纤维细胞重编程为具有 CD45 标记的造血祖细胞^[37], 而非 iPS 细胞^[38]。诱导的造血祖细胞可以生成粒细胞、单

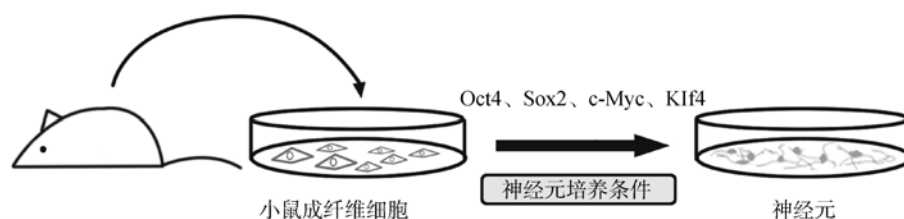


图3 体外利用非特异性因子重编程小鼠成纤维细胞为神经元

核细胞、巨核细胞和红细胞等成熟细胞,为人造血液提供了可能。

3 谱系重编程的特点

尽管供体细胞类型多样,目的细胞也不相同,但谱系重编程有一些共同特征。首先,重编程过程不经过多能细胞阶段,即不经历去分化-再分化的过程,而是直接完成体细胞类型的转变。重编程过程中无需多能基因的表达。其次,获得的目的细胞不同于iPS细胞,不具有维持自我更新的能力。第三,细胞分裂后重编程。通过向培养基中添加5-溴脱氧尿嘧啶核苷,发现转染后1~2 d细胞数目增加,而5~12 d出现特异性基因阳性克隆,表明细胞转分化期间细胞不分裂^[23]。一般病毒感染细胞一周内便出现带有标记基因的阳性克隆,且重编程效率较高,可达到20%左右^[23]。而成纤维细胞重编程为iPS细胞时出现克隆需要更长的时间(7~30 d),而且效率更低(小于0.1%)^[8]。同时谱系重编程操作简便,缩短了获得目的细胞的周期。

4 谱系重编程的应用前景

谱系重编程在基础研究领域和再生医学领域有广阔的应用前景。通过谱系重编程,可研究不同转录因子如何调控基因网络和表观遗传变化,如染色体重构、DNA甲基化和组蛋白修饰等。对重编程机制的研究可进一步促进谱系重编程的发展,最终实现其在人类再生医学上的应用。选择较易获得的细胞类型转变为难以直接获得的细胞类型,用于替代不可修复或受损的细胞进行相关疾病的治疗等。例如,Qiang等^[39]直接将阿尔茨海默病病人的皮肤成纤维细胞转化为功能性神经元。将重编程后的细胞移植到病变部位,使其与原组织整合到一起,修复受损的功能。这种方法为临床上的疑难疾病如帕金森综合症、糖尿病和心血管疾病等治疗提供了新的途

径。此外,获得的细胞可用于药物筛选,通过体外进行药物毒力测试,避免直接人体试验可能存在的风险。在动物生产中,此项技术应用也十分广泛。人们可改善动物性状,如通过将脂肪细胞向肌细胞转变以提高瘦肉率;制作生物反应器,产生具有药用价值的产品等。同时,也为珍稀动物疾病治疗提供了新的技术手段。

5 展望

细胞谱系重编程取得的重大进展表明理论上利用有限的几个转录因子可将任何成体细胞重编程为其他类型的细胞,增加了供体细胞的来源。在重编程过程中,除转录因子起作用外,重编程环境也非常重要^[35,36]。我们在利用OSKC四因子诱导生殖细胞重编程的实验中发现,有少量非iPS细胞—心肌样细胞产生。因此,利用相同转录因子,通过改变环境条件来获得不同目的细胞的方法更为简便。

目前,科学家尚未完全弄清转录因子与全基因组转录和表观遗传的关系。可能是通过过表达某些基因,提高了这些基因的本底表达水平,引起与其相关基因表达水平变化,进而使蛋白质合成变化,改变了细胞信号通路,导致染色体结构重塑,表观遗传水平改变,从而引起细胞整体水平变化,朝向所需细胞类型改变。研究发现,细胞完全重编程一般由多个转录因子的联合诱导,单个转录因子仅能实现部分基因变化。以上表明,细胞重编程是由多个因子共同作用以激活整个基因表达网络,而并非存在一种主要调控因子。而且当内源基因网络被激活并能维持后,外源基因将会沉默。谱系重编程发生的具体机理还需要进一步研究,以便为接下来的临床应用提供理论支持与指导。

在谱系重编程临床应用前,还需解决一些问题。首先是谱系重编程的诱导效率较低,可采用化学物质^[40]、低氧环境^[41]和寻找更优的转录因子^[42]等

方法进一步提高诱导效率。其次是目的细胞增殖能力较差, 将供体细胞先重编程为祖细胞提供了相应的解决手段^[43,44]。再次是临床应用的安全性: 第一, 目前常用的慢病毒和逆转录病毒载体可能会引起基因插入突变, 对此可采用和iPS技术相似的方法, 如使用游离质粒载体^[45]、融合蛋白^[46]和转座子^[47]等多种技术手段进行改善; 第二, 对于目的细胞和天然细胞的差异性需要验证, 判断其是否真正能行使细胞代替功能; 第三, 目的细胞的纯化问题, 即如何有效的去除杂细胞的污染, 包括供体细胞、未完全转化的细胞及少量其他细胞; 第四, 目的细胞发挥功能的持久性, 需验证获得的功能细胞在体内的维持时间。

当然, 谱系重编程应用前景和优势是无法估量的, 相信随着对这项技术的深入研究, 谱系重编程技术终将在再生医学及相关领域中大放异彩。

参考文献(References):

- [1] Brockes JP, Kumar A. Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(8): 566–574. [DOI](#)
- [2] Simon L, Ekman GC, Kostereva N, Zhang Z, Hess RA, Hofmann MC, Cooke PS. Direct transdifferentiation of stem/progenitor spermatogonia into reproductive and nonreproductive tissues of all germ layers. *Stem Cells*, 2009, 27(7): 1666–1675. [DOI](#)
- [3] Wilmur I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385(6619): 810–813. [DOI](#)
- [4] Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, Johnson KR, Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 1998, 394(6691): 369–374. [DOI](#)
- [5] Tada M, Takahama Y, Abe K, Nakatsuji N, Tada T. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr Biol*, 2001, 11(19): 1553–1558. [DOI](#)
- [6] Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science*, 2005, 309(5739): 1369–1373. [DOI](#)
- [7] Bru T, Clarke C, McGrew MJ, Sang HM, Wilmut I, Blow JJ. Rapid induction of pluripotency genes after exposure of human somatic cells to mouse ES cell extracts. *Exp Cell Res*, 2008, 314(14): 2634–2642. [DOI](#)
- [8] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126(4): 663–676. [DOI](#)
- [9] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, 318(5858): 1917–1920. [DOI](#)
- [10] Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2007, 448(7151): 313–317. [DOI](#)
- [11] Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, Hao J, Guo CL, Ma QW, Wang L, Zeng F, Zhou Q. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature*, 2009, 461(7260): 86–90. [DOI](#)
- [12] Taniguchi H, Yamato E, Tashiro F, Ikegami H, Ogihara T, Miyazaki J. β -cell neogenesis induced by adenovirus-mediated gene delivery of transcription factor pdx-1 into mouse pancreas. *Gene Ther*, 2003, 10(1): 15–23. [DOI](#)
- [13] Weintraub H, Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, Adam MA, Lassar AB, Miller AD. Activation of muscle-specific genes in pigment, nerve, fat, liver, and fibroblast cell lines by forced expression of MyoD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(14): 5434–5438. [DOI](#)
- [14] Choi J, Costat ML, Mermelstein CS, Chagas C, Holtzer S, Holtzer H. MyoD converts primary dermal fibroblasts, chondroblasts, smooth muscle, and retinal pigmented epithelial cells into striated mononucleated myoblasts and multinucleated myotubes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(20): 7988–7992. [DOI](#)
- [15] Xie H, Ye M, Feng R, Graf T. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell*, 2004, 117(5): 663–676. [DOI](#)
- [16] Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, Matsuoka TA, Matsuhisa M, Hori M, Yamasaki Y. PDX-1/VP16 fusion protein, together with NeuroD or Ngn3, markedly induces insulin gene transcription and ameliorates glucose tolerance. *Diabetes*, 2005, 54(4): 1009–1022. [DOI](#)
- [17] Melloul D. Transcription factors in islet development and physiology: role of PDX-1 in beta-cell function. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1014(1): 28–37. [DOI](#)
- [18] Wang AY, Ehrhardt A, Xu H, Kay MA. Adenovirus transduction is required for the correction of diabetes using Pdx-1 or Neurogenin-3 in the liver. *Mol Ther*, 2007, 15(2): 255–263. [DOI](#)
- [19] Miyatsuka T, Kaneto H, Kajimoto Y, Hirota S, Arakawa Y, Fujitani Y, Umayahara Y, Watada H, Yamasaki Y, Magnuson

- MA, Miyazaki J, Hori M. Ectopically expressed PDX-1 in liver initiates endocrine and exocrine pancreas differentiation but causes dysmorphogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(3): 1017–1025. [DOI](#)
- [20] Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA. *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature*, 2008, 455(7213): 627–632. [DOI](#)
- [21] Gershengorn MC, Hardikar AA, Wei C, Geras-Raaka E, Marcus-Samuels B, Raaka BM. Epithelial-to-mesenchymal transition generates proliferative human islet precursor cells. *Science*, 2004, 306(5705): 2261–2264. [DOI](#)
- [22] Takeuchi JK, Bruneau BG. Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors. *Nature*, 2009, 459(7247): 708–711. [DOI](#)
- [23] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, Kokubu Y, Südhof TC, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, 463(7284): 1035–1041. [DOI](#)
- [24] Pang ZP, Yang N, Vierbuchen T, Ostermeier A, Fuentes DR, Yang TQ, Citri A, Sebastiano V, Marro S, Südhof TC, Wernig M. Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature*, 2011, 476(7359): 220–223. [DOI](#)
- [25] Caiazzo M, Dell'Anno MT, Dvoretzskova E, Lazarevic D, Taverna S, Leo D, Sotnikova TD, Menegon A, Roncaglia P, Colciago G, Russo G, Carninci P, Pezzoli G, Gainetdinov RR, Gustincich S, Dityatev A, Broccoli V. Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts. *Nature*, 2011, 476(7359): 224–227. [DOI](#)
- [26] Vierbuchen T, Wernig M. Direct lineage conversions: unnatural but useful? *Nat Biotechnol*, 2011, 29(10): 892–907. [DOI](#)
- [27] Pfisterer U, Kirkeby A, Torper O, Wood J, Nelander J, Dufour A, Björklund A, Lindvall O, Jakobsson J, Parmar M. Direct conversion of human fibroblasts to dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(25): 10343–10348. [DOI](#)
- [28] Son EY, Ichida JK, Wainger BJ, Toma JS, Rafuse VF, Woolf CJ, Eggan K. Conversion of mouse and human fibroblasts into functional spinal motor neurons. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(3): 205–218. [DOI](#)
- [29] Yoo AS, Sun AX, Li L, Shcheglovitov A, Portmann T, Li Y, Lee-Messer C, Dolmetsch RE, Tsien RW, Crabtree GR. MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 2011, 476(7359): 228–231. [DOI](#)
- [30] Ambasudhan R, Talantova M, Coleman R, Yuan X, Zhu S, Lipton SA, Ding S. Direct reprogramming of adult human fibroblasts to functional neurons under defined conditions. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(2): 113–118. [DOI](#)
- [31] Marro S, Pang ZP, Yang N, Tsai MC, Qu K, Chang HY, Südhof TC, Wernig M. Direct lineage conversion of terminally differentiated hepatocytes to functional neurons. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(4): 374–382. [DOI](#)
- [32] Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, Vedantham V, Hayashi Y, Bruneau BG, Srivastava D. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, 142(3): 375–386. [DOI](#)
- [33] Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature*, 2011, 475(7356): 390–393. [DOI](#)
- [34] Huang P, He Z, Ji S, Sun H, Xiang D, Liu C, Hu Y, Wang X, Hui L. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, 475(7356): 386–389. [DOI](#)
- [35] Kim J, Efe JA, Zhu S, Talantova M, Yuan X, Wang S, Lipton SA, Zhang K, Ding S. Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(19): 7838–7843. [DOI](#)
- [36] Efe JA, Hilcove S, Kim J, Zhou H, Ouyang K, Wang G, Chen J, Ding S. Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 215–222. [DOI](#)
- [37] Szabo E, Rampalli S, Risueño RM, Schnerch A, Mitchell R, Fiebig-Comyn A, Levadoux-Martin M, Bhatia M. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature*, 2010, 468(7323): 521–526. [DOI](#)
- [38] Kim JB, Greber B, Araúzo-Bravo MJ, Meyer J, Park KI, Zaehres H, Schöler HR. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature*, 2009, 461(7264): 649–653. [DOI](#)
- [39] Qiang L, Fujita R, Yamashita T, Angulo S, Rhinn H, Rhee D, Doege C, Chau L, Aubry L, Vanti WB, Moreno H, Abeliovich A. Directed conversion of Alzheimer's disease patient skin fibroblasts into functional neurons. *Cell*, 2011, 146(3): 359–371. [DOI](#)
- [40] Esteban MA, Wang T, Qin B, Yang J, Qin D, Cai JL, Li W, Weng Z, Chen J, Ni S, Chen K, Li Y, Liu X, Xu J, Zhang S, Li F, He W, Labuda K, Song Y, Peterbauer A, Wolbank S, Redl H, Zhong M, Cai D, Zeng L, Pei D. Vitamin C enhances the generation of mouse and human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(1): 71–79. [DOI](#)
- [41] Yoshida Y, Takahashi K, Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Hypoxia enhances the generation of induced pluripotent

- stem cells. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(3): 237–241. [DOI](#)
- [42] Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, Shibukawa R, Kodanaka I, Ichisaka T, Kawamura Y, Mochizuki H, Goshima N, Yamanaka S. Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature*, 2011, 474(7350): 225–229. [DOI](#)
- [43] Thier M, Wörsdörfer P, Lakes YB, Gorris R, Herms S, Opitz T, Seiferling D, Quandel T, Hoffmann P, Nöthen MM, Brüstle O, Edenhofer F. Direct conversion of fibroblasts into stably expandable neural stem cells. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(4): 473–479. [DOI](#)
- [44] Han DW, Tapia N, Hermann A, Hemmer K, Höing S, Araúzo-Bravo MJ, Zaehres H, Wu GM, Frank S, Moritz S, Greber B, Yang JH, Lee HT, Schwamborn JC, Storch A, Schöler HR. Direct reprogramming of fibroblasts into neural stem cells by defined factors. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(4): 465–472. [DOI](#)
- [45] Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, Tian S, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science*, 2009, 324(5928): 797–801. [DOI](#)
- [46] Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, Trauger S, Bien G, Yao S, Zhu Y, Siuzdak G, Schöler HR, Duan L, Ding S. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(5): 381–384. [DOI](#)
- [47] Woltjen K, Michael IP, Mohseni P, Desai R, Mileikovsky M, Hämläinen R, Cowling R, Wang W, Liu P, Gertszenstein M, Kaji K, Sung HK, Nagy A. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2009, 458(7239): 766–770. [DOI](#)

•科学新闻•

脆性 X 智障蛋白 FMRP 参与 DNA 损伤应答的机制

脆性 X 综合征是世界范围内最常见的遗传性智力缺陷,由脆性 X 智障蛋白(Fragile X mental retardation protein, FMRP)功能缺陷导致,但其致病机制目前仍然所致甚少。中国科学院遗传与发育生物学研究所张永清研究员研究组和大连医科大学肿瘤干细胞研究院秘晓林教授研究团队密切合作发现 FMRP 参与调节 DNA 损伤应答的机制。

利用经典的模式生物果蝇,研究人员发现突变体果蝇对 γ -射线和化学诱变剂高度敏感。FMRP 缺失果蝇呈现 DNA 损伤导致的 G2/M 细胞周期检验点缺陷,这种缺陷是由于 FMRP 缺失果蝇中细胞分裂素 CycB 的表达异常升高导致的。CycB 是调节细胞进入有丝分裂期的关键因子之一,研究发现 FMRP 可以与 CycB mRNA 结合,抑制 CycB 蛋白的表达,从而参与对细胞周期的调节。此外, FMRP 缺失果蝇表现出辐射导致的 p53 依赖性细胞凋亡显著增多。

本研究首次揭示 FMRP 蛋白参与 DNA 损伤应答,扩展了对 DNA 损伤应答机制的了解。同时,也加深了对脆性 X 综合症发病机理的认识,为脆性 X 综合征的诊断治疗提供了新的思路。

该研究结果于 7 月 26 日在线发表于 Human Molecular Genetics 杂志(DOI: 10.1093/hmg/dd307),张永清研究员实验室的刘威博士是该工作的第一作者。该研究工作得到了国家自然科学基金委、科技部和中国科学院的资助。

引自中国科学院遗传与发育生物学研究所网站