

细胞提取物重编程研究进展*

刘雨潇¹⁾ 张志文¹⁾ 傅相平¹⁾ 金 鹏²⁾ 李安民^{1)**} 张 毅^{2)**}

(¹⁾解放军总医院第一附属医院神经外科, 北京 100037; (²⁾军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 体细胞重编程是在特定的条件下使已分化的细胞转变成另一种细胞。体细胞重编程的方式主要有体细胞核移植技术、细胞融合技术、细胞提取物处理技术及特定转录因子转染技术。现有研究表明, 细胞提取物重编程技术在体细胞重编程中发挥着一定的作用, 为此, 就该技术的最新研究进展和可能机制作一综述。

关键词 细胞提取物, 重编程, 转分化

学科分类号 Q28, R34

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00346

传统观念认为, 细胞分化是不可逆的。然而, 随着生命科学研究的不断深入, 人们发现成熟体细胞可以在一定条件下逆分化为原始多能细胞或是转分化为其他类型细胞, 这种现象被称为体细胞重编程。体细胞重编程技术的发展为多种重大疾病的治疗提供了新的思路。本文简要概括了体细胞重编程的主要方法, 并重点介绍了细胞提取物处理技术的研究进展, 旨在初步阐明该技术的原理和机制, 为其应用奠定基础。

1 体细胞重编程的经典途径

体细胞核移植技术、细胞融合技术及特定转录因子转染技术是目前体细胞重编程的常用方法, 利用上述方法可将处于分化末期的体细胞转化为目的细胞。

1.1 体细胞核移植技术

1996 年, 英国科学家首次利用体细胞核移植技术培育出世界第一只克隆羊, 这是 20 世纪科学研究的一项重大突破^[1], 此后, 研究者以不同种类的体细胞作为供体植入去核卵细胞中, 成功获得了克隆动物^[2-6]。这证明, 利用核移植技术可以改变细胞的分化状态, 使体细胞重新分化。

供体细胞的来源及分化程度是影响核移植效果的主要因素。Blelloch 等^[9]以神经元细胞和神经干细胞作为供体进行核移植, 结果发现, 以神经干细

胞为供体可高效获得胚胎干细胞。Li 等^[6]以表皮干细胞和即将分化的表皮细胞作为供体, 以小鼠去核卵细胞作为受体进行核移植, 结果显示, 以表皮干细胞作为供体更为高效。然而, 近年来有研究者发现, 与造血干细胞相比, 以粒细胞作为供体更易获得胚胎干细胞^[7]。据此提示, 核移植的效果不仅与供体的来源和分化程度有关, 而且与供体细胞自身的特性有关, 涉及细胞周期和细胞核结构特点等多种因素。

目前, 体细胞核移植技术主要用于以下研究:

- 生物学基础研究。通过核移植技术, 研究胚胎发育过程中印记基因的甲基化模式、基因组再程序化的模式等问题, 为生物学基础研究提供模型。
- 珍贵濒危动物的保护。可采用种间核移植将濒危动物的体细胞移植到其他动物的去核卵细胞中, 来扩大濒危动物的数量。
- 再生医学研究。应用病人正常的或经过基因修饰的体细胞作为核供体, 通过核移植技术获得重构胚, 使其发育至囊胚, 然

* 国家重点基础研究发展计划资助项目 (2010CB833604), 国家自然科学基金面上项目 (31070996)。

** 通讯联系人。

张 毅. Tel: 010-66931320, E-mail: zhangyi612@hotmail.com

李安民. Tel: 010-66931320, E-mail: anminli301304@sina.com

收稿日期: 2011-09-20, 接受日期: 2011-10-28

后从囊胚中分离培养出胚胎干细胞,通过体外定向诱导分化产生所需要的细胞、组织或器官,移植到病人体内修复或生成需要的细胞、组织或器官,避免免疫排斥反应。

尽管有着诱人的应用前景,体细胞核移植技术仍存在以下问题亟待解决:a. 克隆胚胎的成活率低. 通过核移植技术得到的克隆胚胎常常出现发育阻滞,停留在八细胞期或是囊胚期. 克隆胚胎移植后受胎率较低,常常发生流产、死胎等现象. b. 由克隆胚胎发育而来的个体容易发生基因突变. 有研究表明,克隆动物体细胞中的端粒要短于普通动物,体细胞很容易发生基因突变,从而影响动物的寿命^[8]. 此外,伦理道德的限制给体细胞核移植技术的应用设置了难以逾越的障碍。

1.2 细胞融合技术

在细胞自然生长的情况下,或是在其他人为因素作用的条件下,同种或异种细胞之间会发生相互融合,形成杂合细胞,这种现象被称为细胞融合. 细胞融合可使细胞发生重编程,表现出新的遗传学特征. Pomerantz 等^[9]将人的肝细胞与多核肌细胞融合,结果发现融合产生的细胞表达肌细胞特异基因. Sumer 等^[10]将组织细胞与诱导多能干细胞融合,结果发现融合细胞具有向 3 个胚层分化的能力. 此外,有研究者将人胚胎干细胞与组织细胞融合,结果发现融合细胞表达胚胎干细胞特异基因 *OCT-4*,保持未分化状态^[11-12]. 细胞融合重编程的确切机理至今仍不清楚,现阶段的研究结果显示:a. 细胞融合后会发生核肿胀与核染色质解聚,在该过程中细胞核将发生重编程,改变核的基因表达方式;b. 终末分化细胞仍包含着某些调节因子能够改变其他细胞的基因表达方式,因此细胞融合后杂合体细胞中的不同组分将会相互影响,产生具有新表型的细胞。

细胞融合技术避免了分离、提纯、剪切、拼接等复杂的基因操作,它从细胞水平改变了细胞的遗传性,可不受种属限制,实现种间生物体细胞的融合,使远缘杂交成为可能. 因此作为改造细胞遗传物质的有力手段,细胞融合技术被广泛地应用于生命科学的多个领域,成为生物工程的基础技术之一. 然而,细胞融合后获得的杂合细胞具有染色体异倍性,致使细胞株的遗传性不稳定,这种异常与肿瘤的产生密切相关,因此该技术尚不能用于细胞治疗。

1.3 特定转录因子转染技术

2006 年, Takahashi 等^[13]从 24 个保持胚胎干细胞自我更新和多潜能性的转录因子中筛选出 4 个 (*Oct4/3*、*Sox-2*、*c-Myc* 和 *Klf4*), 采用逆转录病毒载体将它们的基因导入胚胎小鼠或者成年小鼠的纤维母细胞中, 获得了具有多向分化潜能的干细胞, 命名为诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells), 简称为 iPS 细胞. 尽管这些细胞表达胚胎干细胞特异标志, 可以分化为各种组织细胞, 但它们的基因表达方式及表型特征与胚胎干细胞仍有一定的区别. 2007 年, Takahashi 等^[14]利用上述 4 种基因将来自 36 岁妇女的表皮细胞和 69 岁男性的结缔组织细胞重编程为 iPS 细胞. 同年, Yu 等^[15]从 14 种新的候选基因中, 选择出 4 个基因(*OCT4*、*SOX3*、*NANOG* 和 *LIN28*), 成功诱导出人 iPS 细胞. 在对这些细胞进行检测后, 研究者发现, 人 iPS 细胞无论从表型上还是从基因表达方式上都接近人胚胎干细胞. 至此, 诱导多能干细胞技术引起了全球研究者的广泛关注, 成为科学研究的热点。

诱导多能干细胞的获得主要是通过特定转录因子转染技术, 将维持胚胎干细胞干性的关键性转录因子导入体细胞中, 从而使体细胞发生逆分化, 表现出胚胎干细胞的特性. 目前已有多个研究小组致力于该项技术的深入研究, 以期获得理想的 iPS 细胞. 除了小鼠和人的 iPS 细胞, 猴、大鼠和猪的 iPS 细胞也已成功建立^[16].

成功建立 iPS 细胞后, 应用 iPS 细胞治疗疾病是研究的最终目标. Dimos 等^[17]将源于肌萎缩性侧索硬化症病人皮肤细胞的 iPS 细胞诱导为运动神经元细胞, 首次由 iPS 细胞获得治疗性细胞. Raya 等^[18]分离范可尼贫血症患者的皮肤细胞, 在体外利用基因重组技术对细胞的基因缺陷进行修补, 并利用这些细胞制造出无遗传缺陷的 iPS 细胞, 诱导生成了正常的血细胞. 此外, 多项研究表明, iPS 细胞可在一定条件下分化为神经干细胞、心肌细胞、生殖细胞、肝细胞和视网膜色素上皮细胞等^[19-21].

诱导性多能干细胞技术的产生与发展具有重大的意义. 该技术成功绕开了卵细胞以及胚胎操作这些有关伦理的障碍, 实现了人类成熟体细胞重编程为未分化多能干细胞的梦想, 为细胞移植乃至器官移植提供了新的供体来源. 在众多重编程技术中, 诱导性多功能干细胞技术具有最广泛的应用前景. 然而, 目前 iPS 细胞的产生率始终处于较低水平,

此外 iPS 细胞的安全性问题亟待解决, 相关的作用机制也有待深入探讨.

2 细胞提取物处理技术

近年来有研究者发现, 来源于“靶”细胞的核浆提取物可以改变细胞的基因表达方式, 促使其向靶细胞方向分化, 并将该方法命名为细胞提取物处理法. 现就该项技术的研究进展总结如下.

2.1 细胞提取物处理的方法

细胞提取物处理法共分为以下几个步骤: a. 提取物的获得. 使用细胞裂解液裂解供体细胞, 离

心取上清备用. b. 受体细胞的预处理. 采用链球菌溶血素 O 对受体细胞进行处理, 使细胞膜的通透性增强. 在此过程中, 链球菌溶血素 O 的浓度至关重要, 浓度过高会损伤细胞, 浓度过低会影响处理效果. 利用德克萨斯红 - 葡聚糖的吸收率来评估链球菌溶血素 O 的浓度是否合适. c. 受体细胞的提取物处理. 使用细胞提取物对受体细胞进行处理. 在处理过程中必须加入 ATP 动力体系, 以促进细胞对提取物的吸收. d. 受体细胞膜的修复. 处理结束后, 需要将细胞培养在含有 CaCl_2 的培养基中, 从而使细胞膜重新密封(图 1).

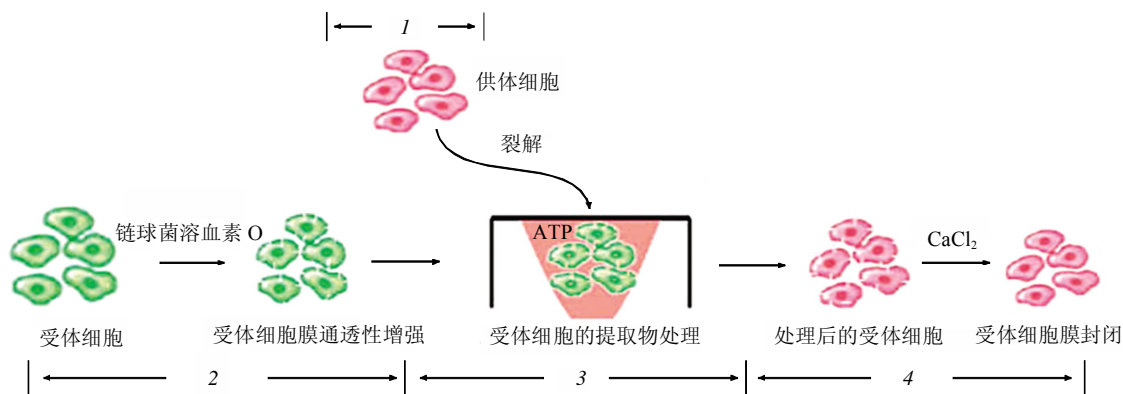


Fig. 1 The protocol of cell extract treatment

图 1 细胞提取物处理的方法

1: 细胞提取物的获得; 2: 受体细胞的预处理过程; 3: 受体细胞的提取物处理; 4: 受体细胞膜封闭.

2.2 细胞提取物处理法研究进展

近年来, 细胞提取物处理法被广泛应用于细胞转分化、去分化和胚胎干细胞诱导分化 3 个方面.

2.2.1 转分化. 细胞提取物处理可以使处于分化末期的细胞转分化为另外一种在发育上无关的细胞.

2002 年, Hakelien 等^[22]使用链球菌溶血素 O 对 293T 细胞进行处理, 在细胞膜的通透性增强后, 将其短时间内暴露于 T 细胞提取物中, 结果发现, 293T 细胞发生了染色质重组, 表达 T 细胞的表面标志, 具备了 T 细胞的特性. 此后, 又有研究者采用细胞提取物处理法成功诱导 293T 细胞分化为胰腺细胞, 脂肪干细胞分化为心肌细胞和成纤维细胞^[23-24]. 近年来, 研究者对提取物转分化的方法进行了优化, 以期达到更好的诱导效果. 2008 年, Schimrosczyk 等^[25]以脂质体作为载体, 用新生鼠心肌细胞提取物转染人的脂肪干细胞, 使其转分化为心肌细胞. 2010 年, Labovsky 等^[26]使用新生鼠心

肌细胞提取物处理骨髓间充质细胞, 结果发现处理后的细胞表达心肌细胞特异基因. 在诱导体系中加入 5- 氮胞苷, 可进一步提高提取物的促分化能力. 此外, 2011 年, Allegrucci 等^[27]首次发现两栖类卵母细胞提取物可改变癌细胞的基因表达方式, 使其向正常细胞分化.

2.2.2 去分化.

使已分化的细胞回到未分化状态是科学界研究的热点, 细胞提取物处理法是细胞去分化的途径之一. 早在 20 世纪 80 年代就有研究者发现, 卵母细胞提取物可以使染色质发生改变. 此后, 卵母细胞提取物处理体系成为研究非哺乳动物胚胎发育及染色质重组的重要工具之一. Hansis^[28]研究发现, 用非洲蟾蜍的卵细胞提取物处理 293T 细胞, 可使其表达胚胎干细胞特异性标志 Oct4 及 GCAP. Miyamoto 等^[29]发现, 不同时期卵母细胞提取物发挥的作用不同: 处于第二次减数分裂中期卵细胞提取物可使细

胞的基因表达发生改变,细胞核内的TATA盒绑定蛋白消失,但细胞表型无显著变化;胚胎中的卵细胞提取物则可活化细胞内的干细胞特异基因并诱导细胞去分化.2010年,Rathbone等^[30]首次发现,核移植前用爪蟾的卵母细胞提取物处理供体细胞,会显著提高克隆胚胎的成活率.

除卵母细胞提取物之外,胚胎干细胞及畸胎瘤细胞提取物也可使组织细胞去分化.2005年,有研究者用未分化的人畸胎瘤细胞提取物处理293T细胞,结果发现,处理后的细胞呈克隆样生长,维持未分化状态超过23代,细胞表达胚胎干细胞特异性标志物Oct4、Sox2和Nanog,并具有多向分化潜能,可在适当的条件下分化为神经细胞、内皮细胞、脂肪细胞等.该研究进一步证明细胞提取物处理法可使已分化的细胞重新具有可塑性^[31].2008年,有研究者利用小鼠胚胎干细胞提取物处理NIH3T3细胞,使其发生去分化,并在特定的诱导条件下成功分化为骨骼肌细胞、上皮细胞及心肌细胞^[32].此后多个研究小组致力于该项技术的深入研究.Xu等^[33]利用胚胎干细胞提取物处理NIH3T3细胞,结果发现处理后的细胞表达多潜能性特异基因*Nanog*、*c-Myc*、*Klf4*和*Oct4*.Dohoon等建立了稳定表达Oct4、Sox2、Klf4和*c-Myc*的HEK293细胞系,并利用该细胞系的核浆提取物处理人新生儿成纤维细胞,结果发现处理后的细胞具有与人胚胎干细胞相似的表型,表达胚胎干细胞特异性标志^[34].Han等^[35]在人胚胎干细胞提取物处理体系中加入DNA甲基转移酶和组蛋白去乙酰基酶抑制剂,结果发现该体系能更有效地促进组织细胞去分化.

2.2.3 诱导胚胎干细胞分化.胚胎干细胞具有多向分化潜能,然而使胚胎干细胞高效地定向分化为某种组织细胞仍然是一个难题.2005年,Qin等^[36]利用小鼠的Ⅱ型肺细胞提取物处理胚胎干细胞,处理后的胚胎干细胞在培养过程中自发分化为Ⅰ型肺细胞,分化速度远快于细胞因子诱导的分化.在此研究的基础上,本研究小组提取处于造血发育旺盛期(15周)的人胎儿肝脏组织细胞提取物处理人胚胎干细胞,结果发现处理后的胚胎干细胞在分化过程中不再表达内外胚层的特异基因,而表达造血发育相关基因,并可在不添加任何细胞因子的条件下高效分化为造血细胞.为了进一步说明提取物诱导的特异性,我们用LO2细胞(肝细胞系)提取物作为对照

处理人胚胎干细胞,结果发现处理后的胚胎干细胞在分化过程中高表达外胚层特异基因*AFP*和*CK19*^[37].15周的胎肝微环境非常适宜红细胞的生长发育,我们在前期工作中观察到人胎儿肝脏组织细胞提取物处理后的胚胎干细胞更容易向红细胞分化,因此我们将细胞提取物处理后获得的造血细胞与低剂量的细胞因子共培养,结果发现这些细胞可高效分化为红细胞,分化产生的红细胞与胎肝红细胞相似,具有携氧能力^[38].我们的研究首次证明细胞提取物处理法可促进人胚胎干细胞高效、安全地分化为红细胞.

2.3 细胞提取物重编程的可能机制

对细胞提取物重编程的机制,研究者也进行了深入的讨论,结果发现提取物处理可能通过以下几种方式使靶细胞发生重编程:**a.**提取物处理法可使受体细胞核吸收供体细胞核浆内的特定物质而发生重编程.有人提出,细胞提取物中的核酸物质在处理中被受体细胞核吸收,从而促使受体细胞发生重编程.也有人认为,在细胞提取物介导的重编程中,核遗传物质不是主要的活性成分,DNA及RNA失活并不影响细胞提取物的作用.本研究小组发现,如果采用一定的方法使细胞提取物中的蛋白质失活,提取物处理将不会引起受体细胞的基因表达变化,并据此推测在细胞提取物中发挥作用的主要是蛋白质成分,而不是核酸类物质^[37].然而,目前尚不能阐明提取物中发挥重编程作用的确切成分是哪些.**b.**细胞提取物可促进受体细胞核染色质重组.有研究证明,T细胞提取物处理可使293T细胞核中处于游离状态的核小体重组复合物BAF活化,从而促使受体细胞发生染色质重组^[22].**c.**细胞提取物可使受体细胞的DNA发生去甲基化,从而活化某些特异基因.有研究证明,卵细胞提取物可使受体细胞*NANOG*基因上游特定区域发生去甲基化,从而活化该基因,畸胎瘤细胞提取物则可以使*OCT-4*基因上的启动子去甲基化^[28-29].**d.**细胞提取物可使受体细胞染色质上的组蛋白乙酰化程度发生改变,从而改变细胞的染色质结构,建立一种新的基因表达方式.下游基因的活化程度与启动子区的组蛋白-4乙酰化程度密切相关,有研究表明,T细胞提取物可使不同类型受体细胞(HeLa细胞、NT2神经元前体细胞、293T细胞)的IL-2启动子去乙酰化,从而促进其向T细胞分化^[39].此外,还有研究发现,分裂中期的卵细胞提取物可

以使 *Nanog* 启动子区的组蛋白去乙酰化, 但胚胎中的卵细胞也可使同样区域的组蛋白乙酰化, 研究者认为组蛋白去乙酰化会抑制多能基因的活化, 但有助于细胞去分化^[29]. e. 细胞提取物可以改变核糖体基因的表达方式. 最新的研究表明, 卵母细胞提取物会使受体细胞的核膜、核染色质及核仁在处理数小时内变构, 抑制核糖体基因的转录. 如果在提取物处理前加入 5- 氮杂胞苷, 则会出现相反的实验结果, 这提示提取物对受体细胞的重编程作用会被环境因素影响^[40].

细胞提取物重编程技术主要利用来源于“靶”细胞的核浆提取物处理受体细胞, 研究结果的稳定性容易受到“靶”细胞选择及培养过程中遗传稳定性维持情况的影响. 此外, 通过该技术获得细胞的功能稳定性仍需要进一步深入研究^[39].

3 小 结

在体细胞重编程的常用方法中, 细胞提取物重编程法有其显著的特点: a. 具有取材方便、简单高效的优点. 不需要采用转基因方式, 无外源基因污染的危险, 也不涉及伦理道德问题. b. 研究者可在体外观测细胞核重编程发生的过程, 为深入研究体细胞重编程现象的分子机制提供有力的工具. c. 作为体细胞重编程的重要工具, 它可被用来提高其他重编程技术的效率. 目前, 已有研究者利用细胞提取物法成功提高了核移植技术的胚胎成活率, 改进了 iPS 技术的基因转导方法^[30, 34].

此外, 将细胞提取物重编程技术用于肿瘤研究有着诱人的前景. 已有研究证明, 卵母细胞提取物可以使肿瘤细胞去分化^[27]. 使用正常细胞的提取物处理肿瘤细胞能否降低肿瘤的恶性程度, 进而使其分化为正常细胞? 提取物诱导肿瘤分化的机理是什么? 这些问题还有待深入研究.

现阶段细胞提取物的有效成分尚不清楚, 该方法重编程的分子机制也不明确, 通过一定的方法确定提取物中对分化调节起关键作用的因子, 明确其发挥作用的机理是研究的热点. 目前本研究小组正致力于该方面的研究, 收集提取物的不同组分处理细胞, 通过观察成分增减对诱导效果的影响, 进一步明确提取物的组成成分及其发挥作用的机理, 并在细胞提取物体系中加入特定的诱导剂以提高细胞定向分化的效率.

参 考 文 献

- [1] Wilmut I, Schnieke A E, McWhir J, *et al.* Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, **385** (6621): 810–813
- [2] Eggan K, Baldwin K, Tackett M, *et al.* Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature*, 2004, **428**(6978): 44–49
- [3] Inoue K, Wakao H, Ogonuki N, *et al.* Generation of cloned mice by direct nuclear transfer from natural killer T cells. *Curr Biol*, 2005, **15**(12): 1114–1118
- [4] Li J, Ishii T, Feinstein P, *et al.* Odorant receptor gene choice is reset by nuclear transfer from mouse olfactory sensory neurons. *Nature*, 2004, **428**(6981): 393–399
- [5] Billewicz R, Wang Z, Meissner A, *et al.* Reprogramming efficiency following somatic cell nuclear transfer is influenced by the differentiation and methylation state of the donor nucleus. *Stem Cells*, 2006, **24**(9): 2007–2013
- [6] Li J, Greco V, Guasch G, *et al.* Mice cloned from skin cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(8): 2738–2743
- [7] Sung L Y, Gao S, Shen H, *et al.* Differentiated cells are more efficient than adult stem cells for cloning by somatic cell nuclear transfer. *Nat Genet*, 2006, **38**(11): 1323–1328
- [8] Thuan N V, Kishigami S, Wakayama T. How to improve the success rate of mouse cloning technology. *J Reprod Dev*, 2010, **56**(1): 20–30
- [9] Pomerantz J, Blau H M. Nuclear reprogramming: a key to stem cell function in regenerative medicine. *Nat Cell Biol*, 2004, **6**(9): 810–816
- [10] Sumer H, Jones K L, Liu J, *et al.* Reprogramming of somatic cells after fusion with induced pluripotent stem cells and nuclear transfer embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2010, **19**(2): 239–246
- [11] Yu J, Vodyanik M A, He P, *et al.* Human embryonic stem cells reprogram myeloid precursors following cell-cell fusion. *Stem Cells*, 2006, **24**(1): 168–176
- [12] Guo J, Tecirlioglu R T, Nguyen L, *et al.* Reprogramming factors involved in hybrids and cybrids of human embryonic stem cells fused with hepatocytes. *Cell Reprogram*, 2010, **12**(5): 529–541
- [13] 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
- [14] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, **131**(5): 861–872
- [15] Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, **318**(5858): 1917–1920
- [16] 陈凌懿, 刘 林. 诱导性多潜能干细胞(iPS)的研究现状和展望. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2009, **39**(7): 621–635
- [17] Dimos J T, Rodolfa K T, Niakan K K, *et al.* Induced pluripotent

- stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*, 2008, **321**(5893): 1218–1221
- [18] Raya A, Rodríguez-Pizà I, Guenechea G, *et al.* Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2009, **460**(7251): 53–59
- [19] Kim J B, Sebastiano V, Wu G, *et al.* Oct4-induced pluripotency in adult neural stem cells. *Cell*, 2009, **136**(3): 411–419
- [20] Kokkinaki M, Sahibzada N, Golestaneh N. Human iPS-derived retinal pigment epithelium (RPE) cells exhibit ion transport, membrane potential, polarized VEGF secretion and gene expression pattern similar to native RPE. *Stem Cells*, 2011, **29**(5): 825–835
- [21] Takata A, Otsuka M, Kogiso T, *et al.* Direct differentiation of hepatic cells from human induced pluripotent stem cells using a limited number of cytokines. *Hepatol Int*, 2011. [Epub ahead of print]
- [22] Hakelien A M, Landsverk H B, Robl J M, *et al.* Reprogramming fibroblasts to express T-cell functions using cell extract. *Nat Biotechnol*, 2002, **20**(5): 460–466
- [23] Hakelien A M, Gaustad K G, Collas P. Transient alteration of cell fate using a nuclear and cytoplasmic extract of an insulinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **316**(3): 834–841
- [24] Gaustad K G, Boquest A C, Anderson B E, *et al.* Differentiation of human adipose tissue stem cells using extract of rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **314**(2): 420–427
- [25] Schimrosczyk K, Song Y H, Vykoukal J, *et al.* Differentiation of human adipose tissue stem cells using extract of rat cardiomyocytes. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008, **68**(6): 464–472
- [26] Labovsky V, Hofer E L, Feldman L, *et al.* Cardiomyogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal cells: Role of cardiac extract from neonatal rat cardiomyocytes. *Differentiation*. 2010, **79**(2): 93–101
- [27] Allegrucci C, Rushton M D, Dixon J E, *et al.* Epigenetic reprogramming of breast cancer cells with oocyte extracts. *Mol Cancer*, 2011, **13**, **10**(1): 7
- [28] Hansis C, Barreto G, Maltry N, *et al.* Nuclear reprogramming of human somatic cells by *Xenopus* egg extract requires BRG1. *Curr Biol*, 2004, **14**(16): 1475–1480
- [29] Miyamoto K, Tsukiyama T, Yang Y, *et al.* Cell-free extracts from mammalian oocytes partially induce nuclear reprogramming in somatic cells. *Biol Repro*, 2009, **80**(5): 935–943
- [30] Rathbone A J, Fisher P A, Lee J H, *et al.* Reprogramming of ovine somatic cells with *Xenopus laevis* oocyte extract prior to SCNT improves live birth rate. *Cell Reprogram*, 2010, **12**(5): 609–616
- [31] Taranger C K, Noer A, Sorensen A L, *et al.* Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol Biol Cell*, 2005, **16**(12): 5719–5735
- [32] Rajasingh J, Lambers E, Hamada H, *et al.* Cell-free embryonic stem cell extract-mediated derivation of multipotent stem cells from NIH3T3 fibroblasts for functional and anatomical ischemic tissue repair. *Circulation Research*, 2008, **16**(11): e107–e117
- [33] Xu Y N, Guan N, Wang Z D, *et al.* ES cell extract-induced expression of pluripotent factors in somatic cells. *The Anatomical Record*, 2009, **292**(8): 1229–1234
- [34] Kim D, Kim C H, Moon J I, *et al.* Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell*, 2009, **4**(6): 472–476
- [35] Han J, Sachdev P S, Sidhu K S. A combined epigenetic and non-genetic approach for reprogramming human somatic cells. *PLoS One*. 2010, **19**, **5**(8): e12297
- [36] Qin M, Tai G, Collas P, *et al.* Cell extract-derived differentiation of embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2005, **23**(6): 712–718
- [37] Liu Y X, Ji L, Yue W, *et al.* Cells extract from fetal liver promotes the hematopoietic differentiation of human embryonic stem cells. *Cloning Stem Cells*, 2009, **11**(1): 51–60
- [38] Liu Y X, Yue W, Ji L, *et al.* Production of erythroid cells from human embryonic stem cells by fetal liver cell extract treatment. *BMC Dev Biol*, 2010, **10**: 85–93
- [39] Collas P. Nuclear reprogramming in cell-free extracts. *Phil Trans R Soc Lond B*, 2003, **358**(1436): 1389–1395
- [40] Østrup O, Hyttel P, Klærke D A, *et al.* Remodeling of ribosomal genes in somatic cells by *Xenopus* egg extract. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, **412**(3): 487–493

Cell Reprogramming by Cell Extract Treatment*

LIU Yu-Xiao¹⁾, ZHANG Zhi-Wen¹⁾, FU Xiang-Ping¹⁾, JIN Peng²⁾, LI An-Min^{1)**}, ZHANG Yi^{2)**}

(The First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100037, China;

Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract Cellular reprogramming described a switch of one kind of cell to that of another unrelated cell type by specific methods, which included mammalian somatic cell nuclear transfer, cell fusion, induction of pluripotency by ectopic gene expression, and cell-free extract treatment. Now, more and more researches have proved that cell extract treatment is an important strategy of cellular reprogramming, thus the mechanism and the applicative prospect of this technology are summarized in this review.

Key words reprogramming, cellular extract, transdifferentiation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00346

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China(2010CB833604), The National Natural Science Foundation of China(31070996).

**Corresponding author.

Zhang Yi. Tel: 86-10-66931320, E-mail: zhangyi612@hotmail.com

Li An-Ming. Tel: 86-10-66931320, E-mail: anminli301304@sina.com

Received: September 20, 2011 Accepted: October 28, 2011