

文章编号 : 1004-0374(2009)05-0647-05

哺乳动物体细胞核移植研究进展

于 洋, 王 柳*, 周 琪*

(中国科学院动物研究所计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101)

摘 要: 体细胞核移植技术已经在基础研究领域与产业化应用领域体现出了重要的价值, 因而体细胞核移植技术及其相关研究已经成为了生物领域的持续性研究热点, 但是围绕体细胞核移植技术仍然存在许多质疑, 其中最主要的就是体细胞核移植的效率较低。尽管如此, 体细胞核移植研究仍然在近年来取得了令人瞩目的成就, 包括小鼠与恒河猴核移植胚胎干细胞系的建立。该文就体细胞核移植的研究历史与进展进行简要的论述, 同时针对体细胞核移植研究中的细胞重编程与治疗性克隆研究中的发展与问题进行剖析, 希望能够积极推动治疗性克隆的研究进展, 加速核移植与干细胞技术在产业化领域中的应用。

关键词: 干细胞; 体细胞核移植; 重编程; 治疗性克隆; 胚胎干细胞

中图分类号: Q813 **文献标识码:** A

Somatic cell nuclear transfer in mammals: history, progress and perspectives

YU Yang, WANG Liu*, ZHOU Qi*

(State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences,
Beijing 100101, China)

Abstract: Somatic cell nuclear transfer technology has tremendous potential in basic research and applications. Related studies are still a durative focus in the field of biology and medicine, however the wide use of this technology is usually limited by its low efficiency. In spite of these concerns, important progress have been made recently using somatic cell nuclear transfer technology, including the birth of 13 cloned mammals and the derivation of embryonic stem cell lines from mouse and monkey. Here we would like to give an overview of the historic studies and new advances, and elucidate the perspectives of cell reprogramming and therapeutic cloning by nuclear transfer. And this will promote and facilitate the study of therapeutic cloning in human, and accelerate the applications of somatic cell nuclear transfer and embryonic stem cells technologies.

Key words: stem cell; somatic cell nuclear transfer; reprogramming; therapeutic cloning; embryonic stem cells

1997年克隆羊“多莉”的诞生证实了哺乳动物卵母细胞具有把分化的成体细胞重编程到胚胎期全能性状态并发育成新个体的能力^[1], 这一过程被称为核的重新程序化(reprogramming)。随后几年内利用体细胞核移植(somatic cell nuclear transfer, SCNT)技术, 有至少 13 种哺乳动物被成功克隆(表 1), 体细胞克隆技术将一个崭新的世界呈现在我们面前^[2-12]。体细胞核移植技术被认为在以下领域发挥重要作用: 用于基础研究, 产生人类疾病的动物模型, 从而帮助我们更好地理解与发育和功能基因组学相

关的生物事件; 以较低的成本得到大量的濒危动物和优良种畜; 用于人类药物的临床检测等。

1 哺乳动物体细胞核移植技术的发展

Bromhall^[13]首次报道, 哺乳动物克隆胚胎能够发育到桑椹胚时期。实验中, 通过标记的兔子桑椹

收稿日期: 2009-09-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670229); 中国科学院知识新工程重要方向性项目(KSCX2-YW-N-019)

* 通讯作者: 王柳, Tel: 010-64807306, E-mail: wangliu@ioz.ac.cn; 周琪, E-mail: qzhou@ioz.ac.cn

表1 利用体细胞核移植技术获得的哺乳类克隆动物

品种	供体细胞类型	作者(发表时间)
绵羊	乳腺上皮细胞	Wilmot, et al. 1997
小鼠	卵丘细胞	Wakayama, et al. 1998
牛	胎儿成纤维细胞	Cibelli, et al. 1998
山羊	胎儿成纤维细胞	Baguisi et al. 1999
猪	胎儿成纤维细胞	Onishi, et al. 2000
猫	卵丘细胞	Shin, et al. 2002
兔	卵丘细胞	Chesne, et al. 2002
骡子	胎儿成纤维细胞	Woods, et al. 2003
马	皮肤成纤维细胞	Galli, et al. 2003
大鼠	胎儿成纤维细胞	Zhou, et al. 2003
狗	成体成纤维细胞	Lee, et al. 2005
雪貂	成体成纤维细胞	Li, et al. 2006
狼	成体成纤维细胞	Kim, et al. 2007

胚细胞与兔子去核卵母细胞，利用显微注射与仙台病毒诱导的细胞融合方法获得了克隆胚胎。但是所获得的克隆胚胎大部分都停滞在早期卵裂阶段，只有很低比例的胚胎可以发育到桑椹胚时期。1981年，Illmensee 和 Hoppe^[14]利用内细胞团(inner cell mass, ICM)细胞移入小鼠去核合子中，获得了3只体细胞克隆小鼠。然而，这个实验结果并没有被重复出来。1983年，McGrath 和 Solter^[15]利用合子来源的供体核移入去核的合子中获得成活的克隆小鼠。然而，当采用发育后期的供体细胞时，并没有获得核移植的成功。现代观点认为，早期小鼠核移植实验中的这些问题很有可能是使用了去核的合子作为受体胞质而不是采用未受精卵作为受体胞质。然而，Egli 等^[16]在2007年报道去核的合子可以作为受体胞质获得克隆小鼠，但是受体胞质的时期应该在中期而不是在间期，因为中期的时候，随着核膜破裂，很有可能一些核内重要的重编程因子被释放到胞质中，对于供体细胞的重编程具有重要的作用。尽管早期两栖类的核移植实验中，未受精卵作为受体胞质已经被广泛认同，但是当时人们仍然认为合子胞质具有更好的支持克隆胚胎发育的能力。McGrath 和 Solter^[15]的合子核移植实验的成功主要归因于使用发育同步的合子供体核与合子受体胞质。在早期核移植研究中，最重要的成果之一是发现了印记基因的作用。在哺乳动物的精子发生与卵子发生过程中，不同的基因被稳定的沉默表达，这些基因在雌性与雄性原核的发育过程中具有重要的作用。

1986年，Willadsen^[17]采用电脉冲和仙台病毒诱导细胞融合的技术，获得了绵羊的克隆胚胎，而供体细胞是来源于8-、16-细胞时期胚胎的卵裂球细胞核，并且成功地获得了2只健康的克隆动物。整整10年之后，随着克隆技术研究的深入，Campbell等^[18]利用分化体细胞进行了核移植实验，这些细胞来自于发育到第9天的绵羊胚胎。这些细胞采用Willadsen技术体系诱导进入去核的绵羊卵子中，并且成功地获得了2只健康的克隆绵羊。而在1997年，他们又使用了相同的技术流程，采用了培养的成体来源的胸腺细胞作为供体细胞，成功地获得了体细胞克隆绵羊“Dolly”^[19]。从Dolly出生以来，已经有超过10种来源于成体细胞的克隆动物出生。而在小鼠的体细胞核移植研究中，甚至已经使用终末分化的淋巴细胞^[20]与神经元细胞^[21]获得了克隆小鼠。淋巴细胞克隆小鼠在所有细胞类型中，都具有重新排列的免疫球蛋白基因的淋巴细胞类型。

哺乳动物核移植的效率与两栖类动物的克隆效率相似。整体而言，从成体细胞或分化细胞得到的克隆胚胎的发育到期率不超过5%，其中克隆胚胎早期发育、克隆胚胎植入后发育以及克隆胎儿出生后发育的异常非常普遍。由于这些异常都是不遗传的，因此推测这些异常并不是由于染色体复制缺陷引起的，而是体细胞表观遗传的编程错误引起的，尤其是印记基因的表达调控异常^[22]。

2 体细胞核移植技术与细胞重编程

对于分化细胞而言，重编程的效率还比较低，目前认为受体胞质的变化在其中起到了重要的作用。因此，核移植实验对于了解重编程的分子机制具有重要的作用。并且通过对重编程分子机制的了解，改善受体胞质的质量，很有可能改变体细胞重编程的效率。最终，可能使用来源于卵子中的分子直接将体细胞逆转成为多能性干细胞，进而分化成为细胞替代治疗中所需要的细胞类型。目前，在诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPS细胞)^[23,24]、抽提物^[25]、小分子化学合成物^[26]的实验中已经初步验证了这种想法。

当相同的供体细胞注射进入不同的胞质受体内之后，重编程发生的效率是不同的。第二次减数分裂停滞的卵子的重编程能力显著高于那些正处于生长期的卵子，这些卵子正处于减数分裂初期的双线期，转录正在活跃的进行。当卵母细胞生长到第二次减数分裂时期的时候，已经具有了高度凝集的染

染色体。在蛙类中, 未受精的卵子在精卵结合 20 min 左右就开始启动染色体的复制。而相同的供体细胞注射进入生长期或成熟的卵母细胞中, 在几小时内经历完全不同的变化, 这也证明了胞质重编程能力的不同。

形态学的变化通常伴随着核转录活性的变化, 这些包括不处于分裂期的供体细胞移入卵子后出现的快速 DNA 复制的现象, 而当体细胞移入生长期卵母细胞后, DNA 的合成显著增加。这些都说明, 在细胞核注射进入卵母细胞内, 重编程的过程导致了基因表达的变化。在爪蟾中, 采用肾细胞进行的核移植实验已经证明了这个结论。一些爪蟾蛋白仅仅在卵母细胞中特异表达, 而在肾细胞中没有表达。但是当爪蟾体细胞移入蝾螈的去核卵子中, 这些蛋白被重新活化表达^[27]。当体细胞移入成熟卵母细胞内, 体细胞基因组的变化并不是随着细胞分裂进行的, 而当体细胞移入生长期卵母细胞内, 体细胞基因组需要跟随卵母细胞再经历若干细胞周期的变化, 这些变化会导致体细胞基因组 DNA 在新的转录启动前, 就已经逐渐弱化^[28]。

当体细胞核移入去核卵子中, 将会经历快速的形态变化, 但是在两栖类动物囊胚期和小鼠胚胎 4 细胞期之前, 都不会观察到基因表达的改变。在哺乳动物中, 基因芯片实验表明, 克隆胚胎约 96% 的基因正常表达^[29], 尽管在早期合子基因组启动后, 体细胞核移植胚胎的基因表达异常与体外受精(in vitro fertilization, IVF)胚胎或者卵细胞浆内单精子注射(intra cytoplasmic sperm injection, ICSI)胚胎相比较显著增加。一种比较普遍的观点是, 小鼠核移植胚胎发育过程中, 克隆胚胎的异常主要是由于早期合子基因表达的缺陷或异常引起的。

X 染色体失活在小鼠克隆胚胎中是随机的, 并且是可以逆转的, 但是在滋养层细胞中是稳定的^[30]。同样, 端粒在牛的克隆胚胎中也是稳定的, 甚至有所延长^[31]。在这些方面, 体细胞核可以受到卵胞质有效地重编程。而在 DNA 甲基化与印记基因表达方面, 这种重编程则是不确定的。印记基因表达的高度不稳定性使得很难对胞质重编程对于印记基因的影响作出准确的判断。核移植来源的克隆胚胎中, 印记基因的不稳定表达很大程度上与克隆胎儿体重增加以及胎盘的过度增长有密切关系^[22]。然而, 这种在基因表达上的不确定性仍然可以获得表型正常的克隆动物。

3 体细胞核移植与治疗性克隆

2009 年 3 月, 美国新任总统奥巴马宣布解除前任总统布什关于联邦资金禁止资助治疗性克隆研究的法令, 宣布美国政府支持以治疗性为目的的人类核移植研究。奥巴马认为, 过去几年美国在胚胎干细胞的研究上采取了“错误的选择”, 致使一些最好的科学家被迫到其他国家从事相关研究。本届政府将坚定地支持科学家们开展胚胎干细胞的研究, 并力争使美国在这一领域取得领先地位。而在此前, 英国、比利时和我国已经开展了此类研究, 并且取得了初步的成果。因此可见, 在治疗性克隆的发展方向上, 各个主要科研国家已经取得了共识, 认为这种技术在人类疾病的治疗、人类生活水平的提高、人口素质的提升方面将发挥至关重要的作用。

1998 年, Thomson 等^[32]首次利用人类辅助生殖过程中剩余的低质量的受精胚胎, 经过体外培养, 从囊胚中分离内细胞团, 建立了第一株人胚胎干细胞系。核移植与胚胎干细胞技术的相继出现, 使得人们逐渐意识到这两种技术的结合可能创造出用于再生医学的多能性细胞。2000 年, Wakayama 等^[33]第一次利用核移植的方法获得了小鼠体细胞克隆胚胎干细胞系, 但是这种细胞的安全性治疗的可行性还不得而知。2002 年, Rideout 等^[34]对 Rag 基因缺失从而导致免疫能力丧失的小鼠模型进行了治疗性克隆的尝试, 发现从这种小鼠获取的体细胞经过核移植方法的重编程后, 获得胚胎干细胞系, 经过体外针对干细胞系的基因治疗后, 重新将基因修饰后的细胞移植进入小鼠模型内, 成功地使小鼠重新获得机体免疫功能。2003 年, Kim 等^[35]采用胚胎干细胞经过体外分化, 获得的神经元细胞移入帕金森小鼠模型的脑部病灶区域后, 成功地缓解了疾病小鼠的病症。在 2008 年, Tabar 等^[36]利用来自于帕金森小鼠模型的体细胞, 通过核移植方法获得了胚胎干细胞系, 通过体外定向分化与体内移植, 同样缓解了疾病小鼠的病症。这些研究都表明, 利用核移植技术生产胚胎干细胞的方法为一些难以治愈的疾病提供了新的治疗手段, 是切实可行的。从安全性的角度考虑, 2003 年, Brambrink 等^[37]采用基因芯片技术对核移植胚胎干细胞系及正常受精胚胎干细胞系进行了基因水平上的比较, 结果表明, 两者在基因表达上没有任何差异, 因此核移植技术并不会影响胚胎干细胞的基因表达。

从 2002 年开始, 人们逐渐将研究方向转向人治疗性克隆研究。中国与韩国科学家相继利用兔^[38]、

牛^[39]的卵母细胞对人体细胞进行了核移植研究,不仅获得了克隆囊胚,而且建立了人-兔异种胚胎干细胞系^[38],但是该研究并没有获得其他实验室的重复。2004年和2005年,韩国科学家黄禹锡宣布采用人卵母细胞成功地重编程了人体细胞,并且建立了人胚胎干细胞系,包括从患者自体获得的细胞^[40,41]。这也引起了世界的瞩目与轰动,似乎治疗性克隆突破已经实现。遗憾的是,在2006年,人们发现黄禹锡所谓的“克隆胚胎干细胞系”的结果是虚假伪造的不实结果,但是这并没有影响人体细胞核移植的研究进展。近年来,人们相继使用了受精失败的卵母细胞、不成熟的卵母细胞和新鲜卵母细胞作为受体胞质进行了治疗性克隆研究。2008年, French等^[42]率先获得了人体细胞克隆囊胚,而我国也在2008年底,报道了利用卵母细胞分级标准提高人体细胞核移植效率的研究结果^[43]。目前,中美两国是世界上仅有的可以获得体细胞克隆囊胚的国家。人体细胞克隆囊胚的获得,极大地推动了治疗性克隆的研究发展,为后续的干细胞分离工作奠定了坚实的基础。

4 前景与展望

体细胞核移植技术已经逐渐成为基础研究与应用领域中最重要的技术体系。这项技术的发展与完善对于国家的科技进步、整体医疗体系的改善、人民生活质量和健康的提高都具有积极的意义。细胞核移植技术可以在研究细胞重编程、核质相互作用等基础研究领域,以及在动物遗传育种、保护濒危灭绝的物种方面具有重要的作用。但是当核移植技术与其他学科的技术相互结合、交叉使用的时候,显然具有更重要的应用价值。

核移植技术与干细胞技术相结合,构成了目前的研究热点——治疗性克隆的研究骨架。目前利用干细胞进行细胞替代治疗的桎梏就在于:(1)免疫排斥的问题;(2)移植来源的问题。显然,如果采用患者自体来源的胚胎干细胞进行治疗,那么这些问题将迎刃而解。但是如何获得患者自体来源的干细胞,核移植方法已经被证明是潜在的解决方法。然而,卵子的来源、伦理等问题已经限制了人体细胞核移植的研究,尽管牛、兔子的卵子被应用^[38,39],试图解决这些问题,但是线粒体遗传等问题也限制其临床应用。因此在后续研究中,需要解决卵母细胞资源的问题,特别是对不成熟卵母细胞等新型资源开发的研究。尽管iPS细胞技术似乎已经解决了这些卵子和胚胎学的伦理争议,但是也同时出现了新的伦理问题,以及病毒、转基因等安全性问题。

因此,必然是几种重编程技术的结合,才能够最终将治疗性克隆应用于临床^[44]。

[参 考 文 献]

- [1] Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385: 810-3
- [2] Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, et al. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 1998, 394: 369-74
- [3] Zhou Q, Renard JP, Le Friec G, et al. Generation of fertile cloned rats by regulating oocyte activation. *Science*, 2003, 302: 1179
- [4] Cibelli JB, Stice SL, Golueke PJ, et al. Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science*, 1998, 280: 1256-8
- [5] Baguisi A, Behboodi E, Melican DT, et al. Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nat Biotechnol*, 1999, 17: 456-61
- [6] Polejaeva IA, Chen SH, Vaught TD, et al. Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature*, 2000, 407: 86-90
- [7] Galli C, Lagutina I, Crotti G, et al. Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin. *Nature*, 2003, 424: 635
- [8] Woods GL, White KL, Vanderwall DK, et al. A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer. *Science*, 2003, 301: 1063
- [9] Lee BC, Kim MK, Jang G, et al. Dogs cloned from adult somatic cells. *Nature*, 2005, 436: 641
- [10] Shin T, Kraemer D, Pryor J, et al. A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature*, 2002, 415: 859
- [11] Li Z, Sun X, Chen J, et al. Cloned ferrets produced by somatic cell nuclear transfer. *Dev Biol*, 2006, 293: 439-48
- [12] Kim MK, Jang G, Oh HJ, et al. Endangered wolves cloned from adult somatic cells. *Cloning Stem Cells*, 2007, 9: 130-7
- [13] Bromhall JD. Nuclear transplantation in the rabbit egg. *Nature*, 1975, 258: 719-22
- [14] Illmensee K, Hoppe PC. Nuclear transplantation in mus musculus: developmental potential of nuclei from preimplantation embryos. *Cell*, 1981, 23: 9-18
- [15] McGrath J, Solter D. Nuclear transplantation in the mouse embryo by microsurgery and cell fusion. *Science*, 1983, 220: 1300-2
- [16] Egli D, Rosains J, Birkhoff G, et al. Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. *Nature*, 2007, 447: 679-85
- [17] Willadsen SM. Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, 1986, 320: 63-5
- [18] Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, et al. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 1996, 380: 64-6
- [19] Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385: 810-3
- [20] Hochedlinger K, Jaenisch R. Monoclonal mice generated by nuclear transfer from mature B and T donor cells. *Nature*, 2002, 415: 1035-8

- [21] Eggan K, Baldwin K, Tackett M, et al. Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature*, 2004, 428: 44-9
- [22] Eggan K, Akutsu H, Loring J, et al. Hybrid vigor, fetal overgrowth, and viability of mice derived by nuclear cloning and tetraploid embryo complementation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6209-14
- [23] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, 131: 861-72
- [24] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [25] Taranger CK, Noer A, Sorensen AL, et al. Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 5719-35
- [26] Li W, Wei W, Zhu S, et al. Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors. *Cell Stem Cell*, 2009, 4: 16-9
- [27] De Robertis EM, Gurdon JB. Gene activation in somatic nuclei after injection into amphibian oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977, 74: 2470-4
- [28] Kono T. Influence of epigenetic changes during oocyte growth on nuclear reprogramming after nuclear transfer. *Reprod Fertil Dev*, 1998, 10: 593-8
- [29] Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 12889-94
- [30] Eggan K, Akutsu H, Hochedlinger K, et al. X-chromosome inactivation in cloned mouse embryos. *Science*, 2000, 290: 1578-81
- [31] Betts D, Bordinon V, Hill J, et al. Reprogramming of telomerase activity and rebuilding of telomere length in cloned cattle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 1077-82
- [32] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-7
- [33] Wakayama T, Tabar V, Rodriguez I, et al. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science*, 2001, 292(5517): 740-3
- [34] Rideout WM 3rd, Hochedlinger K, Kyba M, et al. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell*, 2002, 109(1): 17-27
- [35] Kim JH, Auerbach JM, Rodríguez-Gómez JA, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature*, 2002, 418 (6893): 50-6
- [36] Tabar V, Tomishima M, Panagiotakos G, et al. Therapeutic cloning in individual parkinsonian mice. *Nat Med*, 2008, 14 (4): 379-81
- [37] Brambrink T, Hochedlinger K, Bell G, et al. ES cells derived from cloned and fertilized blastocysts are transcriptionally and functionally indistinguishable. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(4): 933-8
- [38] Chen Y, He ZX, Liu A, et al. Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes. *Cell Res*, 2003, 13: 251-63
- [39] Chang KH, Lim JM, Kang SK, et al. Blastocyst formation, karyotype, and mitochondrial DNA of interspecies embryos derived from nuclear transfer of human cord fibroblasts into enucleated bovine oocytes. *Fertil Steril*, 2003, 80: 1380-7
- [40] Hwang WS, Ryu YJ, Park JH, et al. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science*, 2004, 303(5664): 1669-74
- [41] Hwang WS, Roh SI, Lee BC, et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science*, 2005, 308(5729): 1777-83
- [42] French AJ, Adams CA, Anderson LS, et al. Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. *Stem Cells*, 2008, 26(2): 485-93
- [43] Yu Y, Mai Q, Chen X, et al. Assessment of the developmental competence of human somatic cell nuclear transfer embryos by oocyte morphology classification. *Hum Reprod*, 2009, 24(3): 649-57
- [44] Gurdon J, Murdoch A. Nuclear transfer and iPS may work best together. *Cell Stem Cell*, 2008, 2: 135-8