

诱导人孤雌胚胎干细胞分化为胰岛样细胞团***☆

周静^{1,2}, 李进^{1,2}, 林戈^{1,2}, 卢光琇^{1,2}

Inducing human parthenogenetic embryonic stem cells into islet-like clusters

Zhou Jing^{1,2}, Li Jin^{1,2}, Lin Ge^{1,2}, Lu Guang-xiu^{1,2}

Abstract

BACKGROUND: Following the successful establishment of human parthenogenetic embryonic stem (hpES) cell lines, the further functional study becomes hot spot.

OBJECTIVE: To investigate the potential differentiation ability to islet-like clusters from hpES cell lines.

METHODS: One self-established hpES cell line and one normal hpES cell line were obtained. We adopted a modified 5-stages protocol which based on the development rule of pancreas to induce hpES cells into islet-like clusters.

RESULTS AND CONCLUSION: The terminal differentiated cells gathered into islet-like clusters. The results from immunohistochemistry and RT-PCR showed that the islet-like clusters expressed the islet specific hormones and functional markers. Insulin release test indicated that the clusters had the biochemical function of islet. The islet-like clusters derived from hpES cells had the basic characteristics of islet, which would be a reliable material to treat type I diabetes mellitus.

Zhou J, Li J, Lin G, Lu GX. Inducing human parthenogenetic embryonic stem cells into islet-like clusters. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(27): 5001-5005. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

¹Institute of Reproductive and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China; ²National Research and Engineering Center of Human Stem Cells, Changsha 410078, Hunan Province, China

摘要

背景: 随着人类孤雌胚胎干细胞系的成功建立, 对该细胞的进一步分化功能研究成为新的研究热点。

目的: 研究体外培养的人类孤雌胚胎干细胞诱导分化为胰岛样细胞团的潜能。

方法: 自主建系孤雌来源人胚胎干细胞和正常来源人胚胎干细胞各 1 株, 运用基于胰腺体内发育规律的改良 5 阶段诱导法诱导人孤雌胚胎干细胞为胰岛样细胞团, 加入不同生长因子及诱导试剂对人胚胎干细胞分 5 阶段序贯培养。

结果与结论: 终末分化细胞光镜下呈团状聚集, RT-PCR、免疫荧光染色检测分化细胞表达胰岛细胞特征性的基因与蛋白。胰岛素释放实验提示获得的细胞具有胰岛样生化功能。由人类孤雌胚胎干细胞来源的胰岛样细胞团具备胰岛的基本特征, 是未来治疗 1 型糖尿病的可用材料。

关键词: 人类孤雌胚胎干细胞; 胰岛样细胞团; 诱导分化; 糖尿病; 干细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.27.014

Zhou Jing☆, Studying for doctorate, Institute of Reproductive and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China; National Research and Engineering Center of Human Stem Cells, Changsha 410078, Hunan Province, China zhoujing12@gmail.com

周静, 李进, 林戈, 卢光琇. 诱导人孤雌胚胎干细胞分化为胰岛样细胞团[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(27):5001-5005. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

Correspondence to: Lu Guang-xiu, Professor, Institute of Reproductive and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, Hunan Province, China; National Research and Engineering Center of Human Stem Cells, Changsha 410078, Hunan Province, China lugxdirector@yahoo.com.

Supported by: the Hi-Tech Research and Development of China (863 program), No. 2006AA02A102*; the National Basic Research Program of China (973 program), No.2005CB522705*; the National Natural Science Foundation of China, No. 30800659*;

Received: 2010-01-14 Accepted: 2010-02-27

0 引言

孤雌生殖是单个卵子在没有精子的作用下发育而成个体的过程^[1-2]。在很多物种如爬行类动物、鱼类动物、鸟类动物中存在, 但哺乳动物中不会自发产生这种生殖方式。目前, 哺乳动物卵子已经被成功的在体外激活^[3-5], 利用孤雌激活的卵母细胞发育至囊胚阶段的内细胞团(inner mass cells, ICM)建立起来的干细胞称为孤雌胚胎干细胞^[6-8]。本科室已经成功建立人孤雌胚胎干细胞系^[9]。

研究证实啮齿类和非人灵长类动物的孤雌胚胎干细胞能够分化为中脑多巴胺神经元^[10-11]; 肝脏内胚层^[12]; CD45⁺细胞, 淋巴细胞, 单核细胞和红细胞形态的细胞^[13]; 自发跳动的心肌细胞、脂肪细胞、上皮细胞等多种不同类型的细胞^[14]。提示孤雌胚胎干细胞具有与正常胚胎

干细胞一样具有分化的多潜能性^[15-17]。但目前人孤雌胚胎干细胞向胰岛样细胞的分化还未有报道。

课题组基于体内胰腺发育规律, 分为未分化胚胎干细胞阶段、限定性内胚层阶段、原始肠管阶段、胰腺前体细胞阶段、胰岛样细胞的成熟阶段对人孤雌胚胎干细胞进行诱导, 对经诱导后产生的胰岛样细胞团, 进行胰岛相关标志基因和蛋白的检测。

1 材料和方法

设计: 观察性实验。

时间及地点: 实验于2007-07/2009-09在中南大学生殖与干细胞工程研究所实验室完成。

材料:

胚胎干细胞来源与培养: 人类孤雌胚胎干细胞系 chHES69, 以及正常来源人类胚胎干细胞

¹ 中南大学生殖与干细胞研究所, 湖南省长沙市410078; ² 国家干细胞工程研究中心, 湖南省长沙市410078

周静☆, 女, 1982年生, 江西省鹰潭市人, 汉族, 中南大学生殖与干细胞研究所读博士, 主要从事人胚胎干细胞工程研究。
zhoujing12@gmail.com

通讯作者: 卢光琇, 中南大学生殖与干细胞研究所, 湖南省长沙市410078; 国家干细胞工程研究中心, 湖南省长沙市410078

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225(2010)27-05001-05

收稿日期: 2010-01-14
修回日期: 2010-02-27
(20100114014/M·A)

chHES137均为本实验室自主建系^[18]。胚胎干细胞生长在人饲养层细胞上, 每天观察和换液, 5~7 d传代1次。将准备用于诱导实验的人胚胎干细胞传代至用Matrigel预铺皿的培养板上, 在37 °C、体积分数为5%CO₂、饱和湿度培养箱内继续培养。

试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
RPMI1640	美国Gibco公司
Activin A	美国Sigma公司
人血清白蛋白(HAS)	美国Sigma公司
全反视黄酸(RA)	美国Sigma公司
Exendin-4	美国Sigma公司
Betacellulin	美国R&D公司
cyclopamine-KAAD	德国Calbiochem公司
KGF (FGF7)	美国R&D公司
Noggin	美国R&D公司
烟碱	美国Sigma公司
Matrigel	美国Sigma公司
PDX1多克隆抗体	英国Abcam公司
Sox17单克隆抗体	美国R&D公司
Insulin单克隆抗体	美国Sigma公司
Rodamin荧光二抗(dunkey anti Goat)	美国R&D公司
FITC荧光二抗(Goat anti Mouse)	美国Gibco公司
荧光显微镜	日本Nikon公司

实验方法:

诱导方法: 取传代后第5天生长在无饲养细胞上的人胚胎干细胞用于诱导实验, 用无菌刀片在体视镜下切去分化部分, 用DPBS洗2遍, 开始诱导实验。利用25 μg/L Wnt3a和100 μg/L ActivinA共同作用1 d后, 撤去Wnt3a, 加入ActivinA单独作用2 d诱导内胚层细胞的出现, 之后撤去ActivinA, 加入25 μg/L KGF诱导3 d促进原始肠管的出现, 之后换用2 μmol/L视黄酸、0.25 μmol/L环钯明、50 μg/L Noggin作用3 d促进胰腺前体细胞命运的特化, 之后换用10 mmol/L烟碱、50 μg/L Exendin-4、20 μg/L Betacellulin作用7 d促进胰岛样细胞的成熟。

反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR): 使用TRI试剂(invitrogen)抽提总RNA, 反转录试剂盒(Promega)合成cDNA, 起始的总RNA定量到1 μg, 所有的聚合酶链式反应都使用Tag DNA聚合酶, 在不同的反应温度和循环次数下, 总的反应体系为10 μL, 聚合酶链式反应产物在2%的琼脂糖凝胶上分离并用溴化乙锭染色。引物序列和对应基因片段大小见表1。

表1 RT-PCR 引物表
Table 1 Primers for RT-PCR

Gene	Length	Sequence of primer	Tm	Cycles
Insulin	244 bp	5-CAG TGA CCT GTC TTT GTC TTC CG-3' 5-CAG CCG AGT AGT TTT CAT CAT TGC-3'	65 °C	30
Glucagon	307 bp	5- AGG CAG ACC CAC TCA GTG A -3' 5- AA CAA TGG CGA CCT CTT CTG -3'	55 °C	30
Amylase	358 bp	5-CTG ACA ACT TCA AAG CAA A-3' 5-TAC AGC ATC CAC ATA AAT ACG A-3'	57 °C	30
GCK	376 bp	5- AGG GAA TCC TTG CCG ACT C-3' 5- CAC TGG CCT CTT CAT GGG T-3'	57.1 °C	30
PC2	314 bp	5- GCA TCA AGC ACA GAC CTA CAC TCG -3' 5- GAG ACA CAA CCA CCC TTC ATCCTTC -3'	60.5 °C	30
PC1/3	456 bp	5- TTG GCT GAA AGA GAA CGG GAT ACA TCT -3' 5- ACT TCT TTG GTG ATT GCT TTG GCG GTG -3'	65.4 °C	30
KIR6.2	499 bp	5- CGC TGG TGG ACC TCA AGT GGC -3' 5- CCT CGG GCT GGT GGT CTT GCG -3'	65 °C	30
SUR1	429 bp	5- GTG CAC ATC CAC CAC AGC ACA TGG CTT C -3' 5- GTG TCT TGA AGA AGA TGT ATC TCC TCA C -3'	62.1 °C	30
β-actin	200 bp	5-CGC ACC ACT GGC ATT GTC AT-3' 5-TTC TCC TTG ATG TCA CGC AC-3'	60 °C	28

免疫荧光染色: 收集诱导第3, 9, 16天细胞, 40 g/L的多聚甲醛在室温下固定15 min, 用含0.1% BSA的PBS清洗3次, 用含体积分数为10%山羊血清或体积分数为4%驴血清的0.1%Triton X-100进行破膜封闭处理。一抗在4 °C下孵育过夜, 二抗在室温条件下避光孵育1 h。抗体及稀释浓度如下: 鼠抗人Oct4(1 : 50, Santa cruz biotechnology); 羊抗人sox17(1 : 40, R&D); 豚鼠抗人pdx1 (1 : 200, abcam); 小鼠抗人insulin(1 : 400, Sigma); 驴抗山羊抗体(1 : 300, Sigma); 山羊抗豚鼠抗体(1 : 500, abcam); 以及FITC抗小鼠(1 : 400, Chemicon)。DAPI复染核, 荧光显微镜下随机选取10个视野计数, 每个视野计数超过200个细胞, 总计每个样本超过2 000个细胞。

胰岛素、C肽释放实验: 吸取诱导16 d的细胞团, 转入4孔板中, 记录所吸细胞团数目。用

含0.5%人血清白蛋白的HBSS洗两遍, 每遍10 min, 然后用含5.5 mmol/L葡萄糖的DMEM培养基预孵育30 min, 弃培养基; 分别用含5.5 mmol/L和25 mmol/L葡萄糖的DMEM培养基各孵育1 h, 收集孵育液由电化学发光胰岛素、c肽检测试剂盒(Roche, 12017547) 进行检测; 检验仪器为E170(Roche), 有效范围2.6~24.9。

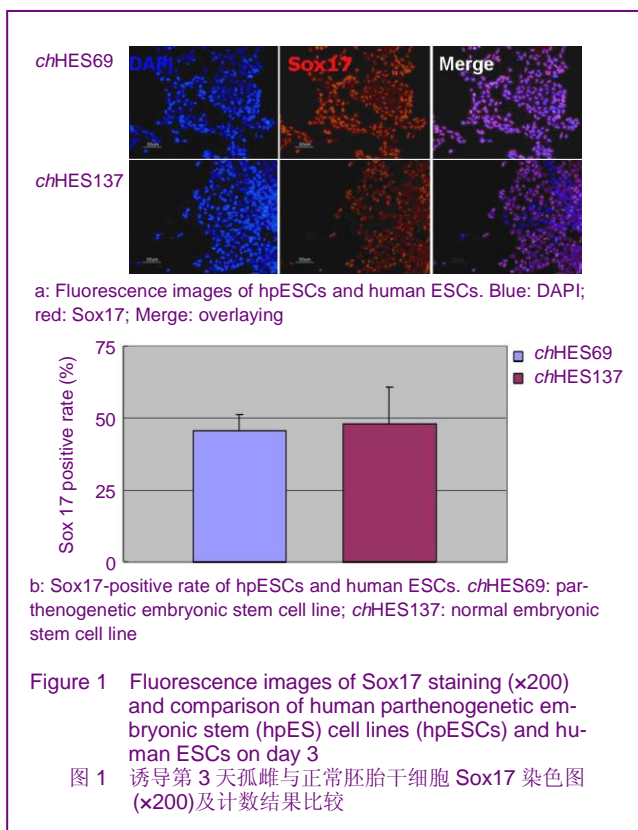
主要观察指标: ①细胞体外诱导过程进行中内胚层、胰腺前体、胰岛样细胞团特异性标记染色并计数阳性率。②胰岛样细胞团RT-PCR检测胰腺相关基因表达。③胰岛样细胞团在葡萄糖刺激下胰岛素及C肽释放试验结果。

设计、实施、评估者: 实验设计为第三、四作者; 资料收集、实施、评估为第一、二作者; 评估采用统一计数标准进行计数。

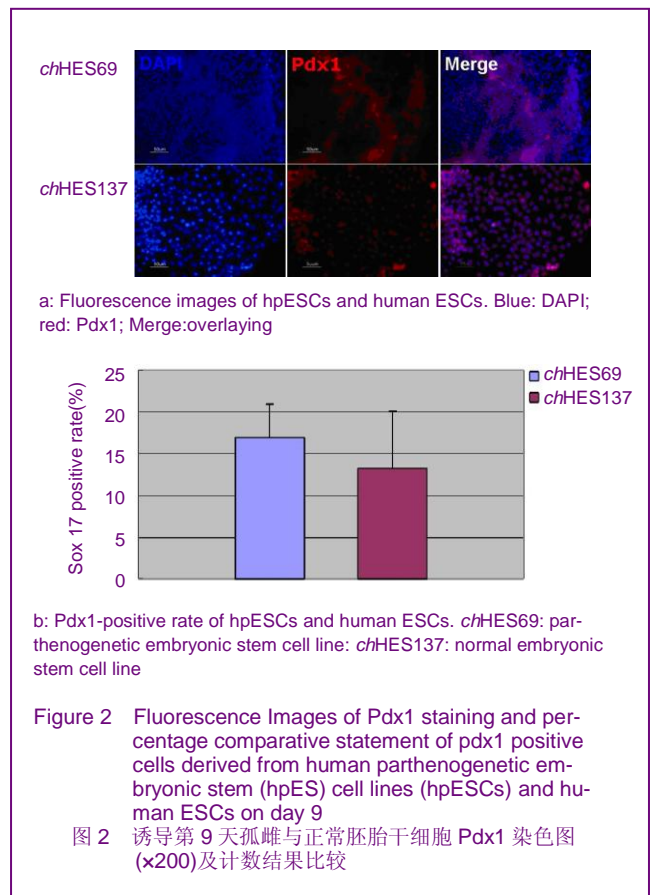
统计学分析: 采用SPSS 13.0软件, 使用t检验进行统计数据分析, 所有的结果重复3次。

2 结果

2.1 诱导内胚层标记表达 收集诱导第3天的细胞进行Sox17的免疫荧光染色, 计数阳性细胞比例。结果显示, 诱导第3天时半数左右细胞分化为Sox17阳性细胞, 孤雌胚胎干细胞(*chHES69*)来源的Sox17阳性率达(45.4±5.9)%, 正常胚胎干细胞(*chHES137*)来源的Sox17阳性细胞率达(48.4±12.5)%, 两者之间差异无显著性意义, 见图1。

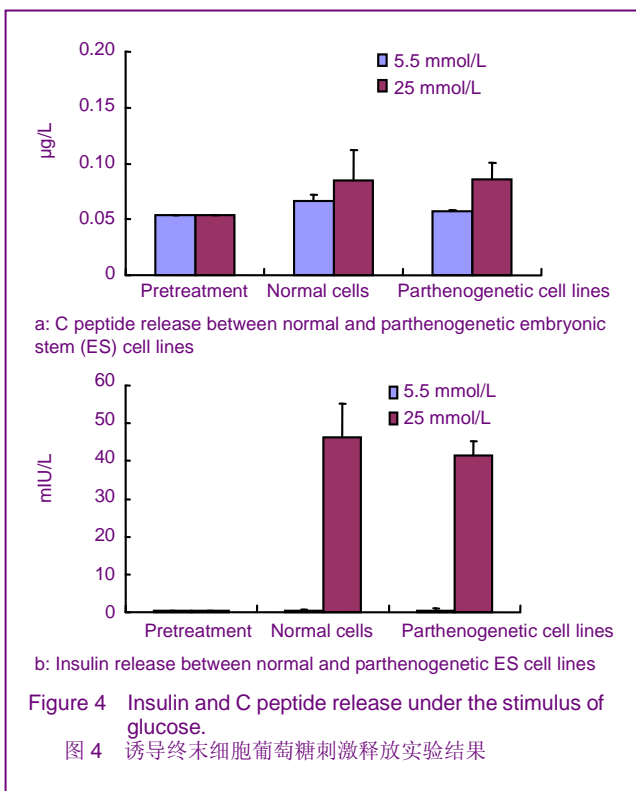
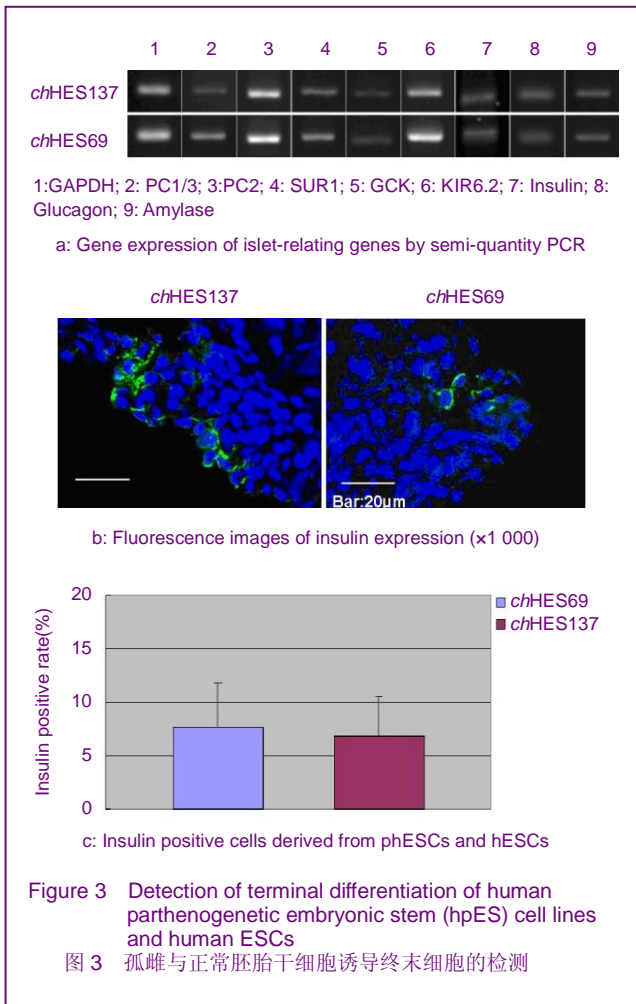


2.2 诱导胰腺前体细胞 将诱导3 d的内胚层细胞加入视黄酸等一系列因子处理6 d后, 细胞呈现出上皮细胞样形态, 增殖速度较快。收集诱导第9天的细胞进行Pdx1的免疫荧光染色, 计数阳性细胞比例。结果显示, 诱导第9天时孤雌胚胎干细胞(*chHES69*)来源的Pdx1阳性率达(17.0±4.0)%, 正常胚胎干细胞(*chHES137*)来源的Pdx1阳性细胞率达(13.3±6.8)%, 两者之间差异无显著性意义, 见图2。



2.3 诱导胰岛样细胞团 在诱导第16天, 进行半定量PCR检测胰腺内外分泌腺及功能相关基因的表达。结果显示正常和孤雌来源胚胎干细胞诱导终末细胞中均表达内分泌腺激素胰岛素、胰高血糖素, 外分泌腺标记淀粉酶, 胰岛素剪切和分泌功能相关基因PC2、PC1/3、KIR6.2、SUR1, 葡萄糖激酶(GCK)。基因表达强度之间并未见到明显差异, 见图3a。对正常和孤雌来源胚胎干细胞(*chHES137*和*chHES69*)诱导终末细胞团进行贴壁后染色Insulin, 结果显示正常来源胚胎干细胞诱导后表达(7.63±4.22)%阳性细胞, 孤雌来源胚胎干细胞诱导后表达(6.81±3.68)%阳性细胞。两者之间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图3b。经化学发光法检测, 正常和孤雌来源胚胎干细胞诱导终末细胞团在不同的葡萄糖刺激浓度下, 呈现对不同浓度梯度刺激的反应性, 25 mmol/L浓度下C肽的释放量是5.5 mmol/L释放量的一两倍, 25 mmol/L浓度下胰岛素的释放量是5.5 mmol/L释放量

的30~40倍, 但是在相同条件下不同细胞之间的胰岛素释放量未见明显差异, 见图3, 4。



3 讨论

胚胎学研究发现, 小鼠孤雌胚胎只能发育到早期肢芽阶段, 在妊娠的第10天死亡^[19-21]; 在人类, 缺少父方基因组的基因表达, 会导致发育迟缓, 智力低下等表现, 如PWS综合征^[22-25]。印记基因在人类发育中的研究非常重要, 但因为没有合适模型, 关于他们的表达和调控在人类组织分化中的情况, 还很少知道。而孤雌胚胎干细胞的建系为这一研究提供了极佳的体外模型。

本研究首次证实人类孤雌胚胎干细胞具有经诱导后产生有功能胰岛样细胞团, 在体外诱导过程中, 孤雌和正常胚胎干细胞来源分化细胞中均顺序表达内胚层(Sox17)和胰腺前体标记(Pdx1), 诱导终末团块也表达胰腺细胞的特征基因Insulin, Glucagon, Amylase; 及分泌功能相关的标记基因如PC2, PC1/3, SUR1, GCK; 胰岛素释放实验结果中, 在5.5 mmol/L和25 mmol/L这两个不同的糖浓度刺激下, 胰岛素释放的水平呈现糖浓度的剂量依赖性, 在高浓度条件下的胰岛素释放量是低浓度条件下的30~40倍, C肽释放量为一两倍。提示诱导得到的终末细胞团具备胰岛细胞的基本特征, 为孤雌胚胎干细胞的进一步研究及应用提供有利的实验证据。

目前人类孤雌胚胎干细胞的主要研究兴趣在于它能够作为替代体细胞核移植的备选方案, 可以用于自体治疗, 既能回避伦理上的争议, 又能解决移植带来的免疫排斥问题^[26-28]。理论上, 孤雌胚胎来源的细胞在同种移植的时候更容易进行组织配型。但是, 它本身存在更容易产生非整倍体的可能性和遗传不稳定性, 由于缺乏父源性的印记参与, 在表观遗传水平更具有不稳定的倾向。在小鼠胚胎干细胞基因组的表观遗传学是不稳定的, 但是广泛的基因失调并没有影响它的发育潜能^[29-30]。人的孤雌胚胎干细胞正好可以作为研究这些基因调节失调在人细胞分化中的作用, 为进一步印记基因的研究提供了一个极好的平台和工具。

4 参考文献

- [1] Cuellar O. Animal parthenogenesis. *Science*. 1977;197(4306): 837-843.
- [2] Vorburger C. Geographic parthenogenesis: recurrent patterns down under. *Curr Biol*. 2006;16(16):R641-643.
- [3] Wninger JD, Huang S, Massey JB. Assessment of parthenogenetic activation of human metaphase II oocytes for stem cell derivation. *Fertility and Sterility*. 2002;78(sup1):S76-S77.
- [4] Paffoni A, Brevini TA, Gandolfi F, et al. Parthenogenetic activation: biology and applications in the ART laboratory. *Placenta*. 2008;29 Suppl B:121-125.
- [5] Cibelli JB, Cunniff K, Vrana KE. Embryonic stem cells from parthenotes. *Methods Enzymol*. 2006;418:117-135.
- [6] Revazova ES, Turovets NA, Kochetkova OD, et al. Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts. *Cloning Stem Cells*. 2007;9(3):432-449.
- [7] Mai Q, Yu Y, Li T, et al. Derivation of human embryonic stem cell lines from parthenogenetic blastocysts. *Cell Res*. 2007;17(12): 1008-1019.

- [8] Hao J, Zhu W, Sheng C, et al. Human parthenogenetic embryonic stem cells: one potential resource for cell therapy. *Sci China C Life Sci.* 2009;52(7):599-602.
- [9] Lin G, OuYang Q, Zhou X, et al. A highly homozygous and parthenogenetic human embryonic stem cell line derived from a one-pronuclear oocyte following in vitro fertilization procedure. *Cell Res.* 2007;17(12):999-1007.
- [10] Sánchez-Pernaute R, Studer L, Ferrari D, et al. Long-term survival of dopamine neurons derived from parthenogenetic primate embryonic stem cells (cyno-1) after transplantation. *Stem Cells.* 2005;23(7):914-922.
- [11] Feng Y, Hall JL. Production of neurons from stem cells derived from parthenogenetic mouse embryos. *Fertility and Sterility.* 2001;76(3):S32.
- [12] Loya K, Eggenschwiler R, Ko K, et al. Hepatic differentiation of pluripotent stem cells. *Biol Chem.* 2009;390(10):1047-1055.
- [13] Hikichi T, Wakayama S, Mizutani E, et al. Differentiation potential of parthenogenetic embryonic stem cells is improved by nuclear transfer. *Stem Cells.* 2007;25(1):46-53.
- [14] Lin H, Lei J, Wininger D, et al. Multilineage potential of homozygous stem cells derived from metaphase II oocytes. *Stem Cells.* 2003;21(2):152-161.
- [15] Koh CJ, Delo DM, Lee JW, et al. Parthenogenesis-derived multipotent stem cells adapted for tissue engineering applications. *Methods.* 2009;47(2):90-97.
- [16] Brevini TA, Gandolfi F. Parthenotes as a source of embryonic stem cells. *Cell Prolif.* 2008;41 Suppl 1:20-30.
- [17] De Sousa PA, Wilmut I. Human parthenogenetic embryo stem cells: appreciating what you have when you have it. *Cell Stem Cell.* 2007;1(3):243-244.
- [18] Lin G, Xie Y, Ouyang Q, et al. HLA-matching potential of an established human embryonic stem cell bank in China. *Cell Stem Cell.* 2009;5(5):461-465.
- [19] Surani MA, Barton SC. Development of gynogenetic eggs in the mouse: implications for parthenogenetic embryos. *Science.* 1983; 222(4627):1034-1036.
- [20] Surani MA, Barton SC, Norris ML. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature.* 1984;308(5959):548-550.
- [21] Surani MA, Kothary R, Allen ND, et al. Genome imprinting and development in the mouse. *Dev Suppl.* 1990:89-98.
- [22] Thompson T, Butler MG, MacLean WE, et al. Prader-Willi Syndrome: Genetics and Behavior. *Peabody Journal of Education.* 1996;71(4):187-212.
- [23] Gurrieri F, Accadia M. Genetic imprinting: the paradigm of Prader-Willi and Angelman syndromes. *Endocr Dev.* 2009;14: 20-28.
- [24] Deborah King Kundert. Prader-Willi Syndrome. *School Psychology Quarterly.* 2008;23(2):246-257.
- [25] Semenza C, Pignatti R, Bertella L, et al. Genetics and mathematics: evidence from Prader-Willi syndrome. *Neuropsychologia.* 2008;46(1):206-212.
- [26] Drukker M. Recent advancements towards the derivation of immune-compatible patient-specific human embryonic stem cell lines. *Semin Immunol.* 2008;20(2):123-129.
- [27] Kim K, Ng K, Rugg-Gunn PJ, et al. Recombination signatures distinguish embryonic stem cells derived by parthenogenesis and somatic cell nuclear transfer. *Cell Stem Cell.* 2007;1(3):346-352.
- [28] Taylor CJ, Bolton EM, Pocock S, et al. Banking on human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching. *Lancet.* 2005;366(9502):2019-2025.
- [29] Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science.* 2001;293(5527):95-97.
- [30] Kaufman MH, Barton SC, Surani MA. Normal postimplantation development of mouse parthenogenetic embryos to the forelimb bud stage. *Nature.* 1977;265(5589):53-55.

来自本文课题的更多信息一

基金资助: 国家“973”项目(2005CB522705), 课题名称: 同种异体干细胞研究与通用胚胎干细胞库的建立。国家“863”项目(2006AA02A102), 课题名称: 我国人类(疾病)胚胎干细胞库的建立与应用。国家自然科学基金项目(30800659), 课题名称: 不同人胚胎干细胞系向内胚层细胞分化能力出现差异的表现遗传学机制探讨。

致谢: 感谢中南大学生殖与干细胞工程研究所胚胎干细胞组提供孤雌及正常来源的人胚胎干细胞系。感谢中信湘雅生殖与遗传专科医院检验科在电化学发光胰岛素及C肽检测上的帮助。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: 本课题利用自主建系的人孤雌胚胎干细胞, 首次在不饲养层体系下诱导分化为具有一定功能的胰岛样细胞, 其诱导效率与正常来源的胚胎干细胞并无明显差异。为孤雌胚胎干细胞的进一步深入研究及未来临床应用提供实验基础。其中人孤雌胚胎干细胞作为特殊种类的人类胚胎干细胞系, 对基因印记相关疾病的研究有重要意义, 该细胞系建系及研究工作获得了以上基金的支持。

课题评估的“金标准”: 本文中用于评价胰岛样细胞团的指标包括蛋白质水平(免疫荧光染色)、基因水平(胰腺相关功能基因的 RT-PCR 检测)、功能水平(葡萄糖刺激下胰岛素和 C 肽释放试验)检测。均为国际公认的指标。

设计或课题的偏倚与不足: 本文重点在于比较孤雌来源人胚胎干细胞和正常来源人胚胎干细胞在体外向胰岛样细胞诱导分化的表型和功能研究, 诱导细胞进一步的功能研究有待于在实验动物体内进行。

提供临床借鉴的价值: 人孤雌胚胎干细胞于 2007 年首次报道建系, 该细胞系的建立为基因印记疾病的表现遗传学研究提供良好的实验材料, 同时因为人孤雌胚胎干细胞来源于孤雌激活的卵子, 能够作为替代体细胞核移植的备选方案, 可以用于自体治疗, 既能回避伦理上的争议, 又能解决移植带来的免疫排斥问题。理论上, 孤雌胚胎来源的细胞在同种移植的时候更容易进行组织配型。因此对孤雌胚胎干细胞向有功能的终末细胞诱导研究备受关注, 是近年来的研究热点之一。