

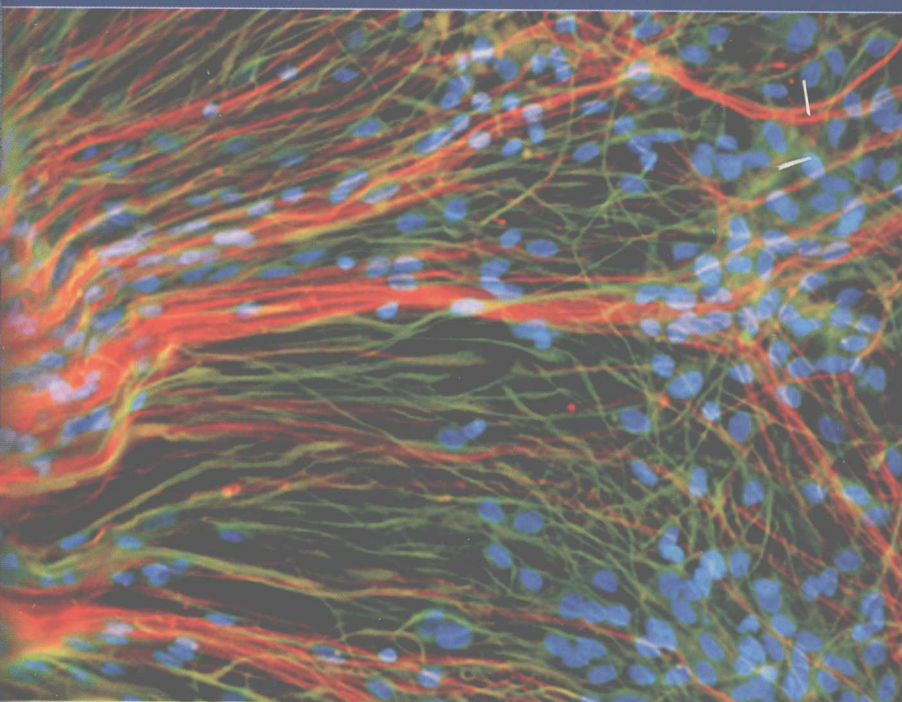
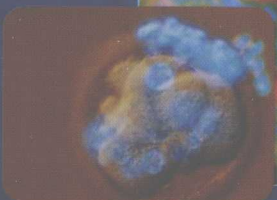
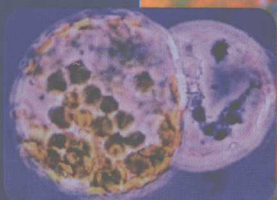
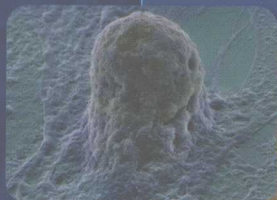


普通高等教育“十一五”国家级规划教材

Cell Engineering

细胞工程学

李志勇 编著



高等教育出版社
Higher Education Press



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

Cell 细胞工程学

Engineering

李志勇 编著

细胞融合 (cell fusion) 132
 细胞生长因子 (growth factor) 132
 细胞识别 (cell recognition) 132
 细胞通讯 (cell communication) 24
 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 249

细胞培养 (cell culture) 129
 细胞周期 (cell cycle) 23
 细胞株 (cell strain) 220
 细菌 (bacteria) 41
 显微操作技术 (micromanipulation technique) 46
 协作式多价反馈控制 (coordinated multivalent feed-back control) 66
 形态发生 (morphogenesis) 29
 性别控制 (sex control) 120
 雄核发育 (androgenesis) 157



高等教育出版社
Higher Education Press

内容简介

细胞工程是现代生物工程与生物技术的重要组成部分,在医药、农业、食品、能源、环境等领域有着广泛应用。近年来,动植物生物制药、干细胞、组织工程、体细胞克隆等细胞工程技术展现了巨大的发展潜力。

细胞工程是高等院校生物工程、生物技术专业的主修课程,也是农学、医药等相关专业的重要课程。《细胞工程学》以细胞工程应用为主线进行编写,从优良动植物的人工繁殖、新品种培育、细胞工程生物制品、细胞疗法与组织修复4个方面,全面、系统地介绍细胞工程的理论与技术知识。尤其是紧密结合现代细胞工程发展趋势,重点介绍细胞工程生物制品等技术。同时,适当介绍一些前沿技术、最新进展以及学科交叉内容。在内容与形式安排上注重引导学生进行研究型学习。在编写形式上也进行了一些尝试,力争生动,增加教学与学习乐趣。

本书不仅适合作为高等学校教材,也可供相关领域的科研、企业等人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

细胞工程学/李志勇编著. —北京:高等教育出版社, 2008.6

ISBN 978 - 7 - 04 - 024270 - 6

I. 细… II. 李… III. 细胞工程 - 高等学校 - 教材
IV. Q813

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 057906 号

策划编辑 王 莉 责任编辑 张晓晶 封面设计 张 楠 责任绘图 尹 莉
版式设计 范晓红 责任校对 王 超 责任印制 韩 刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
总 机 010 - 58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 北京鑫丰华彩印有限公司

开 本 850 × 1168 1/16
印 张 22.25
字 数 510 000

购书热线 010 - 58581118
免费咨询 800 - 810 - 0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2008年6月第1版
印 次 2008年6月第1次印刷
定 价 32.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 24270 - 00

前 言

细胞工程是现代生物工程与生物技术的重要组成部分,在医药、农业、食品、能源、环境等领域有着广泛应用。在过去的 20 多年里,植物组织培养、染色体工程、动物胚胎工程、单克隆抗体等细胞工程技术已经产生了巨大的经济效益;近年来,以动植物生物制药、干细胞、组织工程、体细胞克隆等为代表的新型细胞工程技术成为国际研究热点,并已经展现了巨大的发展潜力。

细胞工程目前已经成为高等院校生物工程、生物技术专业的主修课程,也是农学、医药等相关专业的重要课程。我国高校的细胞工程教材建设起步较晚。2003 年作者编著出版了《细胞工程》高校教材(科学出版社),被众多高校选用作为教材或教学参考书,受到了广大教师和学生的欢迎。随着细胞工程技术的不断发展,作者深感新编一本细胞工程教材的必要。结合几年来的教学体会,新编的《细胞工程学》在以下几个方面进行了尝试:

1. 以细胞工程应用为主线进行编写。在细胞工程简介、理论基础、基本技术等基础上,从优良动植物的人工繁殖、新品种培育、细胞工程生物制品、细胞疗法与组织修复 4 个方面组织教学内容,全面、系统地介绍细胞工程的理论与技术知识。

2. 内容组织上,紧密结合现代细胞工程发展趋势,重点突出细胞工程生物制品技术。同时,也涉及一些前沿技术、最新进展、学科交叉内容,突出新颖性。

3. 引导学生进行研究型学习。将思考题穿插在具体章节中,引导学生积极思考;通过总复习题对全章的重点内容进行系统性回顾总结;每章选择有文献供学生进一步阅读、深入学习时参考,同时培养学生查阅科研文献的习惯。

4. 在编写形式上也进行了一些尝试,力争生动,增加教学与学习乐趣。例如:每章开始有导读与关键词;文中设计有针对具体问题的思考题;每章列举有代表性的网站;书后设计了细胞工程大事记、重要科学家简介、细胞工程相关的英汉词汇以及重要概念索引。

以上尝试可能有不成熟之处,欢迎读者提出宝贵意见。由于每个学校的教学计划与课时安排会有所不同,为方便教学,选修内容用 * 号标注。对于参考文献的作者表示诚挚的感谢,对于没有查到出处的图表作者表示真诚的歉意。感谢教育部“十一五”国家级规划教材项目、上海交通大学“985 教材建设”与“一类课程建设”项目对本书的支持。

李志勇

2007 年 12 月于上海交通大学

目 录

第一篇 细胞工程基础

第1章 细胞工程简介	3	*第3章 细胞工程基本技术	38
1.1 细胞工程 / 4		3.1 实验室条件 / 39	
1.2 细胞工程的发展历史 / 5		3.1.1 实验室基本组成 / 39	
1.2.1 探索期 / 5		3.1.2 实验用品及主要设备 / 39	
1.2.2 诞生期 / 6		3.2 无菌技术 / 40	
1.2.3 快速发展期 / 7		3.2.1 培养用品清洗 / 40	
1.3 细胞工程的应用 / 8		3.2.2 灭菌方法 / 41	
1.3.1 动植物快速繁殖 / 8		3.2.3 污染检测与控制 / 41	
1.3.2 新品种培育 / 8		3.3 显微技术 / 43	
1.3.3 细胞工程生物制品 / 8		3.3.1 光学显微镜 / 43	
1.3.4 细胞疗法与组织修复 / 9		3.3.2 电子显微镜 / 45	
*第2章 细胞工程理论基础	11	3.3.3 显微操作术 / 46	
2.1 细胞组成 / 12		3.4 细胞观察与分析 / 47	
2.1.1 细胞的分子组成 / 12		3.4.1 细胞计数与活力分析 / 47	
2.1.2 细胞的结构组成 / 15		3.4.2 细胞固定与染色观察 / 48	
2.2 细胞周期与细胞分裂 / 23		3.4.3 凋亡细胞观察 / 49	
2.2.1 细胞周期 / 23		3.4.4 染色体分析 / 50	
2.2.2 细胞分裂方式 / 24		3.5 细胞分离 / 50	
2.2.3 细胞分裂的影响因素 / 27		3.5.1 细胞初步分离 / 50	
2.2.4 细胞衰老与细胞死亡 / 27		3.5.2 单个细胞的获得 / 50	
2.3 细胞识别与细胞通讯 / 28		3.6 细胞保存与复苏 / 52	
2.4 细胞分化 / 29		3.6.1 细胞保存方法 / 52	
2.4.1 细胞全能性 / 29		3.6.2 细胞复苏 / 54	
2.4.2 细胞分化 / 29		*第4章 细胞培养与代谢调控	56
2.4.3 细胞脱分化 / 30		4.1 细胞培养 / 57	
2.4.4 细胞再分化 / 30		4.2 细胞培养的操作方式 / 57	
2.4.5 组织与器官 / 30		4.2.1 分批式培养 / 57	
2.5 生殖与发育 / 31		4.2.2 流加式培养 / 58	
2.5.1 植物有性生殖 / 31			
2.5.2 动物有性生殖 / 32			

II 目 录

- 4.2.3 半连续式培养 / 58
- 4.2.4 连续式培养 / 58
- 4.2.5 灌流式培养 / 59
- 4.3 细胞培养动力学 / 59
 - 4.3.1 分批培养生长动力学 / 59
 - 4.3.2 分批培养基质消耗与产物生成动力学 / 61
- 4.4 细胞代谢与调控 / 63
 - 4.4.1 代谢产物关系 / 63
 - 4.4.2 代谢工程 / 64
 - 4.4.3 逆代谢工程 / 69

第二篇 人工繁殖技术

第5章 植物人工繁殖 73

- 5.1 植物人工繁殖 / 74
- 5.2 植物组织培养 / 75
 - 5.2.1 发展历史 / 75
 - 5.2.2 培养基 / 76
 - 5.2.3 植物细胞分化与脱分化 / 79
 - 5.2.4 植物组织培养再生植株的途径 / 80
 - 5.2.5 植物组织培养的问题分析 / 83
- 5.3 人工种子 / 85
 - 5.3.1 胚状体同步发育 / 86
 - 5.3.2 人工种皮制作 / 86
 - 5.3.3 人工胚乳配制 / 87
 - 5.3.4 包埋 / 87
 - 5.3.5 人工种子的贮存 / 87
 - 5.3.6 存在问题 / 88
- 5.4 植物胚胎培养 / 88
 - 5.4.1 成熟胚与幼胚培养 / 88
 - 5.4.2 植物胚乳培养 / 89
 - 5.4.3 植物胚珠和子房培养 / 90
 - 5.4.4 试管受精 / 90
- 5.5 脱毒植物培育 / 90
 - 5.5.1 植物脱毒方法 / 91
 - 5.5.2 脱毒植物鉴定 / 92

第6章 动物人工繁殖 95

- 6.1 动物人工繁殖 / 96
- 6.2 体外受精 / 96
 - 6.2.1 试管动物培育 / 97
 - 6.2.2 试管婴儿 / 103
- 6.3 人工授精 / 105
 - 6.3.1 人工授精技术 / 106
 - 6.3.2 胚胎回收 / 106
 - 6.3.3 胚胎鉴定 / 107
- 6.4 细胞核移植 / 107
 - 6.4.1 发展历程 / 108
 - 6.4.2 细胞核移植克隆动物的技术路线 / 109
 - 6.4.3 胚胎细胞核移植克隆动物 / 112
 - 6.4.4 体细胞克隆动物 / 112
 - 6.4.5 影响核移植动物成功率的因素分析 / 114
- 6.5 胚胎分割 / 115
- 6.6 冷冻保存技术 / 116
 - 6.6.1 胚胎冷冻保存 / 116
 - 6.6.2 精子冷冻保存 / 118
 - 6.6.3 卵母细胞冷冻保存 / 119
- 6.7 性别控制 / 120
 - 6.7.1 哺乳动物受精前性别控制 / 120
 - 6.7.2 胚胎移植前性别控制 / 121

第三篇 新品种培育技术

第7章 细胞重组与细胞融合 / 127	第8章 新品种培育 / 142
7.1 细胞重组与细胞融合 / 128	8.1 原生质体变异 / 143
7.1.1 核体与胞质体 / 128	8.2 组织培养与诱变育种 / 143
7.1.2 微细胞 / 128	8.3 体细胞杂交 / 144
7.1.3 核体、胞质体和微细胞的 装配 / 129	8.4 多倍体与单倍体 / 145
7.2 细胞质工程 / 129	8.4.1 染色体工程 / 145
7.2.1 细胞破碎 / 129	8.4.2 多倍体育种 / 146
7.2.2 细胞器及细胞组分分离 / 130	8.4.3 单倍体育种 / 150
7.2.3 细胞器转移 / 131	8.5 雌核发育 / 154
7.2.4 胞质杂种 / 131	8.5.1 技术方法 / 154
7.3 细胞融合 / 132	8.5.2 雌核发育的鉴别 / 155
7.3.1 融合材料 / 133	8.5.3 单亲纯合二倍体动物培育 / 155
7.3.2 细胞融合方法 / 134	8.5.4 雌核发育的问题 / 155
7.3.3 动物细胞融合 / 137	8.6 植物离体受精 / 155
7.3.4 植物原生质体融合 / 137	8.6.1 离体传粉 / 155
7.3.5 融合细胞筛选 / 137	8.6.2 体外受精 / 156
7.4 人造细胞 / 139	8.6.3 植物离体受精在新品种培育中 的意义 / 156
	8.7 胚胎嵌合 / 157

第四篇 生物制品生产

第9章 植物细胞代谢产物制备 / 163	9.3.3 植物次级代谢产物的生物 合成 / 177
9.1 植物细胞培养的特点 / 164	9.3.4 次级代谢产物的分离提取 / 178
9.2 植物细胞培养技术 / 164	9.3.5 提高植物次级代谢产物产量 的途径 / 179
9.2.1 培养基 / 164	9.4 植物组织培养制备代谢产物 / 183
9.2.2 植物单细胞分离与初步培养 / 164	9.4.1 细胞分化与次生代谢产物 / 183
9.2.3 继代培养 / 165	9.4.2 毛状根培养生产次级代谢 产物 / 183
9.2.4 植物细胞悬浮培养 / 166	9.4.3 冠瘿组织培养生产次级代谢 产物 / 186
9.2.5 植物细胞固定化培养 / 168	9.5 植物细胞与组织培养途径的 比较 / 186
9.3 植物细胞培养制备代谢 产物 / 172	
9.3.1 细胞株筛选 / 173	
9.3.2 培养方法 / 175	

*** 第 10 章 微藻培养及应用** 189

- 10.1 微藻特点与分类 / 190
 - 10.1.1 蓝藻门 / 190
 - 10.1.2 绿藻门 / 191
 - 10.1.3 金藻门 / 191
 - 10.1.4 红藻门 / 191
- 10.2 微藻培养 / 192
 - 10.2.1 光能自养培养 / 192
 - 10.2.2 光自养大规模培养 / 193
 - 10.2.3 微藻的异养/兼性异养 / 196
 - 10.2.4 敞开式跑道池培养系统 / 197
 - 10.2.5 光生物反应器 / 197
- 10.3 微藻应用 / 199
 - 10.3.1 微藻生物能源 / 200
 - 10.3.2 生物活性物质制备 / 202
 - 10.3.3 水产饵料 / 202
 - 10.3.4 微藻基因工程 / 202
 - 10.3.5 其他应用 / 202

第 11 章 动物细胞培养生物制药 205

- 11.1 动物细胞培养的特点 / 206
 - 11.1.1 动物细胞体外生长特点 / 206
 - 11.1.2 遗传学特征 / 207
- 11.2 动物细胞培养条件 / 208
 - 11.2.1 培养基 / 208
 - 11.2.2 生长条件 / 211
 - 11.2.3 培养工具 / 212
- 11.3 动物细胞培养方式 / 213
 - 11.3.1 贴壁培养 / 213
 - 11.3.2 固定化培养 / 214
 - 11.3.3 悬浮培养 / 214
 - 11.3.4 动物细胞小规模培养 / 214
- 11.4 动物细胞原代培养 / 215
 - 11.4.1 组织块原代培养 / 215
 - 11.4.2 细胞原代培养 / 216
- 11.5 动物细胞传代培养 / 217
 - 11.5.1 传代培养方法 / 218

- 11.5.2 传代培养过程分析 / 219
- 11.6 细胞系与细胞株 / 220
 - 11.6.1 分离纯化与保存 / 221
 - 11.6.2 适合工业化生产的细胞株 / 221
- 11.7 动物细胞大规模培养 / 223
 - 11.7.1 转瓶(管)培养系统 / 223
 - 11.7.2 微载体培养 / 223
 - 11.7.3 中空纤维生物反应器培养 / 228
 - 11.7.4 大规模培养方式 / 230
 - 11.7.5 动物细胞大规模培养的问题分析 / 232
- 11.8 动物细胞生物制药 / 235
 - 11.8.1 病毒疫苗 / 235
 - 11.8.2 干扰素 / 236
 - 11.8.3 单克隆抗体 / 238

*** 第 12 章 转基因生物反应器** 248

- 12.1 转基因生物反应器 / 249
 - 12.1.1 转基因技术 / 249
 - 12.1.2 转基因生物反应器 / 249
- 12.2 转基因动物细胞生物反应器 / 250
 - 12.2.1 转基因方法 / 251
 - 12.2.2 载体系统 / 254
 - 12.2.3 转染细胞筛选 / 255
 - 12.2.4 外源基因表达 / 256
- 12.3 转基因动物生物反应器 / 259
 - 12.3.1 转基因方法 / 260
 - 12.3.2 转基因动物鉴定 / 263
 - 12.3.3 转基因动物生物反应器 / 263
 - 12.3.4 基因改良动物 / 265
 - 12.3.5 转基因动物存在的问题 / 266
- 12.4 转基因植物生物反应器 / 266
 - 12.4.1 转基因方法 / 267
 - 12.4.2 转基因植物的检测 / 270
 - 12.4.3 基因改良植物 / 271
 - 12.4.4 转基因植物的安全性问题 / 273

第五篇 细胞疗法与组织修复

第 13 章 干细胞	277	第 14 章 组织工程	293
13.1 干细胞 / 278		14.1 组织工程 / 294	
13.1.1 自我更新特征 / 278		14.2 基本要素 / 294	
13.1.2 增殖特征 / 279		14.2.1 种子细胞 / 294	
13.1.3 分化特征 / 279		14.2.2 支架材料 / 295	
13.2 胚胎干细胞 / 280		14.2.3 细胞因子 / 298	
13.2.1 胚胎干细胞分化潜能评价 / 280		14.3 技术路线与方法 / 301	
13.2.2 胚胎干细胞的鉴定 / 280		14.3.1 细胞接种与培养 / 301	
13.2.3 胚胎干细胞的分离 / 282		14.3.2 细胞生长因子的控制释放 / 302	
13.2.4 胚胎干细胞的体外培养 / 283		14.3.3 组织工程生物反应器 / 302	
13.2.5 胚胎干细胞的体外诱导分化 / 284		14.4 组织工程产品 / 303	
13.2.6 存在问题 / 286		14.4.1 组织工程皮肤 / 303	
13.3 成体干细胞 / 287		14.4.2 组织工程骨 / 304	
13.3.1 神经干细胞 / 288		14.4.3 组织工程肌腱 / 305	
13.3.2 造血干细胞 / 289		14.4.4 组织工程血管 / 306	
13.3.3 间质干细胞 / 290		14.4.5 问题分析 / 306	
13.3.4 问题分析 / 290		14.4.6 其他组织工程产品 / 307	
参考文献 / 310			
附录 1 植物细胞与组织培养常用的培养基 / 312			
附录 2 动物细胞培养常用的培养基与 BSS 溶液 / 314			
附录 3 细胞工程大事记 / 317			
附录 4 重要科学家简介 / 323			
附录 5 细胞工程相关词汇 / 329			
重要概念索引 / 343			

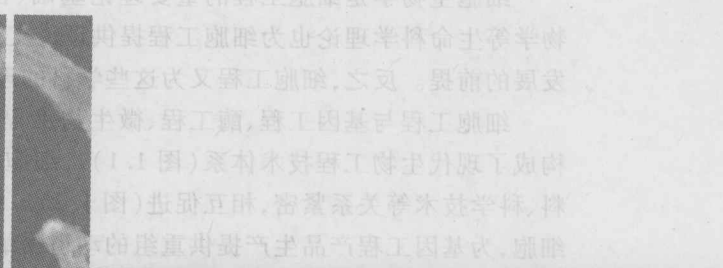
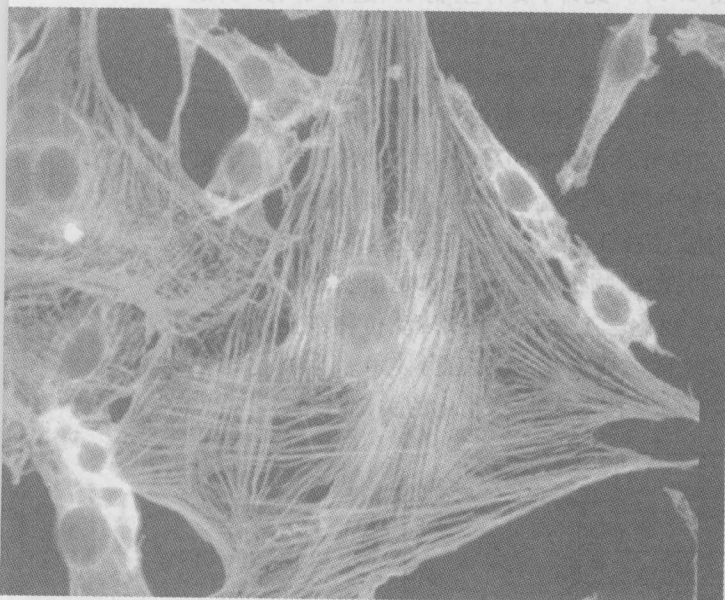
第一篇

细胞工程基础

- 第1章 细胞工程简介
- *第2章 细胞工程理论基础
- *第3章 细胞工程基本技术
- *第4章 细胞培养与代谢调控

第 1 章

细胞工程简介



导读

细胞工程是现代生物工程重要组成部分，以体细胞克隆、干细胞、组织工程等为代表的细胞工程技术处于当今生物技术发展的最前沿。本章简要介绍细胞工程的定义、发展历史与趋势以及应用领域。

关键词

细胞工程，快速繁殖，遗传育种，生物制品，生物能源，组织工程

- 1.1 细胞工程
- 1.2 细胞工程的发展历史
- 1.3 细胞工程的应用

1.1 细胞工程

细胞工程(cell engineering)是指以细胞为对象,应用生命科学理论,借助工程学原理与技术,有目的地利用或改造生物遗传性状,以获得特定的细胞、组织产品或新型物种的一门综合性科学技术。

细胞工程的研究对象包括动物、植物和微生物,由此可以将细胞工程分为微生物细胞工程、植物细胞工程、动物细胞工程。微生物工程历史悠久,技术体系较完善,一般所讲的细胞工程主要以动植物为研究对象。根据具体情况,细胞工程的研究对象可以是完整的细胞、组织或器官、胚胎,也可以是原生质体、细胞核、染色体、细胞器等。

细胞生物学是细胞工程的重要理论基础(图 1.1)。此外,发育生物学、遗传学、分子生物学等生命科学理论也为细胞工程提供理论支撑。这些学科的发展是细胞工程技术建立和发展的前提。反之,细胞工程又为这些学科的理论研究提供实验材料和技术。

细胞工程与基因工程、酶工程、微生物工程、生物化学工程、蛋白质工程、代谢工程一起构成了现代生物工程技术体系(图 1.1)。细胞工程与其他生物工程技术以及物理、化学材料、科学技术等关系紧密,相互促进(图 1.2)。细胞工程可以为微生物工程提供遗传改良的细胞,为基因工程产品生产提供重组的动植物细胞,为酶工程、蛋白质工程提供蛋白质原料。细胞工程的发展也一定程度依赖于其他技术,例如:动植物细胞培养技术是借鉴微生物培养技术发展起来的,细胞工程生物制品的生产需要生物化学工程技术实现,动植物细胞代谢产物的制备需要利用代谢工程技术,细胞遗传性状改良需要借助基因工程技术。生物化学工程是细胞工程、基因工程、酶工程、微生物工程等实验室技术走向产业化的关键环节。

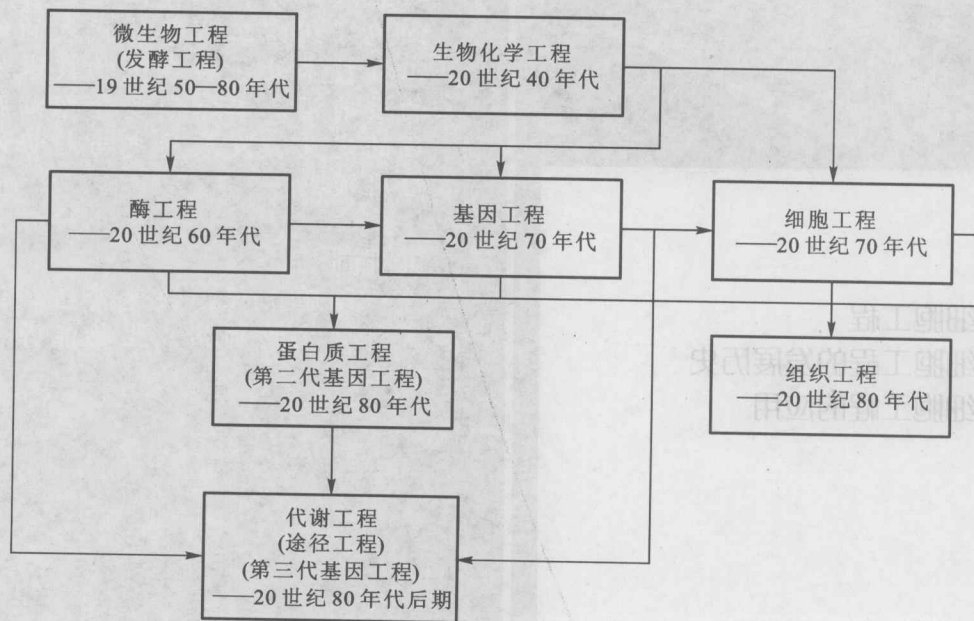


图 1.1 生物工程技术发展及相互关系

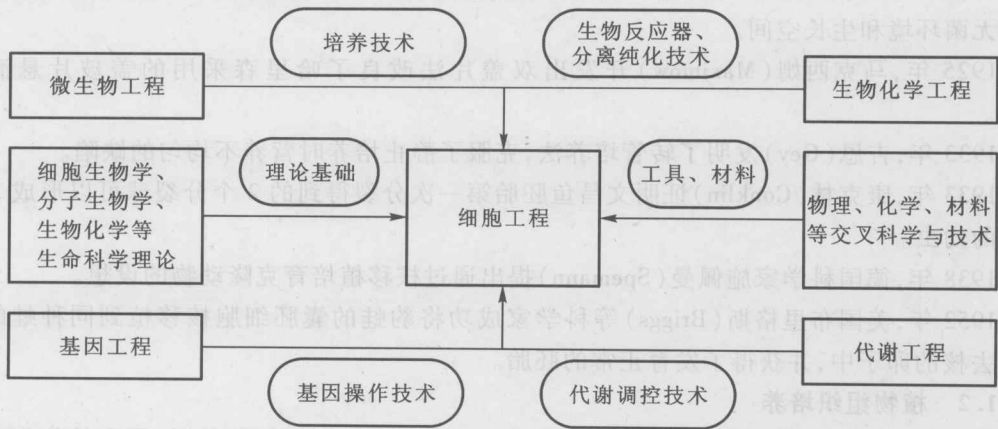


图 1.2 细胞工程与其他学科、技术的关系



思考题 1: 举例说明细胞工程与其他生物工程技术的关系。

1.2 细胞工程的发展历史

1665年,英国人胡克(Hooke)利用自己设计的显微镜第一次观察到了细胞。1838—1839年,施旺(Schwann)和施莱登(Schleiden)建立了细胞学说,认为生物都是由细胞构成的,而且细胞在结构上是类似的。之后,德国科学家魏尔肖(Virchow)补充了细胞学说,认为所有的细胞都来自于已有细胞的分裂。细胞学说的建立揭示了生物界的统一性和生命的共同起源,是19世纪自然科学的三大发现之一。细胞工程的发展经历了探索、诞生、快速发展三个阶段。

1.2.1 探索期

细胞工程的历史可以追溯到19世纪,最早的探索是从动植物组织培养开始的。这期间一些重要科技事件如下:

1.2.1.1 动物组织培养

1885年,卢克斯(Roux)发现鸡的神经元在生理盐水中可以存活,并使用了“组织培养”一词。

1892年,杜里舒(Driesch)利用海胆2细胞胚胎分离成单细胞,通过细胞培养获得了完整幼虫。同年,威尔逊(Wilson)证明了文昌鱼胚胎单细胞的发育能力。

1907年,美国生物学家哈里森(Harrison)从蝌蚪的脊索中分离出神经组织,把它放在青蛙的凝固的淋巴液中培养。蝌蚪神经组织存活了几周,并且从神经元中长出了神经纤维,开创了动物组织培养的先河。

1923年,卡雷尔(Carrel)设计了用于动物细胞培养的卡氏培养瓶,可以保证动物细胞培养的无菌环境和生长空间。

1925年,马克西姆(Maximow)开发出双盖片法改良了哈里森采用的盖玻片悬滴培养法。

1933年,吉恩(Gey)发明了转管培养法,克服了静止培养时营养不均匀的缺陷。

1933年,康克林(Conklin)证明文昌鱼胚胎第一次分裂得到的2个分裂球可以形成2个完整的幼虫。

1938年,德国科学家施佩曼(Spemmann)提出通过核移植培育克隆动物的设想。

1952年,美国布里格斯(Briggs)等科学家成功将豹蛙的囊胚细胞核移植到同种蛙的成熟的去核的卵子中,并获得了发育正常的胚胎。

1.2.1.2 植物组织培养

1902年,德国植物学家哈伯兰德(Haberlandt)提出了细胞全能性学说,预言植物细胞具有全能性,并进行了植物单个细胞离体培养的尝试。1904年,汉里格(Hanig)在无机盐和蔗糖溶液中尝试进行萝卜和辣根菜的离体胚培养。1922年,考特(Kotte)和罗宾斯(Robbins)进行豌豆、玉米、棉花的根尖和茎尖的培养获得初步成功。

1937年,荷兰植物学家温特(Went)发现B族维生素和生长素对植物根的生长具有促进作用。1937—1938年,法国科学家高特里特(Gautheret)和诺比考特(Nobercourt)几乎同时离体培养了胡萝卜组织,并使细胞成功增殖。因此,温特(Went)、高特里特(Gautheret)和诺比考特(Nobercourt)一起成为植物组织培养的奠基人。

1948年,斯库格(Skoog)等发现腺嘌呤可以诱导芽的形成,并认为腺嘌呤和生长素的比例是控制芽形成的重要因素。1956年,米勒(Miller)等从鱼精子中分离得到比腺嘌呤活性高的激动素,并与斯库格(Skoog)一起提出了植物激素控制器官形成的观点,认为生长素与分裂素比例是控制植物细胞分化的关键:当生长素与分裂素比例高时利于根的生长,比例低时利于芽或茎的分化,比例相当时利于保持分裂但无分化的状态。这个规律的发现极大地推动了植物组织培养技术的发展。

1958年,史都华德(Steward)和赖纳特(Reinert)发现胡萝卜的体细胞可以分化成体细胞胚,这成为植物组织培养领域的一个重大突破,也进一步验证了细胞全能性学说。

1.2.2 诞生期

1956—1959年,斯沃尔(Swarup)利用低温处理三棘刺鱼获得了三倍体,并饲养至性成熟。

1959年,美籍华人科学家张明觉首次获得了第一个体外受精动物——试管兔。

1962年,凯普斯提克(Capstick)等成功地进行了仓鼠肾细胞的悬浮培养,为动物细胞大规模培养技术的建立提供了基础。

1958年,日本学者冈田发现经过紫外线灭活的仙台病毒可以引起艾氏腹水瘤细胞的融合。1965年,哈里斯(Harris)和沃特金斯(Watkins)进一步证明灭活的病毒在适当条件下可以诱导动物细胞的融合。亲缘关系较远的不同种的动物细胞,也可以被诱导融合;形成的融合细胞在适宜的条件下可以继续存活下去。至此,动物细胞融合技术已经初步建

立起来。

植物方面,1960年,兰花等植物无性繁殖获得成功,开辟了利用植物组织培养快速繁殖植物的有效途径。1960年,科金(Cocking)应用真菌纤维素酶酶解的方法成功地大量制备出番茄根部和烟草叶片细胞的原生质体,使植物细胞融合有了原料保证。20世纪70年代初,华裔加籍科学家高国楠发现聚乙二醇可以促使植物原生质体融合,因此,植物细胞融合技术初步建立。

1953年,沃森(Watson)和克里克(Crick)提出DNA双螺旋结构模型,标志着分子生物学诞生。1965年,德侬贝提斯(Derobetis)将其编著的“普通生物学”改为“细胞生物学”是细胞生物学诞生的一个标志。分子生物学、细胞生物学等学科的发展为细胞工程诞生提供了理论基础。随着动植物组织培养、细胞融合技术的不断完善,以及在细胞核移植、动物克隆、三倍体育种、体外受精等方面的尝试,最终推动了20世纪70年代前后细胞工程这门新兴学科的形成。

1.2.3 快速发展期

20世纪70年代开始,随着细胞生物学、发育生物学、生物化学、分子生物学、遗传学等学科发展和研究的日益深入,细胞工程进入快速发展阶段,技术不断完善。

植物方面,1972年,美国科学家卡尔森(Carlson)等人用 NaNO_3 作为融合诱导剂进行烟草原生质体融合,获得了世界上第一个体细胞杂种植株。1973年,利希(Nitsh)采用花药培养获得了烟草植株。1973年,古谷树里(Furuya)等通过培养人参细胞生产人参皂苷,开创了植物活性物质生产的新途径。1973年,农杆菌Ti质粒的发现极大地促进了植物转基因的研究,许多抗虫、抗除草剂的转基因植物相继问世,利用转基因植物生物反应器生产药物、色素、食品添加剂、酶、农药等产品的努力也取得了较大进展。

动物方面,1973年,童第周等在金鱼和鲟鳊鱼间成功进行核移植获得了种间杂种鱼。1975年,科勒(Kohler)和米尔斯坦(Milstein)成功构建能分泌单克隆抗体又能体外大量增殖的杂交瘤细胞,从而建立了小鼠淋巴细胞杂交瘤技术。1977年,英国采用胚胎工程技术成功培育出世界首例试管婴儿。1981年,埃文斯(Evans)和科夫曼(Kanfan)成功地分离到小鼠胚胎干细胞。1983年,帕尔米特(Palmiter)和布林斯特(Brinster)将大鼠生长素基因转入小鼠培育出生长快的超级小鼠。1984年,丹麦科学家维拉德森(Villadsen)成功利用胚胎细胞克隆出一只绵羊,这是首次证实的通过核移植技术克隆的哺乳动物。1987年,戈登(Gordon)获得分泌组织纤溶酶激活因子tPA的转基因小鼠,之后,转基因羊、牛、猪的乳腺生物反应器相继获得成功。目前,已经利用动物乳腺生物反应器生产出了凝血因子IX与XIII、抗胰蛋白酶、红细胞生成素等;利用动物细胞大规模培养已经制备出干扰素、疫苗、单克隆抗体等药物。

1981年,齐默曼(Zimmerman)利用可变电场诱导原生质体融合,建立了细胞融合物理方法,进一步完善了细胞融合技术。

1987年,美国科学基金会提出组织工程(tissue engineering)概念,目前,细胞疗法、组织修复和人造组织器官已经成为当今生物与医学结合的热点领域。

1997年,英国利用成年动物体细胞克隆出绵羊“多莉”,证明了高等动物体细胞核的全

能性,这是细胞工程历史上的一个里程碑式的成果。之后,小鼠、牛、猪等均成功获得了体细胞克隆后代。

1998年,美国科学家成功分离建立了人的胚胎干细胞系,极大地促进了干细胞研究热点的形成。

近年来,组织工程、干细胞、体细胞克隆、转基因动物等获得了巨大突破,使细胞工程成为现代生物技术与生命科学的前沿和热点领域之一。



思考题 2: 举例说明细胞工程的最新进展。

1.3 细胞工程的应用

细胞工程的应用领域非常广泛,涉及农业、食品、医药、化工与能源等许多方面。

1.3.1 动植物快速繁殖

通过细胞工程技术繁殖自然界现有的优良动植物是细胞工程的一个重要研究内容。主要是指采用细胞工程技术实现优良动植物的快速繁殖以及濒危物种的保护。主要技术包括:试管植物、人工种子、试管动物、克隆动物等。例如:通过植物组织培养技术实现了一些有价值的苗木、花卉、药材和濒危植物的快速、大量繁殖。采用胚胎工程技术进行优良动物品种的快速繁殖已经产生了可观的经济效益。利用体外受精、胚胎移植、克隆等细胞工程技术进行大熊猫、东北虎等濒危灭绝动物的繁殖与保护具有重要意义。“试管婴儿”人工助孕技术已经为一些家庭的幸福做出了贡献。

1.3.2 新品种培育

通过细胞工程技术对现有生物的遗传性状进行改良和培育新型物种一直是细胞工程的一个重要研究内容和发展动力。主要是指在细胞、细胞器、染色体、细胞核或组织水平上进行遗传性状改良或培育出生物新品种。具体的细胞工程育种技术包括细胞水平上的原生质体诱变、细胞融合技术,细胞器水平上的细胞重组,染色体水平上的多倍体、单倍体育种,以及雌(雄)核发育,胚胎嵌合等。利用细胞融合技术可以对不同种、属间的细胞或原生质体进行融合以获得杂种细胞,使不同种、属的优良性状组合在一起。此外,通过染色体人工诱变、胚胎嵌合等技术也能创造具有新遗传性状的生物个体。

1.3.3 细胞工程生物制品

利用动植物细胞、组织培养或者转基因动植物生物反应器生产生物制品是现代细胞工程的一个代表性领域,主要包括食品、药物、生物能源等。

动植物来源的生物制品一般采用收集原料、化学提取的方法,受资源、土地、气候、环境等条件限制,因此很难保证充足的产量和高的质量。基于细胞培养的生物制品生产不受气