



湖北省“十一五”重点图书出版规划项目

# 昆虫

## 细胞生物技术

彭建新 杨红 洪华珠 编著



华中师范大学出版社

湖北省“十一五”重点图书出版规划项目

# 昆虫细胞生物技术

彭建新 杨 红 洪华珠 编著



华中师范大学出版社

2010年·武汉

## 内 容 提 要

全书内容包括昆虫细胞培养、昆虫细胞系的生理与发育能力、昆虫神经细胞的离体培养及其应用、离体昆虫细胞对胁迫因子的抗性、杆状病毒表达载体介导外源基因在昆虫细胞中的表达、从昆虫细胞诱导抗菌肽、昆虫细胞在病毒研究中的应用、昆虫细胞大规模培养及其应用、昆虫细胞在苏云金杆菌毒素研究中的应用等。

本书可供生物学专业、农林院校植物保护专业的教师、研究生和相关研究人员阅读与参考。

## 新出图证(鄂)字 10 号

### 图书在版编目(CIP)数据

昆虫细胞生物技术/彭建新 杨红 洪华珠 编著.  
—武汉:华中师范大学出版社,2010.12

ISBN 978-7-5622-4260-4

I. ①昆… II. ①彭… ②杨… ③洪… III. ①昆虫—细胞生物学 IV. ①Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 054213 号

## 昆虫细胞生物技术

编著:彭建新 杨红 洪华珠 ©

责任编辑:肖颖

责任校对:张晶晶

封面设计:罗明波

选题策划:华中师范大学出版社文字编辑室

电话:027-67863220

出版发行:华中师范大学出版社

地址:湖北省武汉市珞喻路 152 号 邮编:430079

电话:027-67863426/67867371/67861549/67867076/67863040(发行部)

传真:027-67863291

027-67861321(邮购)

网址:<http://www.ccunpress.com> 电子信箱:hscbs@public.wh.hb.cn

印刷:湖北恒泰印务有限公司

督印:章光琼

字数:346千字

开本:880mm×1230mm 1/32 印张:12

版次:2010年12月第1版

印次:2010年12月第1次印刷

印数:1-1500

定价:30.00元

欢迎上网查询、购书

# 前 言

自第一株昆虫细胞系建立以来，以昆虫细胞培养、杆状病毒载体/昆虫细胞表达系统为核心的昆虫细胞生物技术得到迅速发展。由于昆虫细胞培养技术、培养基配方的不断完善，昆虫细胞系的建立似乎变得容易起来，目前世界上已经建立了 500 余株各种不同类型昆虫的细胞系，这些细胞系被广泛用于昆虫分子生物学、昆虫细胞生物学、昆虫生理学、昆虫病毒学等的研究。杆状病毒载体/昆虫细胞表达系统的创立不仅促进了昆虫细胞生物技术自身的蓬勃发展，同时对基因工程、细胞工程等生物学、医学诸多领域产生重要影响。数百种真核或原核基因在该系统获得高水平表达；杆状病毒介导外源基因在哺乳动物细胞中的表达，显示出其作为基因治疗载体的重要应用潜力；多种利用昆虫细胞表达生产的人类疫苗和家畜疫苗的上市或正在进行的临床实验，展现出这类新型疫苗的广阔应用前景。昆虫细胞大规模培养技术、工艺的发展和优化为规模化表达和生产外源蛋白奠定了基础，同时也为利用昆虫细胞大量生产病毒杀虫剂提供了可能。

作者所在的华中师范大学昆虫研究所长期从事昆虫细胞培养和与之相关的研究工作，形成了以开发昆虫细胞培养技术，建立昆虫细胞株系，构建昆虫细胞—病原微生物模式系统为基础，利用昆虫细胞生物技术从不同层次、不同水平研究不同昆虫病原微生物的侵染途径、致病机制和规律以及病原微生物与宿主相互关系的研究特色，并有一定的研究积累和沉淀。我们一直希望编撰一部反映昆虫细胞生物技术的出版物，介绍该领域的研究、成果与发展。如今该书如愿出版，欣喜之余，我们更希望它在加深人们对昆虫细胞生物技术的了解和推动

我国在这一领域的发展方面有所帮助。

本书是作者在多年从事昆虫细胞生物技术研究和应用的基础上，结合该领域的发展撰写的，较为系统和全面地介绍了昆虫细胞生物技术的基本理论、应用与新成果。全书内容包括昆虫细胞培养、昆虫细胞系的生理与发育能力、昆虫神经细胞的离体培养及其应用、离体昆虫细胞对胁迫因子的抗性、杆状病毒表达载体介导外源基因在昆虫细胞中的表达、从昆虫细胞诱导抗菌肽、昆虫细胞在病毒研究中的应用、昆虫细胞大规模培养及其应用、昆虫细胞在苏云金杆菌毒素研究中的应用等，涉及当今昆虫细胞生物技术的主要研究和知识领域。

本书第1、2章由彭建新教授撰写，第3、4章由洪华珠教授撰写，第5、6、7、8章由杨红副教授撰写。

限于专业水平和写作技能，书中错误和遗漏之处在所难免，恳请同行和读者不吝指正。

编著者

2010年6月

# 目 录

1 昆虫细胞培养 .....	(1)
1.1 昆虫细胞培养的基础知识 .....	(2)
1.1.1 细胞培养的一些基本概念 .....	(2)
1.1.2 细胞的形态 .....	(4)
1.1.3 细胞生长和增殖过程及其特点 .....	(6)
1.2 昆虫细胞培养基与平衡盐溶液 .....	(10)
1.2.1 平衡盐溶液 .....	(10)
1.2.2 培养基 .....	(11)
1.3 昆虫细胞培养基本技术 .....	(29)
1.3.1 基本操作技术 .....	(29)
1.3.2 原代培养 .....	(32)
1.3.3 传代培养 .....	(35)
1.3.4 细胞的冻存与复苏 .....	(38)
1.3.5 影响昆虫细胞增殖的环境因素 .....	(40)
1.4 昆虫细胞培养常规研究方法 .....	(42)
1.4.1 细胞形态观察 .....	(42)
1.4.2 细胞生长的动力学研究 .....	(43)
1.4.3 细胞活力测定 .....	(45)
1.4.4 细胞的克隆 .....	(46)
1.4.5 细胞染色体分析 .....	(48)
1.4.6 细胞的同工酶测定 .....	(50)

1.4.7	DNA 分子标记技术 .....	(53)
1.5	常用的昆虫细胞系及其特性 .....	(56)
1.5.1	昆虫细胞系的命名 .....	(56)
1.5.2	常用的昆虫细胞系及其特性 .....	(58)
1.5.3	我国建立的昆虫细胞系 .....	(61)
	主要参考文献 .....	(64)
2	昆虫细胞系的生理与发育能力 .....	(70)
2.1	细胞的内分泌 .....	(70)
2.1.1	蜕皮甾类激素的合成和代谢 .....	(70)
2.1.2	蜕皮甾类激素的作用 .....	(72)
2.2	形态发生 .....	(79)
2.2.1	形态的调节 .....	(79)
2.2.2	发育因子来源的细胞系 .....	(82)
	主要参考文献 .....	(82)
3	昆虫神经细胞的离体培养及其应用 .....	(86)
3.1	昆虫神经细胞培养 .....	(86)
3.1.1	昆虫神经细胞培养方法 .....	(87)
3.1.2	离体培养神经细胞的类型和细胞形态 .....	(87)
3.2	神经细胞的生理学 .....	(90)
3.2.1	昆虫器官培养——脑与神经分泌 .....	(90)
3.2.2	离子通道与离子电流 .....	(93)
3.3	神经系统发育生物学 .....	(97)
3.3.1	神经的发生与分化 .....	(97)
3.3.2	神经递质表型的发育 .....	(99)
3.3.3	突触的发生 .....	(100)
3.3.4	轴突生长 .....	(101)
3.3.5	神经胶质细胞的培养与作用 .....	(102)
3.4	神经细胞受体的药理学 .....	(104)
3.5	神经细胞与靶细胞的共培养及其相互作用 .....	(106)

---

主要参考文献 .....	(108)
<b>4 离体昆虫细胞对胁迫因子的抗性 .....</b>	<b>(114)</b>
4.1 昆虫细胞对 X 射线和 $\gamma$ 射线的抗性 .....	(115)
4.1.1 昆虫细胞的相对抗性 .....	(115)
4.1.2 DNA 的修复 .....	(116)
4.1.3 细胞的恢复及其过程 .....	(121)
4.2 昆虫细胞对紫外线的抗性 .....	(126)
4.2.1 昆虫细胞的相对抗性 .....	(126)
4.2.2 DNA 的修复 .....	(127)
4.2.3 细胞的恢复及其过程 .....	(128)
4.3 昆虫细胞对化学因子的抗性 .....	(129)
4.3.1 昆虫细胞的相对抗性 .....	(129)
4.3.2 DNA 的修复 .....	(130)
4.3.3 细胞的恢复及其过程 .....	(130)
4.4 昆虫细胞对热的抗性 .....	(131)
4.4.1 昆虫细胞的相对抗性 .....	(131)
4.4.2 细胞恢复过程 .....	(132)
4.4.3 分子恢复过程 .....	(133)
4.5 胁迫敏感突变体细胞 .....	(134)
4.5.1 突变体细胞的分离 .....	(134)
4.5.2 胁迫敏感突变体细胞的特性 .....	(134)
主要参考文献 .....	(135)
<b>5 杆状病毒表达载体介导外源基因在昆虫细胞中的表达 .....</b>	<b>(138)</b>
5.1 杆状病毒及其基因组 .....	(138)
5.1.1 杆状病毒的分类及其生物学特征 .....	(138)
5.1.2 杆状病毒的基因组及基因 .....	(141)
5.1.3 杆状病毒基因表达 .....	(143)
5.2 杆状病毒表达载体系统 .....	(145)
5.2.1 杆状病毒表达载体的特性 .....	(145)



5.2.2	重组杆状病毒的构建原理 .....	(146)
5.2.3	转移载体 .....	(147)
5.2.4	插入重组杆状病毒中的外源基因 .....	(148)
5.2.5	用于驱动外源基因表达的启动子 .....	(148)
5.3	重组杆状病毒的构建方法 .....	(149)
5.3.1	转移载体的构建 .....	(149)
5.3.2	转移载体与病毒共转染 .....	(152)
5.3.3	重组病毒的分离、筛选与鉴定 .....	(155)
5.4	杆状病毒表达载体的应用 .....	(156)
5.4.1	外源蛋白的高效表达 .....	(156)
5.4.2	基于杆状病毒表达载体的重组病毒杀虫剂 .....	(160)
5.4.3	基于杆状病毒载体的基因治疗 .....	(166)
	主要参考文献 .....	(172)
6	从昆虫细胞诱导抗菌肽 .....	(176)
6.1	抗菌肽及其类型 .....	(177)
6.1.1	天蚕素类 .....	(177)
6.1.2	昆虫防御素 .....	(178)
6.1.3	富含脯氨酸的抗菌肽 .....	(178)
6.1.4	富含甘氨酸的抗菌肽 .....	(179)
6.2	抗菌肽的功能及作用方式 .....	(179)
6.2.1	抗菌肽的功能 .....	(179)
6.2.2	抗菌肽作用机制 .....	(185)
6.3	抗菌肽的基因及其表达 .....	(191)
6.3.1	抗菌肽的基因和基因组织 .....	(192)
6.3.2	抗菌肽基因的表达与调控 .....	(196)
6.4	利用昆虫离体细胞诱导抗菌肽 .....	(200)
6.4.1	昆虫细胞与表达抗菌肽 .....	(200)
6.4.2	昆虫细胞抗菌肽诱导和分离 .....	(205)

---

主要参考文献	(210)
7 昆虫细胞在病毒研究中的应用	(216)
7.1 昆虫细胞对病毒的敏感性	(216)
7.2 病毒的离体复制	(219)
7.2.1 核型多角体病毒的离体复制	(219)
7.2.2 颗粒体病毒的离体复制	(225)
7.2.3 质型多角体病毒的离体复制	(230)
7.2.4 其他病毒的离体复制	(233)
7.3 病毒基因的表达与调控	(237)
7.3.1 杆状病毒基因的表达	(237)
7.3.2 杆状病毒基因表达的细胞因子	(240)
7.4 病毒与宿主细胞的相互关系研究	(244)
7.4.1 病毒诱导细胞凋亡	(244)
7.4.2 病毒复制与细胞周期	(256)
7.4.3 病毒复制与细胞骨架	(259)
主要参考文献	(265)
8 昆虫细胞大规模培养及其应用	(271)
8.1 昆虫细胞和表达载体的选择	(271)
8.2 昆虫细胞代谢	(276)
8.3 昆虫细胞大规模培养方法与大规模培养	(279)
8.3.1 滚瓶培养	(279)
8.3.2 昆虫细胞的微载体及其他固定化培养	(280)
8.3.3 转瓶培养	(284)
8.3.4 摇瓶培养	(287)
8.3.5 生物反应器培养	(288)
8.3.6 影响昆虫细胞增殖的理化因素	(297)
8.4 昆虫细胞大规模培养的应用	(307)
8.4.1 外源蛋白的生产	(307)
8.4.2 病毒的生产	(316)

---

主要参考文献·····	(319)
<b>9 昆虫细胞在苏云金杆菌毒素研究中的应用</b> ·····	<b>(326)</b>
9.1 苏云金杆菌毒素·····	(326)
9.1.1 苏云金杆菌毒素及其性质·····	(326)
9.1.2 昆虫细胞对苏云金杆菌毒素的敏感性·····	(330)
9.2 苏云金杆菌毒素的细胞病理研究·····	(335)
9.2.1 鳞翅目昆虫细胞·····	(336)
9.2.2 双翅目昆虫细胞·····	(339)
9.3 苏云金杆菌毒素作用机制·····	(341)
9.4 利用昆虫细胞研究苏云金杆菌抗性·····	(349)
9.4.1 昆虫对苏云金杆菌的抗性·····	(349)
9.4.2 抗性细胞的建立和筛选·····	(350)
9.4.3 抗性成因和机制·····	(355)
9.5 基于昆虫细胞的苏云金杆菌毒素测定技术·····	(364)
9.5.1 草坪测定·····	(364)
9.5.2 Bt 杀虫剂的离体细胞生物测定·····	(366)
主要参考文献·····	(369)

# 1 昆虫细胞培养

昆虫细胞培养是昆虫学研究的核心技术，它广泛应用于昆虫生理学、昆虫病理学、昆虫毒理学、昆虫分子生物学、昆虫遗传学、昆虫发育生物学等领域。特别是杆状病毒载体/昆虫细胞表达系统的创立，使得昆虫细胞培养技术的应用范围得到极大的扩展。昆虫细胞培养具有较长的发展历史，最早要追溯到 1915 年 Goldschmidt 所进行的天蚕蛾 (*Antheraea eucalypti*) 精巢的体外器官培养。Goldschmidt 利用简单的培养基 (主要是去细胞的昆虫血淋巴) 培养天蚕蛾精巢并观察了其体外发育，在此条件下昆虫组织可保持数周的活性 (Goldschmidt, 1915)。Trager 在分析昆虫血淋巴的组分的基础上，设计了多种培养基，并且用这些培养基培养了家蚕的卵巢组织，观察到细胞有丝分裂 (Trager, 1935)。Wyatt 详细分析了昆虫血淋巴的化学组成，设计了一种培养基，用这种培养基培养的家蚕细胞可存活 3 周以上，同时还观察到细胞的分裂 (Wyatt, 1956)。1962 年，澳大利亚的 Grace 在 Wyatt 设计的培养基配方中添加了 10 种维生素、三羧酸循环中的一些中间产物并提高蔗糖浓度以增大渗透压，利用这种改良的培养基培养天蚕蛾滞育蛹卵巢细胞获得成功，在世界上首次建立了 4 株昆虫细胞系 (Grace, 1962)。自此以后，昆虫细胞培养得到快速发展，目前已经建立了 500 余株细胞系 (Lynn, 2001)，昆虫细胞库仍不断扩大，昆虫细胞培养技术日臻成熟和完善，已成为昆虫生物技术中具有支配性地位的技术。本章重点介绍与昆虫细胞培养相关的一些基础知识、昆虫细胞培养的基本技术与原理等。

## 1.1 昆虫细胞培养的基础知识

尽管昆虫细胞培养有其自身的特点，但是昆虫细胞体外培养的基本技术方法和理论依据与哺乳动物细胞或其他脊椎动物细胞培养是相似的，不同动物细胞培养有相似的理论基础。这里介绍动物细胞培养的一些基本知识。

### 1.1.1 细胞培养的一些基本概念

细胞培养 (cell culture)：是指将细胞从有机体中取出，在体外给予必要的生长条件，让其在培养瓶中继续生长与增殖，并保留一定的结构和功能特征。与细胞培养相关的两个术语是组织培养 (tissue culture) 和器官培养 (organ culture)。细胞培养、组织培养和器官培养在培养对象、目的和培养结果上存在差异。细胞培养使用的是单个细胞悬液，组织培养使用的是组织块，器官培养使用的是器官原基或器官的一部分抑或整个器官。细胞培养是使细胞在体外生长增殖，细胞不再形成组织。组织培养是保持组织在体外的生存或由细胞生长成为组织，组织培养物无器官功能。但在组织培养中，细胞常常自组织块周围迁移并生长，这样就使得培养的组织难以维持原有的结构和功能。培养时间越长，发生变化的可能性越大，其结果是单一类型的细胞保存下来，最终成了细胞培养。所以，细胞培养与组织培养界限在实践层面上比较模糊，除非有严格的培养目标要求。而器官培养物为一完整的器官或具有完整功能的某一器官的一部分，被培养的器官在体外存活较长的时间，保持相对正常的功能，器官内的细胞有正常的代谢甚至增殖，但器官培养不能有数量的增加，即不能由一个变为多个。由于历史的原因，有时人们把细胞培养、组织培养和器官培养统称为组织培养。

原代培养 (primary culture)：从直接取自生物体的细胞、组织或器官开始的培养，或者说首次成功传代培养之前的培养，可以认为是原代培养。任何动物细胞培养都是从原代培养开始的，原代培养的

细胞也叫原代细胞。原代细胞离体时间短，具有二倍遗传性，在一定程度上反映体内生长特性。但在原代培养时间上，不同动物、不同细胞类型差异较大。一般来讲，分化程度低的细胞、幼龄动物组织细胞以及肿瘤细胞容易培养，更容易传代。原代培养成功与否，与动物组织类型及分化程度、供体年龄、原代培养方法和条件以及实验操作者的经验和水平有关。

**传代培养 (subculture, passage):** 将细胞从一个培养容器转移或者移植到另一个培养容器，即称为传代培养。当原代培养成功后，细胞分裂增殖，细胞数量增加，贴壁生长细胞扩展连接成片，占满培养容器表面，这时需要分离细胞重新培养。由原代培养进行第一次传代培养十分关键，因为它可能涉及新的细胞系的诞生或夭折，因此，对原代培养细胞传代时机的把握十分重要，既要控制好细胞密度，又要使细胞保持良好的生长状态。通常传代培养更多的是指细胞株系的常规传代培养。

**细胞系 (cell line):** 原代培养物经首次传代成功之后，即成为细胞系。如果不能继续传代或传代有限，称为有限细胞系 (finite cell line); 如果可以连续传代，则称为连续细胞系 (continuous cell line)。由于细胞冻存技术的发展和应用，即便是有限细胞系也可以长期保存和利用。

**细胞株 (cell strain):** 通过选择法或克隆形成法，从原代培养物或细胞系中获得具有特殊性质或标志的细胞，即为细胞株，细胞的这些特性在以后的培养中必须持续存在。这些特性包括具有一定的标记染色体，对病毒具有敏感性或抗性，具有特殊的抗原性，对氨基酸敏感等。

**克隆 (clone):** 是指由一个单一细胞通过有丝分裂发展而来的一群细胞，这一群细胞的集合体就叫克隆细胞。细胞克隆常用的方法是有限稀释法、平皿克隆分离法、软琼脂克隆分离法等。克隆细胞一般从原代或者早期传代细胞中获得，因为随着细胞传代次数的增加，细胞类型趋向单一，失去克隆的意义。

## 1.1.2 细胞的形态

体外培养的动物细胞依据它们是否贴附在支持物表面生长而分为贴附型细胞和悬浮型细胞。有机体的细胞，因来源的组织、器官不一样，细胞形态有很大的差异。而离体培养的动物细胞一般并不保持体内原有细胞形态，表现形态的单一化现象。但体外培养的动物细胞常常反映其胚胎起源。如来源于内胚层的细胞多呈上皮型细胞形态，来源于中胚层的细胞多呈成纤维样细胞形态。

### (1) 贴附型细胞形态

体外贴附型细胞形态大致可分为以下几类。

**成纤维型细胞（成纤维样细胞）：**细胞的形态与体内成纤维细胞形态相似，细胞呈长梭形或不规则三角形。中央有卵圆形细胞核，细胞质向外伸出1~3个长短不同的突起，细胞生长时多呈放射火焰状或旋涡状造型。除了真正的成纤维细胞外，凡中胚层起源的组织的细胞，如心肌、平滑肌、成骨细胞、血管内皮细胞等也常呈成纤维样细胞形态（如图1-1A）。成纤维型细胞只是一个广义的称谓，并不能严格地用来鉴定细胞的组织来源，只是体外培养的细胞，凡形态与成纤维细胞相类似的细胞都称为成纤维型细胞。

**上皮型细胞：**体外培养的这类细胞泛指那些形态上类似上皮细胞的细胞。上皮细胞呈扁平状，形态较为规则，细胞贴壁后呈三角形或不规则扁平的多角形，中央有扁圆形核，细胞之间紧密连接，成片生长增殖，很少脱离细胞群单独活动。一般来源于内胚层和外胚层组织的细胞多呈上皮型，如皮肤表皮细胞、消化道上皮细胞、肝胰和肺泡上皮细胞等。许多培养的昆虫细胞呈上皮型细胞形态（如图1-1B），例如斜纹夜蛾（*Spodoptera litura*）细胞SL-ZSU-1主要是上皮型细胞，另一株斜纹夜蛾细胞NIV-SU-992则94%是上皮型细胞（Sudeep and Banerjee, 1997）。

**游走型细胞：**本型细胞在支持物上生长一般不连接成片，散在生长，细胞多呈梭形或卵圆形，细胞质常伸出伪足或突起，活跃游走或变形运动。在细胞密度增大连接成片时，可呈多角形，因培养条件的

变化也可呈纤维细胞形态。所以此类细胞形态不稳定。

**多形型细胞：**多形型细胞是一些形态不规则的细胞，但它不像成纤维细胞那样不规则形态是由扁宽的胞质突起所致，而是一般分胞体和胞突两部分。其中胞突为细长形，类似丝状伪足；胞体虽然也略呈多角形，但没有成纤维细胞那样不规则。多形型细胞不常见，只有像神经组织细胞等难以确定其稳定形态的才归入多形型细胞。体外培养呈现多形型细胞形态最常见的是神经元和神经胶质细胞（如图 1-1C）。

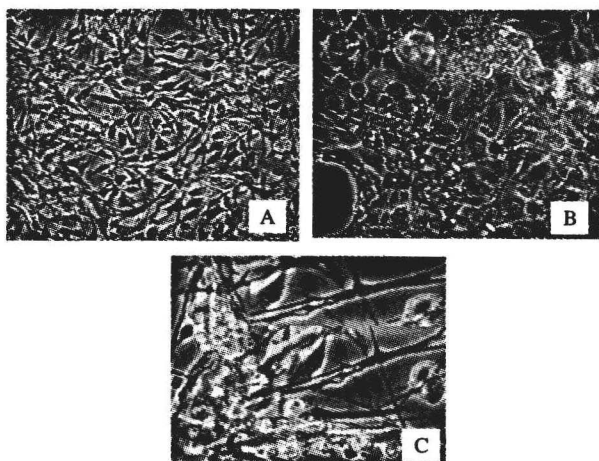


图 1-1 离体培养细胞的形态

A. 烟夜蛾胚胎细胞 B. 地中海粉蛾胚胎细胞 C. 苹果小蠹蛾神经细胞

## (2) 悬浮型细胞

此类细胞体外生长不必贴壁，可在培养液中悬浮生长。悬浮型细胞一般呈圆球形，也有呈梭形。悬浮型细胞由于悬浮生长，细胞密度一般较高，培养效率也高，操作容易，易于大规模培养。贴附型细胞也可以经过适应性培养后，转变为悬浮培养。

体外培养细胞的形态，在一般情况下，可以作为判定和识别体外培养细胞的生物学性状的一项参考指标，但需要指出的是，它并不能确定细胞的准确来源或类型。细胞的形态受培养条件的影响。当细胞



处于好的、适宜的培养条件时细胞的形态相对稳定，但是当培养条件发生改变时，如温度的波动、pH的改变、血清的浓度或质量的变化、气相环境的改变等，可使细胞形态发生变化。比如Hela细胞本属于上皮型细胞，但在过酸或过碱的条件下培养，可变成梭形，pH适宜时又可以恢复上皮型细胞特征。另外，细胞密度也可以改变细胞形态。细胞密度不大时，细胞呈星形或三角形；细胞密度增大时，细胞上皮形或多角形形态特征才明显。所以，如果要确定培养物的确切细胞类型，须借助于特异性的鉴定方法。

### 1.1.3 细胞生长和增殖过程及其特点

细胞生长是指细胞体积增大（物质积累），细胞增殖是指细胞通过分裂而使细胞数量增加。活体细胞生活在动态平衡过程中，而离体培养细胞生活在容器中，其生存空间和营养都是有限的，当细胞增殖达到一定密度后，则需要更换培养基并分离一部分细胞到新的培养容器中去，否则会影响细胞的生长增殖。细胞培养的目的是收获细胞本身或获得细胞代谢产物，因此，了解和认识细胞生长增殖过程和规律，掌握其调节机制是十分重要的。

#### (1) 培养细胞的生命期

培养细胞的生命期（life span of culture cell）是指细胞在体外培养过程中持续生长和增殖的时期。有机体内细胞的生存期与整个有机体的衰老和死亡的时期是一致的。但是体外培养细胞的生命期却比较复杂，与细胞的类型、性状、供体的年龄等因素有关。例如，人胚二倍体成纤维细胞在连续传代情况下，大约可以传30~50代，能够维持一年左右的时间，最后衰老凋亡。如果供体是成体或衰老个体，则生存时间明显缩短。如果取自分化程度较高的组织细胞，像肝、肾细胞等，生存时间更短，仅能传几代或十几代。只有当细胞遗传性状改变后，如染色体发生突变或细胞恶性转化，细胞的生命期才发生改变。在正常细胞培养时，无论细胞的种类和供体的年龄怎样，细胞的生命期大致经历三个阶段（如图1-2）。

原代培养期：原代培养期是指从体内取出组织接种培养到第一次