

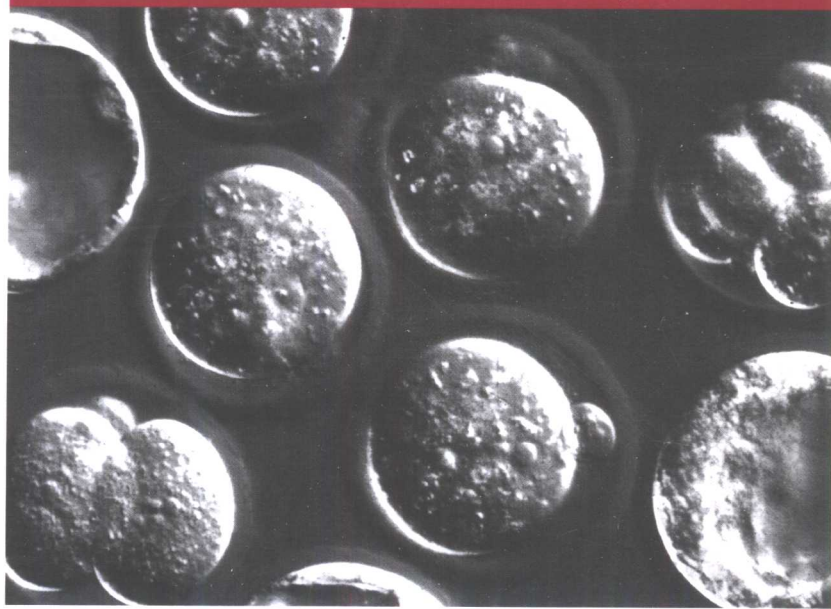
生物实验室系列

转基因动物 技术手册

Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook

(原著第二版)

[美] 卡尔 A. 平克尔特 编 劳为德 译



Chemical Industry Press



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

生物实验室系列

转基因动物技术手册

Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook

(原著第二版)

[美] 卡尔 A. 平克尔特 编
劳为德 译



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

转基因动物技术手册/[美]卡尔 A. 平克尔特编(Pinkert, C. A.); 劳为德译. —北京: 化学工业出版社, 2004. 7
(生物实验室系列)
书名原文: Transgenic Animal Technology
ISBN 7-5025-5807-1

I. 转… II. ①平…②劳… III. 动物-外源-遗传工程-生物技术-手册 IV. Q953-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 073906 号

Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook, Second Edition/by Carl A. Pinkert
ISBN 0-12-557166-6
Copyright © 2003 by Elsevier Inc. Translation Copyright © 2004 by Chemical Industry Press. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by Elsevier Inc.
本书中文简体字版由 Elsevier Inc. 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。
未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2003-5529

生物实验室系列

转基因动物技术手册

(原著第二版)

[美] 卡尔 A. 平克尔特 编

劳为德 译

责任编辑: 杨燕玲

责任校对: 吴桂萍

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行

现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 31 字数 618 千字

2004 年 9 月第 1 版 2004 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5807-1/Q·104

定 价: 75.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和发展了实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化工出版社组织出版了“生物实验室系列图书”。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。而单项实验技术则以深入介绍某一专项技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列图书”的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域（如医学、药学、农学）的专业研究人员，企业或公司的生产、研发、管理技术人员，以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列图书”的出版能够服务于我国生命科学的发展需要，同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅对已出版图书提供宝贵意见和建议，也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者，以便我们能够集思广益，将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种，推陈出新。

**谨向所有关心和热爱生命科学，为生命科学的发展孜孜以求的
科学工作者致以崇高的敬意！**

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂，欣欣向荣！

化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

序

转基因动物技术和将功能基因导入动物的技巧是分析复杂的生物学过程的强有力手段。所解决的问题横跨生物医学、生物学应用和农业生产等科学领域。转基因方法学不断发展并已成为一个交叉学科，其被认为是扩充基因表达、调节和功能的工具。关于转基因动物的综述不少，这些综述紧扣研究潮流，对研究者有很大帮助。但是，在这个领域，除了小鼠胚胎学方面的手册，在本手册第一版出版之前，全球知名实验室将其各自学科所采用的方法汇编一册，实属未见。本手册涵盖了动物基因转移技术的各个方面——从分子到个体水平对诸多物种宿主予以详细论述。从这点上说，本手册将成为研发人员间的桥梁，并成为学生以及致力于转基因动物模型系统开发技术人员的培训教材。

在此，我要感谢所有的编写人员以及在第一、二版编写过程中予以大力支持的本实验室人员。在准备再版时，承蒙不少同事协助具体章节的审阅和在出版前补充另外的资料。我尤其要特别感谢 S. Aten, F. F. Bartol, C. A. Cassar, D. A. Dunn, C. L. Donegan, H. J. Federoff, R. Forster, R. L. Howell, C. A. Ingraham, M. H. Irwin, B. G. Kavanaugh, J. B. Knibbs, D. L. Kooyman, M. J. Martin, M. B. Nottle, C. Ovitt, D. A. Pearce, W. D. Pogozelski, I. A. Trounce, W. H. Velander 和 R. J. Wall。最后，我要感谢 Academic Press 的 K. N. Gracy 和 P. Gottehrer 的顾恤和辅助，大大推动了第二版的出版。

愿将此书奉献给 Katie Claire 和 Grant 及胚胎学所仰赖的技术发展与应用。

卡尔 A. 平克尔特
于纽约州罗彻斯特
Carl A. Pinkert
Rochester, New York

原著编写人员

Anna V. Anagnostopoulos, The Jackson Laboratory, Bar Harbor. Maine 04609

J. Attal, Unité de Biologie du Développement et Biotechnologies, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Cedex, France

Amy S. Burnside, Department of Veterinary and Animal Sciences. University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts 01003

A. W. S. Chan, Yerkes National Primate Research Center, Department of Human Genetics, School of Medicine, Emory University, Atlanta, Georgia 30322

K. Y. Chong, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Science, Pittsburgh Development Center (PDC), Magee-Women's Research Institute, Pittsburgh, Pennsylvania 15213

Muriel T. Davisson, The Jackson Laboratory, Bar Harbor. Maine 04609

Thomas Doetschman, Department of Molecular Genetics Biochemistry and Microbiology, University of Cincinnati College of Medicine. Cincinnati. Ohio 45267

H. H. Döpke, Department of Biotechnology, Institut für Tierzucht und Tierverhalten (FAL), Mariensee, 31535 Neustadt, Germany

Vasiliy Galat, Department of Pediatrics, Northwestern University Medical School and Children's Memorial Institute for Education and Research. Chicago. Illinois 60614

Robert A. Godke, Embryo Biotechnology Laboratory, Department of Animal Science, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana 70803

K. G. Haderl, Department of Biotechnology, Institut für Tierzucht und Tierverhalten (FAL), Mariensee, 31535 Neustadt, Germany

L. M. Houdebine, Unité de Biologie du Développement et Biotechnologies, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Cedex, France

Philip Iannaccone, Department of Pediatrics, Northwestern University Medical School and Children's Memorial Institute for Education and Research, Chicago, Illinois 60614

M. H. Irwin, Department of Genomics and Pathobiology, The University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama 35294

Gilbert Jay, OriGene Technologies, Inc. Rockwell, Maryland 20850

Yoko Kato, Laboratory of Animal Reproduction, College of Agriculture, Kinki University, Nakamachi, Nara, 631-8505 Japan

Teoan Kim, Department of Physiology, Catholic University of Daegu School of Medicine, Daegu 705-034, Republic of Korea

M. J. Martin, Nextran, Inc., Princeton, New Jersey 08540

Larry E. Mobraaten, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine 04609

P. E. Mozdziak, Department of Poultry Science, College of Agriculture and Life Sciences, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina 27695

Lien Ngo, OriGene Technologies, Inc., Rockville, Maryland 20850

H. Niemann, Department of Biotechnology, Institut für Tierzucht und Tierverhalten (FAL), Mariensee, 31535 Neustadt, Germany

Paul A. Overbeek, Department of Molecular and Cellular Biology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77030

Lesley Paterson, Roslin Institute, Midlothian EH25 9PS, Scotland,
United Kingdom

J. N. Petite, Department of Poultry Science, College of Agriculture
and Life Sciences, North Carolina State University, Raleigh, North
Carolina 27695

Jorge A. Piedrahita, Department of Anatomy, Physiology, and Radio-
logy, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina 27695

Carl A. Pinkert, Department of Pathology and Laboratory Medicine,
Center for Aging and Developmental Biology, University of Rochester
School of Medicine and Dentistry, Rochester, New York 14642

H. G. Polites, Aventis Functional Genomics, U. S. Transgenic CoE,
Aventis Pharmaceutical, Inc. , Bridgewater, New Jersey 08807

W. K. Pogozielski, Department of Chemistry, State University of New
York at Geneseo, Geneseo, New York 14454

William Ritchie, Roslin Institute, Midlothian EH25 9PS, Scotland,
United Kingdom

James M. Robl, Hematech, LLC, Worcester, Massachusetts 01605

Edmund B. Rucker III, Animal Sciences Research Center, University of
Missouri-Columbia, Columbia, Missouri 65211

Marina Sansinena, Embryo Biotechnology Laboratory, Department of
Animal Science, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana
70803

G. Schatten, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive
Science, Pittsburgh Development Center (PDC), Magee-Women's
Research Institute, Pittsburgh, Pennsylvania 15213

James G. Thomson, Plant Gene Expression Center, USDA-University
of California, Berkeley, Albany, California 94710

Brad T. Tinkle, OriGene Technologies, Inc. Rockwell, Maryland
20850

Yukio Tsunoda, Laboratory of Animal Reproduction, College of Agriculture, Kinki University, Nakamachi, Nara, 631-8505 Japan

J. L. Vilotte, Unite de Génétique Biochimique et de Cytogénétique. Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Cedex, France

Ian Wilmut, Roslin Institute, Midlothian EH25 9PS, Scotland, United Kingdom

Richard N. Winn, Aquatic Biotechnology and Environmental Laboratory, Warnell School of Forest Resources, University of Georgia, Athens, Georgia 30602

Curtis R. Youngs, Department of Animal Science, Iowa State University, Ames, Iowa 50011

内 容 提 要

转基因动物技术和将功能基因导入动物的技巧是分析复杂的生物学过程的强有力手段，其解决的问题横跨生物医学、生物学应用和农业生产等科学领域。

本手册原著的第一版是世界上第一本由全球知名实验室共同编写的动物转基因技术手册，图文并茂地介绍了各种重要的实验室动物和家养动物物种的基因转移，所阐述的技术方法为全球领先实验室所采用的方法。本手册为第二版，新版在第一版的基础上更新了 80% 的内容，增加了在动物模型系统中广泛应用的诸如显微注射、ES 细胞核转移等基因工程技术。为使读者获得更多的信息和方便从事研究，本手册还全面地提供了目前转基因动物技术的数据库及其网络资源，并对转基因动物的命名进行了详细的说明。

本手册可作为从事动物生物技术研究者的案头指南，同时可作为技术人员、高年级本科生和研究生的培训用书。

目 录

第 1 部分 概述.....	1
1 转基因动物技术导言	3
1.1 引言	3
1.2 历史沿革	3
1.3 本书的应用与纵览	7
参考文献	10
第 2 部分 针对小鼠模型的转基因动物的制作	13
2 DNA 显微注射与转基因动物的制作	15
2.1 引言.....	15
2.2 一般方法.....	16
2.3 总结.....	49
致谢	50
参考文献	50
附录	52
3 影响转基因动物制作的因素.....	57
3.1 引言.....	57
3.2 准备工作.....	58
3.3 故障排除.....	71
3.4 转基因现象学.....	75
3.5 总结.....	83
致谢	83
参考文献	84
4 胚胎干细胞基因打靶：I. 历史与方法学	86
4.1 胚胎的干细胞.....	86
4.2 胚胎干细胞基因打靶.....	93
4.3 方法.....	98
致谢.....	104
参考文献.....	104
5 胚胎干细胞基因打靶：II. 条件性技术	109
5.1 引言	110
5.2 条件性模型建立简史	111
5.3 Cre/loxP 系统综述、建立与检验	111
5.4 Cre/loxP 与转基因模型	113
5.5 方法	123

5.6 总结	128
致谢.....	128
参考文献.....	128
6 逆转录病毒介导的基因转移	134
6.1 引言与讨论	134
6.2 方法	144
致谢.....	147
参考文献.....	147
7 细胞核移植技术	151
7.1 引言与讨论	151
7.2 材料与设备	155
7.3 显微工具的准备	157
7.4 着床前胚胎的细胞核移植	160
7.5 胚胎干细胞和体细胞的细胞核移植	171
致谢.....	175
参考文献.....	175
第3部分 实验和家养转基因物种的制作	177
8 转基因大鼠的制作	179
8.1 引言	179
8.2 大鼠的重要性	180
8.3 转基因大鼠的作用	181
8.4 制作	182
8.5 结论	188
参考文献.....	189
9 转基因兔的制作	192
9.1 转基因兔的应用	192
9.2 转基因实验过程中兔胚胎的操作	193
9.3 材料与方法	194
参考文献.....	198
10 转基因鱼的制作.....	199
10.1 引言.....	199
10.2 讨论.....	200
10.3 基因转移的方法.....	200
10.4 转基因谱系的建立和维持.....	207
10.5 转基因鱼护养与牵制.....	210
10.6 转基因鱼的未来.....	210
致谢.....	210
参考文献.....	211
11 转基因家禽的制作.....	214

11.1	引言与讨论	214
11.2	方法	221
11.3	总结	232
	参考文献	232
12	通过 DNA 显微注射制作转基因猪	235
12.1	引言与讨论	236
12.2	方法	240
12.3	制作转基因猪的另外方法	249
12.4	总结	251
	参考文献	251
13	通过 DNA 显微注射制作转基因反刍动物	259
13.1	引言	259
13.2	适于显微注射合子的制作	260
13.3	反刍动物合子的显微注射	264
13.4	显微注射胚胎的移植	268
13.5	应用领域与展望	271
	致谢	272
	参考文献	272
14	转基因非人灵长类的制作	275
14.1	引言与讨论	276
14.2	方法	283
14.3	总结	293
	致谢	294
	参考文献	294
15	牛、绵羊和猪的细胞核移植技术	306
15.1	引言	306
15.2	一般方法	307
15.3	总结	320
	致谢	320
	参考文献	320
第 4 部分	分子生物学、分析及实现技术	323
16	转基因表达的载体设计	325
16.1	引言	325
16.2	转录区	326
16.3	启动子	335
16.4	边界区	336
16.5	结论与展望	346
	致谢	347
	参考文献	347

17	转基因整合分析	357
17.1	引言	357
17.2	转基因检测	357
17.3	转基因的评估参数	359
17.4	转基因的分析	359
17.5	转基因谱系的建立	363
17.6	纯合子小鼠的衍生	365
17.7	总结	366
	参考文献	366
18	转基因整合检测的 PCR 方法优化	368
18.1	引言	368
18.2	讨论	369
18.3	总结	374
	参考文献	374
19	转基因表达的分析	376
19.1	引言	376
19.2	转基因 RNA 转录物稳态水平的分析	378
19.3	转基因蛋白质产物稳态水平的分析	386
19.4	结论	394
	参考文献	394
20	农用动物辅助生殖技术与胚胎培养方法	397
20.1	引言	397
20.2	辅助生殖技术	398
20.3	新辅助生殖技术的发展	424
20.4	总结	426
	参考文献	427
21	资料库、互联网资源和遗传学命名法	441
21.1	引言	441
21.2	转基因和定点突变资料库和电子资源	442
21.3	转基因和定点突变动物的标准命名	455
	参考文献	459
	附录	461
	附录 1 另外的小鼠数据库和网络资源	463
	附录 2 大鼠数据库和网络资源	467
	附录 3 猪的数据库和网络资源	468
	附录 4 绵羊的数据库和网络资源	469
	附录 5 牛的数据库和网络资源	469
	附录 6 禽类的数据库和网络资源	470
	附录 7 鱼的数据库和网络资源	470
	索引	471

第 1 部 分

概 述

