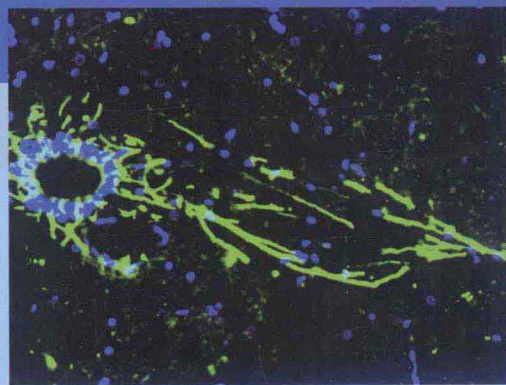


21世纪生物技术系列

干细胞 理论与技术

Ganxibao
Lilun Yu Jishu

第3版



主编

王廷华
潘兴华
李力燕



科学出版社

21 世纪生物技术系列

干细胞理论与技术

第3版

主 编 王廷华 潘兴华 李力燕

科学出版社

内 容 简 介

本书是《21 世纪生物技术系列》的一个分册,分上、下两篇介绍干细胞的相关理论与培养技术。上篇介绍了胚胎干细胞、神经干细胞、造血干细胞、骨髓间充质干细胞、视网膜干细胞及其他成体干细胞的研究进展,并对干细胞的组织工程学、人类胚胎干细胞研究及伦理问题进行了介绍;下篇重点介绍了胚胎干细胞、海马源性神经干细胞、造血干细胞、骨髓间充质干细胞、视网膜干细胞、人表皮干细胞、肿瘤干细胞、嗅鞘细胞等培养技术,并对干细胞移植技术、分化诱导技术等进行了介绍。

本书可供生物医学专业研究生、本科生及从事干细胞研究的科研人员阅读和实验时参考。

图书在版编目(CIP)数据

干细胞理论与技术 / 王廷华,潘兴华,李力燕主编. —3 版. —北京:科学出版社,2013.6

(21 世纪生物技术系列)

ISBN 978-7-03-037882-8

I. 干… II. ①王…②潘… ③李… III. 干细胞-研究 IV. Q24

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 131526 号

责任编辑:沈红芬 / 责任校对:李 影

责任印制:肖 兴 / 封面设计:范璧合

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 3 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2013 年 6 月第 三 版 印张: 15 1/2 插页: 8

2013 年 6 月第四次印刷 字数: 365 000

定价: 59.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《21 世纪生物技术系列》第 3 版编审委员会

主 审 李云庆

委 员 (按姓氏笔画排序)

王廷华

四川大学

特聘教授,博导

昆明医科大学,云南师范大学,成都医学院

教授,博导

白 洁

昆明理工大学医学院

教授,博导

刘 进

四川大学华西医院

教授,博导

李云庆

第四军医大学

教授,博导

李成云

云南农业大学

教授,博导

李兵仓

第三军医大学

教授,博导

李官成

中南大学湘雅医学院

教授,博导

李建国

上海交通大学医学院

教授,博导

张连峰

北京协和医学院

教授,博导

陈向东

华中科技大学同济医学院

教授,博导

陆 地

昆明医科大学

教授,博导

项 鹏

中山大学中山医学院

教授,博导

胡幀明

重庆医科大学

教授,博导

顾晓松

南通大学医学院

教授,博导

曾园山

中山大学中山医学院

教授,博导

游 潮

四川大学华西医院

教授,博导

Jean Philippe Merlio

法国波尔多第二大学

教授,博导

John W. McDonald

美国霍普金斯大学医学院

教授,博导

Leong Seng Kee

新加坡国立大学

教授,博导

Xin-Fu Zhou

澳大利亚南澳大学

教授,博导

Zhi-Cheng Xiao

澳大利亚莫纳什大学

教授,博导

《干细胞理论与技术》第3版编写人员

主 编 王廷华 潘兴华 李力燕

副主编 董 俊 刘 苏 刘素娟

编 委 (按姓氏笔画排序)

王廷华 王昆鹏 冯忠堂 刘 苏

刘素娟 羊惠君 李 琴 李力燕

李甫强 李彦林 李海标 何 黎

何明生 应大君 杨金伟 杨智勇

周 雪 庞江霞 罗湘颖 郝春光

茹 金 徐新运 顾 华 梁玉香

黄 冰 黄锦桃 程昊钰 董 俊

撒亚莲 潘兴华 魏 勇

《21 世纪生物技术系列》前言

21 世纪是生命科学飞速发展的时代。如果说 20 世纪后半叶是信息时代,那么 21 世纪上半叶,生命科学将成为主宰。我国加入 WTO 后与世界科技日益接轨,技术的竞争已呈现出其核心地位和作用。正是在此背景下,为适应我国 21 世纪生物技术的发展和需求,科学出版社于 2005 年组织编写了一套融基础理论和实践技术为一体、独具特色、主要面向一线科技人员的学术著作——《21 世纪生物技术丛书》,包括《组织细胞化学理论与技术》、《神经细胞培养理论与技术》、《蛋白质理论与技术》、《分子杂交理论与技术》、《PCR 理论与技术》、《基因克隆理论与技术》、《抗体理论与技术》和《干细胞理论与技术》共 8 个分册。本丛书自 2005 年 3 月问世以来,即受到了广大生物技术科技工作者的喜爱,2006 年 1 月进行了重印;2009 年出版了第 2 版。本丛书对满足我国日益扩大的科研人员及研究生实践需求,以及推动我国 21 世纪生物技术的普及和发展起到了积极的作用。

生物技术发展迅速,为了满足广大科技工作者的需求,本丛书于 2013 年推出第 3 版。在第 2 版的基础上,第 3 版主要对实验技术中的经验体会部分进行了全面增补,同时补充了新的理论技术,包括免疫荧光染色、诱导型干细胞理论与培养、基于病毒载体的转基因及 RNA 干扰技术、免疫共沉淀与蛋白质相互作用、蛋白芯片等实用技术,并对各技术的相关实践经验进行了更全面的总结。重要的是,为了应对和满足前沿技术的发展需要,推出第 3 版的同时还增补了 4 个分册,即《基因沉默理论与技术》、《电生理理论与技术》、《生物信息学理论与技术》和《神经疾病动物模型制备理论与技术》,并将丛书名更改为《21 世纪生物技术系列》。至此,本丛书已达 12 个分册,从行为、形态、细胞、分子生物学、电生理和生物信息等多个层面介绍了目前常用生物技术的基本理论、进展及其相关技术与应用,是我国 21 世纪生物技术著作中覆盖面最广、影响最大的一套著作。本丛书从培养科学思维能力和科研工作能力的目标出发,以实用性和可操作性为目的,面向我国日益增多的研究生和广大一线科研人员。在编写方式和风格方面,力求强调对基本概念和理论进行简明扼要的阐述,注重基本技术实践,认真总结了编者的实验经验和体会,并提供了大量原版彩图,使丛书在兼顾理论的同时更具实用价值。

本丛书由王廷华教授牵头,邀请国内外一批知名专家教授参加编写和审阅。本丛书是全体参编人员实践经验的总结,对从事科研的研究生和一线研究人员有很好的参考价值。

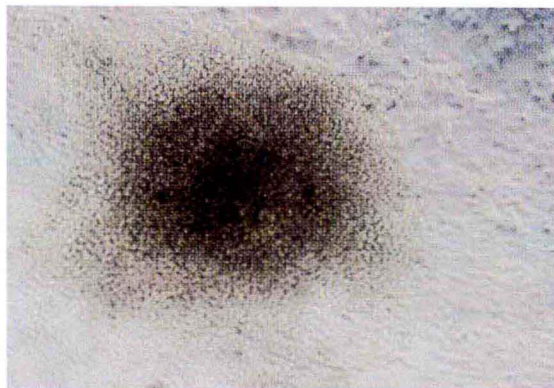
由于编写时间有限,加之科学技术发展迅速,书中的错误和不足之处在所

难免,恳请各位读者批评指正。

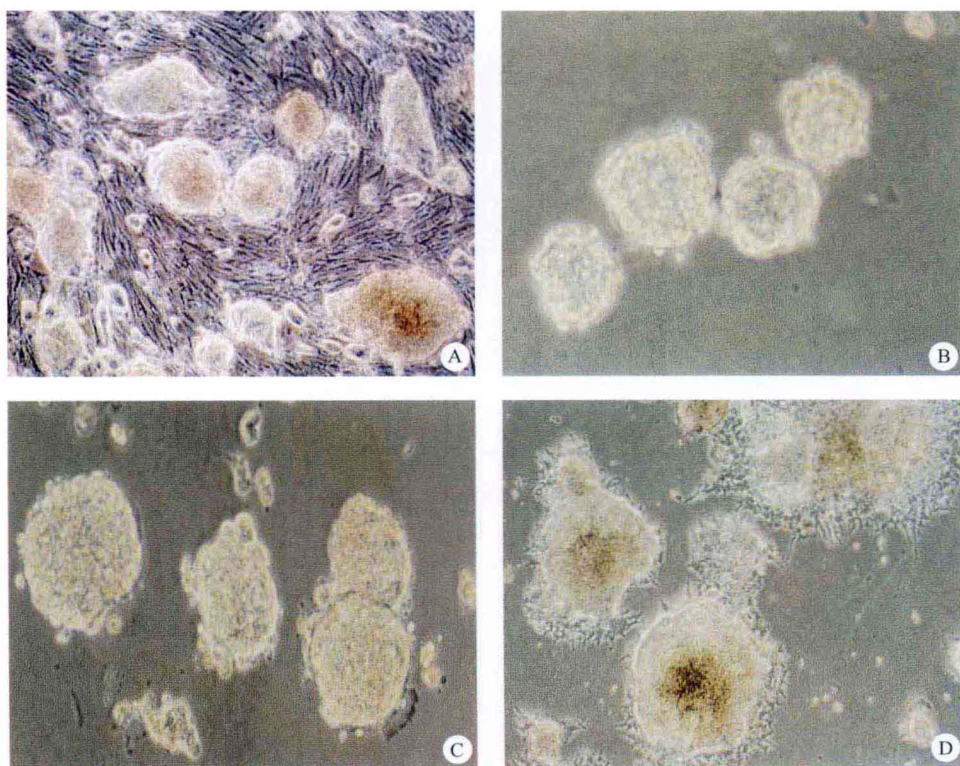
值本丛书出版之际,感谢为我国生物技术及科学发展孜孜不倦、奉献一生的老一辈科学家,他们的杰出工作为我国中青年一代的发展奠定了基础;感谢国内外一批知名专家教授对丛书的指导和审阅;感谢编者们所付出的辛勤劳动;感谢中国解剖学会长期以来对本丛书组织工作的支持;感谢各位同道给予的鼓励和关心!

《21 世纪生物技术系列》编审委员会

2013 年 4 月 8 日

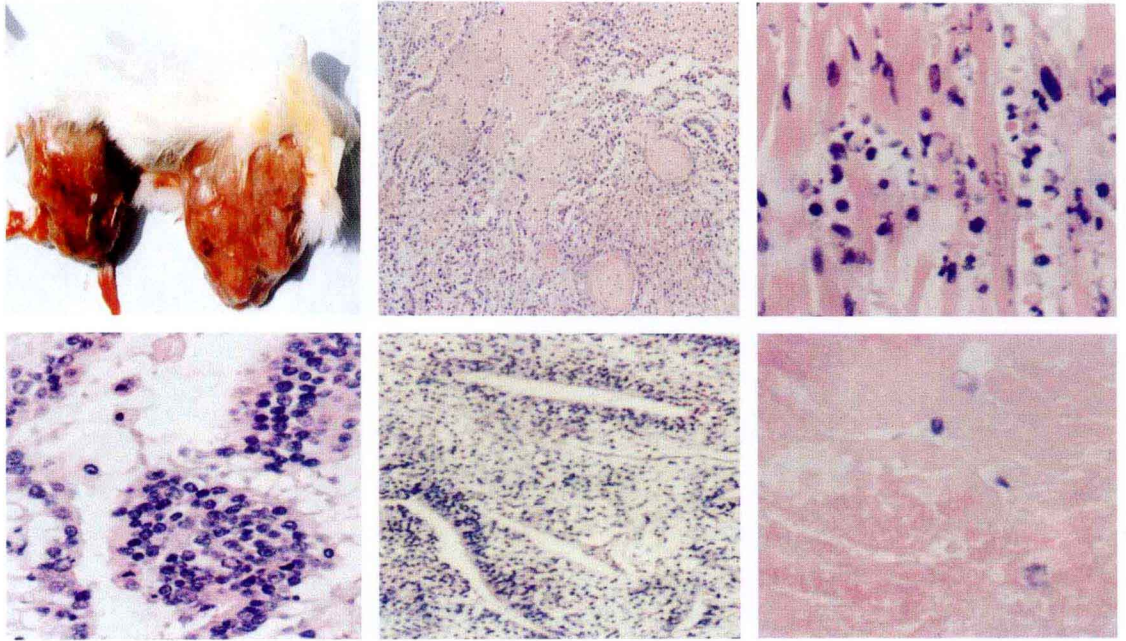


彩图 1 鼠 ES 细胞在半固体培养基上形成的造血细胞克隆

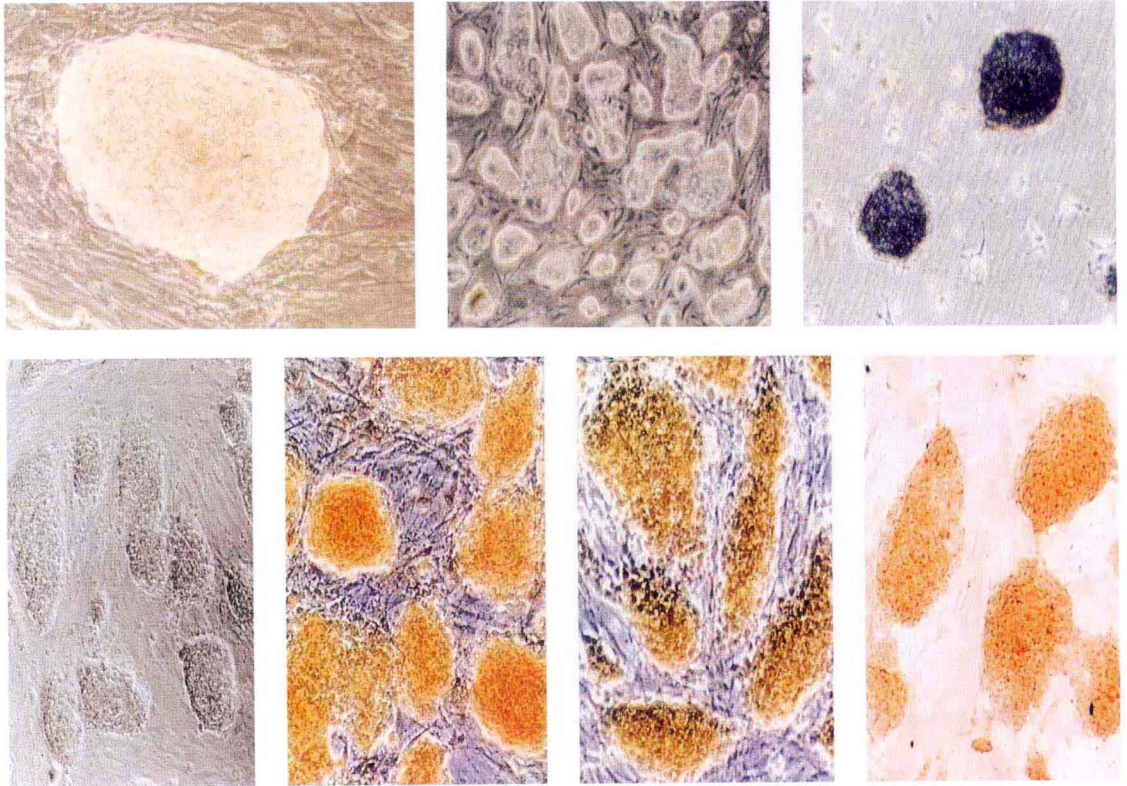


彩图 2 体外培养的 ES 细胞

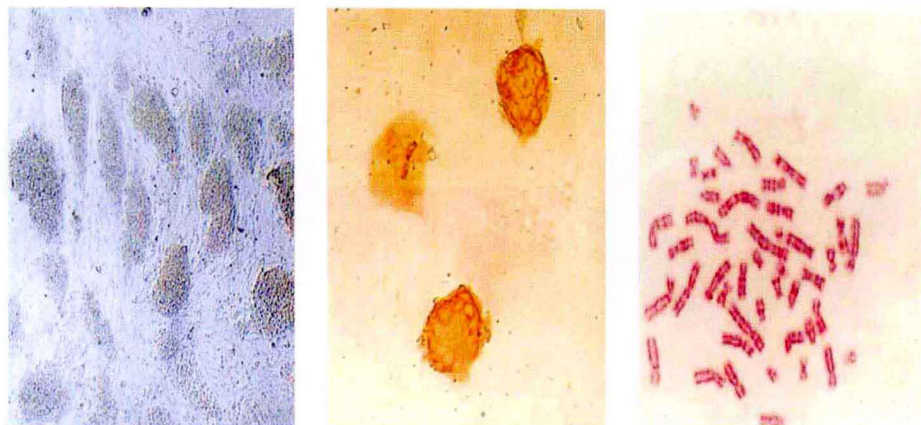
A. 饲养细胞上生长的 ES 细胞；B. 无饲养层细胞培养 5d 的 ES 细胞；C. 无饲养层细胞培养 10d 的 ES 细胞；
D. 无饲养层细胞培养 14d 的 ES 细胞



彩图 3 BALB/C 鼠 ES 细胞 SCID 鼠皮下接种分化
(中山大学陈系古教授培育)



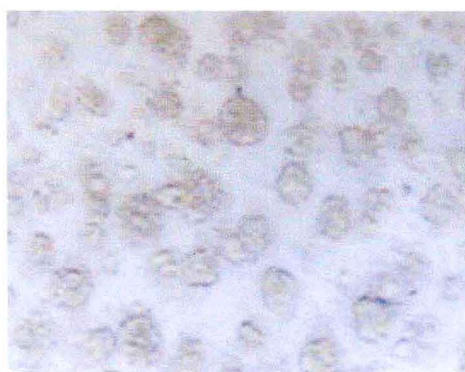
彩图 4 1988 年国际首次建立的人 ES 细胞及鉴定图



彩图 4 1988 年国际首次建立的人 ES 细胞及鉴定图 (续)



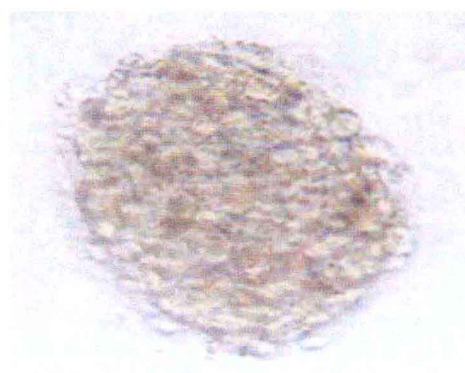
彩图 5 无血清培养液中悬浮的克隆, 体外培养第 3 天



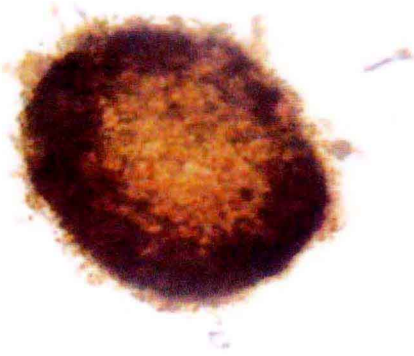
彩图 6 无血清培养液中悬浮的克隆, 体外培养第 5 天



彩图 7 无血清培养液中悬浮的克隆, 体外培养第 7 天



彩图 8 贴壁的次代神经球



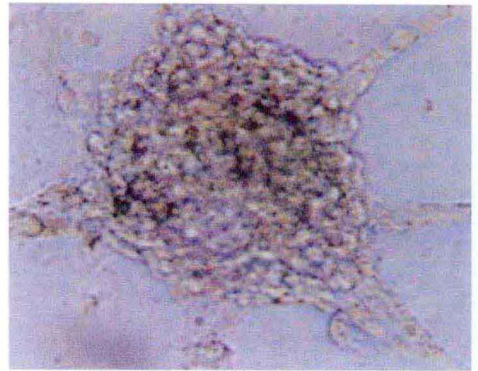
彩图 9 贴壁的次代神经球固定后行 nestin 免疫细胞化学染色, 结果呈阳性



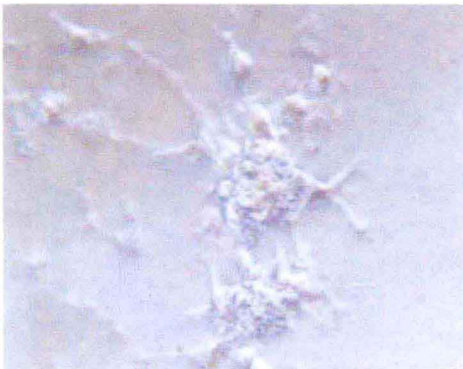
彩图 10 次代神经球分散后的细胞固定后行 BrdU 免疫细胞化学染色, 结果呈阳性



彩图 11 次代神经球分散后的细胞固定后行 BrdU 免疫细胞化学染色, 结果呈阳性



彩图 12 次代神经球贴壁后, 有大量细胞从神经球中迁出, 并开始分化, 长出突起



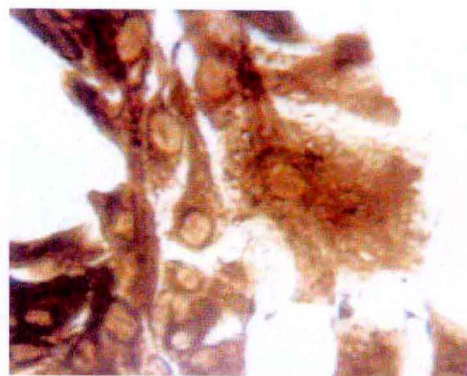
彩图 13 次代神经球分散后的细胞贴壁分化生长第 7 天的倒置相差显微镜照片



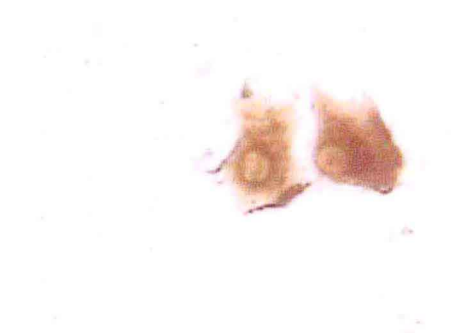
彩图 14 次代神经球分散后的细胞分化生长成的 Tuj1 免疫阳性神经元



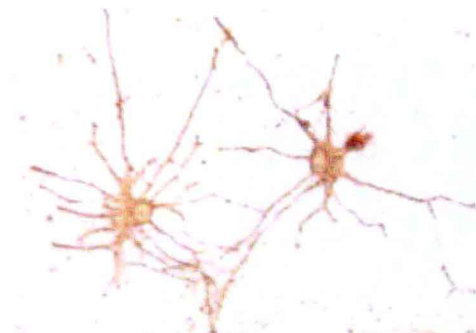
彩图 15 次代神经球分散后的细胞分化成的
TuJ1 免疫阳性神经元



彩图 16 次代神经球分散后的细胞分化成的
GFAP 阳性星形胶质细胞



彩图 17 次代神经球分散后的细胞分化成的
GFAP 阳性星形胶质细胞



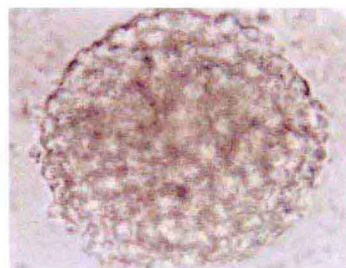
彩图 18 次代神经球分散后的细胞分化成的
Galc 阳性少突胶质细胞



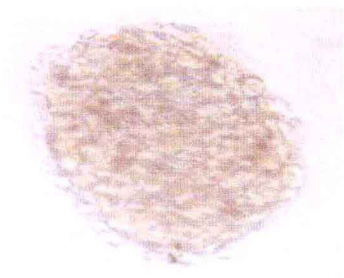
彩图 19 次代神经球分散后的细胞分化成的
Galc 阳性少突胶质细胞



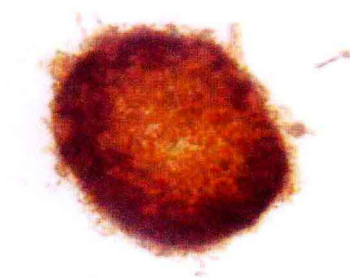
彩图 20 无血清培养液中悬浮的
克隆，体外培养第 3 天



彩图 21 无血清培养液中悬浮的
克隆，体外培养第 7 天



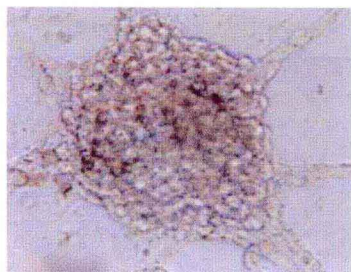
彩图 22 贴壁的次代神经球



彩图 23 贴壁的次代神经球固定后行 nestin 免疫细胞化学染色，结果呈阳性



彩图 24 次代神经球分散后的细胞固定后行 BrdU 免疫细胞化学染色，结果呈阳性



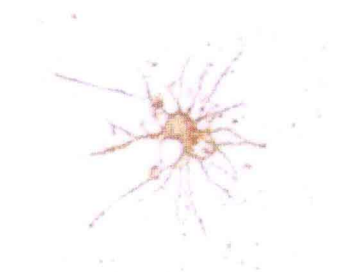
彩图 25 神经球贴壁后，有大量细胞从神经球中迁出，并开始分化，长出突起



彩图 26 次代神经球分散后的细胞分化成的 TuJ1 免疫阳性神经元



彩图 27 次代神经球分散后的细胞分化成的 GFAP 阳性星形胶质细胞



彩图 28 次代神经球分散后的细胞分化成的 Galc 阳性少突胶质细胞



彩图 29 次代神经球分散后的细胞加入鸡胚骨骼肌提取液分化成的 ChAT 阳性胆碱能神经元



彩图 30 次代神经球分散后的细胞加入鸡胚骨骼肌提取液分化成的 ChAT 阳性胆碱能神经元



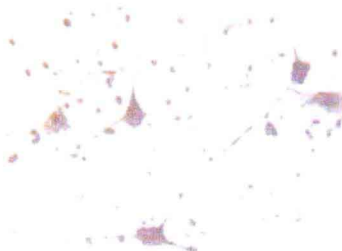
彩图 31 次代神经球分散后的细胞加入鸡胚骨骼肌提取液分化成的 ChAT 阳性胆碱能神经元



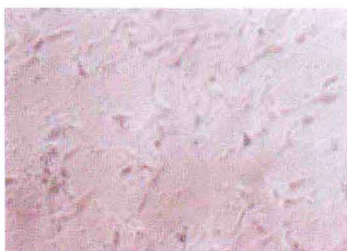
彩图 32 次代神经球分散后的细胞加入对照培养液分化成的 ChAT 阳性胆碱能神经元



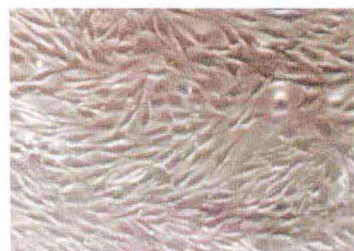
彩图 33 次代神经球分散后的细胞加入鸡胚骨骼肌提取液分化成的 ChAT 阳性胆碱能神经元



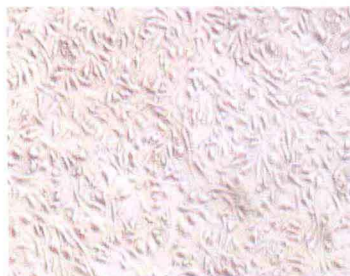
彩图 34 ChAT 和 Tuj1 双标阳性的胆碱能神经元



彩图 35 原代 BMSC



彩图 36 第 5 代 BMSC



彩图 37 原代达融合的 BMSC



彩图 38 第 5 代骨髓基质细胞形态



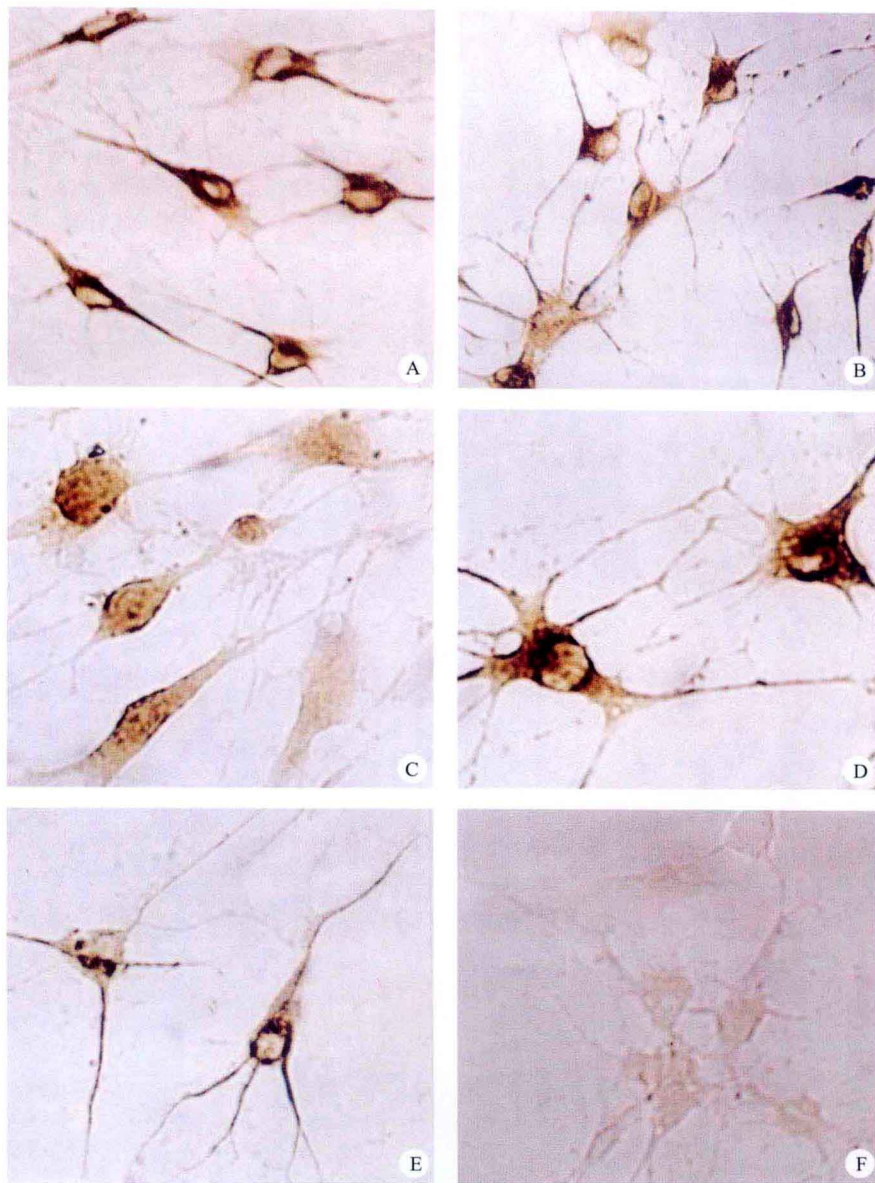
彩图 39 诱导后分化细胞 NSE 强阳性表达



彩图 40 诱导后分化细胞 NSE 阳性表达

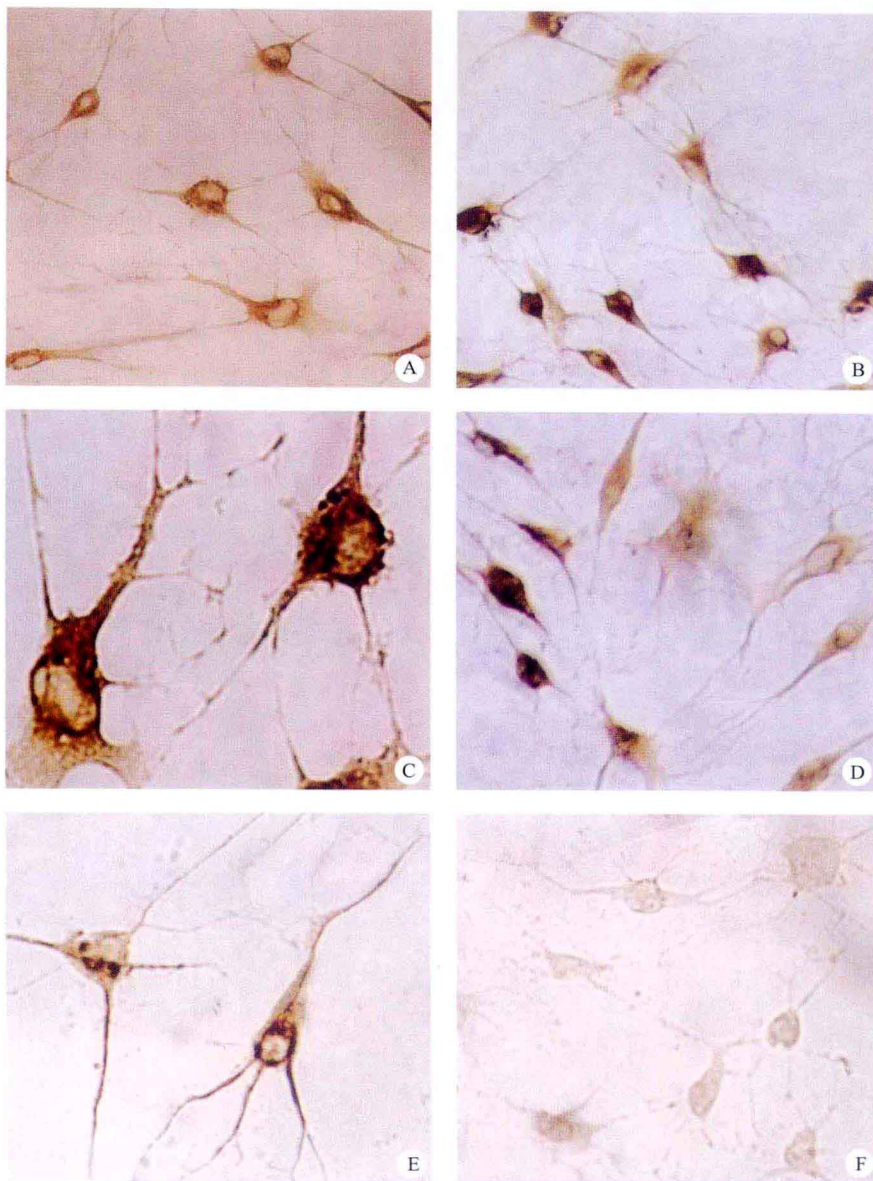


彩图 41 第 5 代骨髓基质细胞形态



彩图 42 三七总皂苷诱导骨髓间质干细胞分化为神经元样细胞

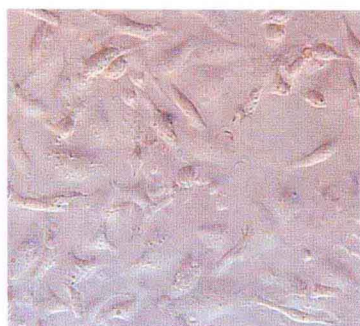
A. MAP-2; B. nestin; C. NF; D. NSE; E. GAP-43; F. GFAP



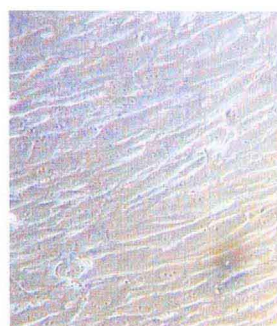
彩图 43 川芎嗪诱导骨髓间质干细胞分化为神经元样细胞
A. MAP-2; B. nestin; C. NF; D. NSE; E. GAP-43; F. GFAP



彩图 44 原代培养 3d 细胞集落。
倒置相差显微镜



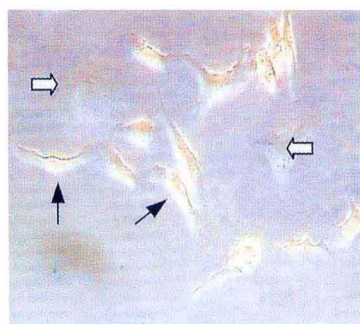
彩图 45 原代培养 6d 细胞集落。
倒置相差显微镜



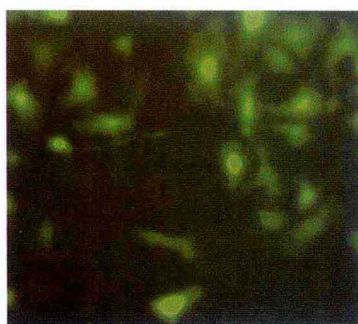
彩图 46 8h 后首次换液细胞培养
P4。倒置相差显微镜



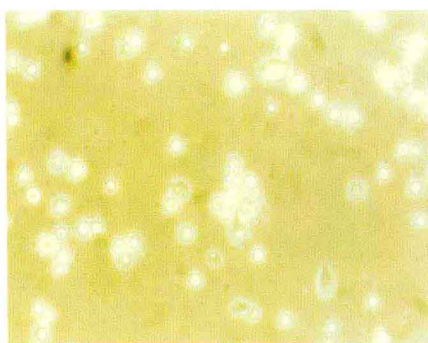
彩图 47 24h 后首次换液细胞培
养 P4。倒置相差显微镜



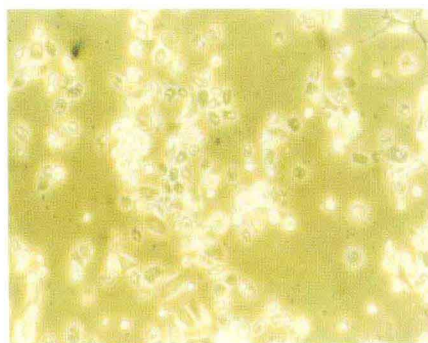
彩图 48 原代培养 8h 后首次换液
的细胞 CD44 阳性表达 (黑箭头)
和阴性表达 (白箭头)。倒置相
差显微镜



彩图 49 培养 P5 的细胞荧光显
示。荧光显微镜



彩图 50 分离细胞后接种到培养瓶初期，
细胞悬浮于培养基中，呈圆形、透明细
胞，折光性好



彩图 51 细胞培养 2d 后，可见大部分
细胞贴到培养瓶底，并呈簇集状生长