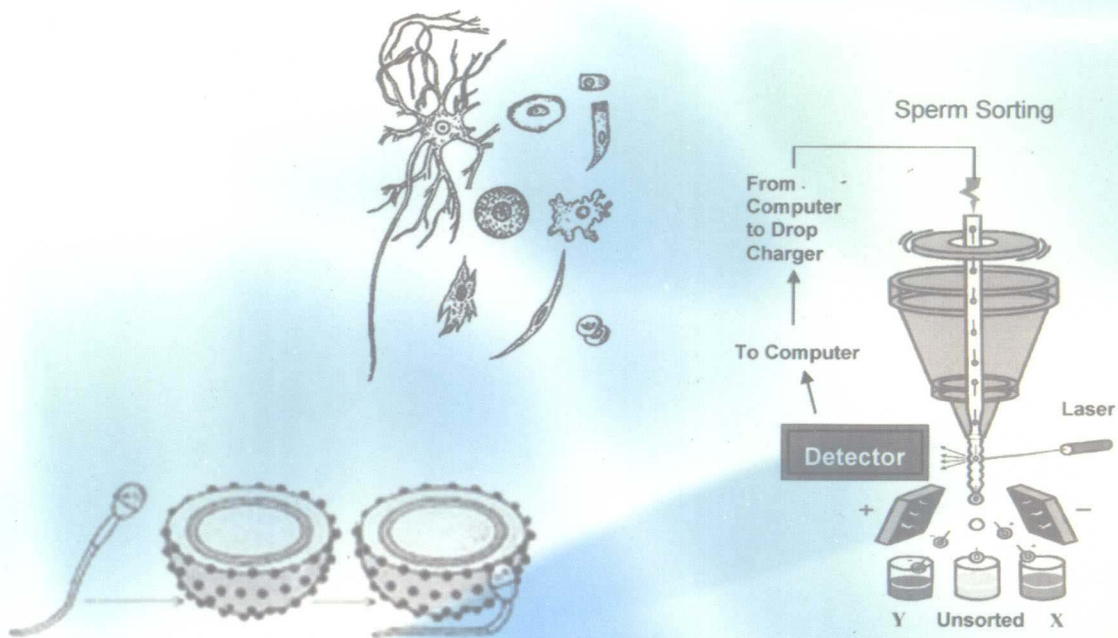




全国高等农林院校“十一五”规划教材

# 动物细胞工程学

周欢敏 主编



中国农业出版社

全国高等农林院校“十一五”规划教材

# 动物细胞工程学

周欢敏 主编

中国农业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

动物细胞工程学/周欢敏主编. —北京: 中国农业出版社, 2009. 4

全国高等农林院校“十一五”规划教材

ISBN 978-7-109-13418-8

I. 动… II. 周… III. 动物—细胞工程—高等学校—教材 IV. Q952

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 022787 号

中国农业出版社出版  
(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)  
(邮政编码 100125)  
责任编辑 李国忠

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行  
2009 年 5 月第 1 版 2009 年 5 月北京第 1 次印刷

开本: 820mm×1080mm 1/16 印张: 25  
字数: 600 千字  
定价: 36.50 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

# 郑 重 声 明

中国农业出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

**反盗版举报电话：**(010) 65005894, 59194974, 59194971

**传 真：**(010) 65005926

**E - mail:** wlxyaya@sohu.com

**通信地址：**北京市朝阳区农展馆北路 2 号中国农业出版社教材出版中心

**邮 编：**100125

**购书请拨打电话：**(010) 59194972, 59195117, 59195127

## 数码防伪说明：

本图书采用出版物数码防伪系统，用户购书后刮开封底防伪密码涂层，将 16 位防伪密码发送短信至 106695881280，免费查询所购图书真伪，同时您将有机会参加鼓励使用正版图书的抽奖活动，赢取各类奖项，详情请查询中国扫黄打非网 (<http://www.shdf.gov.cn>)。

**短信反盗版举报：**编辑短信“JB, 图书名称, 出版社, 购买地点”发送至 10669588128

**短信防伪客服电话：**(010) 58582300/58582301

**主 编** 周欢敏

**副主编** 李 煜 张 勇 李碧春

**编 者** (按姓氏笔画排序)

成子强 (山东农业大学)

刘 榜 (华中农业大学)

刘晓光 (内蒙古科技大学)

李 煜 (内蒙古大学)

李 霞 (大连水产学院)

李雪峰 (华南师范大学)

李碧春 (扬州大学)

宋学雄 (青岛农业大学)

张 明 (广西大学)

张 勇 (甘肃农业大学)

张 彬 (武汉大学)

张丽君 (北京大学)

陈学进 (上海交通大学)

周欢敏 (内蒙古农业大学)

侯玲玲 (北京交通大学)

曹贵方 (内蒙古农业大学)

# 前 言

动物细胞工程学是在生命科学与生物技术发展的基础上诞生的新型学科，它构成了生命科学领域的一个重要分支。从 20 世纪 80 年代以后，动物细胞工程的研究进展尤为迅速，特别是近些年来，其基础理论的发展、实验技术的创新、设备与技术的开发和在生产实践中的应用均取得了举世瞩目的成就，不仅在理论上形成了自身的知识体系，而且在技术上形成了完整的工程系统。动物细胞工程是揭开生命的奥秘、改造生物或创造新物种的重要手段，在人类医学临床治疗、生物制药、动物繁殖和生物工程育种及生命科学基础研究等领域得到了广泛的应用，并取得了显著的经济效益和社会效益，其地位在国计民生中显得越来越重要，因此备受社会各界的关注，成为 21 世纪生物技术领域发展前景最为广阔的学科之一。在此背景下，我们承担了中国农业出版社委托的《动物细胞工程学》教材编写任务，这也正符合我们一直想成此书的愿望，以满足高等学校细胞工程学教学和研究的需要。

根据国家高等学校培养生物技术领域高素质科技人才的指导思想，在编写此书过程中，我们查阅了国内外的相关教材和文献资料，注重知识的系统性、内容的先进性和结构的合理性。强调理论和实践的结合，基础和应用的联系。力求使学生掌握动物细胞工程学的基本理论和基本技术，同时也尽可能地使其了解该领域的最新成果及发展前景。以期在加强学生的思维能力、学习能力、动手能力和创新能力的培养上有所裨益。

本教材涵盖了动物细胞工程学的基础知识、基本原理、操作技术和应用 4 个方面的内容。全书共分 13 章。第一章由周欢敏编写，第二章和第三章由曹贵方和刘晓光编写，第四章由李煜编写，第五章由刘晓光编写，第六章由侯玲玲和张丽君编写，第七章由张勇编写，第八章由李霞编写，第九章由李碧春和刘榜编写，第十章由张彬编写，第十一章由张明和宋学雄编写，第十二章由陈学进、张明和李雪峰编写，第十三章由成子强编写。书中插图由内蒙古农业大学材料与艺术学院研究生王利利仿绘或处理。

本书是编者在长期从事动物细胞工程教学和研究的基础上编著而成。编者均工作在本领域教学和科研的第一线，具有丰富的教学科研经验、熟练的操作技术和突出的研究成果。然而，由于细胞工程学的发展迅速，新的理论和技术不断更新，尽管我们倾注了全部的精力，但不足之处恐在所难免，敬请读者批评指正。

值此成书之际，对中国农业出版社的同仁给予的信任和支持致以诚挚的敬意，对各位编委的精诚合作和所付出的辛勤劳动也致以衷心的感谢。

编者

2009年1月

# 目 录

前言

<b>第一章 动物细胞工程学概论</b> .....	1
<b>第一节 动物细胞工程学的概念及研究范畴和内容</b> .....	1
一、动物细胞工程学的基本概念 .....	1
二、动物细胞工程学的研究范畴 .....	1
三、动物细胞工程学的研究内容 .....	2
<b>第二节 动物细胞工程学的发展简史</b> .....	5
一、动物细胞培养工程 .....	5
二、动物胚胎工程 .....	6
三、动物体外受精 .....	7
四、动物嵌合体技术 .....	8
五、动物染色体工程 .....	9
六、动物干细胞工程 .....	9
七、动物克隆技术 .....	10
八、转基因动物技术及生物反应器 .....	13
<b>第三节 动物细胞工程学的应用及前景</b> .....	15
一、临床医学与制药 .....	16
二、动物遗传育种与繁殖 .....	18
三、濒危动物保护 .....	19
四、蛋白质生产 .....	20
五、生命科学基础研究 .....	21
<b>思考题</b> .....	21
<b>参考文献</b> .....	21
<b>第二章 动物细胞工程基础</b> .....	23
<b>第一节 动物体细胞的形态与结构</b> .....	23
一、动物体细胞的形态 .....	23
二、动物体细胞的结构 .....	24
三、细胞的形态结构与功能的关系 .....	26



第二节 动物生殖细胞的形态与结构 .....	26
一、精子的形态和结构 .....	27
二、卵母细胞的形态和结构 .....	29
第三节 细胞分裂与增殖 .....	30
一、有丝分裂 .....	30
二、无丝分裂 .....	32
三、减数分裂 .....	33
四、有丝分裂与减数分裂的比较 .....	35
第四节 细胞周期与调控 .....	35
一、细胞周期 .....	36
二、细胞周期调控 .....	37
第五节 细胞分化、衰老与死亡 .....	39
一、细胞分化的概念及特点 .....	40
二、细胞衰老和死亡 .....	42
思考题 .....	45
参考文献 .....	46
<b>第三章 动物细胞工程研究方法 .....</b>	<b>47</b>
第一节 形态学技术 .....	47
一、显微镜技术 .....	47
二、形态学常规技术 .....	49
第二节 免疫组织化学和细胞化学技术 .....	50
一、免疫组织化学 .....	50
二、荧光细胞化学测定 .....	51
第三节 流式细胞术 .....	52
一、流式细胞术原理 .....	53
二、流式细胞仪的基本构造和工作原理 .....	53
三、流式细胞术的应用 .....	55
第四节 原位杂交技术 .....	56
一、原位杂交技术原理 .....	56
二、核酸探针的应用 .....	56
三、原位杂交技术的基本方法 .....	57
第五节 梯度离心分离技术 .....	59
一、离心分离的原理 .....	59
二、密度梯度离心法 .....	60
思考题 .....	62
参考文献 .....	62

<b>第四章 动物细胞培养</b> .....	63
<b>第一节 细胞培养需要具备的基本条件</b> .....	63
一、体外培养细胞的基本特性 .....	63
二、影响细胞培养的理化因素 .....	70
三、器具的清洁与无菌操作 .....	72
<b>第二节 培养基的种类、成分及作用</b> .....	74
一、天然培养基 .....	74
二、人工合成培养基 .....	75
三、无血清培养基 .....	75
四、常用细胞系培养基选择 .....	77
<b>第三节 原代及传代细胞培养</b> .....	77
一、组织块原代培养 .....	77
二、离散细胞原代培养 .....	79
三、体外培养细胞的传代 .....	80
四、体外培养细胞的纯化 .....	81
<b>第四节 培养细胞的常规检测</b> .....	81
一、细胞形态观察 .....	82
二、生长与增殖特性的检测 .....	83
三、微生物污染的检测与排除 .....	84
四、免疫组织化学检测 .....	88
五、核酸类物质的检测 .....	90
<b>第五节 无限细胞系的建立</b> .....	94
一、癌细胞体外培养特性 .....	94
二、肿瘤细胞培养方法 .....	95
三、体外培养细胞的转化 .....	96
四、细胞转化的检测 .....	98
<b>第六节 动物细胞培养技术的应用</b> .....	99
一、活细胞的生物学特性研究 .....	99
二、疫苗制备 .....	99
三、生物活性因子的制备 .....	99
四、单克隆抗体 .....	100
五、药物检测 .....	100
六、组织工程 .....	101
<b>思考题</b> .....	101
<b>参考文献</b> .....	102

<b>第五章 动物细胞融合与杂交</b> .....	105
<b>第一节 细胞融合与杂交概述</b> .....	105
一、细胞融合与杂交的概念 .....	105
二、细胞融合的目的和意义 .....	105
<b>第二节 细胞融合方法</b> .....	106
一、病毒诱导融合法 .....	106
二、化学诱导融合法 .....	107
三、电融合法 .....	107
四、激光诱导融合法 .....	109
五、细胞融合的影响因素 .....	109
<b>第三节 融合子的检出与鉴定</b> .....	110
一、融合子检出的选择系统 .....	110
二、融合子的鉴定方法 .....	112
<b>第四节 动物细胞融合技术的应用</b> .....	113
一、基因定位和人类基因图谱绘制 .....	113
二、肿瘤免疫的研究 .....	114
三、单克隆抗体的生产 .....	114
四、动物新品种的培育 .....	114
<b>第五节 杂交瘤技术</b> .....	115
一、基础知识 .....	115
二、B淋巴细胞杂交瘤技术 .....	118
三、T淋巴细胞杂交瘤技术 .....	124
四、人源化单克隆抗体技术及其应用 .....	124
五、杂交瘤技术的应用实例——鳎弧菌金属蛋白酶单克隆抗体的制备 .....	126
<b>思考题</b> .....	128
<b>参考文献</b> .....	128
<b>第六章 动物干细胞</b> .....	130
<b>第一节 干细胞的概念和分类</b> .....	130
一、干细胞的概念 .....	130
二、干细胞的分类 .....	131
<b>第二节 胚胎干细胞</b> .....	132
一、胚胎来源的干细胞系 .....	132
二、胚胎干细胞系的建立 .....	133
三、胚胎生殖细胞系的建立 .....	135
四、胚胎干细胞的应用 .....	135

第三节 胚胎干细胞的生物学特性与鉴定方法 .....	136
一、胚胎干细胞的生物学特性 .....	136
二、胚胎干细胞的鉴定方法 .....	137
第四节 成体干细胞 .....	138
一、成体干细胞的概念与生物学特性 .....	138
二、造血干细胞 .....	138
三、神经干细胞 .....	141
四、皮肤干细胞 .....	143
五、其他干细胞 .....	145
第五节 干细胞的定向分化 .....	149
一、胚胎干细胞的分化及调控 .....	149
二、胚胎干细胞定向分化产生的细胞种类 .....	151
三、成体干细胞的定向分化和调控 .....	155
思考题 .....	158
参考文献 .....	158
<b>第七章 动物细胞冷冻与保存 .....</b>	<b>161</b>
第一节 冷冻技术原理 .....	161
一、溶液的冻结和解冻过程 .....	161
二、冷冻技术原理 .....	162
三、影响细胞冻存的因素 .....	164
四、细胞冻存效果鉴定 .....	166
第二节 冷冻损伤与冷冻保护剂 .....	167
一、冷冻损伤 .....	168
二、冷冻保护剂 .....	171
第三节 体细胞的冷冻保存 .....	172
一、造血干细胞的冷冻保存 .....	172
二、血细胞的冷冻保存 .....	172
第四节 生殖细胞的冷冻保存 .....	174
一、精液的冷冻保存 .....	174
二、卵母细胞的冷冻保存 .....	176
第五节 早期胚胎的保存和冷冻 .....	179
一、早期胚胎的保存方法及其分类 .....	179
二、胚胎的异种活体内保存 .....	180
三、体外保存的保存液及相关条件 .....	181
四、胚胎的室温保存与低温保存 .....	182
五、早期胚胎超低温冷冻保存 .....	184

思考题 .....	188
参考文献 .....	188
<b>第八章 动物染色体工程</b> .....	<b>190</b>
<b>第一节 多倍体技术</b> .....	<b>190</b>
一、多倍体的概念和种类 .....	190
二、人工诱导多倍体的原理 .....	191
三、人工诱导多倍体的方法 .....	194
四、多倍体的鉴定方法 .....	196
五、多倍体的生物学特性 .....	198
<b>第二节 雌核发育技术</b> .....	<b>199</b>
一、雌核发育概念 .....	199
二、人工诱导雌核发育的方法和原理 .....	200
三、雌核发育二倍体的生物学特点 .....	200
<b>第三节 雄核发育技术</b> .....	<b>201</b>
一、卵子染色体的遗传失活 .....	201
二、雄核发育二倍体的诱导 .....	202
三、雄核发育二倍体的生物学特点和应用 .....	202
<b>第四节 染色体原位杂交技术</b> .....	<b>202</b>
一、原位杂交技术的概念 .....	202
二、原位杂交技术方法 .....	202
三、原位杂交技术在基因定位相关研究中的应用 .....	203
<b>第五节 染色体介导的基因转移技术</b> .....	<b>204</b>
一、微细胞介导的基因转移法 .....	204
二、染色体介导的基因转移法 .....	205
三、染色体转移技术的应用前景 .....	205
思考题 .....	206
参考文献 .....	206
<b>第九章 动物细胞基因工程</b> .....	<b>207</b>
<b>第一节 动物细胞基因工程的概念和基本过程</b> .....	<b>207</b>
一、动物基因工程的概念 .....	207
二、动物基因工程的基本过程 .....	207
<b>第二节 目的基因的获取</b> .....	<b>210</b>
一、已知序列基因的分离 .....	210
二、未知序列基因的分离 .....	213
<b>第三节 载体</b> .....	<b>214</b>

一、克隆载体 .....	215
二、表达载体 .....	218
<b>第四节 动物细胞基因导入 .....</b>	<b>220</b>
一、基因导入的概念和基本步骤 .....	221
二、外源目的基因导入真核细胞 .....	221
三、转移基因及其表达的检测 .....	222
<b>第五节 外源基因的表达系统与检测 .....</b>	<b>223</b>
一、真核表达系统 .....	224
二、外源基因在哺乳动物细胞中的表达 .....	224
三、基因表达产物的检测 .....	225
<b>第六节 基因打靶 .....</b>	<b>225</b>
一、基因打靶的理论基础 .....	226
二、基因打靶的步骤 .....	226
三、基因打靶的策略 .....	230
四、影响基因打靶效率的因素 .....	235
五、基因打靶技术的优点及不足 .....	236
六、基因打靶技术的应用 .....	237
<b>第七节 RNA 干涉 .....</b>	<b>238</b>
一、RNA 干涉的概念 .....	238
二、RNA 干涉作用机理与特点 .....	239
三、哺乳动物细胞 RNA 干涉的一般策略 .....	241
四、RNA 干涉技术的应用 .....	244
<b>第八节 基因捕获技术 .....</b>	<b>244</b>
一、基因捕获的基本原理 .....	244
二、基因捕获载体 .....	245
三、基因捕获的诱变性 .....	246
四、基因捕获后的筛选 .....	246
五、基因捕获技术中存在的问题 .....	246
<b>思考题 .....</b>	<b>247</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>247</b>
<b>第十章 转基因动物与生物反应器 .....</b>	<b>250</b>
<b>第一节 转基因方法 .....</b>	<b>250</b>
一、显微注射法 .....	250
二、胚胎干细胞介导法 .....	250
三、精子载体法 .....	251
四、逆转录病毒感染法 .....	251

五、体细胞克隆法 .....	251
六、转基因动物技术的意义和应用 .....	252
<b>第二节 转基因效率的影响因素 .....</b>	<b>253</b>
一、动物转基因存在的问题 .....	253
二、提高动物转基因表达效率的途径 .....	254
<b>第三节 转基因动物的安全性 .....</b>	<b>256</b>
一、转基因动物安全性的提出 .....	256
二、动物转基因产品的安全性 .....	256
<b>第四节 动物生物反应器 .....</b>	<b>257</b>
一、动物乳腺生物反应器 .....	257
二、输卵管生物反应器 .....	259
思考题 .....	260
参考文献 .....	260
<b>第十一章 动物生殖细胞工程 .....</b>	<b>262</b>
<b>第一节 精子获取与分离 .....</b>	<b>262</b>
一、精子的采集 .....	262
二、精液品质检查 .....	263
三、精液的稀释 .....	266
<b>第二节 X精子与Y精子分离及性别控制 .....</b>	<b>266</b>
一、性别控制概述 .....	266
二、X精子与Y精子分离方法 .....	267
<b>第三节 体外受精技术 .....</b>	<b>271</b>
一、体外受精技术的基本程序与原理 .....	272
二、体外受精培养体系的构建 .....	281
三、体外受精的基本技术与方法 .....	284
四、体外受精技术的应用与展望 .....	294
<b>第四节 显微受精 .....</b>	<b>295</b>
一、显微受精的基本原理 .....	295
二、显微操作体系的组成 .....	296
三、显微受精的基本方法 .....	299
四、显微受精的影响因素 .....	301
五、显微受精技术的应用 .....	302
六、显微受精的安全性 .....	303
思考题 .....	305
参考文献 .....	305

<b>第十二章 动物早期胚胎操作</b> .....	308
<b>第一节 胚胎移植技术</b> .....	308
一、胚胎移植的生理学基础和原则 .....	308
二、胚胎移植的技术程序 .....	309
三、胚胎移植在动物生产上的意义 .....	322
<b>第二节 胚胎分割技术</b> .....	323
一、胚胎分割的基本程序 .....	323
二、分割胚胎的发育和影响胚胎分割效果的因素 .....	326
<b>第三节 嵌合体技术</b> .....	327
一、哺乳动物嵌合体的产生方法 .....	327
二、嵌合体的鉴定 .....	328
三、种系嵌合率的影响因素和嵌合体的应用前景 .....	330
<b>第四节 早期胚胎性别鉴定技术</b> .....	331
一、动物性别决定与分化 .....	331
二、胚胎性别鉴定方法 .....	333
三、性别控制技术的应用前景 .....	335
<b>第五节 细胞核移植技术</b> .....	335
一、核移植的定义 .....	335
二、核移植技术方法 .....	337
三、核移植成功率的影响因素 .....	344
四、核移植技术的应用前景 .....	346
<b>思考题</b> .....	350
<b>参考文献</b> .....	350
<b>第十三章 动物细胞大规模培养</b> .....	353
<b>第一节 动物细胞大规模培养技术概述</b> .....	353
一、动物细胞大规模培养技术的概念 .....	353
二、动物细胞大规模培养技术发展简介 .....	353
三、动物细胞大规模培养技术应用与发展前景 .....	354
四、动物细胞实现商业化的产品 .....	355
<b>第二节 动物细胞大规模培养常用方法</b> .....	355
一、贴壁培养技术 .....	355
二、悬浮培养 .....	357
三、固定化培养 .....	358
四、细胞大规模培养中的抗凋亡策略 .....	359



<b>第三节 大规模培养的操作方式</b> .....	360
一、分批式培养 .....	360
二、流加式培养 .....	361
三、半连续式培养 .....	362
四、连续式培养 .....	362
五、灌流式培养 .....	363
六、细胞工厂培养 .....	364
七、培养过程的监控 .....	364
<b>第四节 动物细胞大规模培养用生物反应器简介</b> .....	364
一、生物反应器分类 .....	364
二、搅拌式生物反应器 .....	365
三、气升式生物反应器 .....	365
四、鼓泡式生物反应器 .....	365
五、中空纤维生物反应器 .....	365
六、回旋式生物反应器 .....	365
七、其他生物反应器 .....	366
<b>第五节 微载体培养技术</b> .....	366
一、微载体的概念 .....	366
二、微载体培养的原理与操作 .....	366
三、微载体培养的优点 .....	367
四、微载体大规模细胞培养的生物反应器系统 .....	368
五、微载体培养的应用 .....	368
思考题 .....	368
参考文献 .....	369
<b>附录 1 常用培养液</b> .....	370
<b>附录 2 专业名词英汉对照</b> .....	374