

前途广阔的细胞工程



天津科学技术出版社

责任编辑：罗愉先

生物工程知识小丛书
前途广阔的细胞工程

俞新大 王秋荣 编
李宝森 张玉玲

*

天津科学技术出版社出版

天津市赤峰道130号

天津新华印刷二厂印刷

新华书店天津发行所发行

*

开本787×1092毫米 1/32 印张6.375 字数109 000

一九八六年十月第一版

一九八六年十月第一次印刷

印数：1—3,060

书号：14212·182 定价：0.82元

出版说明

生物工程是近年发展起来的一门新兴学科。它是借助生物体及其机能,以先进的科学和工程技术人工进行生物转化,从而运用于物质生产的技术体系。生物工程将是二十一世纪最有发展前途的学科。它将对工、农业生产、医药乃至人类社会的文明、进步起着不可估量的作用。因此它引起了国内外学术界的极大关注,成为世界经济、科技发展的追求目标。

生物工程的研究与开发工作,已由医药卫生、食品、饲料扩展到化工、纤维、替代能源及农业等各个领域,我国在这方面的研究工作已取得不少发展。为使广大群众对这方面的知识有所的解,我们出版了这套生物工程知识小丛书。

这套小丛书包括《潜力巨大的基因工程》、《前途广阔的细胞工程》、《充满希望的酶工程》、《生机勃勃的发酵工程》。本书力图以通俗易懂的语言、形象恰当的比喻,深入浅出地把生物工程的基本知识介绍给读者。

前 言

生物工程是七十年代初在分子生物学、细胞生物学基础上发展起来的一个新兴领域，它被誉为新技术革命的三大支柱之一。

细胞工程作为生物工程的一个重要方面，由于其在应用上和理论上的重大价值，已越来越受到人们的重视。大规模的植物组织和细胞培养已在经济上收到了明显的效益；细胞融合产生的杂种已显示美好的前景；杂交瘤技术生产单克隆抗体已带来医疗技术上的革命；对染色体或其它细胞器作遗传操作，已有可能创造出崭新的生物为人类造福；植物细胞的遗传工程也一浪高一浪地向前推进。总之，细胞工程对工农业生产和医疗事业的关系，对人类社会和经济活动生产的影响已经越来越大了。

细胞工程的含义是什么，究竟应包括哪些内容，迄今尚无定论。不过，近年来已日趋明朗。总的说来，它是应用细胞生物学和分子生物学的理论、方法和技术，按照人们的设计蓝图，有计划地大规模培养组织或细胞以获得生物产品，或改变细胞的遗传物质以产生新的物种或品系。当然，发展这些技术的研究领域也应当是细胞工程的重要内容。从当前细胞工程所涉及的技术领域来看，主要有细胞培养、细胞融合、细胞拆合，染色体操作和基因转移等方面，也可以把它们归为细胞水平，染色体水平和基因水平几个不同的层次。

这些层次之间是相互密切联系的，把这些技术结合起来运用已成为细胞工程的发展方向。

我国的生物资源极其丰富，为开发和应用细胞工程技术提供了有利条件，其中有的已成为现实的生产力，有的正在被开发，随着细胞工程技术和其它生物技术不断地深入，许多新的领域将被开拓、对国民经济所起的作用将越来越大。但是，我们还必须看到，在整个细胞工程的研究中，我们的工作才开始，大多数研究离明显的经济效益和社会效益还有很长的距离。为了开发细胞工程技术，让更多的人了解它，我们编写了《前除广阔的细胞工程》一书。

本书的内容包括：细胞学的基础知识，动植物细胞培养技术，细胞融合技术，单克隆抗体、染色体工程，细胞拆合工程，和植物细胞遗传工程等方面的内容。目前尚无一本细胞工程方面的专门书籍，在这方面，我们只是作了初步的尝试。由于多人编写，行文不一，同时限于编者水平，不当或错漏之外在所难免，希请读者批评指正。

在编写本书的过程中，杜荣骞同志对本书内容的编排和全书的定稿作了许多工作，并提出许多宝贵意见，在此表示衷心的感谢。

编 者

1985年3月

目 录

一、生命的基本单位——细胞	(1)
(一)形形色色的细胞.....	(2)
(二)细胞结构概观.....	(3)
(三)细胞器的结构与功能.....	(5)
(四)细胞的生长与增殖	(16)
二、植物组织和细胞培养.....	(18)
(一)植物组织和细胞培养的发展	(18)
(二)基本设备和用具	(22)
(三)无菌操作	(23)
(四)培养技术	(24)
(五)组织培养中的细胞分化和形态建成	(34)
(六)组织培养中影响器官和胚状体形成的因素	(41)
三、植物组织和细胞培养技术的广泛应用	(48)
(一)快速“微型”繁殖	(48)
(二)脱病毒	(51)
(三)遗传育种上的应用	(53)
(四)植物性药物的生产	(58)
(五)用组织培养保存种质	(60)
(六)展望	(61)
四、植物原生质体培养.....	(62)
(一)细胞工程的重要实验体系.....	(62)
(二)基础研究的好材料.....	(64)

(三)分离植物原生质体方法的重大革新.....	(65)
(四)原生质体分离步骤.....	(67)
(五)要获得大量的有活力的原生质体.....	(71)
(六)原生质体培养方法.....	(74)
五、动物及人类细胞培养	(78)
(一)动物组织与细胞培养的由来和发展.....	(78)
(二)动物及人类细胞培养的方法.....	(79)
(三)利用培养的细胞为人类造福.....	(83)
六、植物原生质体融合和细胞杂交	(92)
(一)什么是原生质体融合.....	(92)
(二)诱人的设想及成果.....	(93)
(三)融合的技术与方法.....	(96)
(四)杂种细胞的筛选.....	(97)
(五)细胞杂种的鉴定.....	(100)
(六)美好的愿望——从愚人节新闻说起.....	(101)
七、细胞拆合工程.....	(103)
(一)细胞也能作器官移植.....	(103)
(二)核移植.....	(103)
(三)叶绿体移植.....	(105)
(四)细胞重组.....	(106)
(五)受精卵和胚胎移植.....	(107)
(六)雌核发育.....	(108)
八、单克隆抗体与动物细胞融合.....	(109)
(一)动物细胞融合方法.....	(109)
(二)利用细胞融合绘制人类基因图.....	(111)
(三)细胞融合诱导PC染色体	(111)
(四)杂交瘤技术生产单克隆抗体.....	(113)
(五)单克隆抗体的重大价值.....	(115)

九、染色体工程(I)	(120)
(一)什么是染色体工程.....	(120)
(二)染色体数量变异的类别及其遗传效应.....	(120)
(三)染色体成倍的增减——多倍体与单倍体的人 工制备技术	(123)
十、染色体工程(II).....	(133)
(一)个别染色体的削减和添加.....	(133)
(二)染色体代换.....	(138)
(三)缺体-四体植物的制备	(141)
(四)非整倍体的应用.....	(142)
十一、迅猛发展的植物细胞遗传工程.....	(146)
(一)植物遗传工程的崛起.....	(146)
(二)天然的遗传工程.....	(147)
(三)Ti质粒的性质	(149)
(四)植物细胞离体转化系统.....	(151)
(五)植物遗传工程的载体.....	(153)
(六)外源基因在植物细胞中表达.....	(156)
(七)植物遗传工程有无比的艰巨性.....	(157)
(八)从绿色革命到植物遗传工程.....	(158)

一、生命的基本单位——细胞

生物界形形色色的动物、植物和微生物都是由细胞构成的。最简单的生物如细菌、某些藻类一个个体只有一个细胞，复杂的高等生物一个个体是由无数个细胞构成的。如人体是由约一百万亿个、几十种形态结构不同、功能各异的细胞组成的。生物的一切生命活动，包括新陈代谢、生长、发育和繁殖都是由细胞来完成的。

对细胞的认识是与显微镜的发明分不开的。1665年英国人胡克，用自制的显微镜在观察木栓薄片时，发现木栓是由蜂窝状的小室构成的，命名为细胞。实际上胡克看到的是死细胞壁，并非活细胞。随着显微镜的改进对细胞的认识也随之发展。十九世纪三十年代由德国植物学家施来登和动物学家施旺确立了“细胞学说”，认为一切动物和植物有机体皆由细胞组成。从而说明了动、植物有机界的统一性。恩格斯对这一学说给予了很高的评价，誉为十九世纪科学上的三大发现之一。细胞学说建立以后，许多学者的注意力转移到细胞内含物上来，发现了细胞中生活物质，称原生质。利用固定染色技术发现了中心体、高尔基体、线粒体等细胞器，同时关于细胞分裂、染色体的研究，也有了很大进步。电子显微镜的研制和超薄切片技术的发展以及分子生物学方法的建立，为从亚显微水平和分子水平研究细胞的结构与功能，探索生命的秘密开辟了广阔的道路。

(一) 形形色色的细胞

无论动物还是植物的细胞,其外型和大小都有种种类型,差别很大。有的用肉眼就可以看到,如鸟的蛋。有的则要用电子显微镜才能看到,如支原体和原始的细菌,其直径只有0.1微米。大多数动、植物细胞需要借助于光学显微镜来观察,直径在10~100微米之间。

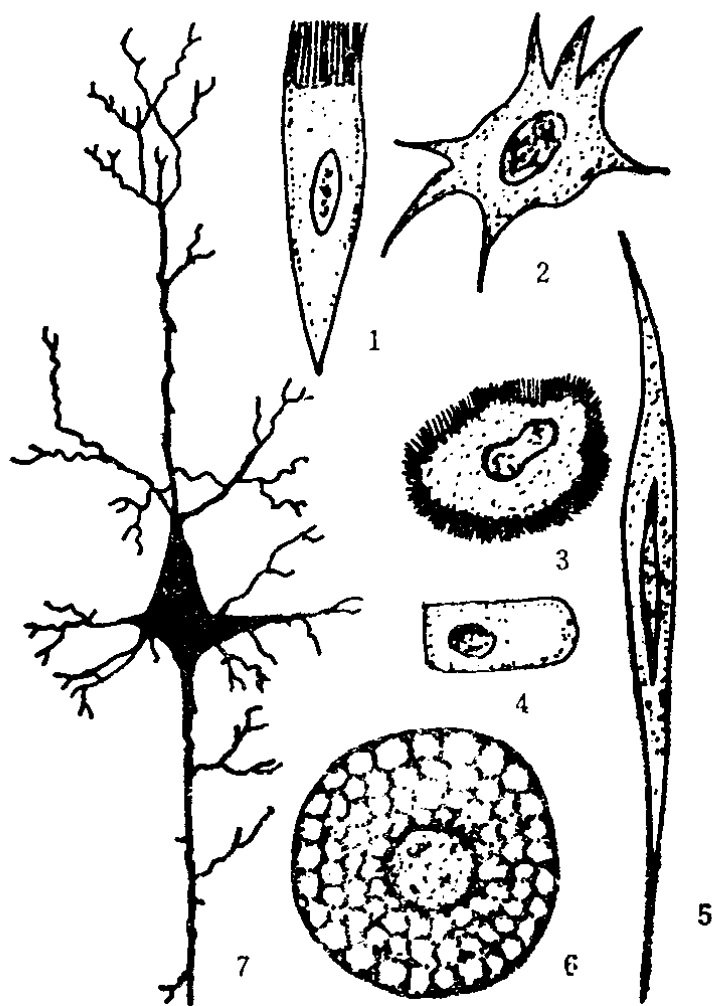


图1.1 几种形态的细胞模式图

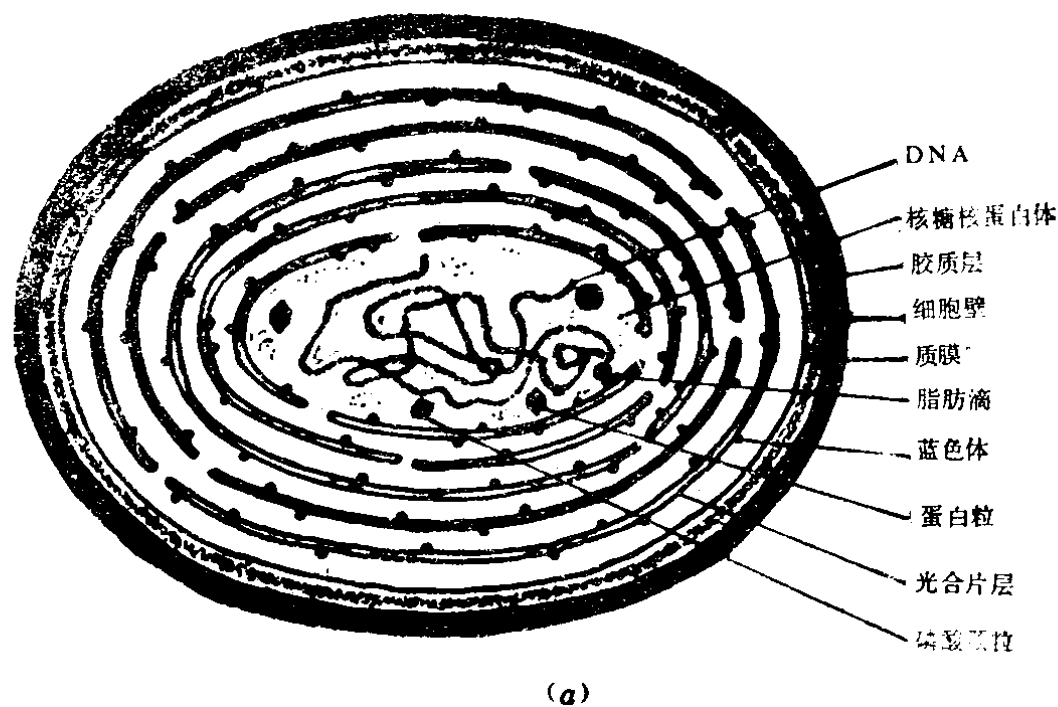
1、3、4. 上皮细胞 2. 结缔组织细胞 5. 肌肉细胞
6. 卵细胞 7. 神经细胞

细胞的形状也是多样的。以单个存在的游离细胞呈球形，如动物的卵细胞，植物的花粉母细胞；神经细胞呈分枝状；表皮细胞呈立方形、多边形；肌肉细胞呈纤维状。总之细胞的形状与其功能有密切的关系（图1.1）。

（二）细胞结构概观

所有细胞可分为两大类：原核细胞和真核细胞。原核细胞结构简单，种类较少。细菌和蓝藻属这一类。真核细胞结构复杂，种类繁多。原生动物、高等动、植物和人类都是由真核细胞构成的。

原核细胞外部由质膜包围，质膜的外部有一层坚固的细胞壁保护，这层细胞壁是由一种叫胞壁质的蛋白多糖所组成，和真核细胞不同，少数原核细胞的壁还含有其他多糖和脂类，有的壁外还有胶质层，原核细胞内的DNA不与组蛋白结合，折叠在一个区域没有膜包围，这个区域称拟核，故此称为原



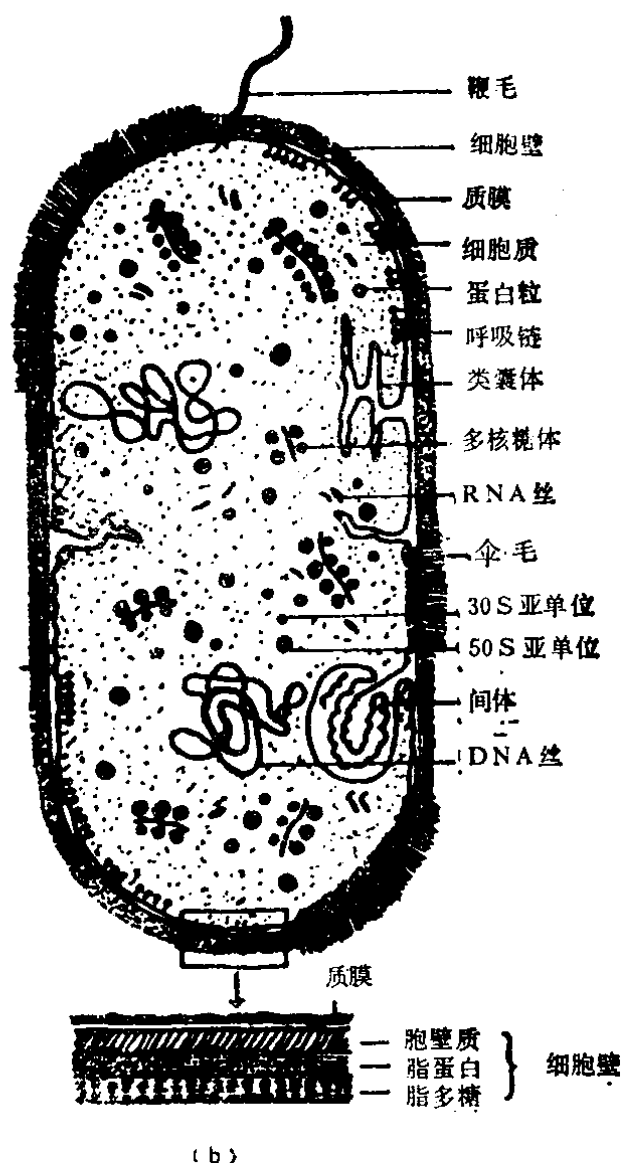


图1.2 原核细胞结构模式图

(a) 蓝藻 (b) 细菌

核细胞。细胞内具有核糖核蛋白体、中间体、蓝色体等，外被有鞭毛或纤毛（图1.2）。

属真核细胞的动物细胞和植物细胞是有重要区别的。动物细胞的表面也由质膜包着，质膜内包含物质统称原生质。原生质可分为细胞质和细胞核两个部分。细胞质中分布着内质网、线粒体、溶酶体、高尔基体、中心粒、微管和微丝

等细胞器。在细胞质中还有许多细胞代谢物质，如糖元颗粒，脂滴、蛋白质等。细胞核由核膜包围，内有染色质和核仁（图1.3）。

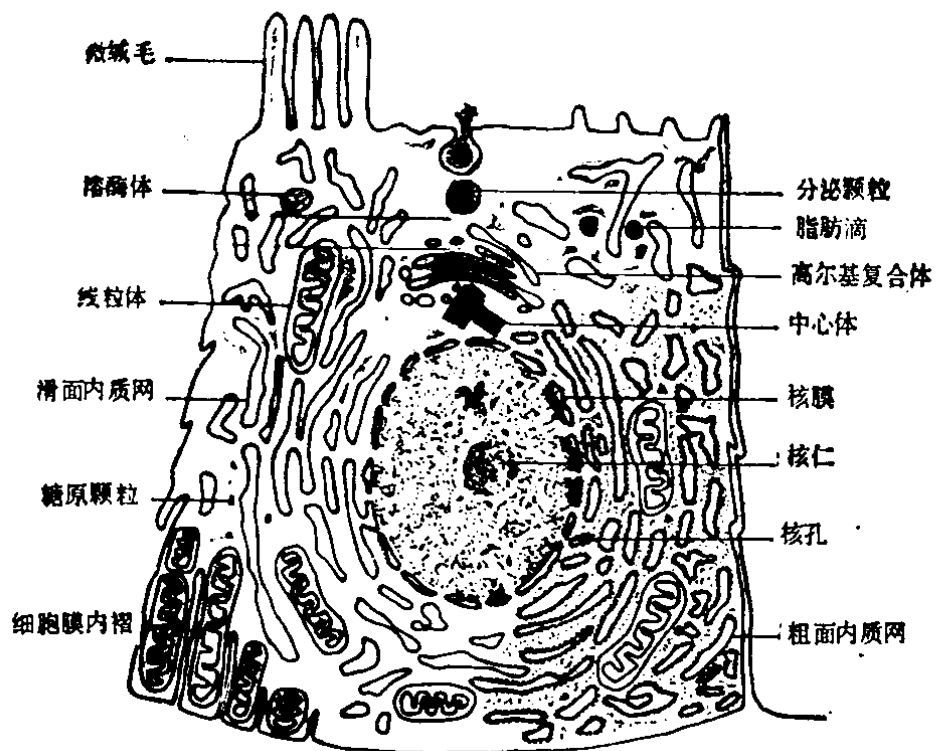


图1.3 动物细胞结构模式图

植物细胞与动物细胞的结构主要区别是：植物细胞具有质体(包括叶绿体、无色体和杂色体)、圆球体，质膜外被较厚的细胞壁，分化的植物细胞往往有中央大液泡（图1.4）。

（三）细胞器的结构与功能

1. 细胞膜（细胞壁）

动、植物细胞外面包裹的一层膜称细胞膜（或称质膜）。细胞膜在电子显微镜下可分为三层。其内外两层较暗，由蛋白质构成，中间层较亮，由类脂双分子构成，三层共厚 7 ~ 10

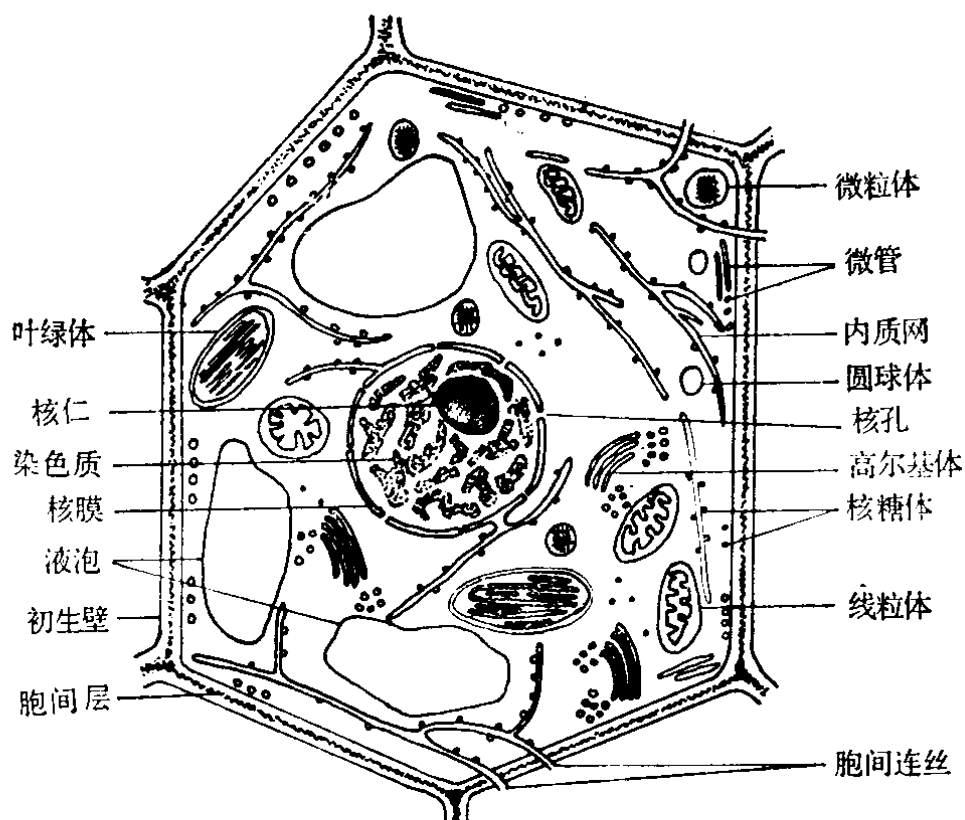


图1.4 植物细胞结构模式图

nm (纳米) 通常把具有这三层结构的膜称为单位膜。质膜的分子构型, 目前认为是由类脂分子以疏水极相对排列为两层为基础。蛋白质有的嵌入到类脂双分子层中间, 称嵌入蛋白质, 有的附着在类脂双分子层内、外表面, 称内在蛋白质或表在蛋白质。还有多糖分子分布在质膜的外侧, 与蛋白质结合称糖蛋白, 与脂分子结合称糖脂。糖蛋白与糖脂覆盖在细胞的外表面称糖被。糖被与质膜和质膜下胞质溶胶共同组成细胞表面 (图1.5)。

细胞膜的功能很多。首先是具有选择性的进行细胞内外物质交换, 一些小分子物质及脂溶性物质, 可从高浓度区通过细胞膜向低浓度区扩散, 即简单的自由扩散形式。而一些

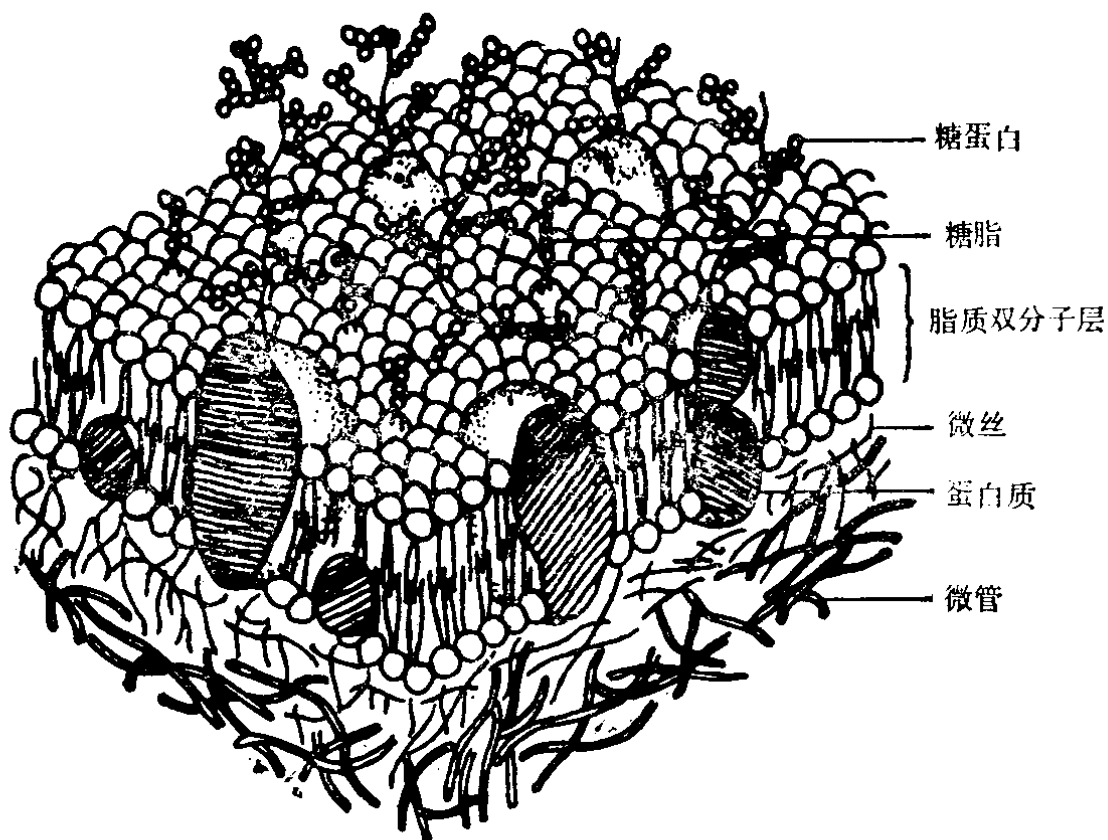


图1.5 细胞表面分子结构示意图

亲水性物质，如葡萄糖、氨基酸不能以简单扩散方式通过细胞膜疏水的类脂双分子层，但在嵌入蛋白质的协助下可进入细胞内。还有一些物质可以逆浓度出入细胞，如一般动、植物细胞，其细胞内钾离子的浓度远远超过细胞外的浓度，钠离子在细胞内的浓度远远低于细胞周围环境，可是钾离子仍可以由细胞外进入细胞内，钠离子也可以不断的由细胞内放出细胞外，这是由质膜上被称作“钾-钠泵”的嵌入蛋白质作功完成的。这种运输方式称主动运输。质膜的另一功能是参与细胞的内吞和外排作用。不能透过膜的大分子物质，先与质膜上蛋白质结合，这部分质膜内陷形成小囊，将该物质包在里面，随后从质膜上分离下来形成小泡进入细胞内部，

此过程称内吞作用。以同样的方式，与此相反的方向将细胞内的物质输出细胞外的过程称外排作用。细胞膜还有识别同种和异种细胞的能力。其起决定作用的是糖蛋白。糖蛋白还有保护、润滑和受体作用。

植物细胞膜外还有较厚的细胞壁，使细胞具有一定的形状。由于植物种类不同，细胞年龄和所执行的功能不一样，细胞壁在构造和成分上差别也较大。细胞壁一般可分为三层：胞间层、初生壁和次生壁，个别还有三生壁。胞间层由果胶质组成，把相邻的细胞粘合在一起形成组织。初生壁在胞间层两侧，次生壁在初生壁的里面靠近细胞膜。初生壁和次生壁主要由纤维素和半纤维素组成，也有少量非纤维素物质。细胞壁并不是连续的，在相邻细胞之间常有原生质丝穿过细胞壁和胞间层而互相联通，这种原生质丝称为胞间连丝。胞间连丝使植物细胞的原生质体互相沟通，便于物质的转移，刺激的传导和细胞质的流通。细胞壁总的功能是支持和保护作用。

2. 核糖核蛋白体

几乎所有细胞都含有核糖核蛋白体，核糖核蛋白体是由核糖核酸和蛋白质组成的，也称核糖体或核蛋白体。核糖体由两个不同大小的亚单位构成，在真核细胞中其大小亚单位的沉降系数分别为60S和40S。原核细胞中分别为50S和30S。真核细胞内有很大一部分核糖体附着在内质网的膜表面，称为附着核糖体，有些游离于细胞质基质内，称为游离核糖体。多个核糖体由信息RNA连接起来形成多聚核糖体。

核糖体是合成蛋白质的场所。附着核糖体主要合成向细胞外输送和分泌性的蛋白质，如抗体、酶原与蛋白质类的激

素等。游离的核糖体主要合成细胞的结构蛋白、基质蛋白与细胞本身所需要的酶蛋白，即合成细胞生长与繁殖所需要的蛋白分子，此外还参与合成一些特殊蛋白质，如血红蛋白分子等。

3. 内质网

是分布在细胞质中，由膜围成的管状或扁平囊状结构，互相连通成网。内质网膜的结构与质膜相同，只是略薄，约 $5 \sim 6 \text{ nm}$ 。分粗面内质网和光面内质网两种。

粗面内质网 扁平囊表面附着核糖核蛋白体的内质网称粗面内质网。常分布于细胞核周围，呈同心圆状排列。参与蛋白质的合成与运输。因此，在合成分泌蛋白质旺盛的细胞，例如能产生抗体的浆细胞和分泌多种酶的胰腺细胞，粗面内质网十分发达。

光面内质网 扁平囊表面没有核糖体附着，形态也与粗面内质网不同。光面内质网多呈网状分布的小管，在一定部位与粗面内质网相连接，构成它的膜蛋白质是由粗面内质网合成后，通过内质网腔转移过来的。光面内质网内具有与粗面内质网不同的酶系，因此有其特殊的功能。它参与脂肪、磷脂胆固醇、糖原的合成或分解过程，肝细胞内光面内质网还有解毒作用。另外光面内质网还有运输分泌蛋白的作用，把粗面内质网上合成的分泌蛋白转运给高尔基体。

4. 高尔基体

高尔基体是意大利学者高尔基（1898年）第一次在神经细胞内发现的，因而以发现者的名字命名，称高尔基体。光镜下观察高尔基体位于细胞核附近，呈网状结构。在电子显微镜下高尔基体是由膜围成的扁平囊和大泡、小泡三种结构