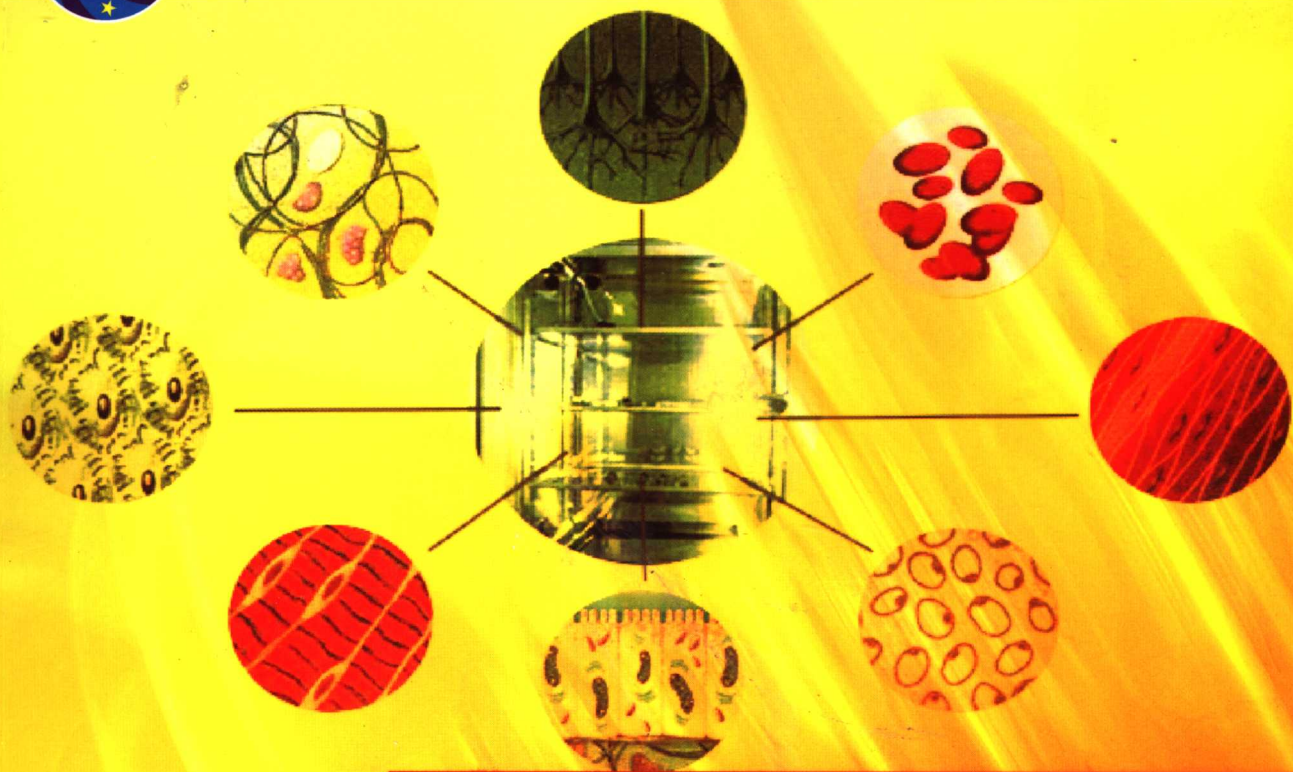




普通高等教育“十一五”国家级规划教材 (高职高专)



# 细胞培养技术

兰 蓉 周珍辉 主编  
章静波 主审

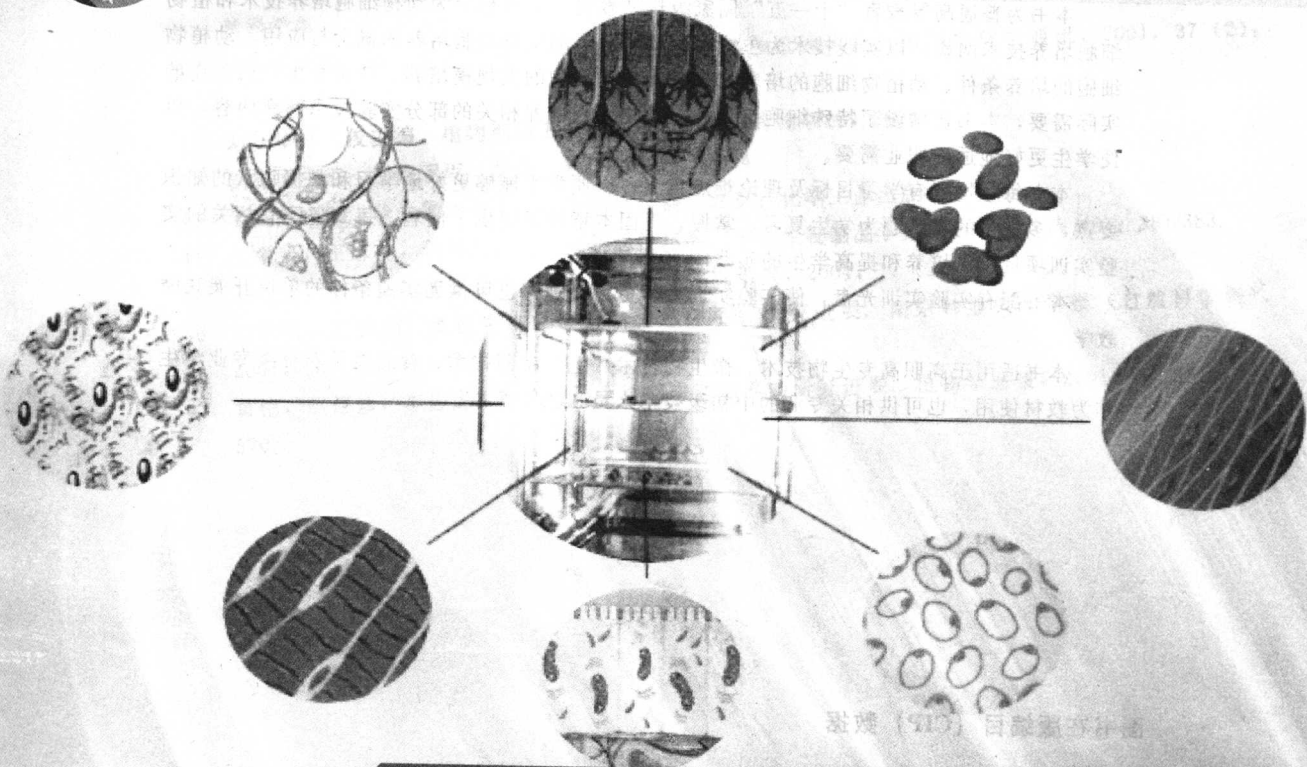
XIBAO PEIYANG  
JISHU



化学工业出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材 (高职高专)



# 细胞培养技术

兰蓉 周珍辉 主编  
章静波 主审

XIBAO PEIYANG

JISHU



化学工业出版社

·北京·

本书为普通高等教育“十一五”国家级规划教材。本教材分为动物细胞培养技术和植物细胞培养技术两篇，以实践技术为主线，主要介绍了动植物细胞培养的概念与应用、动植物细胞的培养条件、动植物细胞的培养技术及动植物细胞的大规模培养。考虑学生今后工作的实际需要，本书还增设了特殊细胞培养和与动物细胞培养相关的部分实验技术两章内容，以便学生更好地适应职业需要。

本书每章均附有学习目标及理论难点自测，以便学生能够更好地学习和掌握每章的知识要点，多类型的自测题为学生复习、掌握、巩固本章知识提供了便利。每章还配有相关的实验实训项目，以培养和提高学生的实践能力。

本书配有实验实训光盘，使实验实训教学更为直观，也可供无实验条件的单位开展观摩教学。

本书适用于高职高专生物技术、微生物技术、生物制药技术、食品类及农林类专业学生作为教材使用，也可供相关专业的中初级技术人员和教师参考。

#### 图书在版编目 (CIP) 数据

细胞培养技术/兰蓉, 周珍辉主编. —北京: 化学工业出版社, 2007. 8

普通高等教育“十一五”国家级规划教材 (高职高专)  
ISBN 978-7-122-00875-6

I. 细… II. ①兰…②周… III. 细胞培养-高等学校: 技术学院-教材 IV. Q813.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 113298 号

---

责任编辑: 李植峰 郎红旗 梁静丽  
责任校对: 李 林

文字编辑: 张春娥  
装帧设计: 张 辉

---

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)  
印 装: 北京中科印刷有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 14 字数 310 千字 2007 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

---

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

---

定 价: 27.00 元

版权所有 违者必究

## 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设委员会委员名单

主任委员 陈电容

副主任委员 王德芝

委员 (按姓氏笔画排序)

王云龙	王芳林	王幸斌	王德芝	李崇高	李敏骞	吴高岭
员冬梅	辛秀兰	宋正富	张 胜	张 海	张文雯	张温典
张德新	陆 旋	陈 红	陈电容	陈忠辉	陈登文	周庆椿
郑 瑛	郑 强	赵凤英	赵书芳	胡红杰	娄金华	钱志强
黄根隆	崔士民	程云燕				

## 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 编审委员会委员名单

主任委员 章静波

副主任委员 辛秀兰 刘振祥

委员 (按姓氏笔画排序)

王利明	王幸斌	王晓杰	卞 勇	叶水英	包雪英	兰 蓉
朱学文	任平国	刘振祥	关 力	江建军	孙德友	李 燕
李双石	李玉林	李永峰	李晓燕	李晨阳	杨贤强	杨国伟
杨洪元	杨福林	邱玉华	余少军	辛秀兰	宋京城	张文雯
张守润	张星海	张晓辉	张跃林	张温典	张德炎	陈 玮
陈可夫	陈红梅	罗合春	金小花	金学平	周双林	周济铭
赵俊杰	胡斌杰	贺立虎	夏 红	夏未铭	党占平	徐安书
徐启红	郭晓昭	陶令霞	黄贝贝	章玉平	章静波	董秀芹
程春杰	谢梅英	廖 威	廖旭辉			

# 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设单位名单

(按汉语拼音排序)

- |              |                |
|--------------|----------------|
| 安徽第一轻工业学校    | 湖北荆门职业技术学院     |
| 安徽万博科技职业学院   | 湖北荆州职业技术学院     |
| 安徽芜湖职业技术学院   | 湖北三峡职业技术学院     |
| 安徽医学高等专科学校   | 湖北生态工程职业技术学院   |
| 北京城市学院       | 湖北十堰职业技术学院     |
| 北京电子科技职业学院   | 湖北咸宁职业技术学院     |
| 北京吉利大学       | 湖北中医学院         |
| 北京协和医学院      | 湖南省药品检验所       |
| 北京医药器械学校     | 湖南永州职业技术学院     |
| 重庆工贸职业技术学院   | 华中农业大学         |
| 重庆三峡职业学院     | 江苏常州工程职业技术学院   |
| 甘肃农业职业技术学院   | 江西景德镇高等专科学校    |
| 广东科贸职业学院     | 江西应用技术职业学院     |
| 广西职业技术学院     | 开封大学           |
| 广州城市职业学院     | 山东滨州职业技术学院     |
| 贵州轻工职业技术学院   | 山东博士伦福瑞达制药有限公司 |
| 河北承德民族师范专科学校 | 山东东营职业学院       |
| 河北承德职业技术学院   | 陕西杨凌职业技术学院     |
| 河北旅游职业学院     | 上海工程技术大学       |
| 河南安阳工学院      | 四川工商职业技术学院     |
| 河南工业大学       | 苏州农业职业技术学院     |
| 河南科技学院       | 武汉软件工程职业学院     |
| 河南漯河职业技术学院   | 武汉马应龙药业有限公司    |
| 河南濮阳职业技术学院   | 武汉生物工程学院       |
| 河南三门峡职业技术学院  | 浙江大学           |
| 河南信阳农业高等专科学校 | 浙江金华职业技术学院     |
| 黑龙江农业职业技术学院  | 浙江经贸职业技术学院     |
| 呼和浩特职业学院     | 浙江医药高等专科学校     |
| 湖北大学知行学院     | 郑州牧业工程高等专科学校   |
| 湖北恩施职业技术学院   | 郑州职业技术学院       |
| 湖北黄冈职业技术学院   | 中国食品工业(集团)公司   |

## 《细胞培养技术》编写人员

- 主 编** 兰蓉  
周珍辉
- 参 编** (按姓氏笔画排序)
- 边亚娟 (黑龙江生物科技职业学院)  
兰蓉 (北京电子科技职业学院)  
任平国 (漯河职业技术学院)  
刘群 (日照职业技术学院)  
李恒思 (郑州职业技术学院)  
吴方 (北京电子科技职业学院)  
金小花 (苏州农业职业技术学院)  
周珍辉 (北京农业职业学院)  
赵小平 (重庆工贸职业技术学院)  
秦静远 (杨凌职业技术学院)  
唐业刚 (武汉生物工程学院)  
谭才邓 (广东轻工职业学院)
- 主 审** 章静波 (北京协和医学院)

## 出版说明

“十五”期间，我国的高职高专教育经历了跨越式发展，高职高专教育的专业建设、改革和发展思路进一步明晰，教育研究和教学实践都取得了丰硕成果。但我们也清醒地认识到，高职高专教育的人才培养效果与市场需求之间还存在着一定的偏差，课程改革和教材建设的相对滞后是导致这一偏差的两大直接原因。虽然“十五”期间各级教育主管部门、高职高专院校以及各类出版社对高职高专教材建设给予了较大的支持和投入，出版了一些特色教材，但由于整个高职高专教育尚未进入成熟期，教育改革尚处于探索阶段，故而现行的一些教材难免存在一定程度的不足。如某些教材仅仅注重内容上的增减变化，过分强调知识的系统性，没有真正反映出高职高专教育的特征与要求；编写人员缺少对生产实际的调查研究和深入了解，缺乏对职业岗位所需的专业知识和专项能力的科学分析，教材的内容脱离生产经营实际，针对性不强，新技术、新工艺、新案例、新材料不能及时反映到教材中来，与高职高专教育应紧密联系行业实际的要求不相适应；专业课程教材的编写缺少规划性，同一专业的各门课程所使用的教材缺乏内在的沟通衔接等。为适应高职高专教学的需要，在总结“十五”期间高职高专教学改革成果的基础上，组织编写一批突出高职高专教育特色，以培养适应行业需要的高级技能型人才为目标的高质量教材不仅十分必要，而且十分迫切。

“十一五”期间，教育部将深化教学内容和课程体系改革作为工作重点，大力推进教材向合理化、规范化方向发展。2006年，教育部不仅首次成立了高职高专40个专业类别的“教育部高等学校教学指导委员会”，加强了对高职高专教学改革和教材建设的直接指导，还组织了普通高等教育“十一五”国家级规划教材的申报工作。化学工业出版社申报的200余本教材经教育部专家评审，被列选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，为高等教育的发展做出了积极贡献。依照教育部的部署和要求，2006年化学工业出版社与生物技术应用专业教育部教改试点高职院校联合，邀请50余家高职高专院校和生物技术相关企业作为教材建设单位，共同研讨开发生物技术类高职高专“十一五”规划教材，成立了“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材建设委员会”和“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研、整体规划的基础上，编写出版一套生物技术相关专业基础课及专门课的教材——“高职高专‘十一五’规划教材★生物技术系列”。该批教材将涵盖各类高职高专院校的生物技术及应用专业、生物化工工艺专业、生物实验技术专业、微生物技术及应用专业、生物科学专业、生物制药技术专业、生化制药技术专业、发酵技术专业等专业的核心课程，从而形成优化配套的高职高专教材体系。该套教材将于2007~2008年陆续出版。目前，该套教材的首批编写计划已顺利实施。首批编写的教材中，《化学》、《细胞培养技术》和《药品质量管理》已列选为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。

该套教材的建设宗旨是从根本上体现以应用性职业岗位需求为中心，以素质教育、创新教育为基础，以学生能力培养为本位的教育理念，满足高职高专教学改革的需要和人才培养的需求。编写中主要遵循以下原则：①理论教材和实训教材中的理论知识遵循“必需”、“够用”、“管用”的原则；②依据企业对人才的知识、能力、素质的要求，贯彻职业需求导向的原则；③坚持职业能力培养为主线的原则，多加入实际案例、技术路线、操作技能的论述，教材内容采用模块化形式组织，具有一定的可剪裁性和可拼接性，根据不同的培养目标将内容模块剪裁、拼接成不同类型的知识体系；④考虑多岗位需求和学生继续学习的要求，在职业岗位现实需要的基础上，注重学生的全面发展，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向，体现与时俱进的原则；⑤围绕各种具体专业，制订统一、全面、规范性的教材建设标准，以协调同一专业相关课程教材间的衔接，形成有机整体，体现整套教材的系统性和规划性。同时，结合目前行业发展和教学模式的变化，吸纳并鼓励编写特色课程教材，以适应新的教学要求；并注重开发实验实训教材、电子教案、多媒体课件、网络教学资源等配套教学资源，方便教师教学和学生学习，满足现代化教学模式和课程改革的需要。

在该套教材的组织建设和使用过程中，欢迎高职高专院校的广大师生提出宝贵意见，也欢迎相关行业的管理人员、技术人员与社会各界关注高职高专教育和人才培养的有识之士提出中肯的建议，以便我们进一步做好该套教材的建设工作；更盼望有更多的高职高专院校教师和相关行业的管理人员、技术人员参加到教材的建设工作和编审工作中来，与我们共同努力，编写和出版更多高质量的教材。

化学工业出版社教育分社



# 前 言

细胞培养技术是生物技术的重要组成部分，是生物学各研究领域的基本技术和技能，现已广泛应用在生物学、医学、生物制药等各个领域。目前，全国开设生物相关专业的高等职业院校共有 200 多所，绝大多数学校都开设细胞培养方面的课程，但有关细胞培养技术方面的书籍或教材，或是内容过于精深、广博，或是仅讲述动物细胞培养和植物细胞培养的一个方面，无法满足当前高职高专教学需求。本教材在编写过程中紧紧围绕高职高专的教育目的，以应用为目的、培养技能为重点，主要有以下几个方面的特点：第一，坚持理论知识“必需、够用”的原则，主要选择与实践教学相配套的必需的理论知识；第二，每一理论章节后面，都附有与之配套的实验实训指导，做到理论与实际密切结合；第三，改变传统编写思路，将动物细胞培养和植物细胞培养技术综合在一本教材中；第四，以实验实训操作为主线，由细胞生物学领域的权威单位制作配套的音像资料，变抽象为形象。

本教材共分为两篇。第一篇为动物细胞培养技术，主要包括：动物细胞培养的概念、发展史和应用，动物细胞培养实验室的设置、设备和器具，动物细胞培养的准备工作，动物细胞原代培养、传代培养、培养细胞的观察和检测，动物细胞冷冻、复苏和运输，动物细胞大规模培养，特殊动物细胞培养，与动物细胞培养相关的部分实验技术。第二篇为植物细胞培养技术，主要包括：植物细胞培养的概念、发展史和应用，植物细胞培养的实验室条件、营养条件和环境条件，植物细胞的悬浮培养、固定化培养、单细胞培养和原生质体培养，植物细胞大规模培养。

本书在编写与出版过程中，化学工业出版社一直予以热情的帮助和支持。北京协和医学院（原中国协和医科大学）的章静波教授审阅了全部书稿，并对本书的构架和内容提出了许多建设性意见。北京协和医学院基础医学细胞中心的刘玉琴老师在配套音像资料设计与拍摄中做了大量工作。在此，作者谨向化学工业出版社、北京协和医学院等单位致以诚挚的感谢。

由于作者的经验和水平有限，书中难免会有疏漏与不足之处，敬请广大读者与同仁批评指正。

编者

2007 年 5 月

# 目 录

## 第一篇 动物细胞培养技术

<b>第一章 动物细胞培养概述</b> .....	2	使用	33
<b>第一节 动物细胞培养的基本概念及其优缺点</b> .....	2	<b>第三章 动物细胞培养的准备工</b>	36
一、动物细胞培养的概念 .....	2	<b>第一节 培养用品的清洗、包装和灭菌</b> .....	37
二、动物细胞培养的优缺点 .....	2	一、培养用品的清洗 .....	37
<b>第二节 动物细胞培养发展史</b> .....	4	二、培养用品的包装 .....	40
一、动物细胞培养技术的创立 .....	4	三、培养用品的消毒灭菌 .....	41
二、动物细胞培养技术的发展 .....	5	<b>第二节 动物细胞培养用液的类型、配制和无菌处理</b> .....	44
<b>第三节 动物细胞培养的应用</b> .....	7	一、平衡盐溶液 .....	44
一、在生物学领域的基础研究中的应用 .....	7	二、消化液 .....	44
二、在临床医学上的应用 .....	7	三、天然培养基 .....	45
三、在动物育种上的应用 .....	8	四、合成培养基 .....	48
四、在生物制品生产上的应用 .....	8	五、完全培养基 .....	49
<b>第四节 动物细胞培养工作的基本要求和</b>		六、无血清培养基 .....	50
<b>工作方法</b> .....	8	七、其他常用液 .....	50
一、动物细胞培养工作的基本要求 .....	8	<b>【理论难点自测】</b> .....	51
二、动物细胞培养工作方法 .....	9	<b>实验实训项目一 动物细胞培养实验器具</b>	
<b>【理论难点自测】</b> .....	10	<b>的清洗、包装和灭菌</b> .....	52
<b>实验实训项目 动物细胞培养的无菌操作</b> .....	10	<b>实验实训项目二 几种动物细胞培养用液</b>	
<b>第二章 动物细胞培养的基本知识</b> .....	13	<b>的配制和无菌处理</b> .....	55
<b>第一节 培养细胞的细胞生物学</b> .....	13	<b>第四章 动物细胞培养的基本技术和</b>	
一、培养细胞的生长类型和形态特征 .....	13	<b>方法</b> .....	59
二、培养细胞分化状态的变化 .....	15	<b>第一节 培养细胞的取材与分离</b> .....	59
三、培养细胞的生长特点 .....	16	一、培养细胞的取材 .....	59
四、培养细胞的生长和增殖过程 .....	18	二、组织材料的分离 .....	61
<b>第二节 培养细胞的生长条件</b> .....	21	<b>第二节 动物细胞的原代培养技术</b> .....	62
一、营养需要 .....	21	一、组织块培养法 .....	63
二、生存环境 .....	23	二、消化培养法 .....	64
<b>第三节 动物细胞培养实验室</b> .....	24	<b>第三节 培养细胞的观察和检测技术</b> .....	64
一、动物细胞培养实验室的设置 .....	24	一、培养细胞的常规观察 .....	64
二、动物细胞培养实验室的设备 .....	26	二、细胞生长曲线的测定 .....	66
三、动物细胞培养实验室常用器具 .....	29	三、细胞培养的污染检测及其排除 .....	67
<b>【理论难点自测】</b> .....	33	<b>第四节 动物细胞传代培养技术</b> .....	70
<b>实验实训项目 动物细胞培养常用设备的</b>		一、原代培养的首次传代 .....	70

二、细胞传代方法	71
三、细胞系的维持	72
第五节 细胞的冻存、复苏和运输技术	72
一、细胞的冻存	72
二、细胞的复苏	73
三、细胞的运输	74
【理论难点自测】	74
实验实训项目一 细胞计数及密度换算	75
实验实训项目二 小鼠胎儿细胞的原代培养(组织块培养法)	77
实验实训项目三 鸡胚原代细胞的培养(消化培养法)	79
实验实训项目四 培养细胞的观察	82
实验实训项目五 细胞活性检查	84
实验实训项目六 原代培养细胞的传代	86
实验实训项目七 细胞冻存技术	88
实验实训项目八 细胞的常规复苏技术	90
<b>第五章 动物细胞的大规模培养</b>	93
第一节 动物细胞大规模培养概述	93
一、动物细胞大规模培养技术的概念	93
二、动物细胞大规模培养技术的应用	93
三、动物细胞大规模培养的一般工艺流程	94
第二节 动物细胞大规模培养的方法和操作方式	95
一、动物细胞大规模培养的方法	95
二、大规模培养技术的操作方式	101
第三节 动物细胞生物反应器	103
一、搅拌罐式生物反应器	104
二、气升式生物反应器	105
三、中空纤维生物反应器	107
四、其他生物反应器	108
【理论难点自测】	108

实验实训项目一 Vero 细胞的微载体培养	109
实验实训项目二 动物细胞生物反应器的使用或参观	110
<b>第六章 特殊细胞培养概要</b>	111
第一节 正常组织细胞的培养	111
一、上皮细胞培养	111
二、神经细胞培养	113
第二节 肿瘤细胞培养	114
一、体外培养肿瘤细胞的生物学特性	114
二、肿瘤细胞的培养要点	115
【理论难点自测】	117
实验实训项目一 异体动物接种成瘤实验	118
实验实训项目二 肿瘤细胞的软琼脂集落实验	119

<b>第七章 与动物细胞培养相关的部分实验技术</b>	122
第一节 单克隆抗体的制备	122
一、单克隆抗体的概念	122
二、杂交瘤技术制备单克隆抗体的基本原理	123
三、杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要过程	123
四、制备单克隆抗体可能出现的主要问题	128
第二节 细胞的基因转染技术	129
一、待转染细胞的准备	129
二、常用的细胞转染方法	129
【理论难点自测】	131
实验实训项目一 细胞融合	132
实验实训项目二 细胞克隆	135

## 第二篇 植物细胞培养技术

<b>第八章 植物细胞培养概论</b>	140
第一节 植物组织与细胞培养	140
一、植物组织培养	140
二、植物细胞培养	142
第二节 植物细胞培养的发展史	143
一、植物细胞培养的创立阶段	143
二、植物细胞培养的发展阶段	144

三、植物细胞培养的应用研究阶段	144
第三节 植物细胞培养的应用	145
一、在植物育种方面的应用	146
二、在植物脱毒方面的应用	147
三、在离体快繁方面的应用	147
四、在植物种质资源保存方面的应用	147
【理论难点自测】	147

实验实训项目 植物细胞培养无菌操作 训练 .....	148	三、悬浮培养细胞的同步化 .....	176
<b>第九章 植物细胞培养的条件</b> .....	150	<b>第三节 植物细胞的固定化培养</b> .....	177
第一节 植物细胞培养的实验室条件 .....	150	一、植物细胞固定化的方法 .....	177
一、植物细胞培养实验室的设计 .....	150	二、固定化植物细胞的培养方法 .....	179
二、植物细胞培养实验室的仪器和 设备 .....	151	<b>第四节 单细胞培养</b> .....	179
三、植物细胞培养的培养器具 .....	153	一、植物单细胞的制备 .....	179
第二节 植物细胞培养的培养基 .....	155	二、植物单细胞的培养 .....	179
一、培养基的组成 .....	156	三、影响植物单细胞培养的因素 .....	181
二、常用的植物细胞培养基种类 .....	158	<b>第五节 原生质体培养</b> .....	182
三、植物细胞培养的培养基配制 .....	159	一、植物原生质体的特点 .....	182
第三节 植物细胞培养的环境条件 .....	162	二、植物原生质体的制备 .....	183
一、温度 .....	162	三、植物原生质体的培养方法 .....	186
二、湿度 .....	163	<b>【理论难点自测】</b> .....	187
三、光照 .....	163	实验实训项目一 胡萝卜和白菜成熟胚 愈伤组织培养 .....	187
四、气体 .....	164	实验实训项目二 植物细胞悬浮培养 .....	189
五、pH .....	164	<b>第十一章 植物细胞的大规模培养</b> .....	191
<b>【理论难点自测】</b> .....	165	第一节 植物细胞大规模培养概述 .....	191
实验实训项目一 植物组织细胞培养基 母液的配制和保存 .....	166	一、植物细胞大规模培养技术的概念 .....	191
实验实训项目二 植物组织细胞培养基 的配制和灭菌 .....	167	二、植物细胞大规模培养的应用和 工业前景 .....	191
实验实训项目三 植物细胞培养常用设备 的使用 .....	169	三、植物细胞大规模培养流程 .....	194
<b>第十章 植物细胞培养的基本过程     和方法</b> .....	171	<b>第二节 植物细胞大规模培养技术</b> .....	194
第一节 植物细胞的获取 .....	171	一、植物细胞规模化培养体系的建立 .....	194
一、从外植体直接分离植物细胞 .....	171	二、植物细胞的大规模培养方法 .....	195
二、通过愈伤组织诱导获取植物细胞 .....	173	<b>第三节 植物细胞生物反应器</b> .....	197
第二节 植物细胞的悬浮培养 .....	175	一、搅拌式生物反应器 .....	198
一、悬浮细胞的诱导 .....	175	二、非搅拌式生物反应器 .....	199
二、悬浮培养细胞的生长和测定 .....	176	三、植物细胞固定化培养生物反应器 .....	200
		<b>【理论难点自测】</b> .....	201
		实验实训项目 种子细胞筛选与细胞 规模化培养 .....	201
<b>附录 细胞培养技术常用术语中英文对照</b> .....	203		
<b>参考文献</b> .....	208		

# 第一篇 动物细胞培养技术

- 
- 第一章 动物细胞培养概述
  - 第二章 动物细胞培养的基本知识
  - 第三章 动物细胞培养的准备工作的
  - 第四章 动物细胞培养的基本技术和方法
  - 第五章 动物细胞的大规模培养
  - 第六章 特殊细胞培养概要
  - 第七章 与动物细胞培养相关的部分实验技术

# 第一章 动物细胞培养概述

## 学习目标

1. 理解动物细胞培养的概念，了解细胞培养与组织培养、器官培养的区别与联系；
2. 熟悉动物细胞培养的特点；
3. 了解动物细胞培养的发展史及其在各领域的应用；
4. 熟悉动物细胞培养的基本要求和工作的方法。

## 第一节 动物细胞培养的基本概念及其优缺点

### 一、动物细胞培养的概念

动物细胞培养是指将动物活体体内取出的组织用机械或消化的方法分散成单细胞悬液，然后放在类似于体内生存环境的体外环境中，进行孵育培养，使其生存、生长并维持其结构与功能的方法。动物细胞培养的对象为单个细胞或细胞群，这些细胞不再形成组织。

动物组织培养是一个和动物细胞培养相近的概念，其本意是指从生物体内取出活的组织（多指组织块）在体外进行培养的方法。组织培养的对象在体外可发生分化并保持组织的结构和功能，但不具备器官的结构与功能。在组织培养过程中，由于细胞的移动（运动）和其他一些环境因素的影响，现代的培养技术尚不能在体外维持组织的结构和机能长期保持不变。培养时间越长，发生变化的可能性越大，结果常使单一类型的细胞保存下来，最终成为细胞培养。而所谓的细胞培养，也并不意味着细胞彼此是独立的，细胞在培养中的生命活动和体内细胞一样，仍然是相互依存的，呈现出一定的“组织”特性。所以，组织培养和细胞培养的概念并无严格区别，有时会笼统地放在一起。要注意的是，组织培养这一概念在过去常常用来泛指所有的体外培养，即是器官培养、组织培养和细胞培养的总称（图 1-1）。

器官培养系将活体内的器官（一般是胚胎器官）、器官的一部分或器官原基取出，在体外进行培养的方法。器官培养的对象在体外也可能发生一定程度的分化，但始终保持着器官的基本结构与功能特征。事实上，器官培养与组织培养、细胞培养也没有截然界限。器官培养中所培养的器官包含各种各样的组织和细胞，其所应用的培养条件和组织培养、细胞培养的条件是相似的。

### 二、动物细胞培养的优缺点

细胞培养不仅是一种技术，也是一门科学，现已广泛应用于现代医学和生物科学研究之中。细胞培养技术最大的优点在于对被培养的细胞能够方便地施加实验因素和观测实验结果，是非常好的实验对象。

细胞培养技术具有如下的一系列优点。

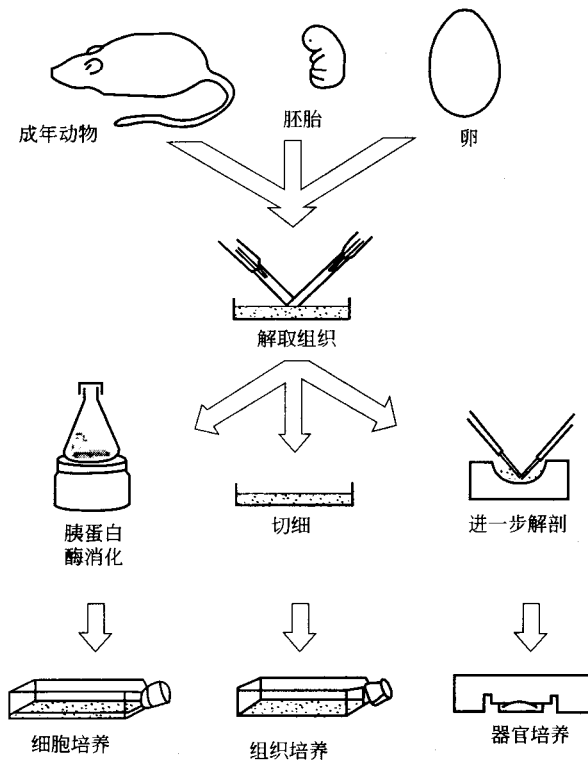


图 1-1 组织培养的类型

(引自：章静波译. 动物细胞培养基本技术指南. 2004)

① 可简化细胞的生长环境。生物体内任何一个细胞不论是其生存环境还是其发挥功能的条件等都是非常复杂和不易研究的，要想了解某一种细胞的生存条件和生物学功能，一个有效的方法就是将所研究的对象孤立出来单独分析。细胞培养技术使得在细胞存活的基础上独立研究细胞生命活动、逐项研究细胞生存条件和细胞功能成为可能。

② 能够方便地控制实验因素。在细胞培养的条件下，细胞生存的理化环境如 pH、温度、CO<sub>2</sub> 张力等都是可以人为控制的，并且可能做到很精确以及保持其相对的恒定。研究某种实验因素对细胞的生物学作用，只需在培养液中有针对性地加入或者删除这种成分即可。

③ 易于观测实验结果。利用细胞培养技术研究细胞的生命活动规律，可以很方便地采用各种实验技术和方法来观察、检测和记录。例如：通过倒置相差显微镜等直接观察活的细胞；应用缩时电影技术、摄像或者通过闭路电视长时间连续记录和观察被培养细胞的体外生长情况，可以直观揭示培养细胞的生命活动规律以及所施加因素的反应；利用同位素标记、放射免疫等方法检测细胞内的物质合成和代谢变化等。

④ 可供研究的细胞种类极其广泛。从低等动物细胞到高等动物细胞以至人类细胞，从胚胎细胞到成体细胞，从正常组织细胞到肿瘤组织细胞皆可用于培养，为多种学科的实验研究提供广泛的实验材料。

⑤ 可同时提供大量均一性较好的细胞群，降低实验成本。取自一般组织的样本，其

构成的细胞类型多样，即使是来源于同一组织，也不可能做到均一性。但是，体外培养一定代数的细胞，所得到的细胞系或细胞株则可达到细胞类型单一、细胞周期同步均匀、生物学性状基本相同以及对实验因素反应一致等。由于细胞培养可提供大量均一性较好的实验样本，有时可比体内试验成本更低。例如：一个需要 100 只鼠才能得出结论的实验可能只用 100 片盖玻片或几个多孔培养板就可获得具有相同统计学意义的结果。

⑥ 能够进行大规模生物制品的生产。通过扩大细胞培养系统容量，可以大规模培养动物细胞以生产生物制品。目前，利用动物细胞大规模培养技术所生产的生物产品包括酶、单克隆抗体以及多种疫苗等生物制品或者基因工程产品。

细胞培养虽然具有以上的一系列优点，但是也有其不足之处，主要是以下几点。

① 体外培养的动物细胞对营养的要求较高。动物细胞培养液中往往需要多种氨基酸、维生素、辅酶、核酸、嘌呤、嘧啶、激素和生长因子等，在很多情况下还需加入 10% 的胎牛或新生牛血清。

② 动物细胞生长缓慢，对环境条件要求严格。动物细胞培养不仅需要严格的防污染措施，同时还需用空气、氧、二氧化碳和氮的混合气体进行供氧和调节 pH。

③ 体外培养的细胞与体内生长的细胞存在或多或少的差异。组织和细胞离体之后，独立生存在培养环境中，缺乏在体时的血液供应和神经体液调节作用，其生物学行为与体内生长时相比会发生某些变化。即使当前模拟体内技术发展很快，但终究是一种人工条件，始终不如真正的体内生存条件完美。因此在利用培养细胞作研究对象时，切不要与体内细胞等同起来，对实验结果轻易做出判断。

## 第二节 动物细胞培养发展史

### 一、动物细胞培养技术的创立

现在一般认为细胞培养技术是从 R. Harrison 和 A. Carrel 两人真正开始的。

1907 年，实验胚胎学家 Harrison 在无菌条件下，将蛙胚髓管部的小片组织接种于蛙的淋巴液中，共同保持在一盖玻片上，然后翻转盖玻片，使组织小片和淋巴液悬挂在盖玻片的表面，再将这块玻片密封在一个下凹的载玻板之上。一定时间后，更换淋巴液。Harrison 用这种方法，将蛙胚髓管部的小片组织在体外培养了数周之久。Harrison 的实验开创了动物组织和细胞培养的先河，标志着盖玻片悬滴培养法的建立（图 1-2）。



图 1-2 单玻片悬滴培养法

（引自：薛庆善，体外培养的原理与技术，2001）

在动物组织和细胞培养的先驱者中，法国学者 A. Carrel 也功不可没。Carrel 把外科手术的无菌操作观念带到了组织培养实验之中，在进行实验时特别注意无菌操作。在没有抗生素的情况下，仅仅依靠小心而细致的工作，使鸡胚心脏植块连续培养长达数年之久。除了将无菌操作观念带入组织培养过程外，Carrel 的第二个重要贡献是将培养组织包埋技术、营养供应以及传代培养等许多重要的培养条件和方法引入组织培养过



程中,从而使多种动物组织培养获得成功。1923年,Carrel又设计了使用卡氏瓶培养的方法,以扩大组织的生存空间,为组织细胞培养的发展奠定了基础。在卡氏瓶培养法的启发下,相继出现了各种类型的培养瓶、培养皿、试管以及多孔培养板的培养法。

## 二、动物细胞培养技术的发展

自组织和细胞技术创立以后,它的发展非常迅速,特别是从20世纪50年代开始,细胞培养技术进入了一个飞速发展阶段。相继有很多学者,从改进培养器材、培养方法和培养液三个方面,作了很多革新。现在细胞培养已成为细胞工程、基因工程、抗体工程的重要手段,广泛应用于生物学和医学研究各个领域。

### 1. 培养器材的发展

1923年Carrel设计出了培养空间较大且换液传代方便的卡氏瓶,并用卡氏瓶培养各种组织细胞,同时也发表了大量论文。在卡氏瓶原理的启发下,出现了使用试管培养,继而又出现了多种类型的培养瓶、培养皿和多孔培养板的培养(图1-3)。从20世纪40年代开始,大多数培养工作都过渡到用瓶子培养。

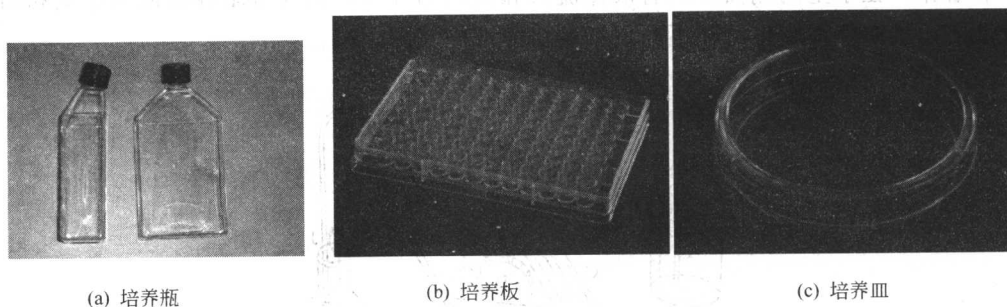


图 1-3 多种类型的细胞培养容器

(引自:中国实验室装备,2006)

### 2. 培养方法的发展

在培养器材更新的同时,培养方法的改进也十分迅速。1925年,A. Maximow改良了Harrison创立的单盖片悬滴培养法,使之成为双盖片悬滴培养法。双盖片悬滴培养法是将接种组织的盖玻片与用于封闭培养环境的盖玻片分成两张盖玻片(图1-4),方便了更换培养液的操作,大大降低了污染的概率。

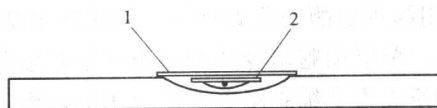


图 1-4 双盖玻片法图解

1—载体盖玻片; 2—带培养物盖玻片

(引自:陈瑞铭,动物组织培养技术及其应用,1998)

1933~1934年,Gey和Lewis建立了旋转管培养的方法,将培养物接种于一管状培养器皿中,再将其固定在一可以旋转的装置(图1-5)上旋转培养。采用这种培养方法,