



生命科学实验指南系列



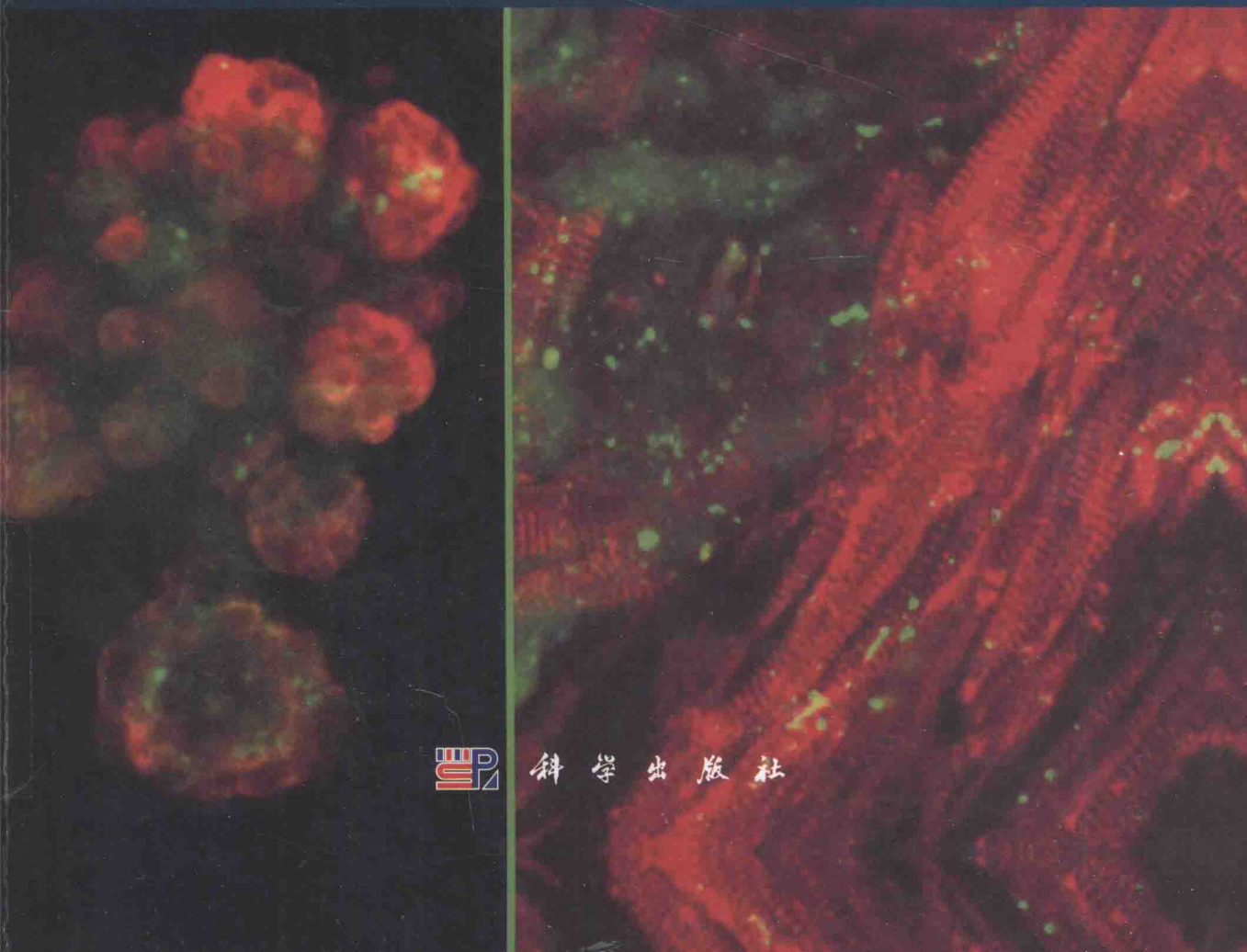
**Culture of Animal Cells:**  
A Manual of Basic Technique and Specialized Applications  
(Sixth Edition)

# 动物细胞培养


## ——基本技术和特殊应用指南

(原书第六版)

[英] R. I. Freshney 著  
章静波 徐存拴 等 译



科学出版社



生命科学实验指南系列·典藏版

# 动物细胞培养——基本技术和特殊应用指南

(原书第六版)

Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique  
and Specialized Applications

(Sixth Edition)

[英] R. I. Freshney 著

章静波 徐存拴 等 译

科学出版社

北京

图字：01-2013-6032 号

## 内 容 简 介

“生命科学实验指南系列”图书均出自名家，包括众多从 Cold Spring Harbor Laboratory Press 和 John Wiley & Sons 等国际知名出版社引进的实验室必备工具书，是生命科学领域最先进、实用、权威的实验手册类优秀图书。该系列图书简单明了，囊括了全世界最著名的生物类实验室操作方法，无论是初学者还是需要深入研究的科研工作者都能从中获益。该系列图书在读者群中有较高的知名度和美誉度，特别是以《分子克隆实验指南》和《精编分子生物学实验指南》为代表，堪称经典，分别被喻为生命科学领域的“蓝宝石”和“红宝石”。现挑选其中的精品集结成典藏版。

Copyright © 2010 by John Wiley & Sons, Inc. All Rights Reserved. This translation published under license. Authorized translation from the English language edition, entitled Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, ISBN 978-0-470-52812-9, by R. Ian Freshney, Published by John Wiley & Sons. No Part of this book may be reproduced in any form without the written permission of the original copyrights holder.

### 图书在版编目 (CIP) 数据

生命科学实验指南系列：典藏版/雷东锋等编著. —北京：科学出版社，2016

ISBN 978-7-03-047486-5

I. ①生… II. ①雷… III. ①生命科学—实验—指南 IV. ①Q1-0

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 043878 号

责任编辑：王 静 李 悦

责任印制：张 伟 / 封面设计：刘新新

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>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016 年 7 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张：1310 1/2

字数：31 074 000

定价：4500.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换)

谨以此书献给我众多的朋友和同事，多年来他们的帮助和建议使我能将此书的内容扩展到我经验所不及的领域。



# 参 译 人 员

(以章节排序)

- 章静波 (中国医学科学院基础医学研究所)  
马 杰 (郑州大学第一附属医院)  
徐存拴 (河南师范大学生命科学院)  
陈实平 (中国医学科学院基础医学研究所)  
关纪奎 (中国医学科学院基础医学研究所)  
蒋 毅 (中国医学科学院基础医学研究所)  
曲彦明 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王 冬 (中国医学科学院基础医学研究所)  
刘玉琴 (中国医学科学院基础医学研究所)  
冯海凉 (中国医学科学院基础医学研究所)  
刘艳艳 (中国医学科学院基础医学研究所)  
杨振丽 (中国医学科学院基础医学研究所)  
卞晓翠 (中国医学科学院基础医学研究所)  
陈 曦 (北京大学人民医院生殖医学中心)  
石 程 (北京大学人民医院生殖医学中心)  
钱晓菁 (中国医学科学院基础医学研究所)  
李康华 (中国医学科学院基础医学研究所)  
黄 姗 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王世华 (中国医学科学院基础医学研究所)  
向若兰 (北京大学医学部)  
杨燕丽 (中国医学科学院北京协和医院)

王海杰 (复旦大学上海医学院)  
韩 钦 (中国医学科学院基础医学研究所)  
谭玉珍 (复旦大学上海医学院)  
王强利 (复旦大学上海医学院)  
薛惠文 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王丹阳 (中国医学科学院北京协和医院)  
安 威 (首都医科大学基础医学院)  
王莎丽 (中国医学科学院基础医学研究所)  
杨 卓 (中国医学科学院基础医学研究所)

## 审 校

章静波 徐存拴 陈实平

# 译者的话

一般说来，一本好书，一部经得住实践考验的精品，每隔5年左右总会再版。经历5年之后，《动物细胞培养——基本技术和特殊应用指南》（原书第六版）如今又适时面世了。考虑到我国学者与莘莘学子的需要，考虑到版本之间的连续性，科学出版社未将经济效益置于首位因素，仍委托我们重译，表明出版家的胸怀与慧眼，我们也欣然承诺，乐意为我国细胞培养工作奉献绵薄之力。

再版书籍通常会保留它的主要内容，这是它的延承性，但更重要的还是要适时地增加新的内容，反映它具有时代性。《动物细胞培养——基本技术和特殊应用指南》同样保留了前一版的绝大部分内容，因为这是从事细胞培养的人员所必须掌握的。但是最近5年，细胞生物学领域以及细胞培养技术都有长足的进展，尤其是干细胞与组织工程研究已成为生命科学中的最为炙热的焦点，因此，及时地将该领域以及其他方面的新进展，尤其是技术方法，特别是标准化的操作方案推荐给读者，是一个有责任心的科学家刻不容缓的责任。本书作者数十年如一日，殚精竭虑，精益求精，不断推出新版，这正符合我们与时俱进的作风，从这一意义上说，本书再版也是有关读者的福音。

我们曾承担本书第四版、第五版的翻译任务，虽然译者大多数均是从事生命科学领域研究的专家，但大家似乎都有这样的共识——“翻译乃是再创作”，此说不假，因为翻译不只是“人云亦云”、“依样画葫芦”，虽然比起文学作品，科技翻译可能会“呆板”得多，但它仍需要译者有坚实的专业知识与一定的文字功底，更不能“我不懂就跳过去”。就如那些“beyond my own limited experience”（我经验所不及者），你也一定要将它理解、译出。此时便需要译者来回通读，甚至参考原著，不耻下问，务必弄懂并且准确无误地将作者原意传达给读者。虽然此番辛苦谈不上到达“吟妥一个字，捻断数根须”的地步，但高度责任心是万万不可缺的。为此我十分感谢所有的译者，他们是一群有责任心的科学工作者。

毫不讳言，书中肯定会有译得不通顺、不恰当，甚至谬误之处，我谨希望读者一旦发现，及时予以指出，以便我们可以适时地以适当的方式予以改正，诚如本书作者在他的前言与致谢中所说的“听到有人说他们可从拙著中获益，我会感到心满意足，但更为重要的是听到有人指出本书的不足，对此我们将乐于纠正”。我们的译者也是这样的。

近几年来，生命科学在我国发展迅速，分子生物学、细胞生物学、神经生物学、遗传学、免疫学、组织工程学与再生医学、发育生物学等学科都取得长足进步，其中少不了细胞培养的功劳。我谨希望《动物细胞培养——基本技术和特殊应用指南》新版为更加加速我国生命科学与医学的发展再立新功。

章静波

于北京协和医学院基础学院

2012年10月1日

# 前言与致谢

1953年当本书初版之时，虽然细胞培养已是一种成熟的技术，但主要还属于一种研究工具，使用者寡。当时人们对细胞培养缺乏信任，疑虑它是否可提供与体内过程相关的信息。后来，主要出于分子遗传学和病毒学的需要，并为了生产生物药剂，方将细胞培养的运用扩展到大企业的生产过程。如今，本领域得到进一步的延伸，涉及令人兴奋的干细胞研究和再生医学。或许当今进展中一个最令人鼓舞的方面是我们已握有“圣盘(holy grail)”<sup>\*</sup>，借此可以操纵培养中有充分功能的特化细胞。选择培养条件与基因表达操纵相结合则意味着我们不仅能够分离和培养特化细胞(specialized cell)，还可以从“现货供应”中购得。此外，我们还能唤起原始干细胞和成熟细胞基因表达的可塑性，以前人们曾认为成熟细胞的命运一旦被决定是不可逆转的。

本书为《动物细胞培养——基本技术和特殊应用指南》(第六版)。曾经使用本书上一版的读者会注意到某些扩展的内容不能算是基本技术，此外，本书还新添了“干细胞”一章，反映人们对该领域研究方兴未艾的兴趣。原第2章，即培训纲要，除了作为参考读物之外，旨在强调本书可作为教材之用，现移至倒数第3章，即第28章。我们的想法是，无论是指导教师、培训者还是学生，在进行练习之前应首先在前面的篇章上用点时间和下点工夫。

彩版页数也有所增加，与图16.2加在一起，本书现有大约40个不同细胞系的照片，包括原代培养、设备和操作过程。其中有4版是新的，2版为干细胞，2版为特化细胞(Cell Applications, Inc. 馈赠)。我十分感激ATCC的Yvonne Reid和Greg Sykes、ECACC的Peter Thraves及许多慷慨赠送图片的朋友们。我希望这些图片，尤其是彩图，可以激发读者更仔细地观察他们自己的细胞，并能使他们对常规维持细胞时出现的改变更加警觉。

在本书的大部分内容中，我仍然保留着前几版的重点，并用较特殊的培养和方法作为实例，着重介绍某些基本技术。我们以详细的、一步一步的方案来描述，这样做应可提供足够的信息来进行操作，而不必寻求于原始文献。每一方案中还有一段导言来解释其背景以及提供其他操作程序和应用的补充信息。虽然在第2章中我们介绍了某些基本生物学知识，但我们认定读者已经具有解剖学、组织学、生物化学及细胞和分子生物学基本知识，因此本书的对象是那些以往缺乏组织培养经验的人们，其中包括接受培训的技术员、高年级大学生、研究生、博士后人员以及对实验室科学感兴趣的临床医生，对于那些工作在生物技术企业，包括细胞生产、筛选实验、质量控制的人们，也必将从本书中获益。

在介绍特殊技术的第27章，我们不再保留分子技术的那些方案，因为已有许多其他资源(如Sambrook and Russell, 2006; Ausubel et al., 2009)，此外，我对这一领域也不太精通。同样，讲述规模培养的第26章，仅作为与生物技术接轨之用，只提供有关增加细胞产量系统的某些背景知识，并非提供生物药剂生产和下游的全部过程。关于自动化那一节则给出更多的细胞培养中自动化操作的实例。

\* holy grail, 原意为耶稣在最后晚餐时所用的圣具，此处转意为我们有了极好的研究技术——译者注



方案以另一种醒目形式编排，以别于正文，特殊方案的专用试剂在方案材料栏中详细列出，至于常用试剂的配方，诸如 Hank's、BBS 或胰蛋白酶则置于书本附录 I。有关设备和材料来源的详细资料可见附录 II；供应商名录（附录 III）也已更新，但未列出他们的地址、电话、传真号码和电子邮件地址，只是提供了他们的网址，我想由此可以获得所有必需的联络信息。除非有特别需要的条目，不然在正文中我们不提及供应商。

本书所采用的缩略语列于前言之后。遍及全书的惯用词 D-PBSA，所指为无  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的 Dulbecco's PBS；而 UPW 指的是不限用什么方法制备的超纯水。只要有可能，浓度均以体积克分子浓度（molarity\*）来表示。我想极少有人会自己去配培养基，因此在溶液表中未列入真正的质量，但是有些读者很可能去比较它们的组成成分，此时摩尔当量则更加实用。

一如既往，我万分感激提供实验方案的作者们，也感激对我不完全了解的领域提出建设性意见的同行们，他们是 Riobert Auerbach、Bob Brown、Mike Butler、Kenneth Calman、Roland Grafström、Richard Ham、Rob Hay、Stan Kaye、Nicol Keith、John Masters、Wally McKeehan、Rona McKie、Stephen Merry、Jane Plumb、Peter Vaughan、Paul Workman、已故的 John Paul，以及 ECACC 的成员 Isobel Atkins、Jim Collins、David Lewis、Chris Morris 和 Peter Thraves。我还有幸与 David I. Graham、David G. T. Thomas 以及已故的 John Maxwell Anderson 进行临床协作。

在本书的前期准备阶段，我还得益于与 Don Dougall、Peter del Vecchio、Sergey Federoff、Mike Gabridge、Dan Lundin、John Ryan、Jim Smith 以及 Charity Waymouth 的讨论。我对 Paul Chapple 感激不尽，是他最初劝说我应当写一本有关组织培养基本技术的教科书。书中许多原创性的插图是由 Jane Gillies 和 Marina LaDuke 绘制的，虽然出于电子版的要求，其中不少现已被其他图片所取代。书中的某些资料则是由与我共事多年的同仁提供的，其中包括 Sheila Brown、Ian Cunningham、Lynn Evans、Margaret Frame、Elaine Hart、Carol McCormick、Alison MacKie、John McLean、Alistair McNab、Diana Morgan、Alison Murray、Irene Osprey、Mohammad Zareen Khan，以及 Natasha Yevdokimova。

我也很幸运地得到 John Wiley&Sons 编辑部成员极好的建议和帮助。我同样衷心地感谢所有不厌其烦地对前几版向我和 John Wiley&Sons 提出建议和建设性批评意见的人们。听到有人说他们可从拙著中获益，我会感到心满意足，但更为重要的是听到有人指出本书的不足，对此我们将乐于纠正。我谨希望本书的使用者和我一样保持不变的激情，企盼细胞培养领域出现更加亮丽的前景。

我十分感谢我的女儿 Gillian 和儿子 Norman，多年之前他（她）们已帮助我编写第 1 版，此后还不断地提出建议和支持。我尤其要感谢我的夫人 Mary，她不遗余力参与编撰、校对以及处理诸多其他事务，没有她的鼎力相助，第一版绝不可能问世，更不可能达到技术精确性的必需水平，而这一点正是造就一部精品组织培养指南的关键所在。

R. Ian Freshney  
(章静波 译)

\* molarity，又称体积摩尔浓度或称容模，不同于质量摩尔浓度（molality）。摩尔浓度也称质量克分子浓度或称重模——译者注

# 缩 略 语

AEC	Animal Ethics Committee	动物伦理委员会
AFP	$\alpha$ -fetoprotein	甲胎蛋白
ANSI	American National Standards Institute	美国国家标准研究所
ACDP	Advisory Committee on Dangerous Pathogens	危险病原体咨询委员会
ATCC	American Type Culture Collection	美国模式培养物收集中心, 美国菌种保藏中心
BMP	bone morphogenetic protein	骨形态形成蛋白
bp	base pair (in DNA)	DNA 的碱基对
BFU-E	erythroid burst-forming unit	红细胞暴发形成单位
BPE	bovine pituitary extract	牛垂体提取物
BUDR	bromodeoxyuridine	溴脱氧尿苷
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
CAM	chorioallantoic membrane	尿囊绒膜
CAM	cell adhesion molecule	细胞黏附分子
CDC	Centers for Disease Control	疾病控制中心
CCD	charge-coupled device	电耦合器
CCTV	closed-circuit television	闭路电视
cDNA	complementary DNA	互补脱氧核糖核酸
CE	cloning efficiency	克隆效率
CFC	colony-forming cell	集落形成细胞
CFC-GEMM	granulocyte, erythrocyte, macrophage, and megakaryocyte colony-forming cell	粒细胞、红细胞、巨噬细胞、巨核细胞集落形成细胞
CFC-mix	mixed colony-forming cell	混合集落形成细胞
CM	conditioned medium	条件培养基
CMC	carboxymethylcellulose	羧甲基纤维素
CMF	calcium- and magnesium-free saline	无钙镁盐水
CMRL	Connaught Medical Research Laboratories	康诺特医学研究实验室
DEPC	diethyl pyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
DMEM	Dulbecco's modification of Eagle's medium	Dulbecco 改良的 Eagle 培养基
DMSO	dimethyl sulphoxide	二甲(基)亚砷
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
DoH	Department of Health (UK)	卫生部(英国)

D-PBSA	Dulbecco's phosphate-buffered saline solution A (without Ca <sup>2+</sup> and Mg <sup>2+</sup> )	Dulbecco 磷酸缓冲盐溶液 A (无 Ca <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup> )
D-PBSB	Dulbecco's phosphate-buffered saline solution B (Ca <sup>2+</sup> and Mg <sup>2+</sup> )	Dulbecco 磷酸缓冲盐溶液 B (含 Ca <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup> )
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)	德国微生物和细胞培养收集中心
DT	population doubling time	群体倍增时间
EBRA	European Biomedical Research Association	欧洲生物医学研究协会
EBSS	Earle's balanced salt solution	Earle 平衡盐溶液
EBV	Epstein-Barr virus	EB 病毒
EC	European Community	欧洲联盟
EC	embryonal carcinoma	胚胎性癌
ECACC	European Collection of Animal Cell Cultures (now European Collection of Cell Cultures)	欧洲动物细胞收集中心(现欧洲细胞 培养收集中心)
ECGF	endothelial cell growth factor	内皮细胞生长因子
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid	乙二胺四乙酸
EGF	epidermal growth factor	表皮生长因子
EGTA	ethylene glycol tetraacetic acid	乙二醇四乙酸
EM	electron microscope	电子显微镜
ES	embryonic stem (cell)	胚胎干(细胞)
FACS	fluorescence-activated cell sorter	荧光激活细胞分选仪
FBS	fetal bovine serum	小牛血清
FCS	fetal calf serum	胎牛血清
FDA	Federal Drug Administration(USA)	联邦药品管理局(美国)
FGF	fibroblast growth factor	成纤维细胞生长因子
FITC	fluorescein isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
G <sub>1</sub>	gap one (of the cell cycle)	间期 1(细胞周期)
G <sub>2</sub>	gap two (of the cell cycle)	间期 2(细胞周期)
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor	粒细胞集落刺激因子
GLP	good laboratory practice	优良实验室管理规范
GM-CFC	granulocyte and macrophage colony-forming cell	粒细胞和巨噬细胞集落形成细胞
GM-CSF	granulocyte and macrophage colony stimulating factor	粒细胞和巨噬细胞集落刺激因子
GMP	good manufacturing practice	优良生产管理规范
H&E	hemalum and eosin	苏木素伊红
HAT	hypoxanthine, aminopterin, and thymidine	次黄嘌呤氨基蝶呤和胸腺嘧啶脱氧 核苷
HBS	HEPES buffered saline	HEPES 缓冲盐水
HBSS	Hanks's balanced salt solution	Hanks 平衡盐溶液
HC	hydrocortisone	氢化可的松, 皮质醇

hCG	human chorionic gonadotropin	人绒毛膜促性腺激素
HEC	Hospital Ethics Committee	医院伦理委员会
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid	4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸
hES	human embryonic stem (cell)	人胚胎干(细胞)
HFEA	Human Fertilization and Embryology Authority (UK)	人类受精和胚胎学管理委员会(英国)
HGPRT	hypoxanthine guanosine phosphoribosyl transferase	次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶
HITES	hydrocortisone, insulin, transferring, estradiol, and selenium	氢化可的松、胰岛素、转铁蛋白、雌二醇和硒
HIV	human immunodeficiency virus	人免疫缺陷病毒
HMBA	hexamethylene-bis-acetamide	环六亚甲基双乙酰胺
HPA	Health Protection Agency (UK)	健康保护局(英国)
HPV	human papilloma virus	人乳头状瘤病毒
HS	horse serum	马血清
HSE	Health and Safety Executive (UK)	健康和执行委员会
HSRRB	Health Science Research Resources Bank	健康科学研究资源库
HSV	herpes simplex virus	单纯疱疹病毒
HT	hypoxanthine/ thymidine	次黄嘌呤/胸腺嘧啶脱氧核苷
HuS	human serum	人血清
ICAM	intercellular adhesion molecule	细胞间黏附分子
ICM	inner cell mass (of embryo)	内细胞团(胚胎)
IL-1, 2 etc.	interleukin-1, 2, etc.	白细胞介素-1, 2, 等
IMDM	Iscove's modification of DMEM	Iscove 改良的 DMEM
iPS	induced pluripotent stem (cell)	诱导的多能干(细胞)
ITS	insulin, transferring, selenium	胰岛素、转铁蛋白、硒
JCRB	Japanese Collection of Research Bioresources	日本生物资源研究收集中心
KBM	keratinocyte basal medium	角质形成细胞基础培养基
Kb	kilobase pairs (in DNA)	千碱基对(DNA)
KGM	keratinocyte growth medium	角质形成细胞生长培养基
LI	labeling index	标记指数
LIF	leukemia inhibitory factor	白血病抑制因子
LTBMC	long-term bone marrow culture	骨髓长期培养
LTC-IC	long-term culture initiating cell	长期培养起始细胞
M199	medium 199	199 培养基
MAC	mammalian artificial chromosomes	哺乳动物人工染色体
MACS	magnet-activated cell sorting	磁激活细胞分类
MCDB	Molecular, Cellular, and Developmental Biology (Department, University of Colorado, Boulder, USA)	分子、细胞和发育生物学(美国博尔德科罗拉多大学, 学系)
MEF	mouse embryo fibroblast	小鼠胚胎成纤维细胞
MEM	minimal essential medium (Eagle)	极限必需培养基(Eagle)

mES	mouse embryonic stem (cell)	小鼠胚胎干（细胞）
MRC	Medical Research Council (UK)	医学研究基金会（英国）
MRI	magnetic resonance imaging	磁共振成像
mRNA	messenger RNA	信使 RNA
MSC	mesenchymal stem cell	间充质干细胞
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide	二甲基噻唑二苯基四唑溴盐, 噻唑蓝
NASA	National Aeronautics and Space Administration	美国宇航局
NAT	noradrenalin transporter	去甲肾上腺素运载蛋白
NBCS	newborn-calf serum	新生牛血清
NCAM	neural cell adhesion molecule	神经细胞黏附分子
NCI	National Cancer Institute	国家癌症研究所
NEAA	nonessential amino acid	非必需氨基酸
NICE	National Institute for Clinical Excellence(UK)	国家临床品行研究所（英国）
NIH	National Institutes of Health (USA)	国家卫生研究所（美国）
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health	国家职业安全与健康研究所
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁共振
NRC	National Research Council (USA)	国家研究基金会（美国）
NS	neurospheres	神经球
NSF	National Science Foundation (USA)	国家科学基金（美国）
O.D.	optical density	光密度
OHRP	Office for Human Research Protections (USA)	人类研究防护署（美国）
OHS	Occupational Health and Safety	职业卫生和安全
OHSA	Occupational Safety and Health Administration (USA)	职业安全和卫生局（美国）
OLAW	Office of Laboratory Animal Welfare (USA)	实验室动物福利署（美国）
PA	plasminogen activator	纤溶酶原激活物
PBS	phosphate-buffered saline	磷酸缓冲盐溶液
PBSA	phosphate-buffered saline, solution A ( $\text{Ca}^{2+}$ and $\text{Mg}^{2+}$ free)	磷酸缓冲盐溶液, 溶液 A（无 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ ）
PBSB	phosphate-buffered saline, solution B ( $\text{Ca}^{2+}$ and $\text{Mg}^{2+}$ )	磷酸缓冲盐溶液, 溶液 B（含 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ ）
PCA	perchloric acid	过氯酸
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PD	population doubling	群体倍增
PDGF	platelet-derived growth factor	血小板衍生的生长因子
PE	plating efficiency (in clonogenic assays)	贴瓶率（克隆形成实验）
PE	PBSA/EDTA (trypsin diluent)	PBSA/EDTA（胰蛋白酶稀释剂）
PEG	polyethylene glycol	聚乙二醇
PGA	polyglycolic acid	聚乙醇酸
PHA	phytohemagglutinin	植物凝集素
PLA	polylactic acid	聚乳酸

PMA	phorbol myristate acetate	豆蔻酸佛波醇乙酸酯
PTFE	polytetrafluoroethylene	聚四氟乙烯, 特氟隆
PVP	polyvinylpyrrolidone	聚乙烯吡咯烷酮
PWM	pokeweed mitogen	商陆促细胞分裂原
QA	quality assurance	质量保证
QC	quality control	质量控制
RCCS™	Rotatory Cell Culture System™	旋转式细胞培养系统™
RITC	rhodamine isothiocyanate	异硫氰酸罗丹明
RFLP	restriction fragment length poly morphisms	限制性片段长度多态性
RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
RPMI	Rosewell Park Memorial Institute	罗斯威尔派克纪念研究所
RT-PCR	reverse transcriptase PCR	反转录酶 PCR
S	DNA synthetic phase of cell cycle	细胞周期的 DNA 合成期
SD	saturation density	饱和密度
SGM	second-generation multiplex	次代倍数
SIT	selenium, insulin, transferrin	硒、胰岛素、转铁蛋白
SLTV™	Slow Turning Later Vessel™	慢旋式 Later 容器
S-MEM	MEM with low Mg <sup>2+</sup> and no Ca <sup>2+</sup>	低 Mg <sup>2+</sup> 、无 Ca <sup>2+</sup> 的 MEM
SOP	standard operating procedure	标准操作规程
SSC	sodium citrate/sodium chloride	柠檬酸钠/氯化钠
STR	short tandem repeat (in DNA profiling)	短串联重复序列 (DNA 分析)
STR	stirred tank reactor (in scale-up)	搅拌罐反应器 (规模化)
SV40	simian virus 40	猿猴病毒 40
SV40LT	SV40 gene for large T-antigen	大 T 抗原的 SV40 基因
TCA	trichloroacetic acid	三氯乙酸
T <sub>D</sub>	population doubling time	群体倍增时间
TE	trypsin/EDTA	胰蛋白酶/EDTA
TEB	Tris/EDTA buffer	Tris/EDTA 缓冲液
TEER	transepithelial electrical resistance	穿上皮电阻
TGF	transforming growth factor	转化生长因子
TK	thymidine kinase	胸腺嘧啶脱氧核苷激酶
TOC	total organic carbon	总有机碳
t-PA	tissue plasminogen activator	组织纤溶酶原激活物
TPA	tetradecanoylphorbol acetate	十四烷酰佛波醇乙酸酯
u-PA	urokinase-like plasminogen activator	尿激酶型纤溶酶激活物
UPW	ultrapure water	超纯水
US NRC	US Nuclear Regulatory Commission	美国核管理委员会
UV	ultraviolet	紫外线
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮生长因子
ZEF	zebrafish embryo fibroblast	斑马鱼胚胎成纤维细胞

# 目 录

译者的话	2.4.1 细胞分化的维持	21
前言与致谢	2.4.2 细胞去分化	21
缩略语	2.5 细胞信号传递	24
图片目录	2.6 能量代谢	25
彩版目录	2.7 培养细胞的起源	26
方案目录	2.7.1 培养的开始	26
第 1 章 绪论	2.7.2 细胞系的演化	27
1.1 历史背景	2.7.3 细胞的衰老	28
1.2 组织培养的优点	2.7.4 连续细胞系的转化与形成	28
1.2.1 环境控制	第 3 章 实验室设计、布局及设备	30
1.2.2 样品的特征和均一性	3.1 布局、规划和服务设施	30
1.2.3 经济、规模和机械化	3.1.1 要求	32
1.2.4 体内环境的体外模拟	3.1.2 服务设施	34
1.3 局限性	3.1.3 通风装置	35
1.3.1 专业技能	3.2 布局	35
1.3.2 量的问题	3.2.1 无菌操作区	36
1.3.3 去分化和选择	3.2.2 层流原理	36
1.3.4 细胞的起源	3.2.3 工作台	36
1.3.5 不稳定性	3.2.4 检疫室和防范室	36
1.4 体外的主要差异	3.2.5 培养	37
1.5 组织培养的类型	3.2.6 准备区	40
第 2 章 培养细胞的生物学	3.2.7 储存	41
2.1 培养细胞的环境	第 4 章 设备及材料	44
2.2 细胞黏附	4.1 组织培养实验室的要求	44
2.2.1 细胞黏附分子	4.2 无菌区	46
2.2.2 细胞间连接	4.2.1 洁净台	46
2.2.3 细胞外基质	4.2.2 手推车	48
2.2.4 细胞骨架	4.2.3 无菌液操作——移液和分装	49
2.2.5 细胞迁移	4.2.4 倒置显微镜	53
2.3 细胞增殖	4.2.5 CCD 摄像机和监视器	54
2.3.1 细胞周期	4.2.6 解剖显微镜	54
2.3.2 细胞增殖的调控	4.2.7 离心机	54
2.4 细胞分化	4.2.8 细胞计数	55
	4.3 细胞繁育和培养	55

4.3.1	恒温箱	55	5.3.3	灼烧	74
4.3.2	湿式 CO <sub>2</sub> 培养箱	56	5.3.4	试剂瓶和培养瓶的操作	74
4.3.3	温度记录仪	57	5.3.5	移液	75
4.3.4	滚动架	57	5.3.6	液体倾倒	75
4.3.5	磁力搅拌器	58	5.4	标准操作程序	76
4.3.6	培养器皿	58	5.5	仪器和设备	82
4.4	实验准备和杀菌	58	5.5.1	培养箱	82
4.4.1	清洗	58	5.5.2	盒装培养物	82
4.4.2	培养基和试剂的制备	59	5.5.3	充入 CO <sub>2</sub> 气体	82
4.4.3	杀菌	61	第 6 章	安全性、生物伦理及验证	83
4.5	储存	63	6.1	实验室安全	83
4.5.1	消耗品	63	6.2	危险性评估	83
4.5.2	冰箱和冷冻箱	63	6.3	标准操作程序	85
4.5.3	冷藏器	64	6.4	安全规则	85
4.5.4	可控速率冷冻箱	64	6.5	常规安全	86
4.6	附属设备	64	6.5.1	操作者	87
4.6.1	计算机和网络	64	6.5.2	设备	87
4.6.2	普通正置显微镜	65	6.5.3	玻璃器皿和锐利物品	87
4.6.3	低温冷冻箱	65	6.5.4	化学毒性	88
4.6.4	共聚焦显微镜	65	6.5.5	气体	89
4.6.5	PCR 循环仪	65	6.5.6	液氮	89
4.7	专用设备	66	6.5.7	灼烧	90
4.7.1	显微注射装置	66	6.6	火	90
4.7.2	集落计数器	66	6.7	放射性	91
4.7.3	可离心淘洗机	66	6.7.1	摄入	91
4.7.4	流式细胞仪	66	6.7.2	放射性废弃物的处理	91
第 5 章	无菌技术	67	6.7.3	标记的试剂	91
5.1	无菌技术的目标	67	6.7.4	高能源	91
5.1.1	微生物污染的风险	67	6.8	生物危害性	92
5.1.2	无菌的维持	67	6.8.1	生物防范水平	92
5.2	创造无菌环境的各种因素	68	6.8.2	微生物学安全通风橱 (MSC)	94
5.2.1	层流	69	6.8.3	人体活检材料	96
5.2.2	安静的工作区域	71	6.8.4	遗传操作	97
5.2.3	工作面	71	6.8.5	生物危害性废弃物处理	97
5.2.4	个人卫生	73	6.8.6	熏蒸	97
5.2.5	试剂和培养基	73	6.9	生物伦理	98
5.2.6	培养物	73	6.9.1	动物组织	98
5.3	灭菌操作	73	6.9.2	人体组织材料	98
5.3.1	擦拭	73	6.10	质量保证	99
5.3.2	加盖	74	6.10.1	操作程序	100



6.10.2 质量控制 (QC) .....	100	8.4.4 葡萄糖 .....	128
6.11 验证 .....	100	8.4.5 有机补充物 .....	128
6.11.1 鉴定 .....	100	8.4.6 激素和生长因子 .....	128
6.11.2 来源 .....	101	8.4.7 抗生素 .....	128
6.11.3 污染 .....	101	8.5 血清 .....	129
<b>第7章 培养器皿和附着物</b> .....	102	8.5.1 蛋白质 .....	130
7.1 附着物 .....	102	8.5.2 生长因子 .....	131
7.1.1 细胞的附着和生长 .....	102	8.5.3 激素 .....	131
7.1.2 常见的附着材料 .....	102	8.5.4 营养物及代谢物 .....	132
7.1.3 其他替代性附着物 .....	103	8.5.5 脂类 .....	132
7.2 表面处理 .....	103	8.5.6 矿物质 .....	132
7.2.1 基质覆盖 .....	103	8.5.7 抑制物 .....	132
7.2.2 饲养层 .....	105	8.6 培养基和血清的选择 .....	132
7.2.3 非黏附性附着面 .....	106	8.6.1 批次预约 .....	134
7.3 培养器皿的选择 .....	107	8.6.2 血清的测试 .....	135
7.3.1 细胞产量 .....	107	8.6.3 热灭活 .....	135
7.3.2 悬浮培养 .....	109	8.7 其他添加物 .....	136
7.3.3 通风 .....	110	8.7.1 氨基酸水解物 .....	136
7.3.4 取样和分析 .....	111	8.7.2 胚胎浸出液 .....	136
7.3.5 不均匀生长 .....	112	8.7.3 适应性培养基 .....	136
7.3.6 价格 .....	112	<b>第9章 无血清培养基</b> .....	137
7.4 特殊系统 .....	112	9.1 血清的缺点 .....	145
7.4.1 渗透性支持物 .....	112	9.2 无血清培养基的优点 .....	146
7.4.2 三维基质 .....	113	9.2.1 标准培养基的定义 .....	146
<b>第8章 成分明确培养基及补充物</b> .....	115	9.2.2 选择性培养基 .....	146
8.1 培养基的发展史 .....	115	9.2.3 调节细胞增殖与分化 .....	146
8.2 物理化学特征 .....	115	9.3 无血清培养基的缺点 .....	146
8.2.1 pH .....	115	9.4 血清的替代 .....	147
8.2.2 CO <sub>2</sub> 和碳酸盐 .....	116	9.4.1 无血清培养基的商业供应 .....	147
8.2.3 缓冲作用 .....	123	9.4.2 血清替代物 .....	147
8.2.4 氧气 .....	123	9.4.3 无血清传代培养 .....	148
8.2.5 渗透压 .....	124	9.4.4 激素 .....	149
8.2.6 温度 .....	124	9.4.5 生长因子 .....	149
8.2.7 黏滞度 .....	125	9.4.6 血清中的营养物质 .....	154
8.2.8 表面张力和成泡性 .....	125	9.4.7 蛋白质和多聚胺 .....	154
8.3 平衡盐溶液 .....	126	9.4.8 黏滞度 .....	154
8.4 完全培养基 .....	126	9.5 无血清培养基的选择 .....	154
8.4.1 氨基酸 .....	127	9.5.1 细胞或产物特异性 .....	154
8.4.2 维生素 .....	127	9.5.2 适应无血清培养基 .....	157
8.4.3 盐类 .....	127	9.6 无血清培养基的研发 .....	157