



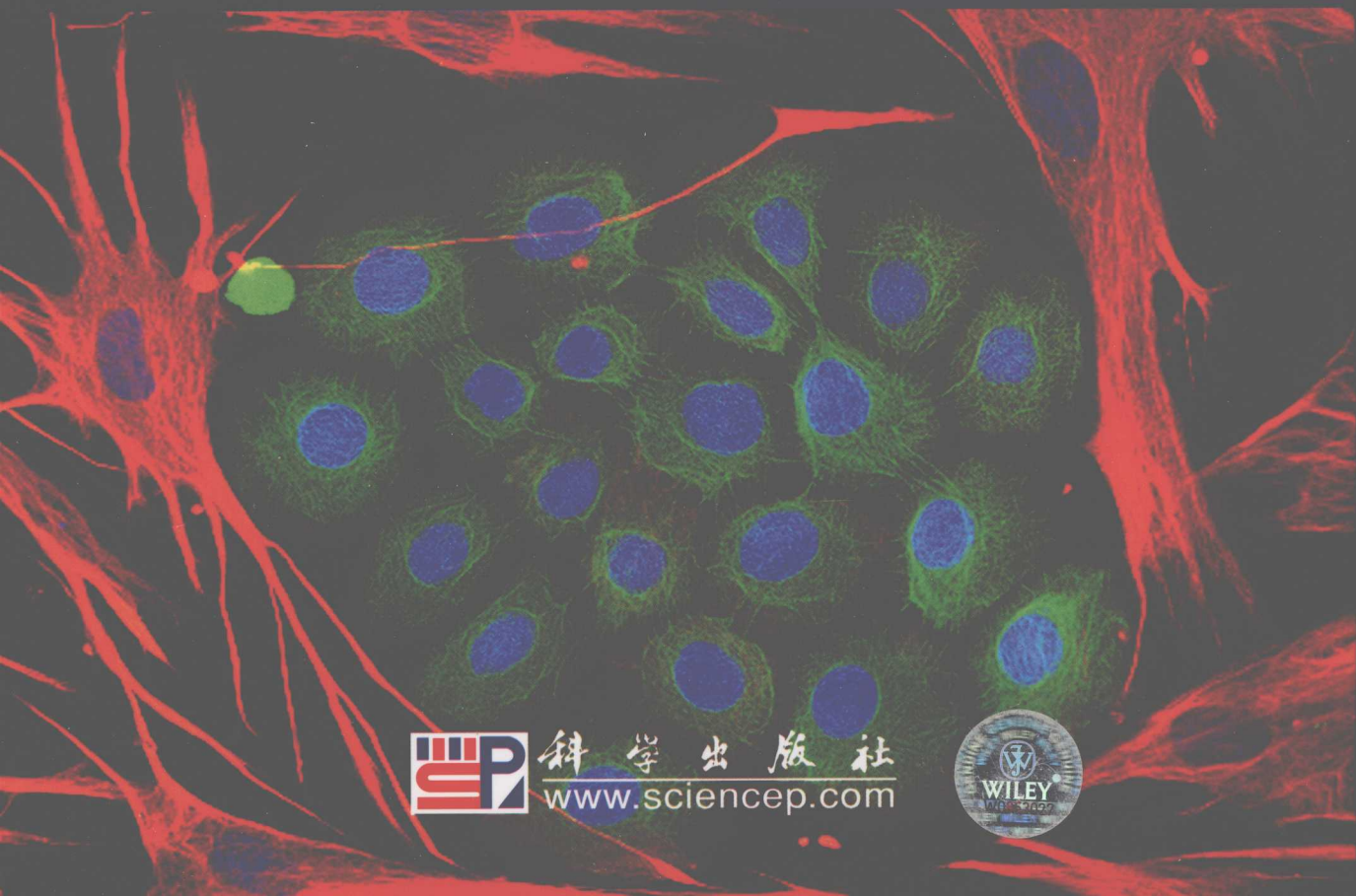
生命科学实验指南系列

Culture of Animal Cells:  
a Manual of Basic Technique

# 动物细胞培养 ——基本技术指南

(第五版)

[英] R.I. 弗雷谢尼 著  
章静波 徐存拴 等译



科学出版社  
[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)



生命科学实验指南系列

# 动物细胞培养

——基本技术指南

(第五版)

[英] R. I. 弗雷谢尼 著  
章静波 徐存拴 等 译



科学出版社

北京

图字：01-2006-7063号

## 内 容 简 介

弗雷谢尼所著的《动物细胞培养——基本技术指南》历来被看做是该领域的领衔之作。自2000年第四版问世以来，细胞培养及其相关学科的技术方法发展更加迅猛，诸如干细胞、组织工程、克隆以及体外毒性检测方面等均取得长足的甚至突破性的进展，为将这些内容和其他方面的新的资料融入该书，于是有了新的一版——第五版的面世。

第五版除保留原有主要内容之外，为了适应细胞培养新手，尤其是生物制药工业中所涌现的技术人员的需要，专门新开辟了一章“培训纲要”，其中包括基本技能训练、高阶练习以及相关实践等。另外，如同前版一样，本版也详尽介绍了如下内容：原代培养、细胞系、传代、分化、癌细胞和细胞转化、三维培养、大规模培养、分子细胞学技术、污染、特殊设备、细胞培养中可能遇到的难题及对策等。因此，本版最大特色可以概括为全面、新颖和实用。

本书可供有关大学师生尤其是研究生、科研人员、生物工程技术人员、临床医生以及所有从事生命科学研究的人员参考。

Culture of Animal Cells: a Manual of Basic Technique (5th ed)

Copyright © 2005 by John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved. This translation published under license.

### 图书在版编目(CIP)数据

动物细胞培养：基本技术指南/（英）R. I. 弗雷谢尼著；章静波，徐存拴等译。—5版。—北京：科学出版社，2008

（生命科学实验指南系列）

ISBN 978-7-03-020780-7

I. 动… II. ①弗… ②章… III. 动物-细胞培养-生物技术  
IV. Q954.6-33

中国版本图书馆CIP数据核字（2007）第203130号

责任编辑：李悦 夏梁 李晓/责任校对：钟洋

责任印制：钱玉芬/封面设计：耕者工作设计室

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>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2008年2月第一版 开本：787×1092 1/16

2008年2月第一次印刷 印张：55 1/4 插页：12

印数：1—2 500 字数：1 239 000

定价：138.00元

（如有印装质量问题，我社负责调换〈双青〉）

谨以此书献给我众多的朋友和同事。在过去的岁月，他们所给予的帮助和建议使得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 (中国医学科学院基础医学研究所)  
杨锋 (中国医学科学院基础医学研究所)  
赵永娟 (中国医学科学院基础医学研究所)  
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)  
苏广彦 (中国医学科学院基础医学研究所)  
任乐荣 (中国医学科学院基础医学研究所)  
刘险峰 (中国医学科学院基础医学研究所)  
孔令华 (北京协和医院)  
熊伟鹏 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王惠 (中国医学科学院基础医学研究所)  
叶惟三 (中国医学科学院基础医学研究所)  
刘伟 (中国医学科学院基础医学研究所)  
徐园园 (中国医学科学院基础医学研究所)  
狄凯军 (香港大学医学院)  
董敏 (中国医学科学院基础医学研究所)  
李志琴 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王海杰 (复旦大学上海医学院)  
谭玉珍 (复旦大学上海医学院)  
安威 (首都医科大学基础医学院)  
吴媛 (首都医科大学基础医学院)  
杨琳 (首都医科大学基础医学院)  
王艾琳 (北华大学医学院)  
阎慧 (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

在接受科学出版社委托我们翻译《动物细胞培养——基本技术指南》(第五版)的前几天,《基础医学与临床》\*编辑部在北京中国红十字会礼堂举办“细胞培养及细胞生物学相关新技术”学习班。令学习班组织者和授课教师感到吃惊的是学员人数远远超过,于是只好请参展商让出位子,将红十字会所有可搬动椅子都搬来,最后实在无奈,只好从中国医学科学院中国协和医科大学基础医学院运来椅子“救急”。椅子塞满了过道,听众比肩相挤。

人们为什么对细胞培养及细胞生物学相关技术,尤其是前者如此感兴趣呢?我们做了调查,原来学员主要由三部分组成:第一是各地院校的研究生,其中以硕士生为主,也有不少博士生,他们的研究工作离不开以细胞培养为工具;第二是生物医药企业的员工,生物技术是他们的“常规武器”,而生物技术的中坚是细胞工程(cell engineering),当然细胞工程也是以细胞培养为基础的;第三是临床医生,他们窥察到细胞治疗(cell therapy)的光辉前景,而从事细胞治疗的关键程序即是细胞的增殖、细胞的基因修饰和细胞的诱导分化等,这些过程无疑也要借助于细胞培养这一关键技术方能实现。

上述情况正巧与《动物细胞培养——基本技术指南》(第五版)的前言相吻合。Freshney在他的书中指出:他的书主要是为那些“正在接受训练的技术员、高年级大学生、研究生、博士后,以及对实验室科学感兴趣的临床医生”而写。看来,至少在细胞培养的应用与发展方面我国是与国际“接轨”了。

或许我们还可以从另一个方面指出细胞培养在当代生命科学研究中的重要性。读者一定知道近些年来诺贝尔生理学/医学奖项所授予的科研工作,但是是否也想到获奖人的工作多数都是以细胞作为研究材料呢?又是否想到对细胞的操作大多数又用到细胞培养呢?获奖的2001年细胞周期(cell cycle)的研究、2002年细胞凋亡(apoptosis)的研究、2006年RNA干扰(RNA interference)的研究、2007年同源重组与基因打靶的研究等,哪一项又可以缺少细胞培养呢?可以预期,在今后的生命科学与医药学的研究中,细胞培养技术还将得到更广泛的运用,它将为提高人类的生活质量建立更加辉煌的功勋。

据我们所知,无论国内外,有关细胞培养技术的书籍已有许多。诚然,各有长处,读者群也各不相同,有专门讲述上皮细胞培养的,有讲述造血细胞培养的,以及讲述肿瘤细胞培养的等等,但就全面性、系统性、实用性甚至新颖性来说,Freshney的《动物细胞培养——基本技术指南》不能不被认为是最经典的权威之作。迄今它已经广泛被世界各有关实验室所采用。读者只要翻开它的目录便可知道,你想学习的内容它都已有涵盖,而且该书与时俱进,适时再版,不乏最新的内容。譬如,它将细胞培养与当代最

\*《基础医学与临床》是由北京生理学会、中国医学科学院中国协和医科大学主办,中国协和医科大学基础医学研究所、北京协和医院承办的医学与生命科学专业月刊。——译者注

新的分子生物学技术结合起来，显示出它的时代性与生命力；又如为了培养新手，本版增加了新的一章，即培训纲要，而且训练的内容按层次而分深浅，做到了有针对性；该书还一如既往地为您解答读者在细胞培养实践中所产生的困惑，有一章专门讲述“问题与对策”，突出了它的实用性。

我们十分有幸承担本书的第四版及第五版的翻译工作，我们将竭尽全力将它译好，我们毫不讳言，出于中英文水平以及我们不一定能透彻地理解书中的某些内容，尤其是诚如作者自己所说的那些“beyond my own limited experience”（我经验所不及者），企望读者在使用此书而发现误译，甚至“荒谬”之处，不吝赐教。我们会在感激之余，以适当方式予以补救。或许这可算作不幸之中的万幸吧！

谢谢！

章静波

于中国医学科学院基础医学研究所

2007.10

## 前 言

《动物细胞培养——基本技术指南》(第五版)同样以与前几版相似的风格编排,当然也有一些明显的改动。我们加入了新的一章,即第二章培训纲要,旨在除了将此书作为参考用书之外,还能用作教学指南。第二章以训练新手或学生的建议性纲要开始,然后在某些程序中加入实验性的和分析性的成分,以期更有趣味性、知识性及一点点挑战性。

本书对“相互参照”进行了广泛地修订,使之更具新颖性。在具体的节段中插入所属章节的序号,如 4.1 这样的序号,表明参阅第 4 章第 1 节;又如 14.6.2 这样的序号,则指第 14 章第 6 节标题 2。因此,第 1 个数字不论是正文、表格或插图所互参的均指章数,这一设计的部分原因是为了与在本书纸质版出版后不久将面世的电子版(www.wiley.com)相衔接。

彩版页数增加了一倍\*,若与图 16.2 那些照片加在一起,则本版所提供的大约有 40 个不同的细胞系以及原代培养、设备和操作等图片。我十分感激 ATCC 的 Yvonne Reid 和 Grey Sykes, ECACC 的 Peter Thraves 及其他同道,他们友好地提供了新的插图或照片。我希望这样可以激起读者更加仔细地观察他们自己培养的细胞,对于在常规维持中的细胞所出现的任何变化都将敏锐起来。

在本书的大部分内容中,我们仍然保留着前几版的重点,并用较特殊的培养或方法作为某些实例,着重介绍基本的技术。我们以详细的、一步一步的程序过程介绍这些技术,这样做必定可以提供足够的信息去进行操作而不必求助于原始的文献。在每一程序过程中也有一小段导言来介绍其背景,另外还有补充信息来提供其他的操作方式和应用范围。虽然本书也介绍了一些基本生物学知识,但我们认定读者已具有基本的解剖学、组织学、生物化学以及细胞和分子生物学的知识。因此本书的对象是那些以往没有相关组织培养知识的人们,其中包括正在接受训练的技术员、高年级大学生、研究生、博士后人员和实验室科学颇感兴趣的临床医生。

本书将某些特殊技术汇集成独立的一章,因为要将分子技术与其他技术分开似乎不完全合乎逻辑,它们也没有明确的界限。本书所包含的分子技术均与细胞培养有直接的关联。我们未打算叙述基本的分子生物学知识,因为这已另有其他著作(例如, Sambrook et al., 1989; Ausubel et al., 1996, 2002)在先。同样地,规模培养一章仅作为与生物技术\*\*接轨之用,仅仅提供有关增加细胞产量的某些背景知识,并非提供生物药理学的全部生成过程。

供应商名录也已更新。希望本书出版时不再变动。公司的名称有可能发生了改变,因为它们出现了合并,有的供应商不再出现。为此,要一成不变地保持原状会有些困难。同样,我们期望今后在互联网上能更有效地告之读者。

\* 第四版共 12 面,第五版为 24 面。——译者注

\*\* 生物技术 (biotechnology), 也称生物工程 (bioengineer)。——译者注



本书所采用的缩略语列于前言之后，如遍及全书的惯用词有 DPBSA，指的是无  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  的 Dulbecco's PBS；UPW 是指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\* 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重量，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。

本书中所有的步骤过程均统一写在框内，某一特定程序的特殊试剂则详列于程序中的材料条目，至于常用试剂的配方，诸如 Hank's、BSS 或是胰蛋白酶则列于附录 I。有关设备和材料来源的详细资料可见附录 II；与供应商和其他资源的联络明细方式也可在附录中找到。

一如既往，我万分感激提供实验程序的作者们，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 Robert Auerbach, Bob Brown, Kenneth Calman, Richard Ham, Rob Hay, Stan Kaye, Nicol Keith, Wally Mckeehan, Rona McKie, Stephen Merry, Jane Plumb, Peter Vaughan, Paul Workman, Roland Grafström, 以及已故的 John Paul。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, Jonh Ryan, Jim Smith 和 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，最近他还提议本书需多渠道传播，因此，本书现由 Wiley-Liss 公司出版发行\*\*。书中许多原创性的插图由 Jane Gillies 和 Marina LaDuke 绘制，当然出于电子版的要求，其中不少已被其他所替代。我也感谢英国癌症研究 Beatson 实验室允许我对其中众多设备拍照并在书中展示。有些资料则由我多年的同事所馈赠，他（她）们是 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 编辑部成员中肯的建议和帮助，我同样衷心感谢那些不厌其烦地对前几版给予我或 John Wiley & Sons 公司提出过建议或建设性批评的人们。听到有人说本书对他们有益我会高兴与满意，但更为重要的是能知道有人发现本书的缺陷，对此我将乐意予以纠正。我谨希望本书的使用者与我一样保持不变的激情，企盼细胞培养领域将出现光辉的前景。

我十分感激我的女儿 Gillian 和儿子 Norman，他们曾在多年前帮助我编写第一版，并在以后不间断地给予我建议和支持。我尤其要感谢我的夫人 Mary，她不遗余力地参与编撰、校对，以及处理许多其他事务，没有她的帮助和支持，原版绝不可能问世，我也绝不可能如期完成本版的修订，更不能达到必需技术的精确程度，而这一点正是造就一部精品组织培养指南的要旨。

Ian Freshney

(章静波 译)

\* 体积克分子浓度，常称体积摩尔浓度 (molarity)，与质量克分子浓度 (molality) 不同。——译者注

\*\* 指英文原版书。

## 缩 略 语

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
BPE	bovine pituitary extract	牛垂体提取物
BrUdR	bromodeoxyuridine	溴脱氧尿苷
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
BUdR	bromodeoxyuridine	溴脱氧尿苷
CAM	chorioallantoic membrane	尿囊绒膜
CAM	cell adhesion molecule	细胞黏附分子
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	环腺苷 [一磷] 酸
CCD	charge-coupled device	电耦联器
CCTV	closed-circuit television	封闭式电视
cDNA	complementary DNA	互补脱氧核糖核酸
CE	cloning efficiency	克隆效率
CMC	carboxymethylcellulose	羧甲基纤维素
CMF	calcium-and magnesium-free saline	无钙镁盐水
CMRL	Connaught Medical Research Laboratory	Connaught 医学研究实验室
D-PBSA	Dulbecco's phosphate-buffered saline lacking $Ca^{2+}$ and $Mg^{2+}$	Dulbecoo 无 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 磷酸缓冲盐水
D-PBSB	Dulbecco's phosphate-buffered saline, solution B ( $Ca^{2+}$ and $Mg^{2+}$ )	Dulbecoo 磷酸缓冲液溶液 B (含 $Ca^{2+}$ 和 $Mg^{2+}$ )
DEPC	diethyl pyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
DMEM	Dulbecco's modification of Eagle's medium	Dulbecoo 改良的 Eagle 培养基
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
DT	population doubling time	群体倍增时间
EBSS	Earle's balanced salt solution	Earle 平衡盐溶液
EBV	Epstein-Barr virus	EB 病毒
ECACC	European Collection of Animal Cell Culture (now European Collection of Cell Culture)	欧洲动物细胞收集中心 (现欧洲细胞培养物收集中心)
ECGF	endothelial cell growth factor	内皮细胞生长因子
EGF	epidermal growth factor	表皮生长因子
EM	electron microscope	电子显微镜

FBS	fetal bovine serum	小牛血清
FCS	fetal calf serum	胎牛血清
FGF	fibroblast growth factor	成纤维细胞生长因子
G <sub>0</sub>	Gap in cell cycle when cell exit cycle	G <sub>0</sub> 期 (细胞退出细胞周期的 间隙)
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)
GLP	good laboratory practice	优良实验室操作规范
H&E	hematoxylin and eosin (stains)	苏木素和伊红 (染色)
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	Hank's balanced salt solution	汉克平衡盐溶液
HC	hydrocortisone	氢化可的松、皮质醇
hCG	human chorionic gonadotropin	人绒毛膜促性腺激素
HGPRT	hypoxanthine guanosine phosphoribosyl transferase	次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移 酶
HITES	hydrocortisone, insulin, transferrin, estradiol, and selenium	氢化可的松、胰岛素、运铁蛋 白、雌二醇和硒
HPV	human papilloma virus	人乳头状瘤病毒
HuS	human serum	人血清
HS	horse serum	马血清
HSV	herpes simplex virus	单纯疱疹病毒
HT	hypoxanthin/thymidine	次黄嘌呤/胸腺嘧啶脱氧核苷
ITS	insulin, transferrin, selenium	胰岛素、运铁蛋白和硒
IUdR	iododeoxyuridine	碘脱氧尿嘧啶核苷
KBM	keratinocyte basal medium	角质形成细胞基础培养基
kbp	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
M	mitosis (in cell cycle)	有丝分裂 (细胞周期)
M199	medium 199	199 培养基
MACs	mammalian artificial chromosomes	哺乳动物人工染色体
MACS	magnet-activated cell sorting	磁激活细胞分类
MEM	Eagle's Minimal Essential Medium	Eagle 极限必需培养基
mRNA	messenger RNA	信使 RNA
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide	二甲基噻唑二苯基四唑溴盐
NBCS	newborn calf serum	新生牛血清

NCI	National Cancer Institute	国家癌症研究所
O. D.	optical density	光密度
PA	plasminogen activator	纤溶酶原激活物
PBS	phosphate-buffered saline	磷酸缓冲液
PBSA	phosphate-buffered saline, solution A (Ca <sup>2+</sup> and Mg <sup>2+</sup> free)	磷酸缓冲液, 溶液 A (无 Ca <sup>2+</sup> 和 Mg <sup>2+</sup> )
PBSB	phosphate-buffered saline, solution B (Ca <sup>2+</sup> and Mg <sup>2+</sup> )	磷酸缓冲液, 溶液 B (有 Ca <sup>2+</sup> 和 Mg <sup>2+</sup> )
PCA	perchloric acid	过氯酸
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PDGF	platelet-derived growth factor	血小板衍生的生长因子
PE	plating efficiency	贴瓶率, 出菌率
PE	PBSA/EDTA	磷酸缓冲液, 溶液 A/乙二胺 四乙酸
PEG	polyethylene glycol	聚乙二醇
PHA	phytohemagglutinin	植物凝集素
PMA	phorbol myristate acetate	豆蔻酸佛波醇乙酸酯
PVP	polyvinylpyrrolidone	聚乙烯吡咯烷酮
PWM	pokeweed mitogen	棘黎促细胞分裂剂
RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
RPMI	Roswell 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
SIT	selenium, insulin, transferrin	硒、胰岛素、运铁蛋白
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
SSC	sodium citrate/sodium chloride	柠檬酸钠/氯化钠
SV40	simian virus 40	猿猴病毒 40
SV40 LT	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
TEB	Tris/EDTA buffer	Tris/EDTA 缓冲液
TGF	transforming growth factor	转化生长因子
TK	thymidine kinase	胸腺嘧啶脱氧核苷激酶
UPW	ultrapure water	超纯水
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮生长因子
XTT	2, 3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)- 2H-tetrazolium-5-carboxanilide	2H-四唑-5-羧基酰苯胺
YACs	yeast artificial chromosome	酵母人工染色体

## 插图一览表

图 1.1	组织培养的发展	1
图 1.2	组织培养的应用	5
图 1.3	组织培养的类型	11
图 2.1	细胞冻存练习	38
图 3.1	细胞附着	47
图 3.2	细胞间连接	48
图 3.3	生长在 matrigel 上的 A549 细胞	49
图 3.4	细胞周期	50
图 3.5	细胞周期的阻滞和进行	51
图 3.6	干细胞的分化	53
图 3.7	细胞相互作用和细胞信号转导	56
图 3.8	细胞系的演化	58
图 3.9	有限的和连续的细胞系染色体数目	60
图 4.1	小型组织培养实验室	64
图 4.2	中型组织培养实验室	64
图 4.3	带有毗邻准备室的组织培养实验室	65
图 4.4	大型组织培养实验室	66
图 4.5	温室	69
图 4.6	洗涮水槽和吸管冲洗器	72
图 4.7	液氮储存和冷冻罐储存	74
图 5.1	洁净台	77
图 5.2	通过抽吸回收培养基	79
图 5.3	Integra 真空泵	79
图 5.4	倒置显微镜	80
图 5.5	电动加样器	81
图 5.6	移液器	81
图 5.7	带刻度的分装瓶	82
图 5.8	重复移液器	82
图 5.9	自动分装器	83
图 5.10	多头移液器	83
图 5.11	平板加样器	84
图 5.12	平板读数器	84
图 5.13	移液装置	84
图 5.14	闭路电视	85

图 5.15	CO <sub>2</sub> 培养箱 .....	87
图 5.16	CO <sub>2</sub> 培养箱示意图 .....	87
图 5.17	超纯水制备 .....	89
图 5.18	顶盖式高压蒸汽灭菌锅 .....	90
图 5.19	高压蒸汽灭菌器 .....	91
图 5.20	瓶盖式分装器 .....	92
图 5.21	玻璃器皿清洗机 .....	93
图 5.22	显微操作仪和加热器 .....	96
图 6.1	污染的可能性 .....	100
图 6.2	建议的工作区布局 .....	101
图 6.3	布局糟糕的工作区 .....	101
图 6.4	水平洁净台布置 .....	101
图 6.5	开放式工作台的工作区布置 .....	103
图 6.6	持盖方法 .....	103
图 6.7	洁净台的气流 .....	106
图 6.8	废液烧杯 .....	107
图 6.9	移液管插入方法 .....	109
图 6.10	装在盒子中的培养皿 .....	113
图 6.11	向培养瓶充入气体 .....	113
图 7.1	装载过满的吸管筒 .....	118
图 7.2	将吸管安装到移液器上的方法 .....	119
图 7.3	钢瓶及固定 .....	120
图 7.4	用于器械消毒的双层三角乙醇瓶 .....	122
图 7.5	微生物学安全通风橱 .....	127
图 8.1	培养基体积与细胞产量和培养器皿有效面积的关系 .....	136
图 8.2	多孔培养板 .....	136
图 8.3	培养皿 .....	137
图 8.4	塑料培养瓶 .....	137
图 8.5	多面培养瓶 .....	137
图 8.6	小型搅拌培养瓶 .....	138
图 8.7	通气型培养皿 .....	138
图 8.8	通气型培养瓶 .....	138
图 8.9	带螺帽的小瓶和三角瓶 .....	139
图 8.10	非随机生长 .....	140
图 8.11	CellMax 中空纤维培养系统 .....	141
图 8.12	饲养层细胞的形态学 .....	144
图 9.1	渗透压计 Roebbling 渗透压计 (Camlab) 的前面板、样品管和样品接口。 该型号适合的样品量为 50 $\mu$ l .....	156
图 11.1	玻璃器皿的清洗与灭菌 .....	196

图 11.2	自动化瓶刷 .....	197
图 11.3	消毒瓶子 .....	198
图 11.4	虹吸移液管清洗机 .....	200
图 11.5	吸管的清洗和消毒 .....	201
图 11.6	半自动吸管填塞器 (Bellco) .....	201
图 11.7	灭菌烤箱 .....	201
图 11.8	包装螺口盖进行灭菌 .....	203
图 11.9	压力和温度的关系 .....	203
图 11.10	水的纯化 .....	207
图 11.11	无菌过滤 .....	216
图 11.12	一次性除菌过滤器 .....	217
图 11.13	大容量过滤 .....	219
图 11.14	蠕动泵过滤器 .....	219
图 11.15	大批量串联式过滤装置 .....	220
图 11.16	可重复使用的过滤器 .....	221
图 11.17	预过滤 .....	226
图 12.1	每只小鼠胚胎的总湿重与细胞产量 .....	235
图 12.2	小鼠胚胎 .....	235
图 12.3	小鼠的解剖 .....	236
图 12.4	自鸡蛋中取出鸡胚 .....	239
图 12.5	原代培养的策略 .....	241
图 12.6	原代外植块培养 .....	243
图 12.7	温胰蛋白酶消化 .....	245
图 12.8	细胞滤器 .....	247
图 12.9	冷胰蛋白酶消化 .....	248
图 12.10	温胰蛋白酶消化和冷胰蛋白酶消化 .....	250
图 12.11	鸡胚的分离 .....	252
图 12.12	用胶原酶解离组织 .....	255
图 12.13	机械法解离 .....	256
图 13.1	不健康细胞 .....	270
图 13.2	生长曲线和维持 .....	273
图 13.3	单层细胞传代 .....	275
图 13.4	连续传代 .....	278
图 13.5	搅拌培养 .....	280
图 13.6	平行培养物和抗生素 .....	283
图 14.1	克隆细胞产量 .....	286
图 14.2	稀释法克隆培养 .....	288
图 14.3	微孔板克隆培养 .....	290
图 14.4	饲养层 .....	294

图 14.5	悬浮克隆培养	297
图 14.6	美希索中的克隆培养	299
图 14.7	克隆培养环	300
图 14.8	单层贴壁细胞克隆的分离培养	302
图 14.9	悬浮细胞克隆的分离培养	304
图 14.10	选择性饲养层	310
图 14.11	黑色素瘤、成纤维细胞和胶质细胞的悬浮生长	310
图 14.12	混杂培养物中过度生长	311
图 15.1	密度梯度法分离细胞	314
图 15.2	密度梯度混合器	315
图 15.3	离心产生的梯度	315
图 15.4	离心淘洗转头 (Beckman)	317
图 15.5	淘洗转子的分离室	317
图 15.6	磁力分选法	319
图 15.7	磁性活化细胞分选法 (MACS)	319
图 15.8	荧光活化细胞分选法 (FACS)	321
图 15.9	流式细胞仪	322
图 15.10	FACS II 型打印图	323
图 16.1	隆凸	329
图 16.2	培养细胞形态举例	331
图 16.3	为细胞学观察而设计的培养装置	340
图 16.4	细胞甩片离心机	341
图 16.5	滤膜细胞学	342
图 16.6	染色体制备	345
图 16.7	染色体染色	348
图 16.8	核型制备	349
图 16.9	DNA 指纹	355
图 16.10	DNA 测序仪	359
图 16.11	DNA 绘谱	361
图 16.12	同工酶电泳	363
图 16.13	Agilent 免疫分析机	370
图 17.1	分化的调节	377
图 17.2	旁分泌的相互作用	378
图 18.1	克隆变异	388
图 18.2	染色体畸变	389
图 18.3	转化灶	390
图 18.4	hTERT 永生化细胞与对照组衰老细胞的累计群体倍增次数 (PD) 的比较	397
图 18.5	细胞增殖的密度限制	402



图 18.6	鸡心脏测定法	406
图 18.7	滤膜血侵袭	407
图 18.8	纤维蛋白溶酶原激活剂	408
图 19.1	污染的类型	416
图 19.2	PCR 检测支原体	422
图 20.1	冷冻曲线	431
图 20.2	固定并包裹冻存管	431
图 20.3	颈口插头冷冻器	432
图 20.4	Nalge Nunc 冷冻器	432
图 20.5	程控冷冻柜	432
图 20.6	液氮罐	434
图 20.7	液氮罐的设计	435
图 20.8	冷冻细胞	438
图 20.9	细胞复苏	440
图 20.10	连续培养更新	442
图 20.11	细胞的运输容器	444
图 21.1	血细胞计数板	447
图 21.2	CASY 电子细胞计数器	449
图 21.3	CASY 细胞计数器操作示意	450
图 21.4	CASY 电子细胞计数器模拟显示	452
图 21.5	Beckman Coulter Vi-CELL 电子细胞计数器	453
图 21.6	生长曲线	463
图 21.7	多孔板培养	466
图 21.8	生长曲线的解释	467
图 21.9	饱和密度	469
图 21.10	稀释细胞与进行集落试验	472
图 21.11	贴壁效率的线性分布	474
图 21.12	自动集落计数仪	474
图 21.13	标记指数	475
图 21.14	载片或培养皿的扫描	477
图 21.15	生长分数	477
图 22.1	单层细胞克隆形成实验	485
图 22.2	存活曲线	487
图 22.3	存活曲线的解释	488
图 22.4	饲养层对抵抗分数的作用	488
图 22.5	微滴定试验	491
图 22.6	抑制百分率曲线	493
图 22.7	持续时间的试验	494
图 22.8	IC <sub>50</sub> 下降的时间进程	494