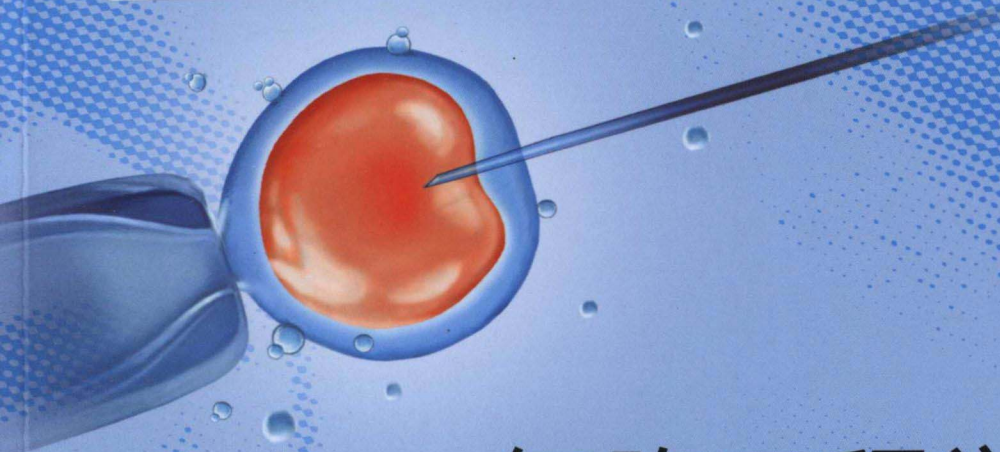




iCourse 教材
生物技术与生物工程系列



细胞工程学 (第2版)

Cell Engineering

(2nd Edition)

主编 李志勇

高等教育出版社



细胞工程学 (第2版)

Cell Engineering
(2nd Edition)

主 编 李志勇
编 者 李志勇 (上海交通大学)
于静娟 (中国农业大学)
周 燕 (华东理工大学)
开国银 (浙江中医药大学)
王 瑶 (浙江中医药大学)
李 煜 (内蒙古大学)
梁 浩 (内蒙古大学)



内容提要

本书以细胞工程应用为主线进行编写,从细胞工程理论基础、优良动植物的人工繁殖、新品种培育、细胞工程生物制品、组织修复五个方面,全面、系统介绍细胞工程理论与技术的知识。尤其是紧密结合现代细胞工程发展趋势,重点介绍细胞工程生物制品技术等。同时,介绍一些前沿技术、最新进展以及学科交叉内容。

本书采用纸质教材+数字课程的出版形式。纸质教材各章均设置了知识导图、关键词、开放讨论题、思考题、推荐阅读;数字课程包括知识拓展、科技视野、科学家、发现之路、应用案例、教学视频、教学课件、参考文献和与细胞工程相关的附录等,内容与形式上注重引导学生进行研究型学习。

本书适合作为高校生物工程、生物技术、农学、医学专业的主修课程教材,也可供相关领域的科研、企业等单位人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

细胞工程学 / 李志勇主编. --2版. --北京:高等教育出版社, 2019.8

ISBN 978-7-04-050199-5

I. ①细… II. ①李… III. ①细胞工程-高等学校-教材 IV. ①Q813

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第184696号

Xibao Gongchengxue

项目策划 吴雪梅 王莉 单冉东

策划编辑 田红 责任编辑 田红 封面设计 李小璐 责任印制 尤静

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印刷 北京新华印刷有限公司
开本 889mm×1194mm 1/16
印张 15
字数 480千字
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 2008年6月第1版
2019年8月第2版
印 次 2019年8月第1次印刷
定 价 36.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物料号 50199-00

iCourse · 数字课程 (基础版)

细胞工程学

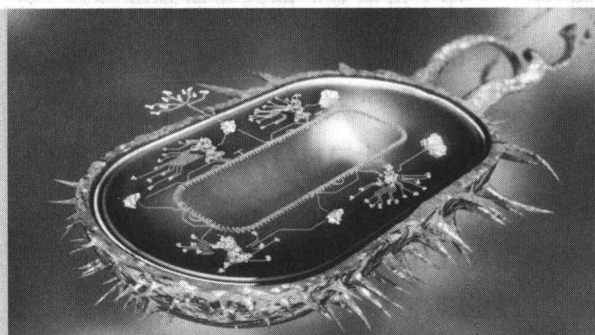
(第2版)

主编 李志勇

登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/50199>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20 位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请点击页面右下角的“自动答疑”按钮。



细胞工程学 (第2版)

细胞工程学数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。立足全面展现课程知识体系并反映学科快速发展的趋势和成果, 数字课程涵盖了知识拓展、科技视野、科学家、发现之路、应用案例、教学视频、教学课件、参考文献和与细胞工程相关的附录等, 为学生学习提供了更多思考和探索的空间, 引导学生进行研究型学习。

用户名:

密码:

验证码:

5360 忘记密码?

登录

注册

<http://abook.hep.com.cn/50199>



扫描二维码, 下载Abook应用

出版说明

“十二五”期间是高等教育继续深化改革、走以提高质量为核心的内涵式发展道路的关键时期。课程建设是教育教学改革的重要内容，课程建设水平对教学质量和人才培养质量具有重要影响。2011年10月12日教育部发布了《教育部关于国家精品开放课程建设的实施意见》(教高〔2011〕8号)，开启了信息技术和网络技术条件下校、省、国家三级精品开放课程建设的序幕。作为国家精品开放课程展示、运行和管理平台的“爱课程(iCourse)”网站也逐渐为高校师生和社会公众认知和使用。截至目前，已有2600多门资源共享课和800多门视频公开课在“爱课程(iCourse)”网站上线。

高等教育出版社承担着“‘十二五’本科教学工程”中国家精品开放课程建设的组织实施和平台建设运营的重要任务，在与广大高校的调研和协作中，我们了解到当前高校的教与学发生了深刻变化，也真切感受到课程和教材建设所面临的挑战和机遇。如何建设支撑学生自主学习和校际共建共享的课程和新形态教材成为现实课题，在教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会的指导下，结合我社2009年以来在数字课程建设上的探索和实践，我们提出了“高等学校生物技术与生物工程专业精品资源共享课及系列教材”建设项目，项目建设得到了众多高校的积极响应和广泛参与。2013年5月以来，分别在上海、天津、沈阳、杭州、武汉、无锡、银川等地陆续召开了项目启动会议、主编会议和编写会议。2015年，项目成果“iCourse·教材：生物技术与生物工程系列”陆续出版。

本系列教材涵盖生物技术、生物工程专业15门基础课程和专业课程，在出版形式、编写理念、内容选取等方面体现以下特点：

1. 采用“纸质教材+数字课程”的出版形式。纸质教材与丰富的数字教学资源一体化设计，纸质教材内容精炼适当，并以新颖的版式设计和内容编排，方便学生学习和使用；数字课程对纸质教材内容起到巩固、补充和拓展作用，形成以纸质教材为核心，数字教学资源配合的综合知识体系。

2. 创新教学理念，引导自主学习。通过适当的教学设计，鼓励学生拓展知识面和针对某些重要问题进行深入探讨，增强其独立获取知识的意识和能力，为学生自主学习和教师创新教学方法提供支撑。

3. 强调基础与技术、工程应用之间的紧密联系，注重学生应用能力培养。在讲述理论的同时，通过数字课程对学科前沿进展和工程应用案例进行延伸，在概念引入和知识点讲授上也尽量从实际问题出发，这不仅有利于提高学生的学习兴趣，也有助于加强他们的创新意识和创新能力。

4. 教材建设与资源共享课建设紧密结合。本系列教材是对各校精品资源共享课和教学改革成果的集成和升华，参与院校共建共享课程资源，更可支持各级精品资源共享课的持续建设。

本系列教材以服务于生物技术、生物工程专业课程教学为核心,汇集了各高校学科专家与一线教师的智慧、经验和积累,实现了内容与形式、教学理念与教学设计、教学基本要求与个性化教学需求,以及资源共享课与教材建设的一体化设计,以期对我国生物技术与生物工程专业教学改革和人才培养产生积极影响。

建设切实满足高等教育教学需求、反映教改成果和学科发展、纸质出版与资源共享课紧密结合的新形态教材和优质教学资源,实现“校际联合共建,课程协同共享”是我们的宗旨和目标。将课程建设及教材出版紧密结合,采用“纸质教材+数字课程”的出版形式,是一种行之有效的方法和创新,得到了高校师生的高度认可。尽管我们在出版本系列教材的工作中力求尽善尽美,但难免存在不足和遗憾,恳请广大专家、教师和学生提出宝贵意见与建议。

高等教育出版社

2015年6月

第2版前言

细胞工程是现代生物工程与生物技术的重要组成部分，在医药、农业、食品、能源、环境等领域有着广泛应用。细胞工程是我国高等院校生物工程、生物技术专业的主修课程，也是农学、医学、药学等相关专业的重要课程。近年来，动植物生物制药、干细胞、组织工程、体细胞克隆等细胞工程技术不断发展完善，一些新技术不断出现，多学科交叉日益突出，展现了巨大的应用潜力，因此也对高等院校细胞工程教学提出了更高的要求。

编者2008年在高等教育出版社出版了《细胞工程学》教材，入选普通高等教育“十一五”国家级规划教材，被国内很多高校选用。为适应细胞工程技术的快速发展以及高校课程、教材、教学方式改革创新需求，急需对教材进行修订。

《细胞工程学》(第2版)主要在第1版基础上按“iCourse·教材”的规划进行修订，采用“纸质教材+数字课程”的出版形式。纸质教材依然以细胞工程应用为主线，分为引言、人工繁殖、新品种培育、生物制品、组织修复五篇，结合细胞工程进展，对一些章节进行了增补，同时对一些内容进行了精简或者删除。数字课程与纸质教材相配套，包括知识拓展、科技视野、科学家、发现之路、应用案例、教学视频、自测题、教学课件、参考文献和与细胞工程相关的附录等，为学生学习提供了更多思考和探索的空间，引导学生进行研究型学习。

本版修订邀请了相关高校中多年从事细胞工程科研或教学工作的一线教师参与，他们是：中国农业大学于静娟教授(植物快速繁殖、细胞融合与新品种培育、转基因生物反应器)，华东理工大学周燕教授(动物细胞生物制药、干细胞、组织工程)，浙江中医药大学开国银教授、王瑶老师(转基因植物生物反应器、植物细胞与组织培养生产代谢产物)，内蒙古大学李煜教授、梁浩老师(动物人工繁殖)。其他章节的修订及全书统稿由上海交通大学李志勇教授完成。

本书面向生物工程、生物技术、生物科学、医学、农学等专业，不仅适合作为高等院校教材，也适合相关领域的科研、技术人员参考。书中难免有不妥和疏漏之处，欢迎各位教师、同学和读者提出宝贵意见，以便再版修订，不断完善。



目 录

第一篇 引 言

1 细胞工程简介	3
1.1 细胞工程定义与特点	4
1.2 细胞工程发展历史	5
1.2.1 探索期	6
1.2.2 诞生期	6
1.2.3 快速发展期	6
1.3 细胞工程应用	7
1.3.1 动植物快速繁殖	7
1.3.2 新品种培育	7
1.3.3 生物制品	7
1.3.4 组织与器官修复	7
2 细胞工程理论基础	9
2.1 细胞发现	10
2.2 细胞学说	11
2.3 细胞组成	11

2.3.1 分子组成	11
2.3.2 结构组成	13
2.4 细胞周期与细胞分裂	20
2.4.1 细胞周期	20
2.4.2 细胞分裂种类	21
2.4.3 细胞分裂的影响因素	22
2.4.4 细胞衰老与细胞死亡	23
2.5 细胞识别与细胞通信	23
2.6 细胞分化	24
2.6.1 细胞全能性	24
2.6.2 细胞分化	24
2.6.3 细胞脱分化	25
2.6.4 细胞再分化	25
2.6.5 组织与器官	25
2.7 生殖与发育	26
2.7.1 无性生殖	26
2.7.2 有性生殖	26

第二篇 人工繁殖

3 植物人工繁殖	33
3.1 植物人工繁殖	34
3.2 植物组织培养	35
3.2.1 定义	35
3.2.2 细胞全能性	35

3.2.3 培养基	36
3.2.4 植物细胞分化与脱分化	38
3.2.5 组织培养再生植株的途径	39
3.2.6 植物组织培养的问题分析	42
3.3 人工种子	43
3.3.1 定义	43

3.3.2 胚状体同步发育	43	4.3 人工授精	59
3.3.3 人工种子制作	44	4.3.1 定义与意义	59
3.3.4 人工种子储存	45	4.3.2 人工授精技术	59
3.4 植物胚胎培养	45	4.3.3 胚胎回收	60
3.4.1 成熟胚培养	46	4.3.4 胚胎鉴定	60
3.4.2 幼胚培养	46	4.4 核移植	60
3.4.3 胚珠培养与子房培养	46	4.4.1 核移植动物的发展历程	61
3.4.4 胚乳培养	47	4.4.2 核移植动物技术	61
3.5 脱毒植物培育	47	4.4.3 影响核移植动物成功率的因素	63
3.5.1 植物脱毒方法	48	4.5 胚胎分割	64
3.5.2 脱毒植物鉴定	49	4.6 冷冻保存技术	64
4 动物人工繁殖	51	4.6.1 胚胎冷冻保存	64
4.1 动物人工繁殖	52	4.6.2 精子冷冻保存	66
4.2 体外受精	53	4.6.3 卵母细胞冷冻保存	66
4.2.1 试管动物培育	54	4.7 性别控制技术	67
4.2.2 试管婴儿	56	4.7.1 哺乳动物受精前性别控制	67
		4.7.2 胚胎移植前性别控制	68

第三篇 新品种培育

5 细胞改造	73	6.1 原生质体变异	85
5.1 细胞重组	74	6.2 组织培养诱变育种	86
5.1.1 核体与胞质体	74	6.3 体细胞杂交	86
5.1.2 微细胞	75	6.4 染色体工程育种	87
5.1.3 核体、胞质体和微细胞的组装	75	6.4.1 染色体工程	87
5.1.4 细胞器及细胞组分分离	75	6.4.2 多倍体育种	87
5.1.5 细胞器转移	76	6.4.3 单倍体育种	90
5.1.6 胞质杂种	76	6.5 植物离体受精	94
5.2 细胞融合	77	6.5.1 离体传粉	94
5.2.1 融合材料	78	6.5.2 体外受精	94
5.2.2 细胞融合方法	79	6.5.3 植物离体受精在新品种培育中的意义	95
5.2.3 动物细胞融合	80	6.6 转基因育种	95
5.2.4 植物原生质体融合	80	6.6.1 转基因植物育种	95
5.2.5 融合细胞筛选	81	6.6.2 转基因动物育种	101
5.3 人造细胞	82	6.7 胚胎嵌合	104
6 动植物新品种培育	84	6.7.1 定义	104
		6.7.2 嵌合体动物培育技术	104

第四篇 生物制品

7 植物次级代谢产物	109	8.2.3 敞开式跑道池培养系统	143
7.1 植物代谢产物	110	8.2.4 光生物反应器	144
7.1.1 代谢产物分类	110	8.3 微藻应用	144
7.1.2 植物次级代谢产物生物合成	110	8.3.1 微藻生物能源	144
7.1.3 提高植物次级代谢产物产量的策略	115	8.3.2 微藻生物活性物质	146
7.1.4 次级代谢产物的分离纯化	117	8.3.3 水产饵料	146
7.2 植物细胞培养生产次级代谢产物	118	8.3.4 微藻基因工程	146
7.2.1 植物细胞培养的特点	118	8.3.5 其他应用	147
7.2.2 植物细胞培养生产次级代谢产物的意义	118	9 动物细胞生物制药	148
7.2.3 植物细胞培养的培养基	119	9.1 动物细胞培养	149
7.2.4 植物单细胞分离与初步培养	119	9.1.1 动物细胞体外生长特征	150
7.2.5 继代培养	120	9.1.2 遗传学特征	151
7.2.6 细胞株筛选	120	9.2 动物细胞体外培养条件	152
7.2.7 植物细胞悬浮培养	121	9.2.1 培养基	152
7.2.8 植物细胞固定化培养	123	9.2.2 影响细胞生长的环境因素	155
7.2.9 影响植物细胞培养生产次级代谢产物的因素	126	9.2.3 培养器具	156
7.2.10 促进植物次级代谢产物积累的细胞培养技术	128	9.3 动物细胞培养方式	157
7.3 植物组织培养生产次级代谢产物	130	9.3.1 贴壁培养	157
7.3.1 细胞分化与次级代谢产物	130	9.3.2 悬浮培养	157
7.3.2 植物组织培养生产次级代谢产物的优势	131	9.3.3 固定化培养	158
7.3.3 毛状根培养生产次级代谢产物	132	9.4 动物细胞原代培养	158
7.3.4 不定根培养生产次级代谢产物	134	9.4.1 组织块原代培养	158
7.3.5 冠瘿组织培养次级代谢产物	135	9.4.2 细胞原代培养	159
8 微藻培养与应用	137	9.5 动物细胞传代培养	160
8.1 微藻特点与分类	138	9.5.1 传代培养方法	160
8.1.1 蓝藻门	139	9.5.2 传代培养过程分析	161
8.1.2 绿藻门	139	9.6 细胞株	162
8.1.3 金藻门	139	9.6.1 分离纯化	162
8.1.4 红藻门	139	9.6.2 适合工业化生产的细胞株	163
8.2 微藻培养	140	9.7 动物细胞大规模培养	164
8.2.1 光能自养培养	140	9.7.1 滚瓶(旋转管)培养系统	164
8.2.2 微藻的异养/兼性异养	143	9.7.2 微载体培养系统	164
		9.7.3 中空纤维生物反应器培养系统	167
		9.7.4 细胞培养工艺	169
		9.7.5 动物细胞大规模培养的问题分析	171
		9.8 动物细胞生物制药	173
		9.8.1 病毒疫苗	173
		9.8.2 干扰素	174

9.8.3 单克隆抗体	175	10.3.1 转基因动物	191
10 转基因生物反应器	182	10.3.2 转基因克隆动物	191
10.1 转基因生物反应器	183	10.3.3 转基因动物生物反应器	191
10.2 转基因动物细胞生物反应器	184	10.4 转基因植物生物反应器	193
10.2.1 转基因方法	185	10.4.1 定义	193
10.2.2 转染细胞筛选	187	10.4.2 转基因植物生物反应器在生物	
10.2.3 外源基因表达	187	医药中的应用	193
10.3 转基因动物生物反应器	189	10.4.3 胚乳细胞生物反应器	194
		10.4.4 植物疫苗	194

第五篇 组织修复

11 干细胞	199	12 组织工程	210
11.1 干细胞	200	12.1 组织工程	211
11.1.1 定义	200	12.2 基本要素	211
11.1.2 特征	200	12.2.1 种子细胞	212
11.2 胚胎干细胞	201	12.2.2 支架材料	212
11.2.1 定义	201	12.2.3 诱导因子	215
11.2.2 胚胎干细胞分化潜能评价	201	12.3 组织工程技术	217
11.2.3 胚胎干细胞的鉴定	201	12.3.1 细胞接种与培养	217
11.2.4 胚胎干细胞的分离	203	12.3.2 细胞因子释放	218
11.2.5 胚胎干细胞的体外培养	203	12.3.3 组织工程生物反应器	218
11.2.6 胚胎干细胞体外诱导分化	204	12.4 组织工程产品	219
11.2.7 存在问题	205	12.4.1 组织工程皮肤	219
11.3 成体干细胞	205	12.4.2 组织工程骨	219
11.3.1 定义	205	12.4.3 组织工程肌腱	220
11.3.2 神经干细胞	206	12.4.4 组织工程血管	221
11.3.3 造血干细胞	207	12.4.5 问题分析	221
11.3.4 间充质干细胞	207	12.4.6 其他组织工程产品	221
11.3.5 肿瘤干细胞	207	12.5 展望	222
11.3.6 问题分析	208		

索引	224
----------	-----

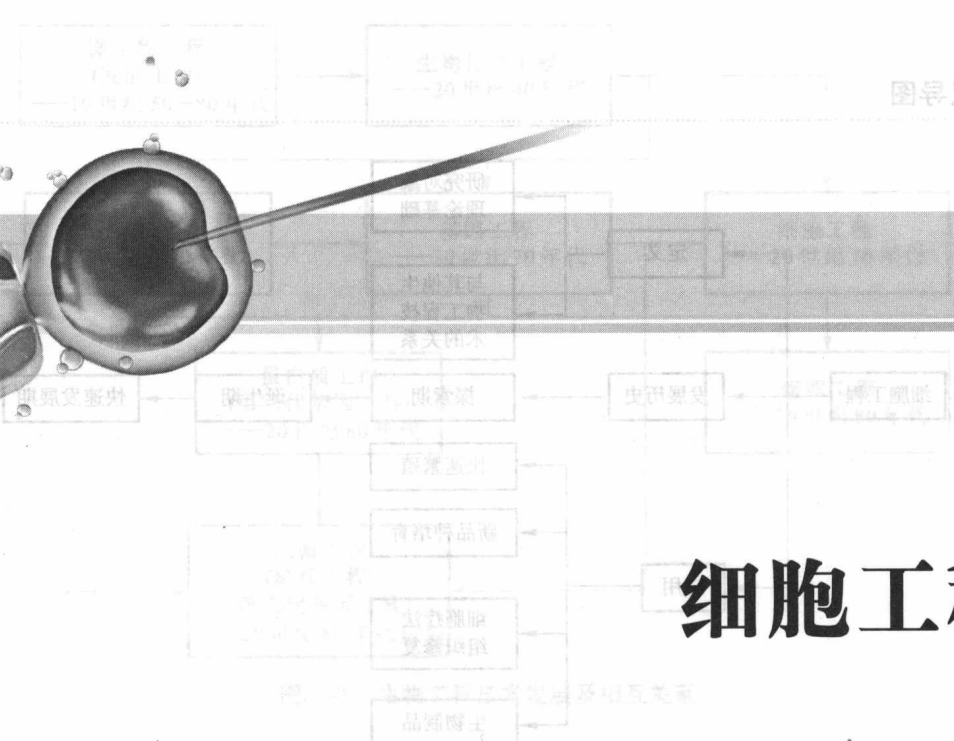
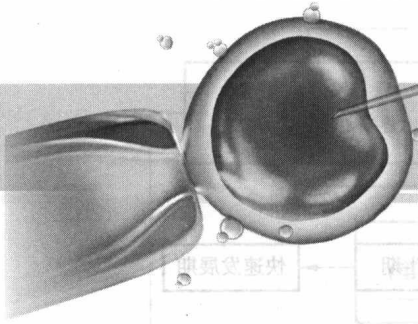
主要参考文献

附录

附录 1 植物细胞与组织培养常用的培养基
附录 2 动物细胞培养常用的培养基与 BSS 溶液
附录 3 细胞工程大事记
附录 4 细胞工程相关词汇

第一篇

引言



细胞工程简介

- 1.1 细胞工程定义与特点
- 1.2 细胞工程发展历史
- 1.3 细胞工程应用

探索期；诞生期；快速发展期

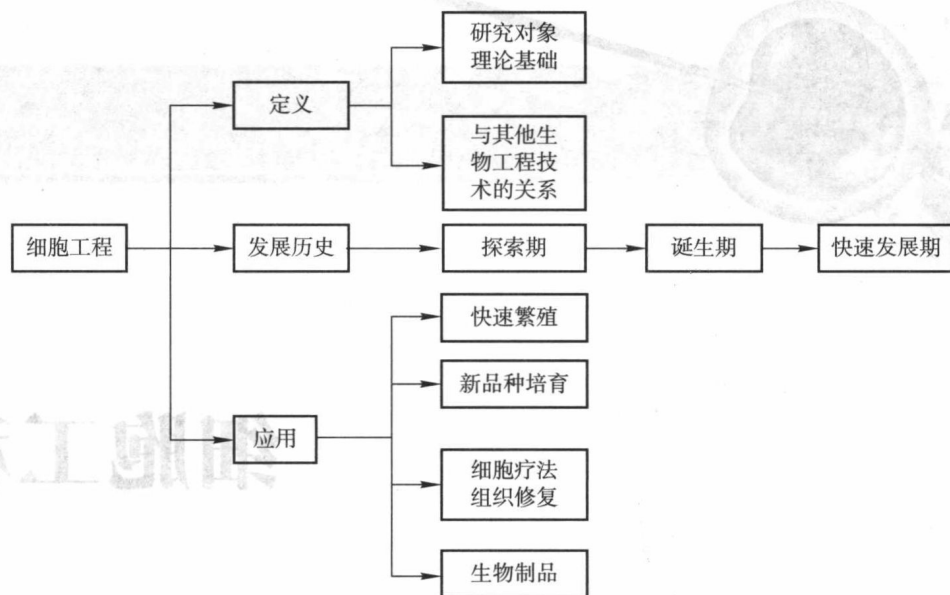
动植物快速繁殖；新品种培育；生物制品；组织与器官修复

细胞工程起始于 19 世纪动植物组织的培养尝试，诞生于 20 世纪 70 年代，主要在细胞及细胞器、胚胎水平上利用生物资源或者创造新物种，是现代生物工程、生命科学技术的重要组成部分，在优良动植物人工快速繁殖、新品种培育、生物制品、组织与器官修复等领域具有重要应用。以体细胞克隆、干细胞、组织工程等为代表的细胞工程技术处于当今生物技术发展的最前沿。本章简要介绍细胞工程的定义、发展历史以及应用领域。

1.2 细胞工程发展历史

细胞工程的发展历史可以追溯到 19 世纪。1828 年，德国科学家施莱登和施旺提出了细胞学说，认为所有生物都是由细胞组成的。1858 年，英国人胡克（Hooke）利用自己设计的显微镜，第一次观察到植物细胞。1859 年，英国人布朗（Brown）发现了细胞核。1858 年，德国科学家施莱登和施旺提出了细胞学说，认为所有生物都是由细胞组成的。1858 年，英国人胡克（Hooke）利用自己设计的显微镜，第一次观察到植物细胞。1859 年，英国人布朗（Brown）发现了细胞核。1858 年，德国科学家施莱登和施旺提出了细胞学说，认为所有生物都是由细胞组成的。1858 年，英国人胡克（Hooke）利用自己设计的显微镜，第一次观察到植物细胞。1859 年，英国人布朗（Brown）发现了细胞核。

▶▶ 知识导图



▶▶ 关键词

细胞工程 快速繁殖 遗传育种 生物制品 生物能源 组织工程

1.1 细胞工程定义与特点

细胞工程 (cell engineering) 是主要以细胞为对象, 应用生命科学理论, 借助工程学原理与技术, 有目的地利用或改造生物遗传性状, 以获得特定的细胞、组织产品或新型物种的一门综合性科学技术。根据具体情况, 细胞工程的研究对象可以是完整的细胞、组织或器官、胚胎, 也可以是原生质体、细胞核、染色体、细胞器等。

1982年国际经济合作和发展组织给出生物工程 (bioengineering 或 biological engineering) 的定义: 生物工程是应用自然科学及工程学原理, 依靠生物催化剂的作用, 对物料进行加工, 以提供产品或为人类服务的技术。

作为生物工程的一个主要组成技术, 细胞工程的研究对象包括动物、植物和微生物, 由此可以将细胞工程分为微生物细胞工程、植物细胞工程、动物细胞工程。微生物工程技术诞生早、体系较完善, 一般所讲的细胞工程主要以动植物为研究对象。

细胞生物学是细胞工程的重要理论基础。此外, 发育生物学、遗传学、分子生物学等生命科学理论也为细胞工程提供理论支撑。这些学科的发展是细胞工程技术建立和发展的前提。反之, 细胞工程又为这些学科提供实验材料和技术。

细胞工程与基因工程、酶工程、微生物工程、生物化学工程、蛋白质工程、代谢工程一起构成了现代生物工程技术体系 (图 1-1)。细胞工程可以为微生物工程提供遗传改良的细胞, 为基因工程产品生产提供重组的动植物细胞, 为酶工程、蛋白质工程提供蛋白质原料。细胞工程的发展也一定程度依

教学视频 1-1

细胞工程定义

教学视频 1-2

细胞工程特点

知识拓展 1-1

细胞工程基本实验技术

科技视野 1-1

Multiplexed Engineering in Biology

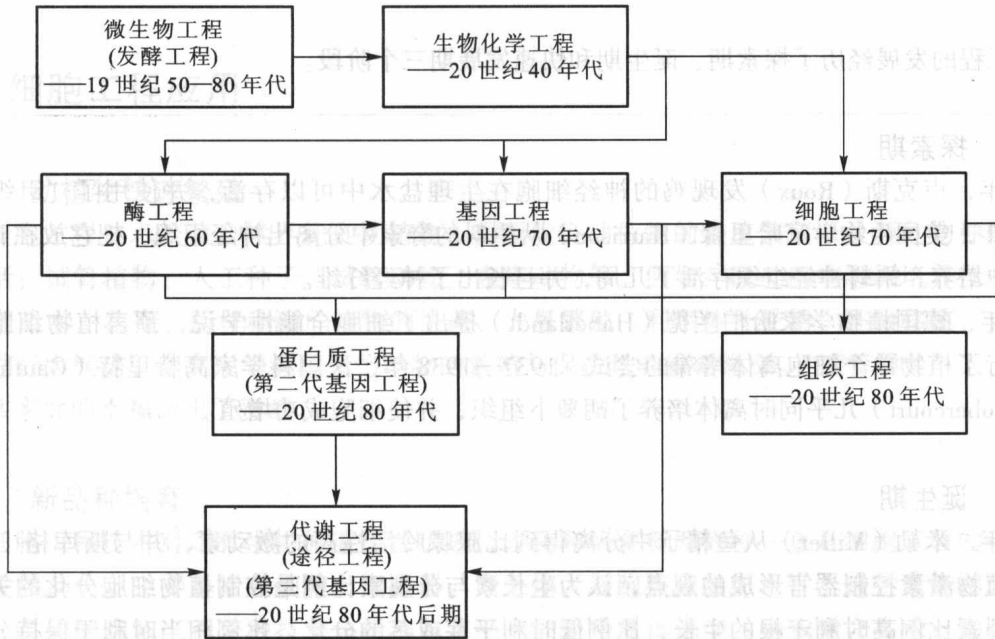


图 1-1 生物工程技术发展及相互关系

赖于其他技术，例如：动植物细胞培养技术是借鉴微生物培养技术发展起来的，细胞工程生物制品的生产需要生物化学工程技术实现，动植物细胞代谢产物的制备需要利用代谢工程技术，细胞遗传性状改良需要借助基因工程技术。细胞工程与其他生物工程技术以及物理、化学、材料科学等关系紧密，相互促进（图 1-2），充分体现了交叉性与前沿性。

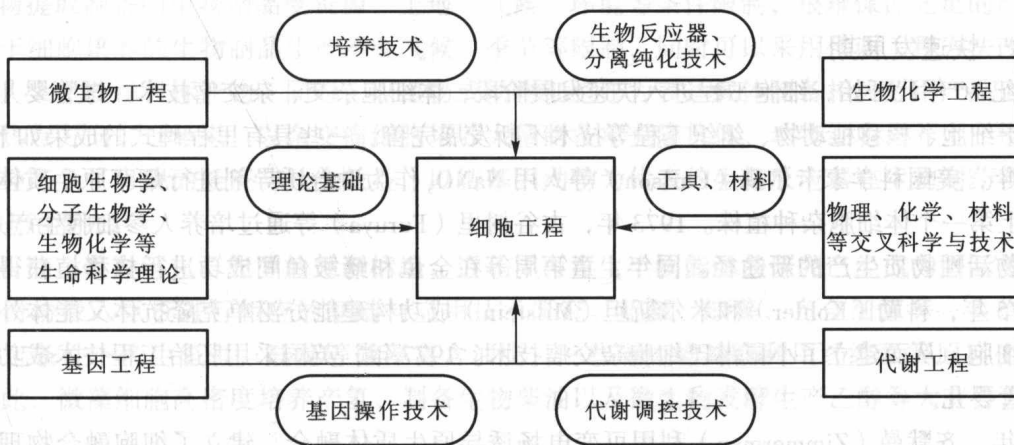


图 1-2 细胞工程与其他学科、技术的关系

1.2 细胞工程发展历史

1665年，英国人胡克（Hooke）利用自己设计的显微镜第一次观察到了细胞。1838—1839年，施旺（Schwann）和施莱登（Schleiden）建立了细胞学说，认为生物都是由细胞构成的，而且细胞在结构上是类似的。之后，德国科学家魏尔肖（Virchow）补充了细胞学说，认为所有的细胞都来自于已有细胞的分裂。细胞学说的建立提出了生物界的统一性和生命的共同起源，是19世纪自然科学的三大发

现之一。

细胞工程的发展经历了探索期、诞生期和快速发展期三个阶段。

1.2.1 探索期

1885年,卢克斯(Roux)发现鸡的神经细胞在生理盐水中可以存活,并使用了“组织培养”一词。1907年,美国生物学家哈里森(Harrison)从蝌蚪的脊索中分离出神经组织,把它放在青蛙的凝固的淋巴液中培养。蝌蚪神经组织存活了几周,并且长出了神经纤维。

1902年,德国植物学家哈伯兰德(Haberlandt)提出了细胞全能性学说,预言植物细胞具有全能性,并进行了植物单个细胞离体培养的尝试。1937—1938年,法国科学家高特里特(Gautheret)和诺比考特(Nobercourt)几乎同时离体培养了胡萝卜组织,并使细胞成功增殖。

1.2.2 诞生期

1956年,米勒(Miller)从鱼精子中分离得到比腺嘌呤活性高的激动素,并与斯库格(Skoog)一起提出了植物激素控制器官形成的观点,认为生长素与分裂素比例是控制植物细胞分化的关键:当生长素与分裂素比例高时利于根的生长,比例低时利于芽或茎的分化,比例相当时利于保持分裂但无分化的状态。激素调节植物分化规律的发现极大地推动了植物组织培养技术的发展。1960年,兰花无性繁殖获得成功,开辟了利用植物组织培养快速繁殖植物的有效途径。20世纪70年代初,华裔加籍科学家高国楠发现聚乙二醇可以促使植物原生质体融合。

1965年,德侬贝提斯(Derobetis)将其编著的“普通生物学”改为“细胞生物学”。分子生物学、细胞生物学等学科的发展为细胞工程诞生提供了理论基础。随着动植物组织培养、细胞融合技术的不断完善,以及在细胞核移植、动物克隆、三倍体育种、体外受精等方面的尝试,最终推动了20世纪70年代前后细胞工程这门新兴学科的形成。

1.2.3 快速发展期

20世纪70年代开始,细胞工程进入快速发展阶段,体细胞杂交、杂交瘤技术、试管婴儿、电场融合、胚胎干细胞、核移植动物、组织工程等技术不断发展完善。一些具有里程碑式的成果如下。

1972年,美国科学家卡尔森(Carlson)等人用 NaNO_3 作为融合诱导剂进行烟草原生质体融合,获得了世界上第一个体细胞杂种植株。1973年,古谷树里(Furuya)等通过培养人参细胞生产人参皂苷,开创了植物活性物质生产的新途径。同年,童第周等在金鱼和鲫鱼间成功进行核移植获得了种间杂种鱼。1975年,科勒(Kohler)和米尔斯坦(Milstein)成功构建能分泌单克隆抗体又能体外大量增殖的杂交瘤细胞,从而建立了小鼠淋巴细胞杂交瘤技术。1977年,英国采用胚胎工程技术成功培育出世界首例试管婴儿。

1981年,齐默曼(Zimmerman)利用可变电场诱导原生质体融合,建立了细胞融合物理方法,进一步完善了细胞融合技术。1981年,埃文斯(Evans)和科夫曼(Kanfman)成功地分离到小鼠胚胎干细胞。1984年,丹麦科学家维拉德森(Villadsen)成功利用胚胎细胞克隆出一只绵羊,这是首次通过核移植技术克隆的哺乳动物。1997年,英国利用成年动物体细胞克隆出绵羊“多莉”,证明了高等动物体细胞的全能性。1998年,美国科学家成功分离建立了人的胚胎干细胞系。

进入21世纪,组织工程、干细胞、体细胞克隆、转基因动物等获得了巨大突破,使细胞工程成为现代生物技术与生命科学的前沿和热点领域之一。例如:2006年,日本科学家山中伸弥等把4个转录因子通过逆转录病毒载体转入小鼠的成纤维细胞,使其变成多功能干细胞(iPS)。2018年中国科学院神经科学研究所的孙强团队攻克了克隆灵长类动物这一世界难题,首次成功以体细胞克隆出了两只猕猴。