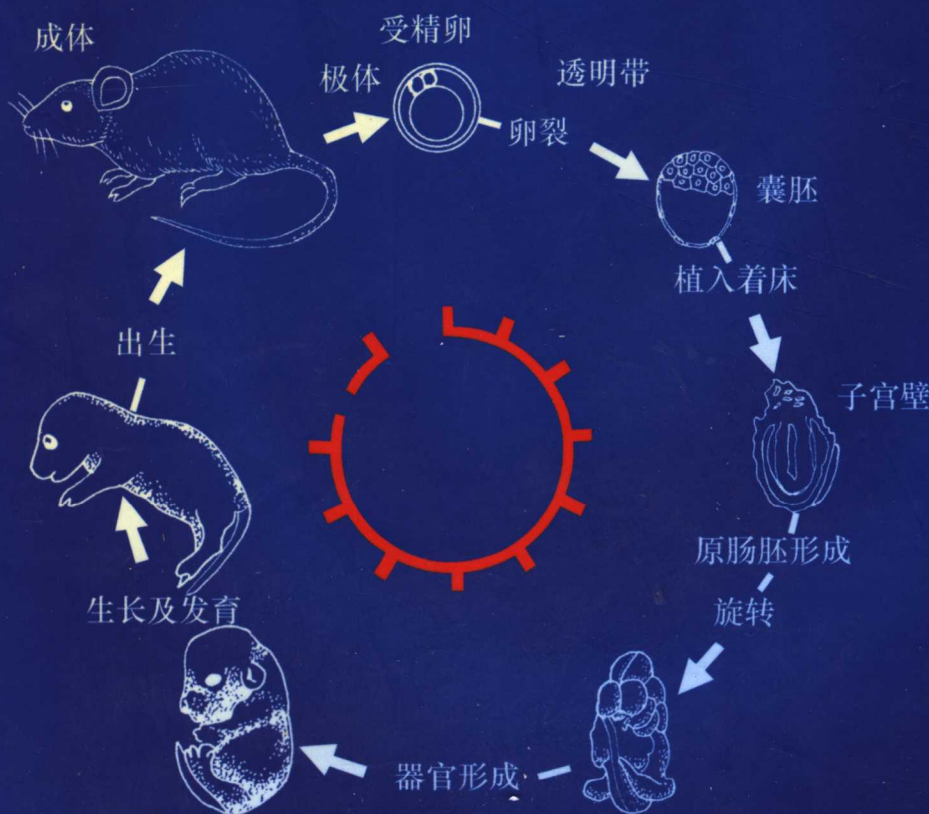


主编 金 岩

小鼠发育生物学 与胚胎实验方法

D *evelopmental Biology,*
Methods and Protocols for Mouse Embryo



人民卫生出版社

小鼠发育生物学与 胚胎实验方法

Developmental Biology, Methods and
Protocols for Mouse Embryo

主 编 金 岩

副主编 陈 琰

编者 (以姓氏笔划为序)

王彦亮	王新文	邓志宏	邓蔓菁	吕红兵	包柳郁
何大为	刘 涛	刘 源	刘 鹏	李 媛	李 鑫
轩东英	轩 昆	张光东	张建平	张勇杰	金 岩
金 钊	段晓燕	陈 琰	陈富林	周泽渊	周 峻
胡世颀	赵 宇	姜 明	高全文	聂 鑫	黄小辉
顾淑萍	温 宁	董绍忠	董 蕊		

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

小鼠发育生物学与胚胎实验方法/金岩主编. —北京:
人民卫生出版社, 2005. 1

ISBN 7-117-06529-X

I. 小… II. 金… III. ①鼠科-发育生物学②鼠科-
实验胚胎学 IV. Q959.837

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 133463 号

小鼠发育生物学与胚胎实验方法

主 编: 金 岩

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京市安泰印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 38.25

字 数: 852 千字

版 次: 2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06529-X/R·6530

定 价: 76.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

内 容 简 介

发育生物学是 21 世纪的前沿学科，也是整个生物学中发展最快的学科之一，同时研究范畴也在不断地扩展和深化。发育生物学的最大特征是通过一种生物模型（模式）规律和现象的研究，可以加深对其他生物的认识。而小鼠的胚胎发育、生长和进化是研究人类生命规律的最佳生物模式。因此，小鼠发育生物学是当今发育生物学领域发展最快、最令人兴奋的研究领域。

本书在参阅国内外已出版的相关专著和文献的基础上，结合近年来发育生物学、分子胚胎学和分子遗传学的研究进展，并综合我们自己的工作体会，以小鼠发育生物学为线索，较全面和深入地介绍发育生物学的基本内容和新进展。

全书分 2 篇共 25 章，第一篇包括 9 章内容，重点介绍发育生物学的相关概念、一般过程和发育的基本规律、小鼠的胚胎发育概况，尤其是发育生物学的基本问题，如：模型系统与躯体计划模式、细胞分化、形态发生与器官形成、胚胎生长发育调控及胚胎后发育等内容进行了较详细的阐述；此外还介绍了神经系统、四肢、骨骼、肌肉、血管、颅颌面部与口腔的发育，并对近期研究进展较快的干细胞也做了概述。

第二篇包括 16 章，详细介绍了小鼠胚胎实验多种的技术和方法，包括小鼠的体外受精及胚胎移植的实验操作、基因转染技术，着重介绍了如何制备转基因小鼠、基因敲除小鼠、嵌合体小鼠，以及如何较系统的对这些小鼠和实验结果进行分析的方法，包括报告基因、细胞标记、核型分析与染色体整合基因定位等。本篇还介绍了小鼠基因组研究与单细胞消减杂交、受精卵与胚胎的冻存处理与胚胎性别鉴定、胚胎标本的制作及基因和基因产物的检测、牙胚发育与腭裂动物模型的建立与分析；此外，还介绍了各阶段鼠胚的体外分离与培养、组织重组与器官培养、胚胎干细胞与多能干细胞的实验操作，对神经嵴细胞、外胚间充质细胞、神经系统组织细胞、骨和软骨来源细胞的培养也进行了较深入的阐述。

本书可作为高等院校和科研机构从事生命科学学习和科研工作的研究生与科研人员的教材或参考书，也可作为高等院校本科教学相关专业的教学参考书。

前 言

发育生物学是一门综合性的学科，它包括了实验胚胎学、分子胚胎学、分子遗传学、细胞生物学、分子生物学等诸多学科的相关内容，是研究生物体从精子和卵子发生、受精、发育、生长、衰老到死亡规律的科学。它既包含着对生命起源、形成奥秘的探讨，又有着无限广阔的应用前景。

人类最早开展与发育学有关的研究，是在公元前 300 多年，其代表性人物亚里士多德（Macedonian Aristotle，公元前 384—322 年）写了第一本动物学教科书以及有关生殖和发育方面的论文。而胚胎学的复兴始于 16 世纪，这一时期人们认识了精子与卵子的作用。自 1860 年，随着实验胚胎学、细胞生物学、遗传学时代的开始，胚胎学的研究也有了大量重要的发现。美国科学家 William E. Castle 被公认为哺乳动物遗传学创始人之一，他在哈佛大学（1909 至 1937 年）开展的工作，使人们对狗、豚鼠、兔、果蝇、大鼠及小鼠等动物的发育学和遗传学特征有了较初步的认识。随着分子生物学技术的发展，新技术揭示了基因在不同发育阶段的时空定位，人们了解了诸如肢体发育的调控基因、牙齿形态及特定位置的控制基因等。但是，真正对胚胎发育过程与机制的认识是近十年的事情，随着分子生物学、细胞生物学以及分子遗传学的迅猛发展，大大推动了对胚胎发育的研究，从而解答了一些以往数百年未能解答的问题。因此，发育生物学已成为 21 世纪的前沿学科。

发育生物学的最大特征是借助对一种生物模型（模式）的规律和现象的研究，帮助我们认识其它生物。研究发现小鼠的生命规律与其它哺乳类动物及人类极其相似，因而小鼠胚胎发育模型也是人体胚胎发育研究中最好的动物研究模型。

一百多年以来，实验室小鼠一直是发育生物学家研究哺乳动物发育最常用的一种动物模型。但直到近十年，随着对体内基因调控的研究，才使小鼠成为研究脊椎动物发育生物学唯一最有说服力的动物。今天的小鼠发育生物学起源于胚胎学和遗传学，正如遗传学对研究发育提供越来越有力的工具一样，这两门学科的关联性也越来越强，现在已很难把小鼠发育学和遗传学分割开来。在生物进化过程中，由于调控胚胎生长发育的基因及其机制的保守性，可以将与果蝇、线虫、蟾蜍等有关的研究成果迅速应用到小鼠的胚胎发育中。上世纪 80 年代初期，利用原核显微注射技术生产出了第一批转基因小鼠，这种方法目前已被广泛应用。随着对小鼠发育中重要调控基因的认识，不仅建立了多株胚胎干细胞（ES 细胞）系，而且建立了基因靶向技术。由于用基因敲除技术可在体内直接测得基因的功能，更促进了对小鼠发育的理解和认识。通过基因捕获技术对 ES 细胞的研究，也提供了一种识别重要发育基因的方法。对发育基因的大量突变筛选，以及

小鼠基因组图谱和序列分析都十分有助于小鼠发育生物学的发展。正因如此,发育生物学中有关小鼠发育的基因学和分子胚胎学成为当今发育生物学领域发展最快的研究领域。迄今为止,小鼠的胚胎工程、基因工程和干细胞工程都已取得了一系列令人瞩目的进展。

随着发育生物学研究的进展,一些与发育有关的概念得到了新的解释,并涌现出了很多新的概念和新的技术。然而,目前国内此类教材或书籍非常缺少,现有的教材或书籍更多的是对传统胚胎学内容的阐述,不能反映较新的概念和进展。正是基于此现状,我们组织撰写了这本书。

在本书的编写过程中,我们参阅了大量的国内外已出版的相关专著和文献,如 Wolpert L 主编的《Principles of Development》(1998), Hogan B 等人主编的《Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual》(2nd ed, 1994), Gilbert SF 主编的《Developmental Biology》(5th ed, 1997) 等。在此基础上,结合近年来发育生物学、分子胚胎学和分子遗传学等相关学科的研究进展,以小鼠胚胎发育为线索,较全面和深入地介绍了发育生物学的基本内容和新进展。同时,详细介绍了利用小鼠胚胎进行实验的技术和方法。在编写过程中,本书也参考了上述专著的部分图片,在此表示感谢。在部分章节中,还总结了一些我们开展的相关研究工作的进展。

本书分 2 篇共 25 章,第一篇包括 9 章内容,重点介绍发育生物学相关的概念、发育生物学的一般过程和发育的基本规律、小鼠的胚胎发育概况,尤其是对发育生物学的基本问题,如模型系统与躯体计划模式、细胞分化、形态发生与器官形成、胚胎生长发育调控及胚胎后发育等内容进行了较详细的阐述;此外还介绍了神经系统、四肢、骨骼、肌肉、血管、颅颌面部与口腔的发育,对于近期研究进展较快的干细胞也做了概述。第二篇包括 16 章,详细介绍了小鼠胚胎实验的多种技术和方法,包括小鼠的体外受精及胚胎移植的实验操作、基因转染技术,着重介绍了如何制备转基因小鼠、基因敲除小鼠、嵌合体小鼠,以及如何较系统地对这些小鼠和相关实验结果进行分析的方法,包括报告基因、细胞标记、核型分析与染色体整合基因定位等。在第二篇中,还介绍了小鼠基因组研究与差异基因的消减杂交、受精卵与胚胎的冻存处理与胚胎性别鉴定、胚胎标本的制作及基因和基因产物的检测、牙胚发育与腭裂动物模型的建立与分析;此外,还介绍了各阶段胚胎的体外分离与培养、组织重组与器官培养、胚胎干细胞与多能干细胞的实验操作,对神经嵴细胞、外胚间充质细胞、神经系统组织细胞、骨和软骨来源细胞的培养也进行了较详细的阐述。

本书编辑的目的是为国内广大的发育生物学以及相关领域的科研工作者、研究生和院校学生提供一本有重要参考价值的书籍,也希望这本书的出版可以弥补国内此方面书籍的不足。在撰写过程中,我们尽可能将更全面的知识和最新的内容编写入书中,但由于发育生物学是一门综合性的学科、有关方面的内容进展非常迅速,就是在编写出版过程中,仍不断有新的内容发表加之编者水平有限及编写时间仓促。此外,对于发育生物

学的一些概念的认识并不统一，对于一些蛋白分子和基因的认识也在不断地变化，因而本书难免有错误、缺点和遗漏之处，恳请读者不吝指正，以利今后的修正。本书在编写过程中，受到国内很多发育生物学研究领域研究者的关注和支持，在此向他们表示感谢。

金 岩

目 录

第一篇 发育生物学与小鼠的发育

第一章 发育生物学研究与发育的基本规律	3
第一节 小鼠发育生物学研究的意义	3
第二节 小鼠发育遗传学的研究历史	4
一、小鼠遗传学研究的初始阶段	4
二、小鼠发育遗传学的根源	4
第三节 实验性小鼠胚胎学的研究	6
一、实验性小鼠胚胎学的起源	6
二、小鼠发育的基因调控研究历史	7
三、小鼠新基因及发育性变异的系统性研究	8
第四节 发育生物学的基本问题与概念	10
一、发育生物学需解决的问题	10
二、发育生物学的基本概念	12
第五节 小鼠胚胎发育的基本过程	26
一、早期发育的基本过程	26
二、小鼠胚胎发育的基本过程	27
第六节 胚胎期发育的基本规律	29
一、卵细胞具有极性	29
二、生物发育始于受精	29
三、卵裂是一系列迅速的细胞分裂	30
四、原肠期与胚层形成	30
五、组织细胞分化和器官形成	31
第二章 小鼠的早期胚胎发育概况	33
第一节 生殖细胞的起源、移动及性别确定	37
一、生殖细胞的起源以及向生殖嵴的移动	37
二、性别确定与生殖细胞	38
第二节 精子、卵子的发生	39
一、精子生成	39
二、卵子发生	41
三、卵子和精子发生的比较	41

— — — — — 目 录 — — — — —	
第三节 排卵、受精和卵细胞骨架的组建	42
一、排卵	42
二、受精	43
三、受精前后卵细胞的细胞骨架组建	45
第四节 早期卵裂与胚泡形成	46
一、卵裂胚胎的特征	46
二、早期卵裂中的蛋白表达	46
三、细胞的聚集和极化	47
四、细胞聚集与粘连中的变化	48
五、胚胎核发育潜能的限制	48
第五节 植入与胚层的形成和分化	49
一、植入	49
二、原肠胚形成开始与滋养外胚层的衍化	50
三、原始外胚层的形成	51
四、原肠胚形成以及中胚层和内胚层的形成	53
五、结节的形成	55
六、中胚层组织多样化的产生	57
第六节 胚外组织的形成	57
一、胚外内胚层	57
二、内脏内胚层中的基因表达	58
三、壁内胚层中的基因表达	59
四、胚外中胚层的分化	59
五、胎盘的结构和功能	60
第七节 发育中的印刻作用	61
一、印刻作用	61
二、X-灭活	62
三、单性生殖	63
 第三章 模式系统及躯体计划模式	 64
第一节 模式系统与模式生物	64
一、模式系统	64
二、模式生物：脊椎动物	65
三、小鼠是研究人类发育的模式生物	66
第二节 躯体计划模式与体节的作用	68
一、脊椎动物体轴和胚层	68
二、原肠胚期躯体的计划模式	70
三、体节形成和模式化	70
第三节 早期胚胎细胞命运决定的模式机制	74

一、小鼠早期胚胎细胞的命运	74
二、来自植物区域的信号诱导中胚层	75
三、诱导中胚层的信号	75
四、中胚层特异基因表达的时间和调控	76
第四节 前内脏内胚层及其对胚胎模式的影响	76
一、前内脏内胚层的模式及细胞运动	76
二、脊椎动物前部发育的基本要素	77
三、前内脏内胚层影响胚胎前部模式	78
第五节 原条和组织区的作用与神经诱导	79
一、原条与组织区	79
二、组织区的作用	81
三、组织区与神经诱导	84
第六节 哺乳动物的体轴发育	85
一、脊椎动物体轴的特化	85
二、脊椎动物体轴的早期确定	86
三、影响小鼠胚胎体轴模式的因素	88
第七节 体轴发育的早期不对称性	91
一、左右轴的形成与不对称性	91
二、内部器官的左右特异性	92
三、脊椎动物的器官左右位置是由遗传控制的	92
四、左右模式的演化	94
五、Nodal 与 Lefties 的不对称表达	95
第四章 细胞分化、形态发生与器官形成	97
第一节 细胞分化	97
一、细胞分化与发育	97
二、基因表达模式的可逆性和遗传性	98
三、细胞分化中特定基因的表达及调控	100
四、细胞分化与程序性细胞死亡	102
第二节 细胞分化模型	102
一、肌细胞分化模型	102
二、血细胞分化模型	104
第三节 胚胎的早期形态发生	105
一、形态发生的内容	105
二、细胞的社会性	106
三、细胞识别	107
四、细胞粘附	107
五、细胞连接	108

六、细胞迁移	110
七、细胞与细胞外基质的相互作用	112
八、芽的形态发生模式	113
第四节 器官发生	115
一、尾芽与体节及其衍生物	115
二、肢体发育是典型的器官发育模式	119
三、肾发生中的诱导模式	120
四、肠的发生	120
五、芽的形态发生与肺的发育	121
第五章 胚胎生长发育调控和胚胎后发育	123
第一节 细胞增殖与生长发育	123
一、生长的形式	123
二、细胞增殖、细胞周期调控与生长发育	123
第二节 程序性细胞死亡及其在发育中的作用	125
一、胚胎发育中 PCD 的作用	126
二、PCD 的调控及细胞因子的影响	127
三、小鼠的凋亡相关基因敲除实验	129
四、PCD 进化和起源	130
第三节 机体发育大小的调控	130
一、机体发育大小受到综合因素的控制	131
二、细胞生长控制发育大小	132
三、细胞增殖的停止控制机体发育大小	133
四、细胞死亡控制机体发育的大小	135
五、细胞数量的调整与总细胞质量的正常	136
第四节 发育器官有其内在的生长程序	137
一、发生在生长板上的长骨的生长	137
二、脊椎动物横纹肌的生长依靠拉力	138
三、成年哺乳动物皮肤和肠上皮不断被干细胞的增殖所代替	138
第五节 生长、衰老和生物进化	139
一、衰老的机制	139
二、衰老与遗传	142
三、生物发育与进化	143
第六章 神经系统的发育	145
第一节 神经系统的发生	145
一、神经系统的基本形成过程	145
二、脊椎动物神经系统由神经板衍化而来	147

三、早期脑和神经管区域性差异的产生	148
第二节 神经系统中细胞特异性的形成	149
一、旁侧抑制定神经前体细胞的发生	149
二、脊髓分化依赖于背腹侧信号	150
三、神经元来自细胞的非对称分裂	152
第三节 神经系统发生中的细胞骨架	153
一、神经元细胞骨架的组成成分	153
二、神经细胞骨架的发生过程	154
第四节 神经系统形成中的基因调控	155
一、神经管背腹化模式的调控	155
二、神经营养因子及信号转导	158
第五节 突触的形成和伸长	160
一、神经肌接头的突触形成期	161
二、神经肌接头之间的细胞联系	162
三、生长锥	164
四、轴突的诱导及生长锥引导分子	166
第六节 Schwann 细胞及其前体细胞在神经发育中的调控作用	168
一、Schwann 细胞的发育	168
二、Schwann 细胞及其前体对神经发育的调节	169
三、Schwann 细胞对自身存活的调节	171
第七章 四肢、骨骼、肌肉与血管的发育	172
第一节 脊椎动物四肢发育	172
一、脊椎动物的四肢由肢芽发育形成	172
二、四肢的发生与位置信息相关	173
三、肢体在三个轴向的发育模式	173
四、同源盒基因与肢体发生模式相关并决定肢体的位置	176
五、肢体的肌肉、软骨、肌腱的发育	177
第二节 骨组织的发育	177
一、骨的发生与模式形成	178
二、凝集区与骨骼发育	178
三、BMPs 对骨骼发育的调控	179
四、基质金属蛋白酶在骨发生中的作用	180
五、骨形成的方式	181
六、骨组织中细胞的起源与分化	184
七、骨基质的矿化	186
第三节 肌肉的发育	188
一、MyoD 家族的肌特异性转录因子	189

— — — — — 目 录 — — — — —	
二、碱性螺旋基因家族的转录因子	189
三、生长因子在肌发生过程中的调控作用	190
四、肌肉的发生	193
第四节 血管的发生	195
一、血管的发生和毛细血管的形成	195
二、大血管的形成	196
三、血管平滑肌的分化和表型变化	197
四、胚胎循环	197
第八章 颅颌面部与口腔的发育	198
第一节 头颅面部的发育	198
一、鳃弓和咽区的形成	198
二、面部发育过程	200
第二节 神经嵴细胞与外胚间充质细胞的发育	202
一、神经嵴细胞的形成、迁移和分化	202
二、神经嵴细胞分化迁移的影响因素	205
三、颅神经嵴与口腔颌面部的发育	207
四、信号分子对颅神经嵴来源的外胚间充质的基因调控	209
第三节 腭的发育及腭裂的形成机制	211
一、腭的发育	211
二、腭裂形成	213
三、生长因子、致畸原受体与腭裂形成的关系	215
第四节 早期牙胚发生	216
一、牙胚发育的起始和特化	217
二、早期牙胚发育中的上皮-间充质的信号传递途径	218
三、影响牙齿发育的因素	223
四、牙齿发育中的细胞凋亡	226
五、牙齿发育中的神经生长因子和神经支配	227
第九章 干细胞	231
第一节 关于干细胞与胚胎干细胞	231
一、干细胞研究历史及现状	231
二、胚胎干细胞与多能干细胞的来源	231
三、成体干细胞和肿瘤干细胞	232
四、干细胞的生物学行为	232
五、干细胞的诱导分化	234
六、小鼠胚胎干细胞的研究意义	235
第二节 几种重要的干细胞	235

一、神经干细胞和神经嵴干细胞	236
二、骨骼肌干细胞	238
三、肝脏干细胞	242
四、造血干细胞	242
五、骨髓基质干细胞和间充质干细胞	242
六、胰腺干细胞	243
七、角膜干细胞	244

第二篇 小鼠胚胎实验方法

第一章 实验小鼠的起源和生物学特性	247
第一节 实验小鼠的起源	247
一、实验小鼠的起源	247
二、小鼠在发育生物学研究中的价值	248
三、近交系的起源及小鼠遗传学特征	248
四、常用近交系小鼠品系特征	252
五、用于遗传性疾病研究的小鼠动物模型	255
第二节 鼠皮毛颜色、色素突变与遗传学	256
一、鼠皮毛的颜色和遗传学	256
二、ABCD 色小鼠	257
三、点突变小鼠	258
四、其它突变小鼠	260
第三节 小鼠的生物学特征和主要品系	260
一、小鼠解剖生理学特点	260
二、生物学行为特点	263
三、小鼠的主要品种和品系	264
第四节 小鼠的生殖特性	266
一、小鼠生殖系统解剖学特点	266
二、小鼠排卵和性周期特点	267
三、受精与繁殖	271
第五节 小鼠的饲养与常规实验操作	272
一、饲养和管理	272
二、体温与水的调节	273
三、血液的采集和静脉注射	274
四、麻醉和镇痛	275
第六节 影响小鼠动物试验的因素	277
一、环境因素	277
二、饮水与食物	280

三、应激	280
四、动物行为	281
五、小鼠的非传染性疾病	281
第七节 小鼠胚胎实验中的有关概念	283
第二章 小鼠的体外受精及胚胎移植的实验操作	288
第一节 小鼠精、卵细胞获取及体外受精	288
一、建立小鼠正常交配、诱导超排卵	288
二、卵母细胞与精子的体外分离及体外受精	290
三、单性生殖卵母细胞的活化	292
四、小鼠卵母细胞显微受精方法	293
第二节 假孕雌鼠的胚胎移植	294
一、胚胎的输卵管移植	295
二、胚胎的子宫转移	298
三、剖宫产及小鼠的哺育	299
第三章 基因转移技术、转基因小鼠与基因敲除	300
第一节 基因转移方法与转基因动物	300
一、转基因技术的发展	300
二、基因转移方法	300
第二节 转基因小鼠的应用	302
一、转基因小鼠作为人类疾病的动物模型	302
二、转基因小鼠作为基因治疗的模型	303
三、转基因小鼠用于免疫学研究	304
四、转基因小鼠用于肿瘤学研究	305
五、转基因小鼠在发育遗传学上的应用	305
六、利用启动子指导的基因表达消除特异的细胞谱系	305
第三节 DNA 重组基因转移技术	306
一、转移基因的设计	306
二、DNA 显微注射系统	308
三、原核的 DNA 显微注射	313
第四节 转基因和突变鼠系的建立	319
一、建立提供 DNA 注射所用受精卵的雌鼠系	319
二、建立提供胚胎干细胞注入囊胚的雌鼠系	321
三、转基因实验中的各种鼠系	322
第五节 基因敲除小鼠	325
一、概述	325
二、基因敲除小鼠的制备	325

三、直接型与诱导型基因敲除	326
四、基因敲除的主要应用领域	327
五、问题和展望	329
第四章 嵌合体小鼠与核转移技术	330
第一节 嵌合体小鼠的产生	330
一、分离卵裂期胚胎细胞、产生聚合嵌合体	330
二、用于囊胚注射的显微注射系统	332
三、囊胚选择性显微注射以产生嵌合体	333
四、逆转录病毒感染胚胎及子宫内注射	336
五、小鼠两细胞胚胎的电融合	337
六、嵌合度检测	338
第二节 小鼠胚胎的核移植	339
一、胚胎分离	339
二、制作固定吸管和注射吸管	339
三、去除卵细胞核	340
四、细胞核注入无核单细胞	340
五、灭活仙台病毒的制作	341
第五章 转基因鼠的分析	342
第一节 转基因鼠中外源基因的分析	342
第二节 目标 DNA 的提取	343
一、从鼠尾中提取高分子量的 DNA	343
二、从 9.5 天 P. C 的卵黄囊或晚期胚胎中提取高分子量 DNA	344
第三节 鼠胚胎少量小片段 DNA 的 PCR 检测	345
一、检测植入后鼠胚的少量小基因片段	345
二、胚胎组织或卵黄囊匀浆的 PCR 分析	346
第四节 确立纯合子转基因鼠或胚胎	347
一、转移基因的定量	347
二、转基因产物或表型的定量	347
三、分裂间期核的原位杂交	348
四、繁殖测试	348
五、用一个侧翼探针进行 Southern blot 分析	348
六、用侧翼引物做 PCR 分析	348
第五节 克隆转基因与宿主 DNA 接合部	348
一、用转基因筛选 λ 噬菌体文库	349
二、质粒回收和反向 PCR	350
第六节 鼠细胞的核型分析及染色体整合基因定位	350

一、鼠细胞的核型分析及显带	350
二、原位杂交定位染色体的整合基因	352
第七节 转基因鼠的报告基因检测	354
一、选择适用于谱系分析的转基因动物	354
二、三种不同的转基因表达模式	355
三、 β -半乳糖苷酶 (LacZ) 活性染色	355
四、检测带有多种珠蛋白基因的转基因细胞的 DNA-DNA 原位杂交技术	357
第六章 报告基因与细胞标记在细胞谱系研究中的应用	359
第一节 报告基因在研究转基因鼠胚胎的转录规律中的应用	359
一、报告基因的设计	360
二、功能检验	362
三、分离与纯化注射用 DNA 片段	363
四、报告基因活性的整胚染色	364
五、转染基因的 PCR 鉴定	365
六、报告基因的表达分析	366
七、注意事项	367
第二节 植入后鼠胚胎中的细胞嫁接与标记	370
一、细胞标记和植入确定细胞谱系与命运图谱	370
二、培养 6.5~8.5 天 P. C 的胚胎	371
三、用于植入的组织块的分离	372
四、对 6.5 天胚胎的细胞植入与标记	373
五、标记与植入	374
六、被标记胚胎的分析	375
七、注意事项	376
第七章 各阶段胚胎的体外分离、培养	378
第一节 胚胎体外培养系统	378
一、体外培养系统	378
二、培养中的注意事项	380
第二节 获取植入前胚胎或囊胚	381
一、收集及转移胚胎用吸管的制作	381
二、着床前胚胎或囊胚的获取	381
三、植入前各阶段胚胎所需培养液的准备	386
第三节 植入后各阶段胚胎的分离、培养	390
一、植入后各阶段胚胎的分离	390
二、植入后胚胎和组织的培养	396
第四节 植入后各阶段胚层及生殖细胞的分离及培养	397