



普通高等教育“十五”国家级规划教材

细胞工程

陈志南 主编



科学出版社

www.sciencep.com

普通高等教育“十五”国家级规划教材

细 胞 工 程

主 编 陈志南

副主编 米 力 刘民培

唐克轩 刘宏颀

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

细胞工程是应用现代细胞生物学、发育生物学、遗传学和分子生物学的理论与方法,按照人们的需要和意图,在细胞水平上进行遗传操作,包括重组细胞的结构和内含物,以改变生物的结构和功能,通过细胞融合、核移植、染色体转移等技术,快速繁殖和培养出人们所需要的新物种的生物工程技术。细胞工程的优势在于避免了分离、提纯、剪切、拼接等基因操作,只需将细胞遗传物质直接转移到受体细胞中就能够形成杂交细胞,因而能够提高基因的转移效率。本书着重于细胞工程的基本理论、基本概念和基本方法,系统全面地介绍胚胎细胞工程、染色体工程、细胞融合、细胞重组、动物细胞培养工程、植物细胞工程和干细胞工程中的关键问题。

本书适合作为生物学、医学、药学、生物工程、农业和畜牧动物学以及其他相关专业的本科生和研究生的必修教材,也可以作为生物学教师 and 从事生命科学相关领域研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

细胞工程/陈志南主编. —北京:科学出版社, 2005

普通高等教育“十五”国家级规划教材

ISBN 7-03-015147-X

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 018616 号

责任编辑:周 辉 彭克里 席 慧/责任校对:包志虹

责任印制:安春生/封面设计:陈 敬

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>

深海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年8月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2005年8月第一次印刷 印张: 40

印数: 1—4 000 字数: 769 000

定价: 48.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

《细胞工程》编辑委员会

(按姓氏笔画为序)

- | | |
|-----|-------------------|
| 王一理 | 西安交通大学生命科学与技术学院 |
| 刘民培 | 中国人民解放军沈阳军区总医院 |
| 刘宏颀 | 第四军医大学科研部 |
| 米力 | 第四军医大学细胞工程研究中心 |
| 孙祥民 | 华东理工大学生物工程学院 |
| 张元兴 | 华东理工大学生物工程学院 |
| 张改生 | 西北农林科技大学农林科学院 |
| 陈志南 | 第四军医大学细胞工程研究中心 |
| 陈昭烈 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 赵春华 | 中国医学科学院基础医学研究所 |
| 洪岸 | 暨南大学生物工程研究所 |
| 唐克轩 | 上海交通大学生物农业技术学院 |
| 商澎 | 西北工业大学生命科学学院 |
| 谢良志 | 中国医学科学院神州细胞工程有限公司 |
| 窦忠英 | 西北农林科技大学动物技术学院 |
| 谭文松 | 华东理工大学生物工程学院 |

前 言

细胞工程是用细胞生物学、分子生物学和遗传学等方法,通过有关类似工程的步骤,在细胞、细胞器及基因等不同水平上,根据人们的意图对细胞内的遗传物质进行改良,从中获得新型生物或者所需细胞产品的一门综合性科学技术。近年来,该技术与生物学、生物工程、农业及畜牧动物学、医学、药学、食品、生物资源与环境保护、养殖业和新物种构建等许多领域密切相关,涉及的范围极其广泛。目前,该技术已经取得许多惊人的成就,植物组织培养及单抗的生产等已在生产中广泛应用,并已收到十分显著的经济和社会效益。细胞及基因重组、异体器官移植、克隆动物和转基因产品等一些最新的发展前沿,已引起有关政府部门、商业财团及生物公司等广泛关注。

随着细胞工程的不断发展,以及在生命科学、农业及医药等诸多领域的重要作用,有关院校、科研单位及科技工作者也越来越注重其教学、研究及发展等工作。尽管如此,但目前国内尚无一本内容全面、系统新颖的细胞工程教科书。因此,经教育部批准编撰了普通高等院校“十五”规划教材《细胞工程》。此书为全国长学制生物学、医药学、生物工程、农业及畜牧动物学课程的系列教材之一。除作为本科生及有关研究生必修教材外,也是青年教师和从事生命科学研究人员的参考书。本书作为细胞工程方面的基础理论教材,根据现代细胞工程的进展,其编写的主要内容具有以下特点。

(1) 根据细胞工程的系统性,全书内容共分6章,第1章为细胞工程概述;第2章为有关基础知识和技术等;第3章和第4章介绍动物细胞工程所涉及的内容,其中包括工程细胞构建技术、细胞培养工程,以及工程产品产业化等;第5章为植物细胞工程有关内容;第6章讲述干细胞工程基础及其应用前景等。

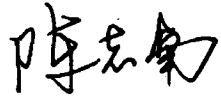
(2) 在各章节的编写中,在阐述基本概念、基本原理及基本方法的原则上,突出基本理论与关键技术的结合、现状与发展的结合,力争全面反映当代细胞工程的最新水平和内容。同时在每节后用“结语”、每章后以思考题的形式突出及强化有关重点。

(3) 结合当前生物科学及生物工程的发展需要,尽量对有关细胞工程上、中、下游的基本过程及产业化方面的知识及前景,以及干细胞工程的最新研究内容等进行介绍。

(4) 本教材集科学性、新颖性、实用性与可读性为一体,密切联系生物学、生物工程、医药学及农学等有关的实际工作。

(5) 为编写好本书，特邀请中国医学科学院、军事医学科学院、上海交通大学、华东理工大学、暨南大学、西安交通大学、西北农林科技大学和第四军医大学等全国理、工、农、医重点大学及科研第一线、多学科的专家共同撰稿，其内容全面、丰富、重点突出，具有较好的参考价值。

细胞工程涉及生命科学的多种学科。本书的编写邀请了胚胎工程、细胞培养工程、细胞融合及植物细胞工程和干细胞工程等方面的专家参与，力求系统全面阐述细胞工程关键技术及其原理，并对其现状、应用及发展前景等问题进行评论。由于细胞工程发展十分迅速，书中内容涉及面广，加之编者水平和能力有限，不妥之处在所难免，敬请广大读者不吝赐教。



2005年1月

目 录

前言

第1章 绪论	1
1.1 细胞工程的概念及内容	1
1.1.1 细胞工程的基本概念和范畴	1
1.1.2 细胞工程的主要研究内容	2
1.2 细胞工程的发展及前景	5
1.2.1 细胞工程的发展进程	5
1.2.2 细胞工程产业化发展前景	6
思考题	10
主要参考文献	11
第2章 细胞工程基础	12
2.1 分子生物学基础	12
2.1.1 基因的概念与结构	12
2.1.2 基因复制与基因表达	13
2.1.3 基因调控与基因突变	14
2.1.4 基因重组与基因操作	15
2.2 细胞生物学基础	16
2.2.1 细胞的概念	16
2.2.2 细胞的大小、形态及类型	18
2.2.3 细胞器	26
2.2.4 细胞的增殖与调控	36
2.2.5 细胞分化	44
2.2.6 细胞的衰老与死亡	47
2.3 生物个体发育基础	52
2.3.1 组织和器官	53
2.3.2 生殖与发育	54
2.3.3 结语	57
2.4 胚胎细胞工程基础	57
2.4.1 生殖细胞的发生	57
2.4.2 受精与早期胚胎发育	60
2.4.3 胚胎工程	63

2.4.4	结语	74
2.5	细胞培养工程基础	74
2.5.1	细胞培养工程的概念	74
2.5.2	动物细胞的特点与分类	76
2.5.3	体外培养细胞的生长动力学	78
2.5.4	细胞培养的载体	80
2.5.5	生物反应器	82
2.6	染色体工程基础	104
2.6.1	概述	105
2.6.2	染色体的结构与行为	107
2.6.3	染色体工程的主要研究内容	118
2.6.4	结语	119
	思考题	120
	主要参考文献	121
第3章	动物细胞构建技术	124
3.1	动物细胞融合	124
3.1.1	细胞融合技术	124
3.1.2	杂交细胞的筛选及其遗传表型的控制	128
3.1.3	杂交瘤技术与 MAb	132
3.1.4	结语	138
3.2	重组细胞的构建	139
3.2.1	克隆化基因在哺乳动物培养细胞中的表达	139
3.2.2	杆状病毒-昆虫表达系统	152
3.2.3	果蝇细胞表达系统	159
3.2.4	重组体导入宿主细胞的常用方法	163
3.2.5	培养重组哺乳动物细胞系蛋白产量的不稳定性	168
3.2.6	结语	173
	思考题	173
	主要参考文献	173
第4章	动物细胞培养工程	175
4.1	概述	175
4.1.1	基本概念	175
4.1.2	发展简史	175
4.1.3	特点与方法	177
4.1.4	动物细胞培养工程的技术现状与展望	178
4.1.5	结语	182

4.2	生产用动物细胞系	182
4.2.1	生产用动物细胞的发展	182
4.2.2	生产用动物细胞的来源	184
4.2.3	常用生产用动物细胞的特性	186
4.2.4	生产用动物细胞库	188
4.2.5	生产用动物细胞的代谢工程优化改造	190
4.2.6	结语	199
4.3	培养液和培养环境	199
4.3.1	动物细胞培养条件	199
4.3.2	动物细胞培养液和添加剂	205
4.3.3	无血清无蛋白培养	207
4.3.4	培养环境与生物反应器	212
4.3.5	结语	227
4.4	动物细胞培养工艺	227
4.4.1	动物细胞培养工艺基础	228
4.4.2	动物细胞培养方法	236
4.4.3	动物细胞培养的操作方式	245
4.4.4	培养过程的监测与控制	254
4.4.5	动物细胞培养工艺	257
4.4.6	工艺的选择与设计	262
4.4.7	杂交瘤细胞大规模培养制备抗体的工艺	268
4.4.8	结语	275
4.5	动物细胞培养过程的放大与优化	276
4.5.1	动物细胞培养工艺的研究	276
4.5.2	动物细胞培养工艺的优化	278
4.5.3	动物细胞培养工艺的放大	284
4.5.4	结语	288
4.6	动物细胞代谢工程	288
4.6.1	概述	288
4.6.2	基本原理	290
4.6.3	代谢调节的基本类型及其机制	295
4.6.4	代谢工程的研究方法	299
4.6.5	结语	313
4.7	动物细胞工程产品制备及质控	314
4.7.1	动物细胞工程产品制备	314
4.7.2	细胞工程产品的质量控制	344

4.7.3	结语	356
4.8	动物细胞工程表达产品的应用	357
4.8.1	重组蛋白质药物	357
4.8.2	MAb 药物	364
4.8.3	基因工程与亚单位疫苗	371
4.8.4	基因治疗产品	377
4.8.5	结语	382
	思考题	382
	主要参考文献	383
第 5 章	植物细胞工程	388
5.1	概述	388
5.1.1	基本概念	388
5.1.2	主要的研究内容及技术	390
5.1.3	植物细胞工程的应用	395
5.1.4	植物细胞工程的展望	398
5.1.5	结语	398
5.2	植物组织细胞及原生质体培养	399
5.2.1	植物组织培养	399
5.2.2	植物细胞悬浮培养	414
5.2.3	原生质体的制备及培养	425
5.2.4	结语	435
5.3	植物细胞融合技术	436
5.3.1	植物细胞的融合与促融	436
5.3.2	影响融合的因素	442
5.3.3	杂种细胞的筛选与培养	445
5.3.4	结语	449
5.4	植物细胞质工程	449
5.4.1	基本概念与主要研究的内容	449
5.4.2	细胞质工程技术	452
5.4.3	主要细胞器转移	456
5.4.4	结语	466
5.5	植物染色体工程	466
5.5.1	操作技术	466
5.5.2	染色体工程与作物育种	480
5.5.3	结语	488
5.6	植物细胞培养工程技术与应用	489

5.6.1	培养液与培养环境	489
5.6.2	培养工艺与过程优化	495
5.6.3	植物细胞培养的应用	504
5.6.4	结语	513
5.7	转基因植物	514
5.7.1	概述	514
5.7.2	转基因植物技术	515
5.7.3	转基因技术的应用	539
5.7.4	转基因植物的安全性评价与检测	544
5.7.5	结语	547
	思考题	548
	主要参考文献	550
第6章	干细胞工程	553
6.1	概述	553
6.1.1	干细胞工程的概念	553
6.1.2	干细胞的分类	554
6.2	胚胎干细胞建系与定向分化	556
6.2.1	ES细胞系的建立	556
6.2.2	ES细胞的体外定向诱导分化	563
6.3	胚胎干细胞的鉴定	576
6.3.1	形态及生长特征	576
6.3.2	碱性磷酸酶活性	577
6.3.3	ES细胞的分子标志物	577
6.3.4	染色体数目和核型分析	578
6.3.5	体外分化能力	578
6.3.6	体内分化能力	579
6.3.7	嵌合体形成能力	580
6.3.8	结语	580
6.4	成体干细胞建系与定向分化	581
6.4.1	概述	581
6.4.2	成体干细胞建系	582
6.4.3	成体干细胞的定向分化	583
6.4.4	结语	591
6.5	干细胞工程的应用	591
6.5.1	概述	591
6.5.2	细胞移植	593

6.5.3 构建组织器官	599
6.5.4 克隆动物	601
6.5.5 转基因动物	603
6.5.6 药物毒理与药物筛选	603
6.5.7 生物学基础研究	604
6.5.8 结语	605
思考题.....	605
主要参考文献.....	606
中英文术语对照.....	610

第1章 绪 论

1.1 细胞工程的概念及内容

1.1.1 细胞工程的基本概念和范畴

从1665年英国人罗伯特·胡克(R.Hooke)发现细胞到克隆羊“多莉”(Dolly)出世,其间经历了300多年。300多年来,世界发生了天翻地覆的变化,生物学界也不例外。随着生物科学和生物技术的崛起及迅猛发展,人类已经可以在细胞和基因的水平上干预和改造生物的遗传性状,从而依照人类的意愿,设计出新的生物基因蓝图,然后据此制造出新的生命体。在300多年前,这是个神话;而在今天,却成为一个富于想像力的科学用语——细胞工程。

细胞工程是指应用现代细胞生物学、发育生物学、遗传学和分子生物学的理论与方法,按照人们的需要和设计,在细胞水平上的遗传操作,重组细胞的结构和内含物,以改变生物的结构和功能,即通过细胞融合、核质移植、染色体或基因移植以及组织、细胞培养等方法,快速繁殖和培养出人们所需要的新物种的生物工程技术。细胞工程的优势在于避免了分离、提纯、剪切、拼接等基因操作,只需将细胞遗传物质直接转移到受体细胞中就能够形成杂交细胞,因而能够提高基因的转移效率。通俗地讲,细胞工程是在细胞水平上做手术,也称细胞操作技术。其中包括细胞融合技术、细胞器移植、染色体工程和组织培养技术。通过细胞融合技术,可以培育出新物种,从而打破了传统的只有同种生物杂交的限制,实现种间的杂交。这项技术不仅可以把不同种类或者不同来源的植物细胞或者动物细胞进行融合,还可以把动物细胞与植物细胞融合在一起。这对创造新的动、植物和微生物品种具有前所未有的重大意义。

生物工程是现代生物技术的核心,实质上是遗传工程或基因工程,是运用现代“基因组学”、工程学和其他学科朝着人们需要的方向发生改变,并用于产品生产、产业化加工而为人类社会服务的新技术领域。它是以分子遗传学为技术层面,对基因进行剪切、拼装、组合等操作,然后将这种人工重组的基因植入宿主细胞,使之随宿主细胞的繁殖而大量复制和高效表达。细胞工程属于生物工程的范畴,通常人们根据操作对象的不同及操作技术的差异,将生物工程分为基因工程、酶工程、发酵工程、蛋白质工程和细胞工程等五大类。

基因工程是20世纪70年代以后兴起的一门新技术,其主要原理是应用人工方法对生物的遗传物质(通常是DNA)进行体外切割、拼接和重组,然后将重

组了的 DNA 导入某种宿主细胞或个体，从而改变它们的遗传性状。由于其还可使遗传物质在新的宿主细胞或个体中大量表达，以获得基因产物（多肽或蛋白质），所以基因工程也被称为 DNA 重组技术。酶工程是利用酶的催化作用进行物质转化的技术，是将酶学理论和化工技术结合而形成的新技术，也就是利用酶或微生物细胞、动植物细胞、细胞器的特定功能，借助工程学手段制造生物产品的一门学科。它包括酶的固定化技术、细胞的固定化技术、酶的修饰改造技术及酶反应器的设计等技术。发酵工程是利用微生物生长速度快、生长条件简单以及代谢过程特殊等特点，在合适条件下，通过现代化工程技术手段，利用微生物生产人类所需的产品，也称微生物工程。蛋白质工程是指在基因工程的基础上，结合蛋白质结晶学、计算机辅助设计和蛋白质化学等多学科基础知识，通过对基因的人工定向改造等手段，从而达到对蛋白质进行修饰、改造、拼接以产生能满足人类需要的新型蛋白质。而细胞工程主要是利用细胞生物学与分子生物学等方法，根据人们的意愿对细胞的遗传表型进行定向改造，以获得细胞产品、药品或医用生物材料的综合技术体系。它主要由两部分构成：①上游工程，包括细胞培养、细胞遗传操作和细胞的保存；②下游工程，即将已转化的细胞应用到医学或生产实践中去。不难看出，这五大类工程并不是互相独立的，而是彼此间互相交叉，互有包容。

根据研究对象的不同，又可将细胞工程分为植物细胞工程和动物细胞工程两大类。动物细胞与植物细胞相比，在遗传和生理特性等方面都有很大的不同：①动物细胞没有叶绿体和细胞壁，其物质与能量代谢途径与植物细胞不同；②高等动物的细胞在动物体内生长时，既相互依赖又相互制约，在神经及体液调节下形成了一种非常复杂的内环境，动物细胞在体内受整体调节制约的程度和复杂度都是植物细胞不能相比的；③动物细胞分化的程度和类别也比植物细胞更高、更复杂，脱分化非常困难；④与植物细胞不同，动物细胞除卵细胞外，都只有遗传上的全能性而没有细胞上的全能性；⑤在体外培养时，除部分癌细胞和血细胞外，大多数正常的动物细胞都有贴附于支持物生长的特性，并且发生接触抑制，而停止分裂和增殖；⑥所有高等动物细胞都是有寿限的，一般细胞分裂最多不能超过 50 代次分化，而植物细胞没有寿限。随着细胞生物学、分子生物学和细胞遗传学研究的日益深入及相关技术的长足发展，尤其是动物细胞工程的迅速发展以及在医学研究和实践中应用日益广泛，细胞工程对提高人类的生活质量和健康水平发挥着越来越重要的作用。

1.1.2 细胞工程的主要研究内容

细胞是生物体的结构单位和功能单位。细胞工程就是利用细胞的全能性，采用组织与细胞培养技术对动、植物进行修饰，为人类提供优良品种、产品和保存珍贵物种。目前，细胞工程的主要研究领域包括：①动、植物细胞和组织培养；

②细胞融合育种与单克隆抗体（单抗，monoclonal antibody, MAb）；③细胞核移植与克隆；④染色体工程育种；⑤发育基因调控与人体器官培养技术等。细胞工程具体分为动物细胞工程和植物细胞工程两大类。动物细胞工程是在细胞培养技术、细胞融合技术和细胞拆合技术的基础上发展起来的。其涉及的技术领域是对细胞不同结构层次的改造，包括：①细胞整体层次：细胞培养、细胞融合等；②细胞器层次：核移植、细胞拆合、染色体倍性或组成改变等；③分子层次：基因操作技术等。随着基因工程技术、基因转移技术和干细胞工程技术的发展，动物细胞工程在理论和应用两方面获得了快速发展。

细胞工程根据遗传操作的不同，可分为细胞融合工程、基因工程、细胞拆合工程、染色体及染色体组工程；根据培养技术的不同，可分为大规模细胞培养技术和干细胞工程。

1. 细胞融合工程

细胞融合（cell fusion）又称细胞杂交（cell hybridization），是指用人工方法，使两种或两种以上的体细胞合并形成一个细胞，不经过有性生殖过程而得到杂种细胞的方法。

细胞融合技术始于20世纪50年代末。日本学者冈田善雄，发现仙台病毒可诱导小鼠艾氏腹水瘤细胞彼此融合。60年代后期，发明出只让杂种细胞存活并传代的技术，使未发生融合的亲本细胞及非两亲本融合的细胞在传代过程中被淘汰。1975年，Milstein和Köhler将小鼠骨髓瘤细胞与羊红细胞免疫的小鼠B淋巴细胞融合，形成杂种细胞，能分泌抗羊红细胞抗体，用于制备单抗。细胞融合的优点是实现体细胞之间的杂交，而不受亲缘关系的限制。人工的细胞融合可实现任意细胞间的融合，这就拓宽了遗传变异的范围。细胞融合技术具有巨大的应用潜力，如医学上单抗的生产和植物界新物种的培育等。

2. 基因工程

基因工程是从基因水平改造生物遗传组成，进而改变细胞的表型，所以将其纳入细胞工程的范畴。它是一种按照人类的意愿，定向改变生物遗传性状的技术工程，即采用类似工程设计的方法，按照预先设计，将不同来源的目的基因在体外拼接形成重组基因，并通过运载体导入宿主细胞，使其在宿主细胞内复制和表达以获得生物产品或生物新品种的技术。

3. 染色体工程和染色体组工程

染色体工程是按照预先的设计，添加、消除或替代同种或异种染色体的全部或一部分，从而达到定向改变生物遗传性状或选育新品种的目的。它是从染色体水平改变细胞遗传组成的细胞工程技术，目前主要应用于植物遗传育种领域。

染色体组工程是在人为设计的技术路线下添加、消除同种或异种染色体组以达到定向改变生物遗传性状的目的。

4. 细胞拆合工程

细胞拆合工程是进行细胞组分的分离和融合，研究细胞质和细胞器的添加和替代。其常用的技术就是细胞核移植，胞质体（去核细胞）与完整细胞的融合，细胞器导入完整细胞及大分子直接导入细胞等。其目的是创造出细胞质与细胞核的杂种细胞。这种杂种细胞便有可能出现遗传的变异，出现胞质遗传与胞核遗传的重新组合。细胞拆合最成功的例子是克隆羊“多莉”的诞生。它是通过无性繁殖制备与母体在遗传上一致的克隆动物，即将其母体体细胞的核与去核卵子的细胞质人工重组，借助于卵子的发育能力制造成的高等动物克隆。

5. 干细胞工程

干细胞工程是在细胞培养技术的基础上发展起来的一项新的细胞工程。它是利用干细胞的增殖特性、多分化潜能及其增殖分化的高度有序性，通过体外培养干细胞、诱导干细胞定向分化或利用转基因技术处理干细胞改变其特性，以达到利用干细胞为人类服务为目的的方法。

其主要研究内容，一方面是胚胎干细胞的研究，如建立胚胎干细胞（ES细胞）系，并利用ES细胞的发育多能性，即环境因素对细胞分化发育的影响，定向诱导ES细胞分化为特定的细胞，如肌细胞、神经细胞等，作为细胞移植的新来源。另一方面，成体干细胞的研究主要包括成体组织干细胞的分离培养和植入体内，更新机体病变的组织器官恢复正常功能；另外，利用干细胞作为基因治疗的靶细胞，研究体内有效活化组织干细胞的方法，从而增强其分化功能。

6. 大规模细胞培养技术

这是细胞工程中重要的组成部分，是在人工条件下高密度大规模培养的自动、植物细胞来生产生物产品的技术。如今这一技术已广泛应用于现代生物制药的研究和生产中。它的应用大大减少了用于疾病预防、治疗和诊断的实验动物，为生产疫苗、细胞因子、生物产品乃至人造组织等产品提供了强有力的工具。

根据细胞的生长特性，可分为贴壁细胞和悬浮细胞。就其培养方法而言可概括为悬浮培养和固定化培养。就操作方式而言，可分为分批式、补料-分批或流加式、半连续式、连续和灌流式四种操作方式。大规模培养技术的建立，使生产各种生物制品，例如单抗、红细胞生成素、疫苗和病毒杀虫剂等得到了很大的发展。

1.2 细胞工程的发展及前景

1.2.1 细胞工程的发展进程

1. 动物细胞工程

动物细胞工程起初应用于疫苗的生产。在疫苗产业早期,利用动物来生产疫苗,如用家兔人工感染狂犬病毒生产狂犬疫苗,用奶牛生产天花疫苗,用某些细菌接种到动物身上生产抵抗该种细菌的疫苗。1920~1950年,已经开发出多种病毒或细菌疫苗,如伤寒疫苗、肺结核疫苗、破伤风疫苗、霍乱疫苗、百日咳疫苗、流感疫苗和黄热病疫苗等。1951年,Earle等开发了能促进动物细胞体外培养的培养液,这标志近代动物细胞培养技术的开端。大规模培养动物细胞生产生物制品,始于20世纪50年代。最初的生产方法是采用成千上万只体积小的培养瓶。1967年, Van Wezel开发了适合贴壁细胞生长的微载体,使得动物细胞的培养能够在搅拌釜式反应器中进行,从而大大提高了生产率。微载体培养系统现已得到广泛应用,最大可达15 000L规模。

在反应器中大规模培养动物细胞,待细胞长到一定密度后,接种病毒,病毒利用培养的细胞进行复制,从而生产大量的病毒。这一突破是动物细胞技术或细胞工程的真正开始。基于动物细胞技术生产的病毒疫苗,有减毒的活病毒,或是灭活的病毒。在过去30多年的时间内,用动物细胞技术生产的疫苗挽救了几百万人和动物的生命。用类似的细胞培养技术可生产酶、细胞因子、抗体等生物制品,而先决条件是能够获得可分泌目标蛋白的细胞系。但是,在基因工程技术出现之前,细胞表达蛋白质的水平很低,因而用这种工艺生产的蛋白质制品产量低、成本高。因此,早期的动物细胞技术只用于疫苗及少量的干扰素和尿激酶的生产。

20世纪70年代两项划时代的科学发现——基因重组技术和杂交瘤技术,大大促进了动物细胞技术的进步以及在工业领域的应用,使得动物细胞大规模培养技术在生产疫苗,尤其在生产天然的用于诊断和治疗疾病的生物制品中,具有举足轻重的作用。随着基因工程技术的发展以及细胞融合技术的进一步发展,许多外源蛋白基因可转入动物细胞并能扩增数千倍,使得动物细胞能够高质量地表达有价值的蛋白质。同时,杂交瘤技术使得各种各样单抗可以通过杂交瘤细胞分泌产生。因此,利用大规模动物细胞培养技术生产各种生物制品得到了很大的发展。

用细胞培养技术生产的产品,包括治疗心肌梗死的tPA,治疗囊性纤维化的DNase,治疗贫血的EPO,治疗血友病的凝血因子VIII和IX,治疗癌症和病毒性疾病,如乙肝的干扰素,以及治疗身材矮小的人生长激素;动物细胞技术还用于生产许多诊断和治疗疾病的单抗。用于生化检测的单抗有几千种,而单抗用于人体疾病治疗是近几年来生物制药的一个重要领域,有几十种单抗药物正处于临床