

主编 张卓然

培养细胞学 与细胞培养技术

CULTURAL
CYTOLOGY
AND TECHNIQUE
FOR CELL
CULTURE

上海科学技术出版社

培养细胞学与细胞培养技术

主编 张卓然

上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

培养细胞学与细胞培养技术/张卓然主编. —上海:
上海科学技术出版社, 2004. 8
ISBN 7-5323-7450-5

I. 培... II. 张... III. ①人体细胞学:生物学
②人体—细胞培养 IV. R329.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 013210 号

世纪出版集团 出版发行
上海科学技术出版社

(上海瑞金二路 450 号 邮政编码 200020)

新华书店上海发行所经销

苏州望电印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16

印张 32.25

插页 4

字数 738 000

2004 年 8 月第 1 版

2004 年 8 月第 1 次印刷

印数 1—3 500

定价:75.00 元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题,
请向本社出版科联系调换

本书由

大连市人民政府

大连医科大学

资助出版

内容提要

本书分为 5 篇 21 章。第一篇为导论,主要介绍培养细胞生物学特性及细胞培养的基本条件、技术等。第二篇为细胞培养技术,其中包括了各种动物和人细胞的培养,以及干细胞与肿瘤细胞的培养等。第三篇为培养细胞生物学研究,包括对培养细胞的分析、亚细胞器分离和亚细胞器蛋白质、基因的显示方法等。第四篇为培养细胞信息学研究,包括细胞信息传递与调控、大分子的制备和导入细胞、蛋白质的修饰和基因表达等。第五篇是培养细胞学的应用研究,主要介绍细胞生物学基础研究,病毒学、免疫学、肿瘤学、药理学、细胞毒性与遗传毒性等方面的应用研究,以及临床应用的功能性细胞的制备与生产等。

本书对从事生物学、医学、药学等教学和科研人员,以及高等院校的学生、广大医务人员、卫生防疫人员、生物医学开发研究和生产单位的工作人员等具有很高的参考价值。

编写人员名单

主 编 张卓然

编 委 (以姓氏笔画为序)

仲来福(大连医科大学)

杨佩满(大连医科大学)

谷鸿喜(哈尔滨医科大学)

汪正清(第三军医大学)

周正任(中国医科大学)

赵玉坤(中国医科大学)

黄 敏(大连医科大学)

杨 彤(大连医科大学)

李淑媛(大连医科大学)

邹向阳(大连医科大学)

张卓然(大连医科大学)

郑丛龙(大连医科大学)

唐 立(大连医科大学)

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 丹

王 堃

文 姝

石 铭

卢永科

史丽滨

仲来福

江 芳

孙慧君

杨 彤

杨佩满

杨晓临

杨静娴

李卫平

李秋娟

李海山

李淑媛

谷鸿喜

邹向阳

汪正清

张开立

张卓然

邵淑娟

金 红

周正任

郑丛龙

孟庆丽

孟秀香

赵玉坤

赵瑾瑶

郝立宏

胡 军

姜丽萍

姚继红

袁 宏

唐 立

黄 敏

曹华军

前言

本书的特点,即最显眼之处是书名,《培养细胞学与细胞培养技术》提出了一个新概念——培养细胞学(cultural cytology),称其为新概念,就是到目前为止国内外尚未见此提法。培养细胞学是应用细胞培养技术研究离体细胞的生命现象与规律,从细胞和分子水平上揭示生物体生、老、病、死的机制和秘密,为生物学和医学的基础、应用研究服务的一门学科,属于细胞生物学的一个分支。

从细胞培养技术的发展史中可以清晰看出该技术在细胞生物学的诞生与发展中所起到的重要作用。随着细胞遗传学、细胞生理学、细胞社会学和分子细胞学等分支学科的飞速发展和深入研究,再用目前体外培养的细胞去探索体内细胞的物质流、能量流和信息流等生命现象,感到目前的细胞培养技术是苍白无力的。这就要求我们必须在比较体内外细胞的特点与差异过程中进行培养技术的革新,使其从一种应用技术和工具上升为一门学科,增加其自身的内涵,并促进其发展。该学科必须在自身发展过程中去完成诸多的基础与应用研究,又在实现其研究和应用价值时去发展和完善自身。培养细胞学的出现是细胞培养技术发展的结果,也是细胞生物学发展的必然。培养细胞学是个新生事物,其轮廓还不够清晰,欠完善与成熟。这一新学科的提出,在学术界是否能达到共识与认可还不一定,但我们深信这是一次革新的尝试,信心十足。

本书分为五篇二十一章。前两篇为细胞培养导论和细胞培养技术,其内容与其他同类书籍相似,但在培养方法中包括了各种动物和人的细胞,还有干细胞与肿瘤细胞的培养等,内容详实。第三篇为培养细胞学研究,第四篇为培养细胞信息学研究,这是针对培养细胞学的自身建设提出的,但这仅仅是迈出的第一步。第五篇是培养细胞学的应用研究,包括细胞生物学基础研究,病毒学、免疫学、肿瘤学、药理学、细胞毒性与遗传毒性等方面的应用研究,以及临床应用的功能性细胞的制备与生产等,内容全面、丰富,约占全书1/3。

本书是一部师生合作的产物,是几所院校师生心血的结晶。当然,这些学生现在也都是讲师与教授了,已成为本专业的中坚与骨干,这是我的欣慰之处。

本书得到大连市人民政府和大连医科大学的资助出版,同时也得到上海科学技术出版社的大力支持与帮助,在此一并表示衷心地感谢。

由于本书涉及的专业较多,作者的学术水平和编写能力有限,工作经验不足,难免出现

文字和内容上的缺点与错误,尤其关于“培养细胞学”概念的首次推出是否合适与慎重,恳请广大同仁批评、斧正。

大连医科大学 张卓然

2004.1

本书常用缩写词表

6 - TG	6 - thioguanine	6 - 硫鸟嘌呤
8 - AG	8 - azaguanine	8 - 氮鸟嘌呤
AA	arachidonic acid	花生四烯酸
AC	adenylate cyclase	腺苷酸环化酶
ACTH	adrenocorticotropin	促肾上腺皮质激素
ADP	adenosine diphosphate	腺苷二磷酸
AET	aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide	氢溴酸氨乙基异硫脲溴
AKP	alkaline phosphatase	碱性磷酸酶
AMP	adenosine monophosphate	腺苷一磷酸
ANP	atrial natriuretic peptide	心房肽, 心钠素
AO	acridine orange	吖啶橙
APA	action potential amplitude	动作电位振幅
APD	action potential duration	动作电位时程
APK	cAMP - dependent protein kinase	cAMP 依赖的蛋白激酶
AS	adult stem cell	成体干细胞
AS	atherosclerosis	动脉粥样硬化
ATCC	American Type Culture Collection	美国模式培养物保存所
ATP	adenosine triphosphate	腺苷三磷酸
AU	absorbance	吸收值
bFGF	basic fibroblast growth factor	碱性成纤维细胞生长因子
BME	basal medium Eagle	Eagle 基本培养基
BMP	bone morphogenetic protein	骨形成蛋白
BrdU	5 - bromodeoxy uridine	5 - 溴脱氧尿苷
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
BSS	balanced salt solution	平衡盐溶液
CaBP	calcium binding protein	钙结合蛋白

CAK	CDK - activating kinase	CDK 活化激酶
CaM	calmodulin	钙调蛋白
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	环腺苷酸
CaM - PK	Ca ²⁺ /calmodulin dependent protein kinase	Ca ²⁺ /钙调蛋白依赖的蛋白激酶
CAMs	cell adhesion molecules	细胞黏附分子
caspace	cysteiny - aspartate - specific protease	半胱氨天冬氨酰蛋白酶
CAT	chloramphenicol acetyltransferase	氯霉素乙酰转移酶
C - CSF	cell colony stimulating factor	细胞集落刺激因子
CD	cluster differentiation	分化决定簇
CDC	complement - dependent cytotoxicity	补体依赖性细胞毒性
CDK	cyclin dependent kinase	周期素依赖性激酶
cDNA	complementary DNA	互补 DNA
CE	cholesteryl ester	胆固醇酯
CEE	chick embryo extract	鸡胚提取液
cfu	colony - forming units	菌/集落形成单位
CFU - E	colony forming unit - erythrocyte	红细胞集落生成单位
CFU - GEMM	colony forming unit - granulocyte, erythrocyte, monocyte, megakaryocyte	粒细胞 - 红细胞 - 单核细胞 - 巨核细胞集落形成单位
CFU - GM	colony forming unit granulocyte/macro-phage	粒细胞 - 巨噬细胞集落形成单位
CGH	comparative genomic hybridization	比较基因组杂交
cGMP	cyclic guanosine monophosphate	环鸟苷酸
Ch	cholesterol	胆固醇
CHO	Chinese hamster ovary	中国仓鼠卵巢细胞
CIS	cell immunological system	细胞免疫网络
CM	conditioned medium	条件培养液
CNTF	ciliary neurotrophic factor	睫状神经营养因子
ConA	concanavalin A	刀豆蛋白 A
CPE	cytopathic effect	细胞病变效应
cpm	counts per minute	每分钟计数
CS	calf serum	小牛血清
CSF	colony stimulating factor	集落刺激因子
CTL	cytotoxic T lymphocyte	细胞毒性 T 细胞
CTP	cytosine triphosphate	三磷酸苷
DAB	diaminobenzidine tetrahydrochloride	二氨基联苯胺
DAG	diacylglycerol	甘油二酯
DAPI	4',6 - diamidino - 2 - phenylinole	4',6 - 二氨基 - 2 - 苯基吲哚

DB - cAMP	dibutyryl cyclic AMP	双丁酰环腺苷酸
DBP	dibutylphthalate	邻苯二甲酸二丁酯
DC	dendritic cell	树突细胞
DDSA	dodeceny - succinic anhydride	十二烯基琥珀酸酐
DEPC	diethyl pyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
DHFR	dihydrofolate reductase	二氢叶酸还原酶
DIA	differentiation inhibitory activity	分化抑制因子
DMEM	Dulbecco's modified Eagle medium	Dulbecco 改良的 Eagle 培养基
DMP - 30	2,4,6 - tri - (dimethyl aminomethyl) - phenol	2,4,6 - 三(二甲氨基甲基)苯酚
DMSO	dimethyl sulfoxide	二甲亚砜
DNase	deoxyribonuclease	DNA 酶
dNTP	deoxynucleoside triphosphate	三磷酸脱氧核苷
DRG	dorsal root ganglia	脊神经节
dTNP	dithiobisnitrobenzoic acid	二硫二硝基苯甲酸
DTT	dithiothreitol	二硫苏糖醇
EA	early antigen	早期抗原
ECGF	endothelial cell growth factor	内皮细胞生长因子
EDRF	endothelium - derived relaxing factor	血管内皮舒张因子
EDTA - 2Na	disodium edetate	依地酸二钠
EF	enrichment factor	富集系数
EG	embryonic germ cell	胚胎生殖干细胞
EGF	epidermic growth factor	表皮生长因子
ELISA	enzyme - linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附试验
EPO	erythropoietin	红细胞生成素
ER	endoplasmic reticulum	内质网
ERK	extracellular - signal regulated kinase	细胞外信号调节激酶
ES	embryonic stem cell	胚胎干细胞
FAV	fibronectin - albumin - vitrogen	纤维连接蛋白 - 白蛋白 - 晶体 类胶原
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
FCM	flow - cytometer	流式细胞仪
FCM	flow cytometry	流式细胞术
FGF	fibroblast growth factor	成纤维细胞生长因子
FISH	fluorescence in situ hybridization	荧光原位杂交
FITC	fluorescein isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
FN	fibronectin	纤维连接蛋白
FudR	5 - fluorouridine deoxyribose	5 - 氟脱氧尿苷

G 6 PD	glucose - 6 - phosphate dehydrogenase	葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶
GC	guanylate cyclase	鸟苷酸环化酶
G - CSF	granulocyte colony stimulating factor	粒细胞集落刺激因子
GDP	guanosine diphosphate	鸟苷二磷酸
GFAP	glial fibrillary acidic protein	胶质细胞原纤维酸性蛋白
GM - CSF	granulocyte/macrophage colony - stimulating factor	粒细胞 - 巨噬细胞集落刺激因子
GPDH	glycerol - 3 - phosphate dehydrogenase	甘油 - 3 - 磷酸脱氢酶
GPK	cGMP - dependent protein kinase	cGMP 依赖性蛋白激酶
GSC	germ stem cell	胚胎生殖干细胞
GSH	glutathione	还原型谷胱甘肽
GST	glutathion - S - transferase	谷胱甘肽 S 转移酶
GTP	guanosine triphosphate	鸟苷三磷酸
HAPRT	hypoxanthine adenine phosphoribosyl transferase	次黄嘌呤 - 腺嘌呤磷酸核糖转移酶
HBSS	Hanks balanced salt solution	Hanks 平衡盐溶液
HCG	human chorionic gonadotrophin	人绒毛膜促性腺激素
HEDTA	2 - hydroxyethyl ethylenediamine triacetic acid	2 - 羟乙基乙二胺三乙酸
HEPES	N - (2 - hydroxyethyl) piperazine - N' - (2 - ethanesulfonic acid)	N - 2 - 羟乙基哌嗪 - N' - 2 - 乙磺酸
HGF	hepatocyte growth factor	肝细胞生长因子
HGPRT	hypoxanthine guanine - phosphoribosyl transferase	次黄嘌呤 - 鸟嘌呤磷酸核糖转移酶
HLA	human leukocyte antigen	人类白细胞抗原
HRE	hormone response element	激素反应元件
HRP	horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
HS	horse serum	马血清
HSC	hematopoietic stem cell	造血干细胞
HSV	herpes simplex virus	单纯疱疹病毒
IBMX	isobutyl methyl xanthine	异丁甲基黄嘌呤
ICM	inner cell mass	内细胞团
IF	immunofluorescence	免疫荧光
IFN	interferon	干扰素
IL	interleukins	白细胞介素
IMDM	Iscove's modified Dulbecco's medium	Iscove 改进的 Dulbecco 培养基 (IMDM 培养基)
IP3	inositol triphosphate	三磷酸肌醇

IPSP	inhibitory postsynaptic potential	抑制性突触后电位
IR	insulin receptor	胰岛素受体
IRS	insulin receptor substrate	胰岛素受体基质
JAK	Janus kinase	Janus 激酶
LAK	lympholine - activated killer	淋巴因子激活的杀伤
LD	Lactate dehydrogenase	乳酸脱氢酶
LD	limiting dilution	有限稀释法
LDL	low density lipoprotein	低密度脂蛋白
LGL	large granular lymphocyte	大颗粒淋巴细胞
LH	lactalbumin hydrolysate	水解乳蛋白
LH	luteinizing hormone	促黄体生成素
LIF	leukemia inhibitory factor	白血病抑制因子
LPA	lysophosphatidic acid	溶血磷脂酸
LPS	lipopolysaccharide	脂多糖
LT	leukotriene	白三烯
MAP	microtubule - associated protein	微管相关蛋白
MAPK	mitogen - activated protein kinase	促分裂原活化蛋白激酶
MCA	3 - methylcholanthrene	3 - 甲基胆蒎
McAb	monoclonal antibody	单克隆抗体
MCM	minichromosome maintenance protein	微型染色体维持蛋白
M - CSF	macrophage - colony stimulating factor	巨噬细胞集落刺激因子
MD	malate dehydrogenase	苹果酸脱氢酶
MDR	multidrug resistance	多药耐药
MDSC	marrow - derived stromal cell	骨髓基质细胞
MEF	mouse embryonic fibroblast	鼠胚胎成纤维细胞
MEM	minimum essential medium	极限必需培养基
MI	mitotic index	有丝分裂指数
MLC	mixed lymphocyte culture	混合淋巴细胞培养
MLCK	myosin light chain kinase	肌球蛋白轻链激酶
MNA	methyl nadic anhydride	甲基内次甲基四氢苯二甲酸酐
MNNG	N - methyl - N - nitro - N - nitrosoguanidine	N - 甲基 - N - 硝基 - N - 亚硝基胍
MSC	mesenchymal stem cell	间充质干细胞
MTP	microtiter plate	微量板
MTT	methylthiazoletrazolium	四噻唑蓝
NBT	nitroblue tetrazolium	四唑氮蓝
NES	nuclear export signal	核输出信号
NGF	nerve growth factor	神经生长因子

NIH	National Institutes of Health	(美国)国家卫生研究院
NK	natural killer	自然杀伤
NLS	nuclear localization signal	核定位信号
NO	nitric oxide	一氧化氮
NOS	nitric oxide synthase	一氧化氮合酶
NPCs	nuclear pore complexes	核孔复合物
NT	neutralization test	中和试验
NTF	neurotrophic factor	神经营养因子
oxLDL	oxide low density lipoprotein	氧化低密度脂蛋白
PA	phosphatidic acid	磷脂酸
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PAI	plasminogen activator inhibitor	纤溶酶原激活物抑制物
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	外周血单个核细胞
PBS	phosphate - buffer saline	磷酸盐缓冲液
PC	phosphatidylcholine	磷脂酰胆碱
PCD	programmed cell death	程序性细胞死亡
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PDGF	platelet - derived growth factor	血小板衍生生长因子
PDE	phosphodiesterase	磷酸二酯酶
PDR	primary drug resistance	原药耐药
PE	phycoerythrin	藻红蛋白
PEG	polyethylene glycol	聚乙二醇
PFU	plaque - forming unit	蚀(噬)斑形成单位
PG	prostaglandin	前列腺素
PGC	primordial germ cell	原始生殖细胞
PHA	phytohemagglutinin	植物血凝素
P - HBA	P - hydroxybenzaldehyde	对羟苯甲醛
P - HPP	P - hydroxyphenyl pyruvate	对羟苯丙酮酸
PI	phosphatidylinositol	磷脂酰肌醇
PI	pepidium iodide	碘化丙锭
PI - 3K	phosphatidylinositol 3 - kinase	磷脂酰肌醇3 - 激酶
PIP	phosphatidylinositol - 4 - phosphate [Ptd(4)] InsP	磷脂酰肌醇4 - 磷酸
PK	protein kinase	蛋白激酶
PKC	protein kinase C	蛋白激酶 C
PLA	phospholipase A	磷脂酶 A
PLC	phospholipase C	磷脂酶 C
PLD	phospholipase D	磷脂酶 D

PLL	poly - lysine	多聚赖氨酸
PLP	pyridoxal - 5' - phosphate	磷酸吡哆醛
PMEF	primary embryonic fibroblast	原代鼠胚胎成纤维细胞
PMSF	phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin	孕马血清促性腺激素
POPOP	1,4 - bis - (5 - phenyl - oxazol - 2 - yl) - benzene	1,4 - 双(5 - 苯基噁唑基 - 2 -)苯
PP	phosphatase	磷酸(酯)酶
PPO	2,5 - diphenyl oxazole	二苯基噁唑
PRA	population reactive antibody	群体反应性抗体
PSP	protein serine phosphatase	蛋白丝氨酸磷酸酶
PTK	protein tyrosine kinase	酪氨酸蛋白激酶
PTP	protein tyrosine phosphatase	酪氨酸蛋白磷酸酶
PWM	pokeweed mitogen	美洲商陆
RA	retinoic acid	维 A 酸
RF	rat factor	大鼠因子
RGC	receptor guanylate cyclase	鸟苷酸环化酶受体
RNase	ribonuclease	核糖核酸酶, RNA 酶
RNP	ribonucleo protein	核糖核蛋白
RPTK	receptor protein tyrosine kinase	酪氨酸蛋白激酶受体
RPTP	receptor protein tyrosine phosphatase	酪氨酸蛋白磷酸酯酶受体
RSTPK	receptor serine/threonine protein kinase	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶受体
RT - PCR	reverse transcription following by PCR	反转录聚合酶链反应
SCE	sister chromatic exchange	姊妹染色单体交换
SCF	stem cell factor	干细胞因子
SCGE	single cellgel electrophoresis assay	单细胞凝胶电泳实验
SCSA	specific cell surface antigen	特异性细胞表面抗原
SDS	sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
SEAP	secretory alkaline phosphatase	分泌型碱性磷酸酶
SFM	serum free medium	无血清培养液
SG	sympathetic ganglia	交感神经节
SH	Src homology domain	Src 同源性结构域
SI	stimulating index	刺激指数
SPA	staphylococcal protein A	葡萄球菌 A 蛋白
SR	sarcoplasmic reticulum	肌质网
STAT	signal transducer and activator of transcription	信息转导子和转导活化因子
STPK	serine/threonine protein kinase	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶

SVz	subvertricular zone	下脑室区
TBARS	thiobarbituric acid reactive substance	硫代巴比妥酸反应物质
Taq DNA	DNA from <i>Thermus aquaticus</i>	来自嗜热细菌的 DNA
TAT	tyrosine aminotransferase	酪氨酸转氨酶
TBE	Tris - borate/EDTA buffer	Tris - 硼酸/EDTA 缓冲液
TBS	Tris - buffered saline	Tris - 缓冲盐溶液
TC	total cholesterol	总胆固醇
TCA	trichloroacetic acid	三氯乙酸
TCID ₅₀	50% tissue culture infectious dose	50% 组织培养感染量
TdR	deoxythymidine	脱氧胸苷
TE	Tris/EDTA buffer	Tris/EDTA 缓冲液
TFR	transferrin receptor	转铁蛋白受体
TGF	transforming growth factor	转化生长因子
TIL	tumor infiltrating lymphocyte	肿瘤浸润淋巴细胞
TK	thymidine kinase	胸苷激酶
TM	thrombomodulin	血栓调节蛋白
TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
t - PA	tissue - type plasminogen activator	组织型纤溶酶原激活物
TPO	thrombopoietin	血小板生成素
TRAP	telomeric repeat amplification protocol	端粒重复序列扩增方案
TX	thromboxane	血栓素
UDS	unscheduled DNA synthesis	非程序性 DNA 合成
UE	uterine epithelial cell	子宫上皮细胞
u - PA	urokinase - type plasminogen activator	尿激酶型纤溶酶原激活物
UTP	uridine (RNA) triphosphate	三磷尿苷
VCA	viral capsid antigen	病毒壳抗原
VOCs	voltage - operated calcium channels	电压依赖性钙通道
VSMC	vascular smooth muscle cell	血管平滑肌细胞
vWF	von Willebrand factor	血管性血友病因子
YAC	yeast artificial chromosome	酵母人工染色体

目 录

绪 言

一、细胞与细胞培养	1
二、细胞培养的发展史	2
三、细胞生物学与培养细胞学	3
四、培养细胞学的研究内容	4
五、培养细胞学的常用术语	6

第一篇 导 论

第一章 培养细胞生物学	9
第一节 组织来源与培养	9
一、胚胎或成体组织来源	10
二、正常或肿瘤组织来源	10
三、培养细胞的生长与增殖	11
第二节 器官培养物的分化与发育	13
一、培养环境对细胞分化的作用	14
二、组织细胞间的相互作用	15
三、诱导物与肿瘤细胞间的相互作用	15
四、病毒、致癌剂和分化	16
第三节 培养细胞的遗传学特征	16
一、培养细胞的遗传学	16
二、细胞遗传学检测技术及应用	17
第四节 细胞系或细胞株的建立	18
一、基本概念	18
二、建立细胞系(株)的鉴定要求	19