科爱传播

中文版

实验室解决方案

易于使用

值得信赖

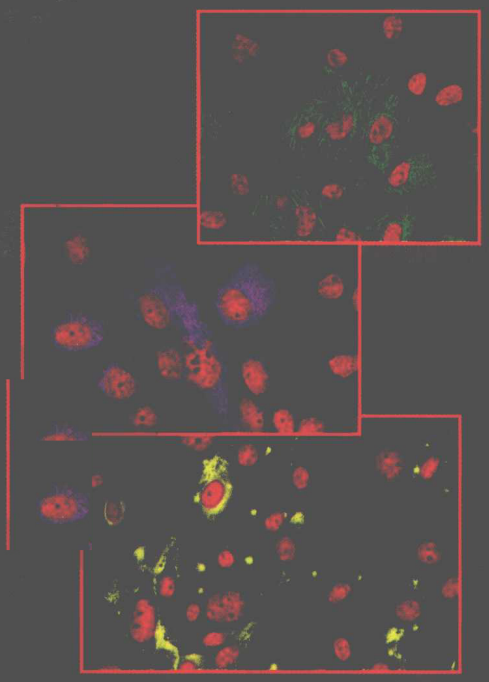
专业权威

精编干细胞实验方法

Essential Stem Cell Methods

〔美〕罗伯特·兰扎　伊琳娜·克利曼斯卡娅/编

刘清华　等/译



ELSEVIER

原版引进

科学出版社

精准干细胞实验方法

Essential Stem Cell Methods

精编干细胞实验方法

〔美〕罗伯特·兰扎
伊琳娜·克利曼斯卡娅 编

刘清华 等 译

科学出版社

北京

图字：01-2009-7753 号

This is a translated version of
Essential Stem Cell Methods
Robert Lanza and Irina Klimanskaya.

ISBN: 978-0-12-374741-9

图书在版编目(CIP)数据

精编干细胞实验方法/（美）兰扎等编；刘清华等译. —北京：科学出版社，2011
书名原文：Essential Stem Cell Methods
ISBN 978-7-03-030182-6

Ⅰ.①精… Ⅱ.①兰…②刘… Ⅲ.①干细胞-实验方法 Ⅳ.Q24-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2011）第 017681 号

责任编辑：孙红梅 贾明月 刘 晶/责任校对：林青梅
责任印制：钱玉芬/封面设计：耕者设计工作室

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

*

2011 年 3 月第 一 版 开本：787×1092 1/16
2011 年 3 月第一次印刷 印张：31 1/4
印数：1—2 500 字数：740 000

定价：128.00 元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

著者名单

Hidenori Akutsu Department of Reproductive Biology, National Research Institute for Child Health and Development, Setagaya, Tokyo 157-8535, Japan

Michal Amit Department of Obstetrics and Gynecology, Rambam Medical Center, Haifa, and The Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel

Konstantinos Anastassiadis Genomics, Technische Universitaet Dresden, BioInnovationZentrum, Am Tatzberg 47, 01307 Dresden, Germany

Anthony Atala Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094, USA

Alex Benchoua INSERM/UEVE U861861, ISTEM/AFM, 5 Rue H. Desbrueres, 91030 Evry, France, and Centre Development in Stem Cell Biology, Institute for Stem Cell Research, School of Biological Sciences, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3JQ, United Kingdom

Przemyslav Blyszczuk Present Address: University Hospital, Experimental Medical Care, CH-4031 Basel, Switzerland

Ralph L. Brinster Department of Animal Biology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104

Hal E. Broxmeyer Departments of Microbiology and Immunology, Medicine, The Walther Oncology Center, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202, and the Walther Cancer Institute, Indianapolis, Indiana 46206

Joseph A. Brzezinski IV Department of Biological Structure, University of Washington, Seattle, Washington

Howard Y. Chang Program in Epithelial Biology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California

Xin Chen Department of Biopharmaceutical Sciences, University of California, San Francisco

Shahar Cohen Stem Cell Center, Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion—Israel Institute of Technology, Haifa, Israel 31096, Israel

Scott Cooper Departments of Microbiology and Immunology, The Walther Oncology Center, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202, and The Walther Cancer Institute, Indianapolis, Indiana 46206

Chad A. Cowan MGH Center for Regenerative Medicine, Cardiovascular Research Cen-

ter, and Harvard Stem Cell Institute, Richard B. Simches Research Center, Boston, Massachusetts

George Q. Daley Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School; Division of Pediatric Hematology/Oncology, Children's Hospital Boston and Dana Farber Cancer Institute; Division of Hematology, Brigham and Women's Hospital; Harvard Stem Cell Institute, Boston, Massachusetts

Paolo DeCoppi Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094

Dawn M. Delo Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094

Yuval, Dor Department of Cellular Biochemistry and Human Genetics, The Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem 91120, Israel

Ryan R. Driskell Department of Anatomy and Cell Biology, College of Medicine, The University of Iowa, Iowa City, Iowa 52242

Daniel Eberli Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094, USA

John F. Engelhardt Department of Anatomy and Cell Biology, College of Medicine, The University of Iowa, Iowa City, Iowa 52242

Andy J. Fischer Department of Neuroscience, The Ohio State University, Columbus, Ohio

John D. Gearhart Department of Obstetrics and Gynecology, Institute for Cell Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland

M. A. Goodell Department of Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, and Department of Immunology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, and Stem Cells and Regenerative Medicine Center, Baylor College of Medicine, Houston, Texas

Stan Gronthos Mesenchymal Stem Cell Group, Division of Haematology, Institute of Medical and Veterinary Science, Adelaide, South Australia, Australia

Michal Gropp The Hadassah Human Embryonic Stem Cell Research Center, The Goldyne Savad Institute of Gene Therapy and the Department of Gynecology, Hadassah University Medical Center, Jerusalem 91120, Israel

X.-M. Guo Institute of Basic Medical Sciences, Tissue Engineering Research Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, People's Republic of China

David A. Ingram Department of Pediatrics, and The Wells Center for Pediatric Research, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

Joseph Itskovitz-Eldor Department of Obstetrics and Gynecology, Rambam Medical Center, Haifa, Israel 31096, Israel, and Stem Cell Center, Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion—Israel Institute of Technology, Haifa, Israel 31096, Israel

Gabriela Kania Present Address: University Hospital, Experimental Medical Care, CH-4031 Basel, Switzerland

Candace L. Kerr Department of Obstetrics and Gynecology, Institute for Cell Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland

Gabsang Lee Moore Laboratory, Cell Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, 10021

Lucy Leshanski Stem Cell Center, Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion—Israel Institute of Technology, Haifa, Israel 31096, Israel

He Liu Peking University School of Stomatology, Beijing, China

Xiaoming Liu Department of Anatomy and Cell Biology, College of Medicine, The University of Iowa, Iowa City, Iowa 52242

K. K. Lin Department of Immunology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, and Stem Cells and Regenerative Medicine Center, Baylor College of Medicine, Houston, Texas

Sally Lowell Centre Development in Stem Cell Biology, Institute for Stem Cell Research, School of Biological Sciences, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3JQ, United Kingdom

Jeremy J. Mao Department of Biomedical Engineering, College of Dental Medicine, Columbia University, Fu

Nicholas W. Marion Foundation School of Engineering and Applied Sciences, New York

Laura E. Mead Department of Pediatrics, and The Wells Center for Pediatric Research, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

Harald von Melchner Department of Molecular Hematology, University of Frankfurt Medical School, Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt am Main, Germany

Douglas Melton Department of Molecular and Cellular Biology, Howard Hughes Medical Institute, Harvard University, Cambridge, Massachusetts

Amparo Mercader Instituto Universitario—Instituto Valenciano de Infertilidad, Plaza de la Policía local, 3. 46015, Valencia, Spain

Anna Milanesi Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094

Malcolm A. S. Moore Moore Laboratory, Cell Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, 10021

Andras Nagy Mount Sinai Hospital, Samuel Lunenfeld Research Institute, Toronto, M5G 3H7, Canada, and Department of Medical Genetics and Microbiology, Universi-

ty of Toronto, Canada

Jon M. Oatley Department of Animal Biology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104

Christie Orschell Department of Medicine, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

P. Artur Plett Department of Medicine, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

Steven M. Pollard Wellcome Trust Centre for Stem Cell Biology, University of Cambridge, Cambridge CB2 1QR, United Kingdom

Prithi Rajan Program in Stem Cells and Regeneration, Center for Neuroscience and Aging, Burnham Institute for Medical Research, La Jolla, California 92037

Thomas A. Reh Department of Biological Structure, University of Washington, Seattle, Washington

Benjamin Reubinoff The Hadassah Human Embryonic Stem Cell Research Center, The Goldyne Savad Institute of Gene Therapy, and the Department of Gynecology Hadassah University Medical Center, Jerusalem 91120, Israel

Brent A. Reynolds Queensland Brain Institute, University of Queensland, Brisbane 4072, Australia

Rodney L. Rietze Queensland Brain Institute, University of Queensland, Brisbane 4072, Australia

Seth J. Salpeter Department of Cellular Biochemistry and Human Genetics, The Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem 91120, Israel

Frank Schnügen Department of Molecular Hematology, University of Frankfurt Medical School, Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt am Main, Germany

Insa S. Schroeder *In Vitro* Differentiation Group, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

Michael J. Shamblott Department of Obstetrics and Gynecology, Institute for Cell Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland

Songtao Shi Salivary Gland Disease Center and the Molecular Laboratory for Gene Therapy Capital Medical University School of Stomatology, Beijing, China

Jae-Hung Shieh Moore Laboratory, Cell Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, 10021

Minhaj Siddiqui Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157-1094

Carlos Simón Centro de Investigación Príncipe Felipe, Avda. Autopista del Saler, 16-3. 46013 Valencia, Spain, and Fundación IVI. Instituto Universitario—Instituto, Valenciano de Infertilidad Guadassuar, 1 bajo. 46015, Valencia, Spain

Evan Snyder Program in Stem Cells and Regeneration, Center for Neuroscience and Aging, Burnham Institute for Medical Research, La Jolla, California 92037

Edward Srour Department of Medicine, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

A. Francis Stewart Genomics, Technische Universitaet Dresden, BioInnovationZentrum, Am Tatzberg 47, 01307 Dresden, Germany

Sabine Sulzbacher *In Vitro* Differentiation Group, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

James A. Thomson Wisconsin National Primate Research Center, Genome Center of Wisconsin and Department of Anatomy, Medical School, University of Wisconsin, Madison

X. Cindy Tian Center for Regenerative Biology, University of Connecticut, Unit 4243, Storrs, CT 06269-4243

Thuy T. Truong *In Vitro* Differentiation Group, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

Diana Valbuena Centro de Investigación Príncipe Felipe, Avda. Autopista del Saler, 16-3. 46013, Valencia, Spain

Kristina Vintersten Mount Sinai Hospital, Samuel Lunenfeld Research Institute, Toronto, M5G 3H7, Canada

C.-Y. Wang Institute of Basic Medical Sciences, Tissue Engineering Research Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, People's Republic of China

Anna M. Wobus *In Vitro* Differentiation Group, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

X. Yang Center for Regenerative Biology, University of Connecticut, Unit 4243, Storrs, CT 06269-4243

Chunhui Xu Geron Corporation, 230 Constitution Drive, Menlo Park, California

Mervin C. Yoder Department of Pediatrics, and The Wells Center for Pediatric Research, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana 46202

Holm Zaehres Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School; Division of Pediatric Hematology/Oncology, Children's Hospital Boston and Dana Farber Cancer Institute; Division of Hematology, Brigham and Women's Hospital; Harvard Stem Cell Institute, Boston, Massachusetts

序

《精编干细胞实验方法》（*Essential Stem Cell Methods*）是2006年出版的《酶学方法》（*Methods in Enzymology*）内有关干细胞的三卷系列——《胚胎干细胞》（*Embryonic Stem Cells*）、《成体干细胞》（*Adult Stem Cells*）和《干细胞研究工具与实验方法》（*Stem Cell Tools and Other Experimental Protocols*）的删节和修订本。干细胞因其能够分化形成机体各种组织的独特能力而受到科学家和临床医生的高度关注；它们除了可以用作再生医学和药物发现的潜在细胞源外，还能作为脊椎动物发育的极好模型。

维持干细胞在培养物中的生长，以及按照需要诱导它们分化，都要求掌握比基础细胞培养技术更为特殊的技巧和知识。我们尝试将干细胞领域中包括“常规”和新法在内的最有效、最新型的技术手段汇编起来。邀请具有实际操作经验的世界级顶尖科学家撰写其熟悉的，甚至是由他们自己建立的实验方法，使本书包含了大量的技术秘诀，从干细胞衍化到它们的分化、分化方法的进展以及干细胞衍生物的维持培养等。维持培养中包含了所有三个胚层的衍生物，如神经谱系的细胞、心肌细胞、造血细胞、精原细胞、肺细胞以及胰岛素-生成细胞。

书中各章都以该领域的简要综述开篇，后面接着易于学习的分步骤操作规程，以确保哪怕毫无经验的研究人员也能在自己的实验室里成功建立方法。涉及的实验方法包括基因表达谱、RNAi和基因递送、为获得人类主要干细胞而进行的胚胎培养、干细胞的特征描述和纯化，以及以干细胞衍生物为材料的组织工程学等。

我们想要感谢与我们分享宝贵经验的所有著者，感谢他们通过全面的和易于学习的分步骤操作规程，使读者能够应对干细胞分离和分化方面的挑战。

伊琳娜·克利曼斯卡娅，Ph. D.

罗伯特·兰扎，M. D.

（刘清华　译）

目　录

第一部分　器官来源的干细胞

第 1 章　神经干细胞的分离和特征描述 …… 3
1. 引言 …… 3
2. 试剂和仪器 …… 5
3. 方法 …… 8
参考文献 …… 17
第 2 章　神经干细胞及其操作 …… 18
1. 引言 …… 19
2. 成体干细胞的体内小生境 …… 20
3. 神经干细胞的体外操作 …… 21
4. 结论和预测 …… 30
5. 神经干细胞培养规程和生物学特性 …… 31
6. 啮齿类/鼠科动物神经干细胞培养 …… 32
7. 人神经干细胞培养 …… 34
8. ICC 标志定义干细胞和分化产物 …… 35
参考文献 …… 36
第 3 章　视网膜干细胞 …… 42
1. 引言 …… 43
2. 材料和方法 …… 48
3. 总结 …… 54
参考文献 …… 54
第 4 章　牙髓干细胞 …… 58
1. 引言 …… 58
2. 牙髓干细胞的鉴定 …… 60
3. 牙髓干细胞的分离 …… 61
4. 牙髓干细胞的分化 …… 62
参考文献 …… 65
第 5 章　小鼠精原干细胞的培养和移植 …… 69
1. 引言 …… 70
2. 精原干细胞（SSC） …… 70
3. SSC 移植 …… 72
4. SSC 培养 …… 77

5. 用 siRNA 转染培养的小鼠 SSC …… 83
6. 结果 …… 85
参考文献 …… 86
第 6 章 成体肺中的干细胞 …… 90
1. 引言 …… 91
2. 成体肺的解剖学和细胞多样性 …… 92
3. 成体肺的干细胞表型和小生境 …… 93
4. 体内肺损伤模型 …… 97
5. 用气管上皮移植片回植模型研究干细胞在近端气道内的增殖 …… 101
6. 利用体外克隆形成率对导气部上皮的干/祖细胞进行特征描述 …… 108
7. 气道 SMG 干/祖细胞的研究模型 …… 111
参考文献 …… 113
第 7 章 胰腺细胞及其祖细胞 …… 118
1. 引言 …… 119
2. 胰腺发育 …… 119
3. 出生后的 β 细胞起源 …… 121
4. 已经存在的 β 细胞 …… 121
5. 导管 …… 122
6. 腺泡 …… 123
7. 骨髓细胞 …… 123
8. 成体干细胞 …… 124
9. β 细胞分化 …… 124
10. 总结和展望 …… 124
11. 方法学：小鼠谱系追踪实验的设计 …… 125
参考文献 …… 127
第 8 章 来自生殖细胞的亚全能干细胞：衍化生成和维持培养 …… 130
1. 引言 …… 131
2. 生殖细胞的发育 …… 132
3. EGC 的衍化生成 …… 133
4. EG 培养物的特征描述 …… 139
5. EB 形成和分析 …… 144
6. EB 源细胞形成 …… 144
参考文献 …… 147
第 9 章 来自羊水和胎盘的亚全能干细胞 …… 151
1. 引言 …… 152
2. 发育生物学中的羊水和胎盘 …… 152
3. 一种新思路：将羊水和胎盘细胞用于治疗 …… 153
4. 祖细胞的分离和特征描述 …… 153

5. 羊水和胎盘源祖细胞的分化 …… 154
6. 结论 …… 157
参考文献 …… 158
第 10 章　脐带血中的造血干细胞和祖细胞 …… 160
1. 引言：脐带血移植 …… 161
2. 人类脐带血中造血祖细胞和干细胞以及 EPC 的评估方法 …… 167
3. 上述方法的应用 …… 179
参考文献 …… 181
第 11 章　骨髓造血干细胞：纯化与功能分析 …… 188
1. 引言 …… 188
2. 其他的 HSC 表面标志物：Tie-2、Endoglin 和 SLAM 家族受体 …… 189
3. HSC 与 SP^{KLS}的荧光染料外向通量 …… 190
4. 不同纯化方法所得 HSC 的特性 …… 192
5. 通过 Hoechst 33342 染色分选 HSC 的方法（SP 群） …… 192
参考文献 …… 196
第 12 章　干细胞及其分化的微阵列分析 …… 198
1. 引言 …… 199
2. 微阵列技术简介 …… 199
3. 实验设计 …… 201
4. 结果验证 …… 215
5. 干细胞及其分化微阵列的应用实例 …… 215
6. 鉴定“干性” …… 215
7. 分化 …… 216
8. 干细胞小生境 …… 216
9. 未来研究的方向 …… 218
参考文献 …… 218
第 13 章　利用成体干细胞的组织工程学 …… 223
1. 引言 …… 223
2. 生物材料 …… 225
3. 血管生成因子 …… 227
4. 用于组织工程的成体干细胞 …… 228
5. 结论 …… 232
参考文献 …… 232
第 14 章　利用间充质干细胞的组织工程学 …… 236
1. MSC 的定义和治疗潜力 …… 237
2. MSC 的分离和扩增 …… 238
3. MSC 的多谱系分化 …… 241
4. 基于 MSC 的临床移植疗法 …… 247

5. 结论 …… 249
参考文献 …… 250

第二部分 胚胎干细胞及其衍生物

第 15 章 小鼠胚胎干细胞 …… 257
1. 历史回顾 …… 258
2. 影响小鼠 ES 细胞建系效率的因素 …… 259
3. 影响小鼠 ES 细胞参与形成嵌合胚胎的因素 …… 260
4. 小鼠 ES 细胞建系期间的关键事件 …… 261
5. ES 细胞系的冻存 …… 264
6. 特征描述 …… 264
7. 操作规程 …… 265
参考文献 …… 270
第 16 章 人类胚胎培养物 …… 272
1. 引言 …… 273
2. 人类胚胎发育 …… 273
3. 胚胎活组织检查 …… 275
4. 人类胚胎培养物 …… 277
5. 结果 …… 281
参考文献 …… 283
第 17 章 人类胚胎干细胞：衍化生成和维持培养 …… 286
1. 引言 …… 287
2. hES 细胞系的衍化生成 …… 287
3. hES 细胞的维持培养 …… 291
4. 结论 …… 294
参考文献 …… 295
第 18 章 人类胚胎干细胞：特征描述和评估 …… 298
1. 引言 …… 298
2. 未分化 hESC 的特征描述 …… 299
3. 结论 …… 312
参考文献 …… 313
第 19 章 人类胚胎干细胞：无饲养层培养 …… 318
1. 引言 …… 318
2. hESC 无饲养层培养法 …… 322
参考文献 …… 325
第 20 章 来自胚胎干细胞的神经干细胞、神经元和神经胶质细胞 …… 328
1. 引言 …… 329
2. 操作方法 …… 329

3. 小结 …… 341
4. 培养基和添加剂 …… 341
参考文献 …… 343
第 21 章　从胚胎干细胞到造血细胞的分化 …… 345
1. 引言 …… 346
2. 方法 …… 354
参考文献 …… 368
第 22 章　从胚胎干细胞到心肌细胞的分化 …… 374
1. 引言 …… 374
2. 拟胚体形成 …… 375
3. 心肌细胞分化 …… 383
4. 心肌细胞富集 …… 384
5. 结论 …… 385
参考文献 …… 386
第 23 章　从小鼠胚胎干细胞到胰岛素-生成细胞的分化 …… 388
1. 引言 …… 389
2. 材料和方法 …… 394
3. 结果 …… 401
4. 小结 …… 403
参考文献 …… 404
第 24 章　胚胎干细胞中的转基因表达和 RNA 干扰 …… 408
1. 逆转录病毒表达载体和 ESC …… 408
2. RNA 干扰和 ESC …… 410
3. siRNA 表达载体设计 …… 410
4. 逆转录病毒生产 …… 411
5. 逆转录病毒和慢病毒基因转移到小鼠和人 ESC 中 …… 412
6. 小鼠和人 ESC 中的转基因表达和 siRNA 表达 …… 413
7. 生物技术应用与医学应用 …… 417
参考文献 …… 418
第 25 章　人类胚胎干细胞中慢病毒载体介导的基因递送 …… 421
1. 引言 …… 422
2. 设计基于 HIV-1 的载体用于转导 hESC …… 425
3. 重组病毒颗粒的产生 …… 429
4. hESC 的转导 …… 431
5. 转导效率的测量 …… 433
6. 表达高水平转基因的转导 hESC 的富集 …… 433
7. 病毒滴度的确定 …… 435
参考文献 …… 436

第 26 章 用重组酶系统改造胚胎干细胞 …… 439
1. 引言 …… 440
2. 位点特异性重组 …… 440
3. 设计用于位点特异性重组的底物 …… 444
4. 产生条件性基因突变 …… 448
5. 重组酶介导的盒式交换 …… 453
6. 分子开关 …… 454
7. 实验方法 …… 456
参考文献 …… 464
第 27 章 利用胚胎干细胞的组织工程学 …… 470
1. 引言 …… 471
2. 以 hESC 作为用于组织工程的细胞来源时的特别考虑 …… 472
3. 特定无动物条件下培养 hESC …… 472
4. 获得所需的细胞群体 …… 472
5. 选择合适的支架 …… 473
6. 放大一个可调控的生物过程 …… 473
7. hESC 来源的结缔组织前体在组织工程的应用 …… 474
8. hESC 在 MEF 饲养层上的维持培养 …… 474
9. 收集样品分析 …… 479
参考文献 …… 482

第一部分　器官来源的干细胞