

《细胞生物学实验技术》

书籍信息

版次：1

页数：282

字数：447000

印刷时间：2012年06月01日

开本：16开

纸张：

包装：平装

是否套装：否

国际标准书号ISBN：9787030348869

内容简介

细胞生物学实验技术是生命科学工作者必备的知识和技术。《细胞生物学实验技术》编写内容由浅入深，既注重了对从事生命科学研究新手的基础实验技术培养，又介绍了近年来所发展的高新技术。每项技术都列出了基本原理、实验准备、实验步骤、结果分析、注意事项等条目，便于教学和学生自学。《细胞生物学实验技术》共分7章：第一章绪论；第二章介绍组织培养的知识与技术基础；第三章介绍细胞形态结构观察技术；第四章介绍细胞内化学组分测定分析技术；第五章介绍细胞生命现象研究技术；第六章介绍细胞工程技术；第七章介绍最常用的细胞分子生物学技术。

《细胞生物学实验技术》系统地介绍了细胞生物学实验技术体系，侧重对实验技能的培养，是一本从事生命科学研究实验技术工具书，适合高等医药院校从事生命科学研究研究生和工作者使用。

作者简介

吕冬霞、罗佳滨、侯霞、张金波

目录

前言

第一章 绪论

第二章 组织培养的知识与技术基础

第一节 组织培养的知识基础

第二节 组织培养的技术基础

第三章 细胞形态结构观察技术

第一节 光学显微镜技术

第二节 激光扫描共聚焦显微镜技术

第三节 电子显微镜技术

第四节 细胞形态结构观察样品制备技术

第四章 细胞内化学组分测定分析技术

第一节 免疫组织化学技术

第二节 放射自显影术

第三节 流式细胞术

第四节 细胞器组分的分析、分离技术

第五章 细胞生命现象的研究技术

第一节 细胞生长增殖研究技术

第二节 细胞凋亡研究技术

第三节 细胞遗传学研究技术

第四节 肿瘤细胞学研究技术

第五节 药物测试的细胞模型

第六节 膜片钳术

第六章 细胞工程技术

第一节 细胞融合技术

第二节 单克隆抗体制备技术

第三节 细胞拆合与显微操作技术

第四节 DNA转染技术

第五节 转基因动物技术

第七章 常用细胞分子生物学技术

第一节 电泳技术

第二节 细胞基因组DNA提取及目的基因鉴定分析技术

第三节 细胞总RNA提取及目的RNA鉴定分析技术

第四节 细胞总蛋白质提取及目的蛋白鉴定分析技术

第五节 生物芯片技术

在线试读部分章节

第一章 绪论

细胞是生命体的基本结构和功能单位。细胞生物学是以细胞为研究对象，从细胞整体、细胞超微结构和生物大分子水平上把细胞的形态结构与生理机能联系起来研究，把细胞的生命活动与生物体整体生命活动联系起来研究，从而揭示各种生命现象的物质本质及其规律的学科。细胞生物学是实验科学，其理论体系的发展依赖实验技术的进步。现已形成的丰富的细胞生物学实验技术体系，是生命科学工作者从事科学研究的重要工具。

一、从生命科学的发展趋势谈细胞生物学

从19世纪中叶以来，生命科学迅猛发展，呈现出以下发展趋势。

（一）由宏观向微观

光学显微镜的发明使人类观察到了生命体的基本结构单元——细胞。20世纪40年代，电子显微镜问世，对生命物质本质的研究进入细胞超微结构水平。20世纪50年代，高速离心机、电泳层析、分光光度计和分子标记等物理和化学技术方法引入生命科学研究，增强了细胞超微结构的化学组分和生物大分子的分离分析能力。20世纪70年代以来，不断发展的基因操作技术推动了对生物大分子的结构和功能研究。上述实验研究的成果提升了人类揭秘各种生命现象物质本质的能力，奠定了细胞生物学理论体系形成的基础。

（二）由分析到综合

人类对生命的认识，是一个由简单到复杂的过程。对于简单生命现象的分析研究比较容易取得成果，促进了知识的积累。而对复杂生命现象的研究，则需要综合多方面、多层

次的研究成果，经归纳、联系、推理的过程，从而揭示复杂生命现象的本质和规律。19世纪生命科学杰出的成就之一——生物进化论，是达尔文综合了当时的诸多学科领域的研究成果，包括生物分类学、比较解剖学、古生物学、胚胎学、细胞学等，科学地揭示了物种起源这一复杂生命现象的本质和规律。可以认为，细胞与分子生物学理论体系的形成是生命科学的又一重要成就。细胞生物学不是研究单一生命现象的学科，而是综合了在细胞超微结构水平和分子水平上对各种生命现象的现代研究成果而形成的理论体系，是生命科学的综合性基础学科，是进一步研究复杂生命现象，探索生命奥秘的工具学科和前沿学科。

（三）由解释生命到改造生命第一章 绪论

细胞是生命体的基本结构和功能单位。细胞生物学是以细胞为研究对象，从细胞整体、细胞超微结构和生物大分子水平上把细胞的形态结构与生理机能联系起来研究，把细胞的生命活动与生物体整体生命活动联系起来研究，从而揭示各种生命现象的物质本质及其规律的学科。细胞生物学是实验科学，其理论体系的发展依赖实验技术的进步。现已形成的丰富的细胞生物学实验技术体系，是生命科学工作者从事科学研究的重要工具。

一、从生命科学的发展趋势谈细胞生物学从19

世纪中叶以来，生命科学迅猛发展，呈现出以下发展趋势。（一）由宏观向微观
光学显微镜的发明使人类观察到了生命体的基本结构单元——细胞。20世纪40年代，电子显微镜问世，对生命物质本质的研究进入细胞超微结构水平。20世纪50年代，高速离心机、电泳层析、分光光度计和分子标记等物理和化学技术方法引入生命科学研究，增强了细胞超微结构的化学组分和生物大分子的分离分析能力。20世纪70年代以来，不断发展的基因操作技术推动了对生物大分子的结构和功能研究。上述实验研究的成果提升了人类揭秘各种生命现象物质本质的能力，奠定了细胞生物学理论体系形成的基础。（二）由分析到综合

人类对生命的认识，是一个由简单到复杂的过程。对于简单生命现象的分析研究比较容易取得成果，促进了知识的积累。而对复杂生命现象的研究，则需要综合多方面、多层次的研究成果，经归纳、联系、推理的过程，从而揭示复杂生命现象的本质和规律。19世纪生命科学杰出的成就之一——生物进化论，是达尔文综合了当时的诸多学科领域的研究成果，包括生物分类学、比较解剖学、古生物学、胚胎学、细胞学等，科学地揭示了物种起源这一复杂生命现象的本质和规律。可以认为，细胞与分子生物学理论体系的形成是生命科学的又一重要成就。细胞生物学不是研究单一生命现象的学科，而是综合了在细胞超微结构水平和分子水平上对各种生命现象的现代研究成果而形成的理论体系，是生命科学的综合性基础学科，是进一步研究复杂生命现象，探索生命奥秘的工具学科和前沿学科。（三）由解释生命到改造生命

由于现代生命科学的发展，使人类解释生命的能力大大增强。然而，人们更感兴趣于改造生命，创造超自然的生物品种以及生命现象为人类所利用。在生命科学发展中，形成了细胞工程和基因工程系列理论和技术，就其内容而言，也应属于细胞和分子生物学的组成部分。这是一个可以同生产实践产生密切联系的高科技领域，其派生的生物产业已经产生了巨大的经济效益。因此，细胞生物学是生命科学基础理论与生产实践相结合的桥梁学科。二、细胞生物学的学科地位和研究任务

细胞生物学在生命科学的各基础分支学科中发挥纽带和核心作用是很自然的，在生物界，无论是单细胞生物，还是多细胞生物体的一个细胞都表现出生命的本质属性，即是一个在一定条件下能独立生存、新陈代谢、自我调节的开放体系。生命体所表现出的一切

生命现象，如新陈代谢、生长发育、遗传变异、繁殖、应激等，都是以细胞作为基本结构和功能单位的生命活动体现。正像著名的生物学家E.B.Wison所说：“一切生物学问题的答案最终都要到细胞中去寻找。因为所有生物体都是，或曾经是一个细胞。”对细胞物质本质和细胞生命活动规律认识的发展，自然地直接推动生命科学其他分支学科的进步。

细胞生物学的研究任务主要表现为两个方面，一是为生命科学各分支学科提供理论基础，二是在应用科学方面为生产实践提供技术方法。细胞生物学基础理论研究任务：

从细胞整体、细胞超微结构和生物大分子三个水平上阐明细胞的结构基础；对细胞表现出的生理机能和生命活动进行相关化学组分定性和结构区域定位；探索细胞器之间，细胞与细胞之间，细胞与环境之间的联系、影响、物质和信息交换规律；说明细胞的生命活动与生物体整体生命活动的关系，从而揭示生物体各种生命现象的物质本质和规律。细胞生物学在应用科学研究中已发挥的主要作用：培育具有研究价值和经济价值的新物种。如通过细胞杂交技术培育杂种细胞株，通过基因工程技术培育基因重组细胞株，通过转基因技术培育转基因动物或植物。把细胞生物学研究成果应用于人类疾病的诊断和防治。如应用单克隆抗体技术已研制推广了数百种疾病的诊断试剂盒，使疾病的诊断工作简便而精确；应用组织工程技术已成功地在体外培养了组织工程皮肤、结缔组织、血管、肠管等，用于临床治疗；干细胞技术是近年来新兴的研究领域，目前已能在体外以干细胞为种子，培育人类的多种组织和器官的细胞，来代替病变或衰老的组织细胞，用于疾病的防治；应用克隆人类胚胎技术，从患者的克隆胚胎取材，用于组织器官移植，替代患者的病变组织器官，可降低免疫排斥的风险。研制生物药剂和其他生物产品。如应用细胞工程和基因工程技术已可以大量生产纯度很高的蛋白质制剂，有各种抗体、受体、生长因子、细胞因子、血液因子、激素肽、神经递质等，这些产品已商品化，广泛应用于医学诊断和治疗实践。基因组学和蛋白质组学研究的快速进展，必将促进生物制剂产业更快地发展，取得更大的经济效益。

三、细胞生物学的实验技术体系

细胞生物学的发展对实验技术的发展有很大的依赖性。细胞生物学以其丰硕的研究成果当之无愧地成为生命科学的核心基础学科和前沿学科，同时也形成了一套丰富的、有广泛应用价值的实验技术体系。细胞生物学实验技术体系可以大致归纳成以下几个方面。

（一）细胞离体培养技术

细胞生物的几乎所有组织细胞都可作为细胞离体培养的材料。针对不同的细胞培养对象，已形成了丰富多样的培养方法，积累了丰富的经验。细胞离体培养技术在生命科学基础理论研究和应用科学研究中是应用极广泛的基础技术，在分子生物学研究和细胞工程及基因工程高科技领域也是不可或缺的技术基础。

（二）细胞形态结构观察技术
细胞显微结构观察，主要体现于各种光学显微镜技术，包括复式显微镜、倒置显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜、荧光显微镜等。细胞超微结构观察主要依靠X射线衍射仪和电子显微镜技术。观察方式分为活体细胞观察、细胞固定染色观察和组织切片固定染色观察。记录观察结果可采用静态显微摄影和动态显微拍摄电影术。

（三）细胞亚显微结构和化学组分分离分析测定技术

细胞中的某些细胞器、亚细胞组分和生物大分子的分离主要靠高速离心和差速离心技术，配合相应的提取纯化方法。一些生物大分子组分，如DNA、RNA、蛋白质、酶类、脂类、糖类，可依据研究需要，选用细胞分化染色技术、免疫组织化学技术、分子标记及放射自显影技术、分光光度技术、流式细胞术等。上述技术是研究细胞的结构与功能

的关系，或判定评价细胞的功能状态的重要手段。（四）细胞各种生命现象的研究技术生物体的一切生命现象都是其物质构成的基本单元 细胞的生命活动体现。研究细胞生命活动的规律，对揭示生物体整体生命现象的物质本质和规律具有重要意义。这方面已积累了丰富的研究方法和技术，如细胞增殖和细胞周期研究技术、细胞凋亡研究技术、细胞遗传研究技术、细胞免疫研究技术、细胞信号传导研究技术、细胞代谢研究技术和肿瘤细胞研究技术等。（五）细胞工程技术

所谓细胞工程即按研究者的意愿，运用细胞生物学和分子生物学技术改造细胞的结构和性状，使之满足科学研究和生产实践的需要。如人工诱变培育突变细胞株技术；经细胞杂交，筛选杂种细胞株技术；经细胞拆合、细胞核质杂交，获得克隆动物技术；DNA 转染获得基因重组细胞株技术；转基因动物技术等。（六）细胞分子生物学技术

细胞生物学研究的深入，必然进入生物大分子水平。对基因及其产物蛋白质的功能验证，最终要到细胞中去寻找答案。细胞生物学和分子生物学的研究目标任务及方法技术自然趋于融合。这个技术领域包括： 细胞基因组DNA

提取、纯化、定量分析技术；目的基因鉴定，即探针与DNA 分子杂交技术；目的基因的克隆扩增及表达技术；基因芯片技术；目的基因结构分析技术，包括PCR、RFLP

、SSCP、AFLP 和DNA 测序等技术；基因敲除技术等。 细胞总RNA

提取、纯化、定量分析技术；目的RNA 的鉴定，即探针与RNA

分子杂交，分别有斑点印迹杂交、Northern blotting 印迹杂交和RT-PCR

技术，可定量分析目的RNA 的表达量。 细胞总蛋白质提取、纯化、定量分析技术；

目的蛋白质的鉴定，即蛋白质分子杂交，分别有免疫组织化学技术和Western blotting 杂交技术，可定量分析目的蛋白质的表达水平；目的蛋白质的结构分析技术，有氨基酸序

列测定和蛋白质结构的生物化学分析方法。（罗佳滨 吕冬霞）参考文献

鄂征．2001.组织培养和分子细胞学技术．北京：北京出版社

王培林．2005.医学细胞生物学．北京：人民卫生出版社

章静波．2002.组织和细胞培养技术．北京：人民卫生出版社第二章

组织培养的知识与技术基础第一节 组织培养的知识基础一、组织培养的概念及技术评价组织培养（tissue culture）指的是从体内取出组织，在体外模拟体内生理环境，在无菌、适当温度和一定营养条件下，使之生存和生长并维持其结构和功能的方法。细胞培养（cell culture）用的也是同样的方法，培养物是单个细胞或细胞群。在培养组织过程中，现代的培养技术尚不能在体外维持组织的结构和机能长期不变，因此在进行培养时，不论培养物是组织或细胞都要生活在人工环境中。生存环境的改变，细胞的移动（运动）、培养时间过长特别是反复传代，很容易导致细胞发生变动或出现单一化现象，即趋向于变成单一类型细胞，最终也变成了细胞培养。另外所谓细胞培养，也并不意味细胞彼此是独立的。细胞在培养中的生命活动和在体内时一样，仍然是相互依存的，呈现着一定“组织”特性。所以，组织培养和细胞培养并无严格区别。因此在本书的叙述中，这两个词将作为同义语使用。所谓器官培养（organ culture），指的是应用与组织培养相似的条件，培养的是器官的原基、器官的一部分或整个器官，使之在体外生存、生长和保持一定功能的方法。以上三个层次的培养，又可统称之为体外培养（in vitro）。

组织培养不仅是一种技术，也是一门科学。从广义上说组织培养分为动物组织培养和植物组织培养两大类，本书主要叙述动物特别是人体组织培养。被用于组织培养的细胞或组织是非常好的实验对象。组织培养在现代医学和生物科学研究中应用极为广泛，这与其有一系列优点是分不开的。（1）能长时间直接观察活细胞的形态结构和生命活动，

可用于细胞学、遗传学、免疫学、实验医学和肿瘤学等多种学科的研究工作。(2) 便于使用摄影、摄电影和闭路电视等方法进行记录，能直接观察细胞变化。(3) 可供研究的细胞种类极为广泛，从低等生物到高等动物以及人类、从胚胎到成体、从正常组织到肿瘤细胞，皆可用于培养。(4) 便于使用各种不同的技术方法，如相差显微镜、荧光显微镜、电子显微镜、组织化学、核素标记等方法观察和研究细胞。(5) 培养细胞携带有与体内细胞同等的基因组(genome)，也是分子生物学和基因工程学的研究对象；细胞培养技术已是分子生物学和基因工程的重要组成部分。(6) 易于使用物理、化学和生物因素等进行实验研究。(7) 可同时提供大量生物性状相似的实验对象，耗资少，比较经济。(8) 已成为生物制品、单克隆抗体生产和基因工程制品等的生产手段。

组织培养作为一种技术仍有其局限性，主要是组织和细胞离体以后，生存在人工培养环境中，而人工模拟体内环境的技术还有很大差距。因此在利用培养细胞做实验对象时，不应视为与体内细胞完全一样，实验结果不可以轻易认同为体内实验，细胞培养实验模型不能取代动物实验和临床实验。

二、离体培养细胞的生物学特点

细胞在体外培养后，如一切条件适宜，便可生存和进行生命活动，如移动等，但最主要的是生长和增殖。生长和增殖并非同一概念，细胞生长指的是细胞体积增大，而细胞增殖是细胞数量增多。体外培养细胞来源于体内，其基本细胞生物学规律和体内相同，但随生活环境的改变，很多方面如形态结构和增殖规律等，与体内时又有所差别。这里所叙述的是“体外培养细胞生物学”，即有关细胞体外培养条件下的细胞生物学行为，它具有自身的特点和规律，不能为一般细胞生物学完全替代，是组织培养工作者应熟知的知识。

(一) 离体培养细胞的差异和分化

已如前述，目前人体内所有细胞基本上皆可进行培养。培养细胞已成为人们借以研究人体内相应器官、组织和细胞的正常和异常生命活动的重要对象。但却面临一个重要的问题，即体外培养细胞和体内细胞是否有差异，是否可视为同一。如否，则培养细胞将失掉其应用价值。因此这是一个十分重要和应首先阐明和回答的理论问题。比较体内、外细胞，它们的增殖方式是相同的，均为有丝分裂。体内、外细胞的差异关键在于细胞的分化，因此细胞分化是检测细胞差异的核心问题。

当前人工模拟体内环境的技术水平已经很高，细胞生活在人工培养条件下不仅能很好的生存、生长和增殖，在一定程度上，人们已能控制细胞的分化。

但当前我们毕竟尚未能彻底了解人体内一切细胞活动的内在联系，人工所模拟的条件与体内实际情况仍不完全相同。这样，当细胞被置于体外培养后，一旦失去神经体液的调节和细胞相互间的影响、生活在缺乏动态平衡的环境中，最终发生变化是必然的。

离体培养细胞在分化方面主要表现出以下特点：(1)

失去原有的组织结构和细胞形态，形态上的分化减弱，趋于单一化，类似返祖现象。

(2) 由于生存环境的改变，细胞的外源信号来源切断，特定基因分化表达减弱或停止，导致特定的蛋白或酶类的合成减弱或停止，进而导致细胞在体内时原有的分化功能减弱或消失。但一种分化特性的丧失，不等于彻底消除了分化能力，从细胞遗传学角度分析，离体培养细胞含有与体内细胞相同的基因组。只有当特定基因的表达的减弱或停止是基因突变所致，细胞的特定去分化表现才是不可逆的。以肝细胞为例，离体肝细胞合成酪氨酸转移酶停止，有人证明肝细胞产生酪氨酸转移酶需要激素的诱导和与相应细胞基质的相互作用，只要这些条件存在，离体肝细胞仍可产生酪氨酸转移酶。(3) 离体细胞在一定条件下有产生不同于体内时的新的分化方向的潜能。在体内胶原蛋白是成纤

维细胞和骨细胞的主要产物。而在一定条件下，离体培养的上皮细胞、神经细胞甚至一些肿瘤细胞也能产生胶原蛋白。（4）离体细胞仍保持在体内时在寿命上的分化。如人类成纤维细胞在适宜的条件下体外可以传30~50代，相当于150~300个细胞周期，最后衰老死亡。胚胎期细胞的传代次数

[显示全部信息](#)

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

[更多资源请访问www.tushupdf.com](http://www.tushupdf.com)