

普通高中课程标准实验教科书

生物学

现代生物科技专题

选修三

主编 张新时

上海科技教育出版社

编写人员名单

本册主编 张可柱

编 著 者 (以姓氏笔画为序)

王宪国 孔维华 杨维国 张治国

张祥沛 张树峰 周生春

目 录

第一单元 生物技术与生物工程

第一章 基因工程和蛋白质工程	2
第一节 基因工程的原理	3
第二节 基因工程的应用	11
第三节 蛋白质工程	16
课外阅读 基因芯片	20
第二章 细胞工程	21
第一节 动物细胞培养	22
第二节 植物组织培养	25
第三节 细胞融合技术	30
第四节 干细胞工程	35
第五节 克隆技术	39
课外阅读 我国动物克隆技术的发展与成果	44
第三章 胚胎工程	45
第一节 动物胚胎发育的基本过程	46
第二节 良种化胚胎工程	52
第三节 胚胎工程的新进展	56
课外阅读 我国著名的胚胎学家——童第周	62

目 录

第二单元 生态工程与生物安全

第一章 生态工程	64
第一节 生态工程及其原理	65
第二节 我国的生态工程	72
课外阅读 广西贵港：循环经济试点初见成效	78
第二章 生物安全与生物伦理	79
第一节 基因工程的风险	80
第二节 生物武器	84
第三节 生物伦理	89
课外阅读 玉米妈妈的圣洁被玷污了	93
附：中英文对照表	94

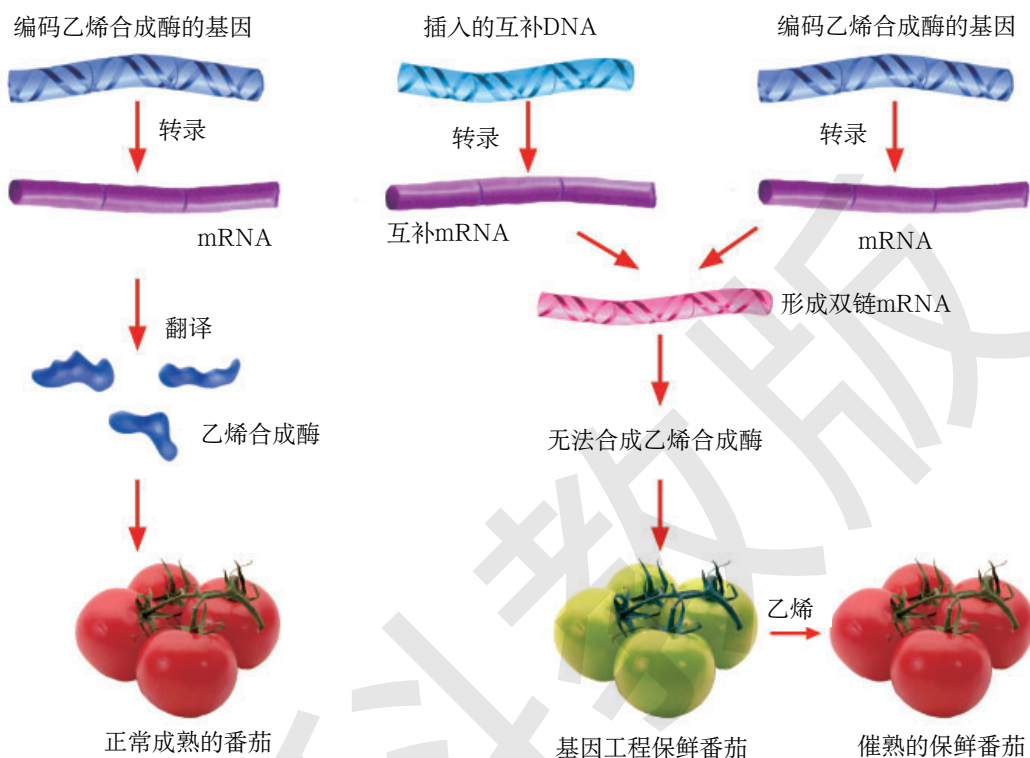
第一单元 生物技术与生物工程



生物技术的发展日新月异，我们已经可以通过体外DNA重组技术，将外源基因转移到受体物种中去，使受体生物产生新的遗传特性。通过综合应用生物技术于生产实践中，使我们的生产方式发生了革命性变化，随着生物技术与其他技术的融合，我们的生活将会变得更加多彩。

第一章

基因工程和蛋白质工程



课题研究

图片中色彩鲜艳的番茄十分讨人喜欢，美中不足的是它很容易腐烂。青色的番茄是科学家通过基因工程培育出的耐贮存品种，它仅仅是比红色的番茄增加了某种特定基因，但它贮存4个月之久仍能保持新鲜状态。目前，基因工程产品已经进入千家万户，也许它们就在你的身边。请你和小组人员对基因工程的应用情况做个调查。

▲研究计划

- 1.到当地的种子公司调查转基因作物种子的销售情况。
- 2.到医疗部门调查基因工程药物的应用情况，并了解使用效果。
- 3.到育种研究机构了解基因工程产品的研究开发及推广情况。
- 4.利用互联网了解基因工程产品在世界范围内的应用情况。
- 5.认真填写调查记录表，统计分析调查结果，写出调查报告。

▲总结交流

将你们小组的调查报告与其他小组的进行交流，互相借鉴，总结出当地人们对基因工程产品的认可程度，并分析其中的原因。

第一节 基因工程的原理

园艺师利用嫁接技术，将不同颜色的花集中到同一棵植株上，培育出了许多新的花卉品种，深受养花人的喜爱。随着对基因研究的深入，人们大胆地设想：能不能通过DNA分子的“嫁接”，将不同生物的优良性状组合在一起呢？基因工程技术的发展已经使这一梦想变成了现实。

1 基因工程的诞生

20世纪60~70年代，生命科学研究的一些重要发现，推动了基因工程的发展。

走近基因工程

阅读下面有关基因工程诞生过程的资料。

[资料1] 1970年，史密斯(H.D.Smith)等人首次从大肠杆菌中提取出了一种限制性内切核酸酶(restriction endonuclease)。这种内切核酸酶能够识别特定的脱氧核苷酸序列，并在特异性的位点上把双链DNA分子“切割”开（图1-1-1）。DNA被切割后所产生的交错的切口，也就是在每条链的一端留下的单链末端，叫做黏性末端。

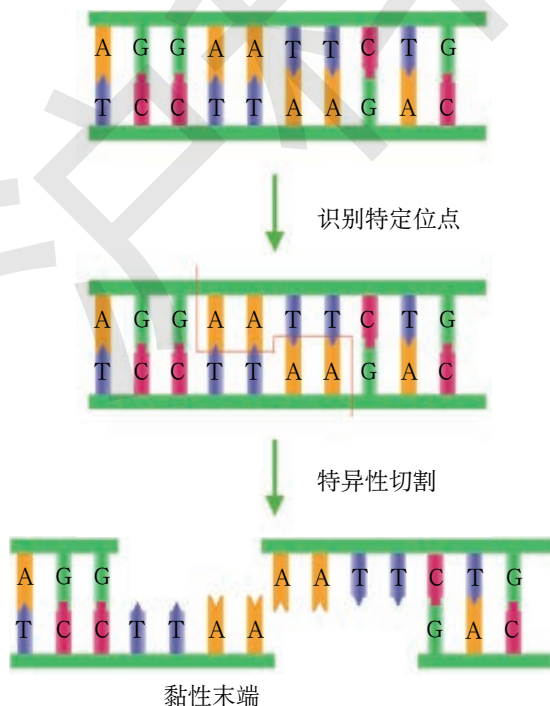


图1-1-1
限制性内切核酸酶切割DNA分子示意图

[资料2] 1967年,科学家们发现了一种能够将两个DNA片段连接起来的酶,可以用它来修复DNA链的断裂口,并把这种酶叫做DNA连接酶。1970年,科学家们又提取了一种具有更高活性的T4 DNA连接酶。当两个DNA片段的黏性末端彼此相临,而且它们的碱基能够互补配对时, DNA连接酶就能把它们之间的缝隙“缝合”起来(图1-1-2)。

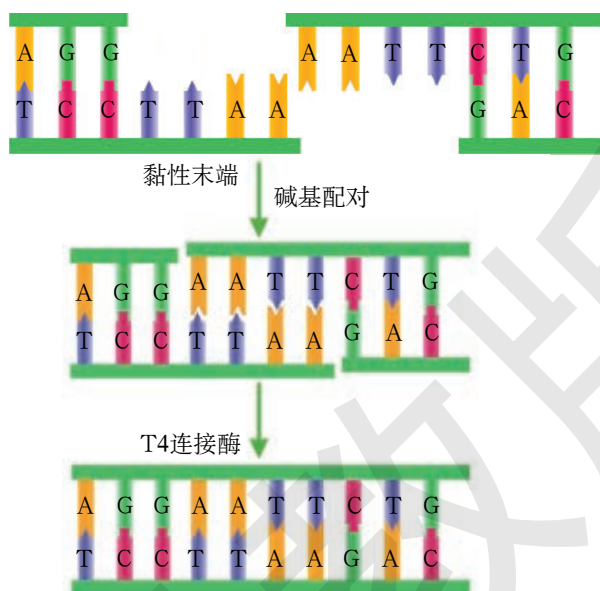


图1-1-2
DNA连接酶的连接过程示意图

[资料3] 1972年,美国的伯格(P. Berg)等人用一种限制性内切酶在体外分别将猿猴体内的一种病毒的DNA和λ噬菌体的DNA进行酶切,然后分离出各自的酶切片段,又用T4 DNA连接酶将它们连接起来,构建了世界上首例体外重组的杂合DNA分子。

[资料4] 1973年,美国科学家科恩(S. Cohen)等人从大肠杆菌中提取出了两种质粒,一种含有卡那霉素抗性基因,另一种含有四环素抗性基因。他们将这两种基因分别“切割”下来,并拼接在同一个质粒上,然后导入大肠杆菌,产生了既抗卡那霉素又抗四环素的大肠杆菌。

分析讨论

1. 限制性内切酶的作用有何特点? 这有什么意义?
2. 首例重组DNA分子和双重抗性大肠杆菌的产生过程在本质上有什么不同?

双重抗性大肠杆菌的培育成功,宣告了基因工程的诞生。科恩等人的成功,得益于两种酶的发现。一种是限制性内切酶,它能识别特定的脱氧核苷酸序列,并于特定位点上准确地切割双链DNA,被称为“基因手术刀”。另一种是DNA连接酶,它是连接双链DNA的专用工具,被称为“基因缝纫针”。

2 基因工程的一般程序

基因工程 (gene engineering) 是指按照人们的意愿, 将一种生物的基因在体外剪切, 并与特殊的运载工具进行重新组合, 然后转入另一种生物的体内进行扩增, 并使之表达产生所需蛋白质的技术。通俗地说, 就是把一种生物的个别基因复制出来, 加以修饰改造, 然后放到另一种生物的细胞里, 定向地改造生物的遗传性状 (图1-1-3)。

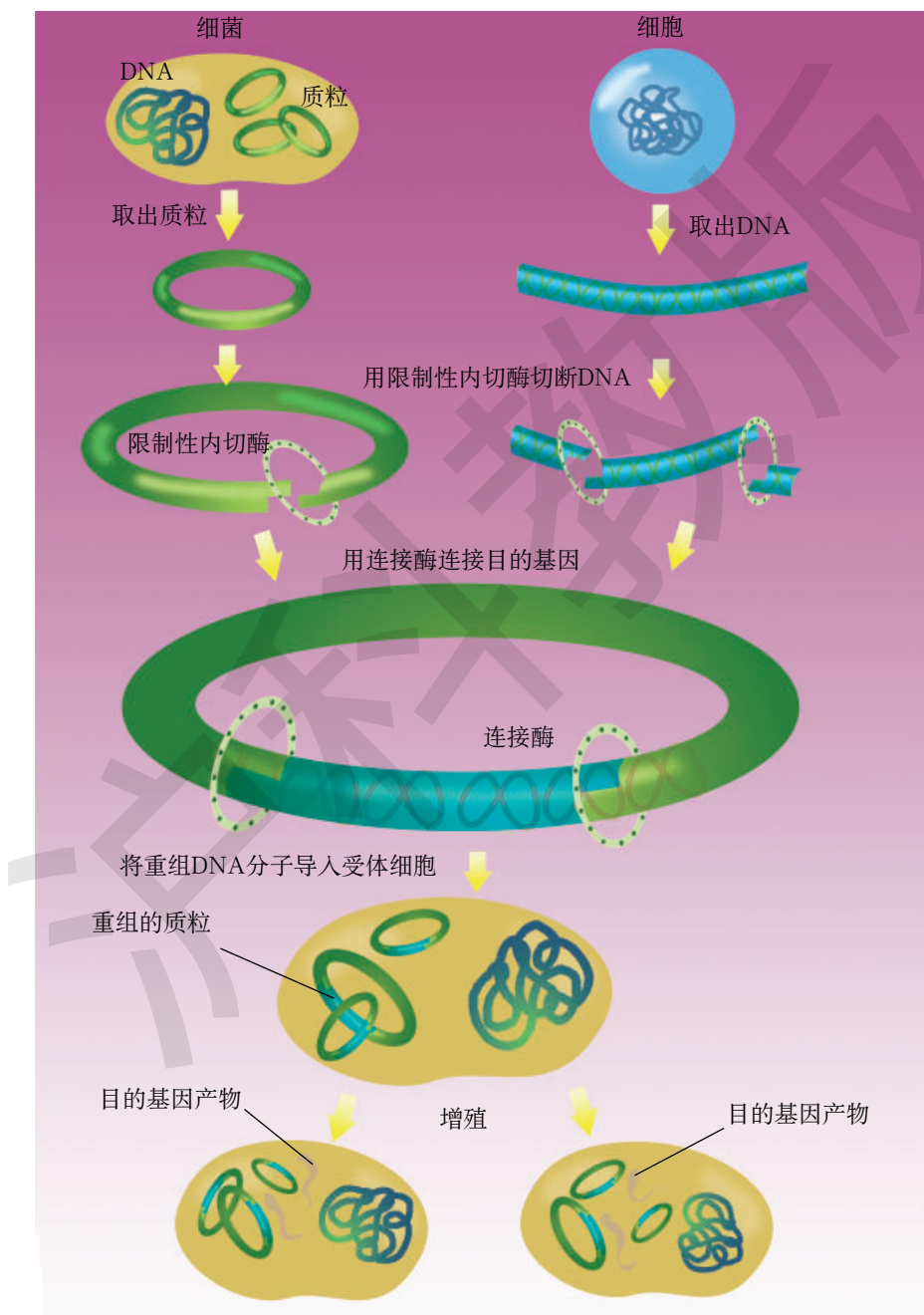


图1-1-3

基因工程的一般程序示意图

DNA分子的提取

进行基因工程操作, 首先必须将DNA分子从细胞内提取出来。



尝试DNA的提取与鉴定

目的要求

1. 了解从植物细胞中提取DNA的基本原理。
2. 初步掌握DNA的提取和鉴定的方法，观察提取出来的DNA。

实验原理

十二烷基硫酸钠(SDS)能够使蛋白质变性，在研磨液中加入SDS可以使蛋白质与DNA分离。乙二胺四乙酸二钠(EDTA)为DNA酶的抑制剂，可以防止细胞破碎后DNA分子被降解。

DNA不溶于酒精溶液，但细胞中的许多其他物质可以溶于酒精溶液。利用这一原理，我们可以提取出杂质含量较少的DNA。

DNA遇二苯胺（沸水浴）会被染成蓝色，因此，二苯胺可以作为鉴定DNA的试剂。

材料器具

新鲜菜花（或菠菜、蒜黄等）；研磨液、体积分数为95%的酒精溶液、物质的量浓度为0.015 mol/L的NaCl溶液、二苯胺试剂、蒸馏水；塑料烧杯（50 mL, 2个）、量筒（100 mL, 1个）、研钵、漏斗、烧杯（100 mL, 1个）、试管（20 mL, 1个）、玻璃棒、尼龙纱布、离心机、塑料离心管、移液器、酒精灯、石棉网、火柴、刀片、天平等。

活动程序

1. DNA的粗提取

(1) 材料准备

将新鲜菠菜和体积分数为95%的酒精溶液放入冰箱冷冻室，冷冻至少24 h。

(2) 研磨

称取30 g新鲜菠菜叶片，切碎。将菠菜碎片置于研钵（在冰上操作）中，加入10 mL研磨液，迅速研磨成糊状（图1-1-4）。

(3) 过滤

在漏斗中垫上尼龙纱布，将菠菜研磨液滤入塑料烧杯中（图1-1-5）。

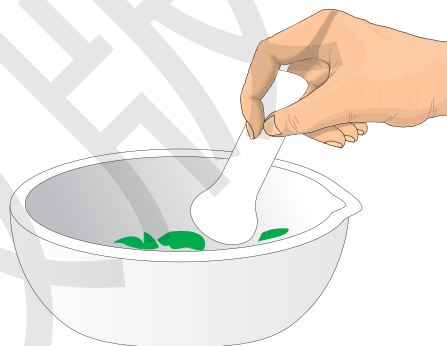


图1-1-4
研磨

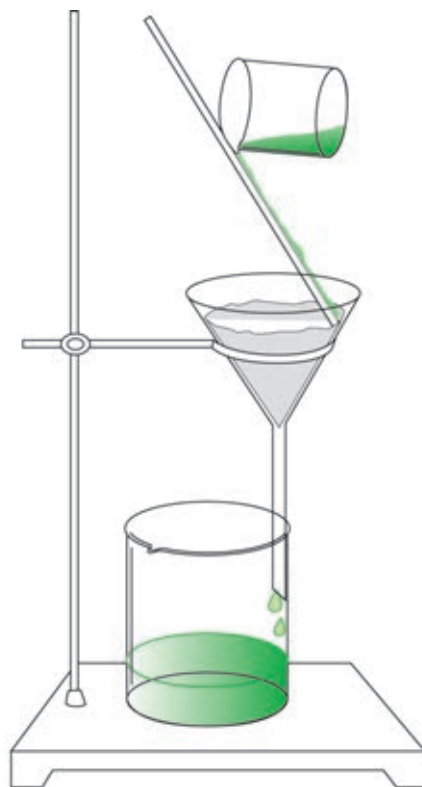


图1-1-5
过滤

(4) 离心

将滤液倒入5 mL塑料离心管中，以1 000 r/min的速度离心10 min (图1-1-6)。

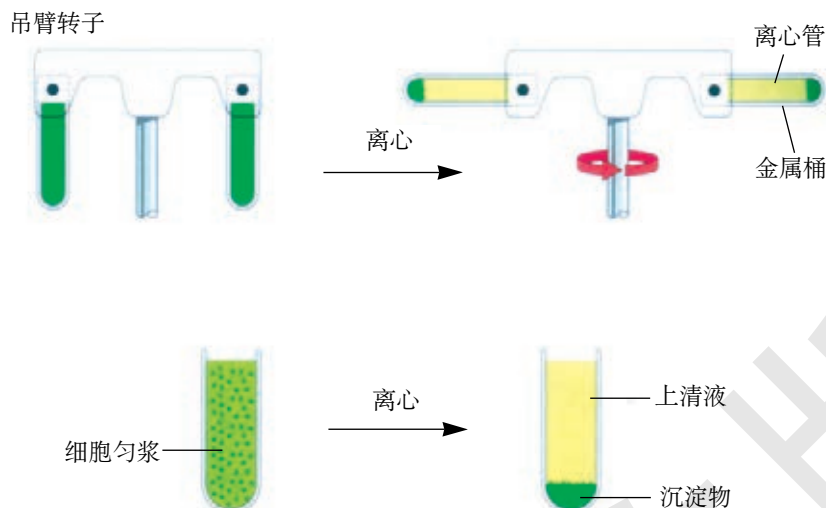


图1-1-6
离心

(5) 加冷酒精

从离心管中取出上清液，倒入50 mL塑料烧杯中，同时加入两倍体积的体积分数为95%的冷酒精。用玻璃棒沿一个方向缓缓地搅拌溶液，溶液中会出现白色丝状物。用玻璃棒将丝状物卷起，并用滤纸吸去上面的水分。这种丝状物的主要成分就是DNA。(图1-1-7)。

2. DNA的鉴定

取一支20 mL的试管，加入物质的量浓度为0.015 mol/L的NaCl溶液5 mL。将得到的丝状物放入试管中，用玻璃棒搅拌，使丝状物溶解。然后，向试管中加入4 mL二苯胺试剂，混匀后用沸水浴(100 °C)加热10 min (图1-1-8)。在加热过程中，随时注意试管中溶液颜色的变化。

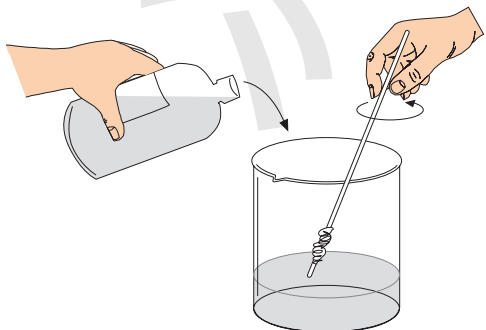


图1-1-7
加冷酒精



图1-1-8
DNA的鉴定

分析讨论

1. 在准备材料时，为什么要将菠菜叶片和酒精溶液进行预冷处理？
2. 从上清液中析出的丝状物能否代表DNA分子的大小？

随着科学技术的发展,人们不断地改进核酸的提取方法,现在已经能够利用酶学、柱层析和超速离心等技术获得完整而纯净的DNA样品了。

目的基因的获得

在基因操作中使用的外源基因,我们通常叫它目的基因(target gene)。如胰岛素基因、生长激素基因和干扰素基因都可以作为目的基因。要从数以万计的基因中把目的基因挑选出来,真可谓是“大海捞针”。现在,人们已经掌握了分离和合成目的基因的一些有效方法,主要有直接分离法和人工合成法。

直接从基因组中获取目的基因最常用的方法是“鸟枪法”,又称“霰弹法”。对提取出来的DNA进行“霰弹射击”,即用限制性内切酶将完整的DNA分子随机切成适当长度的片段,随后通过某种检测方法筛选出所需要的基因。如应用一种“核酸探针”,可以直接检测细胞内的目的基因。核酸探针是用放射性同位素或其他标记物标记的RNA单链,具有特异性极高的脱氧核苷酸序列,能与DNA互补链结合,因此用它可以进行特定基因的检测。目的基因获得后可以用一些方法对它进一步扩增以作备用,如用PCR仪扩增(图1-1-9)。

人工合成目的基因的方法主要有两种。一种是反转录法,主要用于分子质量较大而又不知其序列的基因。它是以目的基因的信使RNA为模板,借助反转录酶合成碱基互补的单链DNA,然后在DNA聚合酶的作用下合成双链DNA。另一种方法是化学合成法,即依照某一蛋白质的氨基酸序列,通过密码子推导出其碱基序列,然后直接合成目的基因。



图1-1-9
PCR仪

重组载体的构建

把目的基因导入受体细胞可不是件容易的事情,我们必须借助一种特殊的运载工具——载体(vector)。载体一般具备以下特点:外源DNA的插入不影响载体在宿主细胞内的自我复制;有适宜的限制性内切酶酶切位点,最好是具有多种限制性内切酶的单一酶切位点;具有某些标记基因,如抗氨苄青霉素基因,这样我们就可以用抗生素筛选含有载体的细胞;载体应对受体细胞无害。目前所用的载体有细菌的质粒(plasmid)、噬菌体或其他病毒,但最常用的是质粒。

质粒(图1-1-10)是细菌中独立于细菌DNA



图1-1-10
大肠杆菌质粒结构

之外的小型环状DNA分子。它们可以“友好”地“寄居”在细菌细胞内，通过复制稳定地遗传下去。用限制性内切酶对质粒进行切割，从而形成一个切口，用同一种限制性内切酶切割的目的基因就可以插到切口上，再通过DNA连接酶的连接，就形成了重组载体，它能携带外源DNA分子片段进入受体细胞。

重组载体的导入和筛选

将带有目的基因的重组载体与相应的受体细胞放在一起培养，通过一定的方式进行诱导，它们会进入受体细胞，这一过程称为转化(transformation)。运用载体进行转化是基因工程中广泛应用的转化方法。

基因转化的其他方法

基因枪法：将目的基因包裹在微小的金粒或钨粒表面，然后将微粒用基因枪高速射入到受体细胞或组织中（图1-1-11）。该方法已广泛应用于被子植物的基因转化。

花粉管通道法：主要有两种做法：一是先用目的基因转化花粉，再通过受精获得转化植株。二是在植物自花授粉时期，将目的基因滴在剪开的柱头上，使其沿着花粉管进入胚囊，完成转化。目前，后一种方法已在水稻、棉花等作物上获得了成功。

显微注射法：借助光学显微镜的放大作用，利用一种极细的注射器直接将目的基因注射到细胞中。利用这种方法已生产出了鼠、兔、羊、猪、牛等转基因动物。

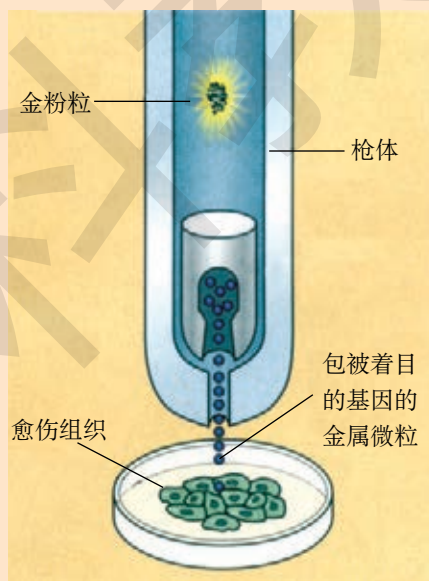


图1-1-11
基因枪法示意图

相关链接

经过转化以后，有的细胞可能导入了重组载体，利用选择培养基就可以把它们筛选出来。如大肠杆菌的某种质粒具有青霉素抗性基因，当用它作载体时，我们可以将转化后的细胞放在含有青霉素的培养基上培养，不含重组质粒的细胞就会死亡，含有重组质粒的细胞则活了下来。

目的基因的表达和鉴定

培养含有重组载体的受体细胞，并诱导目的基因表达，从而使目的基因在受体细胞中起到应有的作用。为检测目的基因在受体细胞中是否表达，我们要进行生物学功能鉴定，即检测转化的生物有没有显示出目的基因控制的性状。例如，获得转抗白粉病基因的小麦植株后，我们可以用白粉病病原菌对其感染，若它具有抗感染能力，则说明目的基因已经能够在植株中表达；若仍患病，则说明目的基因没有表达，这次基因工程的操作没有成功，必须再对目的基因进行改造和修饰，重新进行基因工程的操作。

基因工程能够打破生物种属的界限，在分子水平上定向改变生物的遗传特性。基因工程的诞生是分子生物学直接转化为社会生产力的重要标志。

巩固提高

1. 图1-1-12是将人的生长激素基因导入大肠杆菌细胞内制造“工程菌”的示意图，所用载体为质粒。请回答：

(1) 如何将目的基因和质粒相结合形成重组质粒？

(2) 转化后的细菌，只有少数含有重组质粒。我们怎样才能鉴别出细菌是否含有重组质粒？

(3) 导入细菌细胞中的目的基因成功表达的标志是什么？

2. 目前，科学家已经完成了某些细菌、水稻等多种生物的基因组测序工作，请你思考这项工作将会对基因工程有哪些好处？

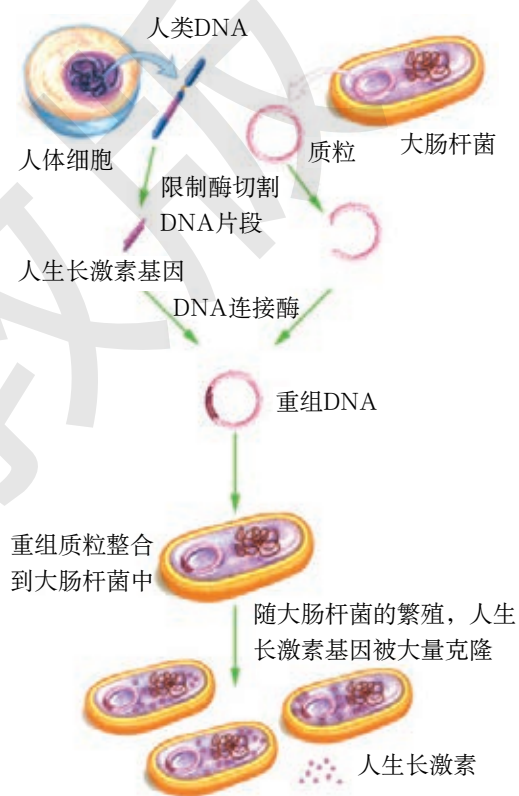


图1-1-12

观看有关基因工程的影像资料，以加深对基因工程原理和过程的印象。

— 课外实践 —

第二节 基因工程的应用

杂草是影响农作物产量的重要因素之一。除草剂的使用减轻了农民的劳动负担,但目前使用的除草剂在杀死杂草的同时,对农作物也有杀伤作用。科学家通过基因工程培育出了抗除草剂的作物,当田间喷撒除草剂时,就不会殃及这些作物了(图1-1-13)。目前,基因工程已经被广泛应用于农牧业生产和医药卫生等领域,并取得了巨大的成就。



图1-1-13
普通小麦与转基因小麦(右)

1 基因工程在农业上的应用

基因工程技术为作物育种开辟了一条捷径,使人们能够大幅度改良作物性状,获得了大量优质高产的作物品种。目前,国际上获得转基因植株的植物已达100种以上,其中包括水稻、玉米、马铃薯、棉花等作物;番茄、黄瓜、胡萝卜等蔬菜;苜蓿、白三叶草等牧草;苹果、甜瓜、草莓等瓜果;矮牵牛、菊花、香石竹等花卉。这些转基因植物已有许多品种进入商品化生产阶段,取得了丰厚的经济效益。

抗虫棉

我国是世界上最大的棉花生产国和消费国。20世纪90年代以来,由于棉铃虫在大部分产棉区持续爆发,给棉花生产带来了巨大威胁。棉农在防治棉铃虫时,每年需要喷洒农药15次以上。如果能研究培育出抗虫棉,我们就可以在很大程度上解决这一问题。

抗虫棉的培育

科学家在苏云金杆菌中发现了一种Bt毒蛋白,并通过实验证明,这种毒蛋白对鳞翅目害虫有特异性的毒杀作用。现在请你利用基因工程的原理,设计一个培育抗虫棉的方案。

设计提示

1. 毒蛋白是由苏云金杆菌中的毒蛋白基因控制合成的。
2. 将毒蛋白基因导入棉花体内可以使其具备杀虫功能。
3. 写出详尽的步骤以及一些关键步骤的原理。



苏云金杆菌的Bt毒蛋白被发现以后，科学家利用基因工程的方法，合成了这种毒蛋白的基因，并把这一基因导入到棉花细胞内，使其在生长过程中合成了毒蛋白，从而达到灭虫的效果（图1-1-14）。此外，这种方法还被广泛应用于蔬菜、林木和经济作物的害虫防治上。抗虫作物的培育和种植，不但降低了作物的生产成本，使作物能稳产、高产，还降低了农药的使用，减少对环境 的污染。



图1-1-14 抗虫棉（左）和普通棉对照图

金米

普通水稻不含维生素A，以稻米为主食的一些发展中国家，就可能由于维生素A的缺乏导致严重的健康问题。人们将有关酶的基因导入水稻中，并诱导它们在水稻细胞中得以表达，使水稻中的双香叶素—二磷酸能转化成 β -胡萝卜素。含有 β -胡萝卜素的大米颜色金黄，被形象地称为“金米”（图1-1-15）。人们食用这种“金米”后，其中的 β -胡萝卜素会在人体内转化成维生素A，为深受维生素A缺乏症之苦的人们带来了“金色希望”。

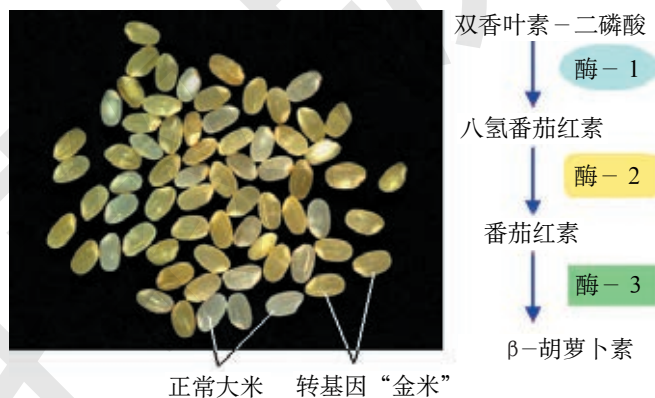


图1-1-15 金米及其形成原理

相关链接

我国转基因作物的发展

我国转基因作物的应用和研究已经取得了很大进展。据统计，1996年国内研究和开发的转基因植物为47种；1997年国内共有55项转基因申请；1998年为68项。截止到2002年，我国已有4种转基因植物6种产品通过安全性评价，获准商业化生产。其中中国农业科学研究院培育的双价转基因抗虫棉，丰产抗病、品质优良，试种面积已达 $2.1 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 。它的研制成功并进入大面积田间试验，标志着我国的基因工程技术已达到了国际水平。

2 基因工程在医学上的应用

基因工程药物

1982年,美国一家公司首次将重组胰岛素投放市场,这标志着世界上第一种基因工程药物应用于临床医学。此后,有多种利用基因工程技术研制的医用多肽和蛋白质类产品应用于临床治疗,成千上万的患者因此而受益(表1-1-1)。

表1-1-1 部分利用基因工程技术生产的医用多肽和蛋白质类产品

产品名称	受体细胞	临床应用
重组人胰岛素	大肠杆菌	治疗糖尿病
重组人红细胞生成素	哺乳动物细胞	治疗贫血病
重组人生长激素	大肠杆菌	治疗生长缺陷症
重组人表皮生长因子	大肠杆菌	治疗烫伤、溃疡等
重组人肿瘤坏死因子	大肠杆菌	治疗肿瘤
重组人干扰素(多种)	酵母菌等	治疗病毒感染、肿瘤等
重组人白细胞介素(多种)	大肠杆菌	治疗肿瘤
重组尿激酶原	大肠杆菌	治疗心脏病等
重组人集落刺激因子	哺乳动物细胞	辅助治疗血友病、艾滋病等
重组人抗血友病因子	哺乳动物细胞	治疗血友病
重组人组织纤溶酶原激活物	哺乳动物细胞	溶解血栓

基因工程疫苗的研究和临床应用也是基因工程技术对医药领域做出重大贡献的例证之一。

我们每个人都接种过预防病毒和有害细菌感染的各种疫苗。传统的疫苗一般为减毒或灭活的病毒或细菌等,容易造成接种者心理上的负担,特别是肝炎疫苗、艾滋病疫苗等。另外,传统的疫苗主要的抗原物质是病毒的外壳蛋白或细菌的膜蛋白,往往因为病毒或细菌的变异,使疫苗的作用减小甚至丧失。而基因工程疫苗可以避免这些问题(图1-1-16)。科学家们能够找到病毒或细菌中起关键作用因此序列保守的蛋白质以及编码它们的基因,利用基因工程的方法,由受体细胞来生产这些蛋白质。这些蛋白质经纯化后可以作为疫苗使用,其中不会含有病毒或有害细菌以及它们的遗传物质。



图1-1-16

我国已批准上市的部分基因工程疫苗及药物产品

基因治疗

人类的基因异常将导致各种遗传疾病的发生,这类疾病用普通医疗手段往往无法治疗或很难治愈。



镰状细胞贫血的治疗方案

镰状细胞贫血是一种严重的遗传病，患者的红细胞在缺氧时变为镰刀状（图1-1-17），容易堵塞血管，导致内脏及组织缺氧。科学家利用基因工程原理，设计了一种治疗方案，请你仔细阅读图1-1-18中的有关信息。



图1-1-17

正常红细胞（左）与镰状红细胞（右）

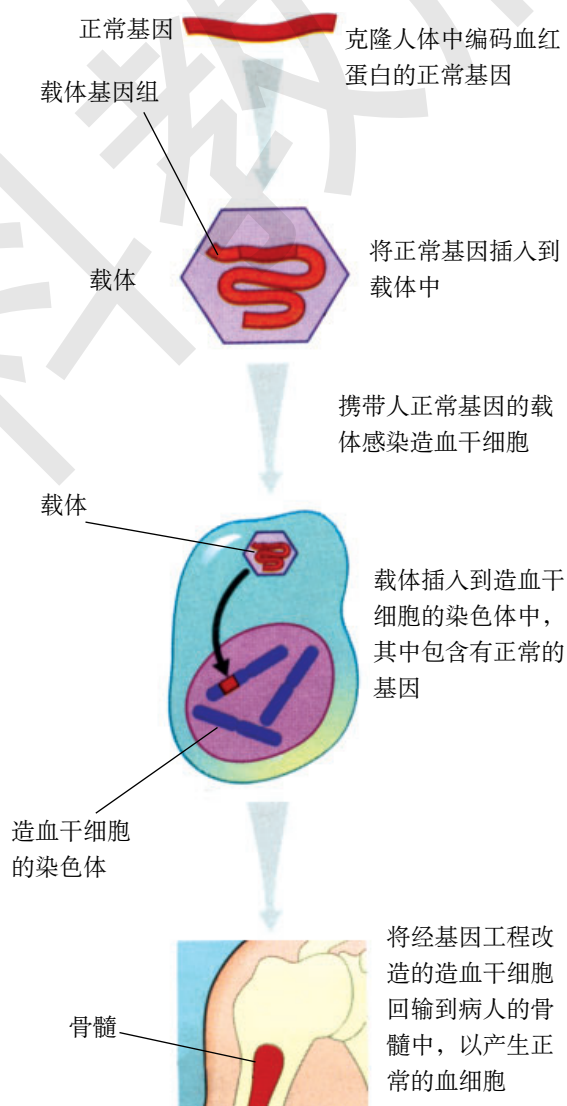


图1-1-18

基因治疗过程示意图

分析讨论

1. 镰状细胞贫血患者的红细胞产生异常的根本原因是什么?
2. 将正常基因导入患者体内为什么可以弥补异常基因的不足?
3. 你认为该治疗方案的可行性如何?

将正常基因或有治疗作用的基因通过一定方式导入靶细胞内,可以纠正基因缺陷而达到治疗疾病的目的。我们把这种生物医学技术称为基因治疗(gene therapy)。基因治疗的策略主要有基因置换、基因修复、基因增补、基因失活等。在基因治疗的临床试验中,有的已经获得初步成功,也有的失败。如何增强基因治疗的有效性和安全性,是我们面临的重大挑战。

基因工程诞生30年以来,已经创造出了巨大的经济效益。我们相信,随着基因工程技术的日臻完善,它的应用领域将会进一步拓宽,基因工程产品将对人类饮食健康、世界经济发展产生巨大而深远的影响。

巩固提高

1. 基因工程在农业生产上的应用将给人类生活带来哪些影响?
2. 查找有关资料,分析基因工程还应用于其他哪些领域? 前景如何?

第三节 蛋白质工程

衣服上的奶渍和血迹不容易清洗干净，这是因为污渍里的蛋白质与纤维胶结得非常紧密。蛋白酶能有效地水解这些污垢，但天然的蛋白酶在体外容易遭到破坏。人们利用蛋白质工程技术，成功地制备出具有耐碱、耐热以及抗氧化特性的蛋白酶。把它掺在洗涤剂里，做成加酶洗涤剂，洗起衣服来效果特别好。

1 蛋白质的分子设计

蛋白质工程(protein engineering)就是根据蛋白质的精细结构和生物活性之间的关系，按照人类自身的需要，利用生物技术手段对蛋白质的DNA编码序列或直接对蛋白质进行有目的的改造，从而创造出自然界本不存在的、具有优良特性的蛋白质分子。由于蛋白质工程是在基因工程的基础上发展起来的，在技术方面有诸多同基因工程相似的地方，因此蛋白质工程也被称为第二代基因工程。



探究活动

追寻速效胰岛素制剂的生产过程

在正常人体内，血液中胰岛素的含量通常在进食后30~60 min就达到高峰。而目前使用的胰岛素制剂，注射120 min后才出现高峰。为生产速效型胰岛素制剂，科学家开展了以下工作：

[步骤1] 从人体内分离和纯化胰岛素，通过相应的方法，测定胰岛素分子中氨基酸的排列顺序即一级结构（图1-1-19）。



图1-1-19
胰岛素的一级结构

[步骤2] 将胰岛素高度纯化, 利用X射线晶体衍射、核磁共振等技术手段, 充分了解胰岛素的二级和三级结构 (图1-1-20)。

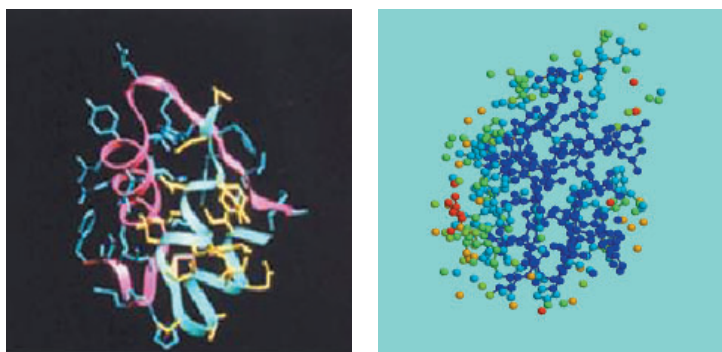


图1-1-20

胰岛素的二级结构 (左) 和三级结构 (右)

式存在, 因而延长了胰岛素从注射部位进入血液所需的时间。这说明胰岛素结构的变化对其活性和功能具有一定的影响。

[步骤4] 根据胰岛素结构与功能之间的关系, 设计对胰岛素基因的改造方案。通过碱基替换的方法, 改变基因的碱基排列顺序, 将B链第28位改为赖氨酸、29位改为脯氨酸, 从而改变了胰岛素的一级结构。这种胰岛素不会形成二聚体。

分析讨论

1. 在速效型药物的生产过程中, 科学家为什么必须大量收集胰岛素分子结构方面的信息?
2. 基因中某个碱基的变化就可以改变蛋白质的性质, 其理论依据是什么?
3. 根据对胰岛素的改造和修饰过程, 你认为蛋白质工程与基因工程有什么区别和联系?

蛋白质工程的一个重要方面是蛋白质的分子设计, 它可以分成三类: 一是小范围改造, 就是对已知结构的蛋白质进行少数氨基酸的替换, 从而改善蛋白质的性质和功能。二是对不同来源的蛋白质进行拼接组装, 期望转移相应的功能。例如, 将编码一种蛋白质的部分基因移植到另一种基因上, 经过基因表达, 产生新的融合蛋白质。三是蛋白质从头设计, 就是从氨基酸的排列顺序出发, 设计制造出自然界不存在的全新蛋白质, 使之具有特定的空间结构和预期功能。

2

蛋白质工程的应用

利用蛋白质工程改造或者设计制造出的人工蛋白, 在活性、稳定性及抗原性等方面都优于天然蛋白质。

[步骤3]

通过实验证明, 胰岛素在低浓度 (小于 10^{-9} mol/L) 时主要以单体形式存在, 在高浓度 (大于 10^{-5} mol/L) 时则以二聚体的形式

提高蛋白质的稳定性

T4溶菌酶具有较强的溶菌活性，但其热稳定性较差。研究人员对编码T4溶菌酶的基因进行了改造，将T4溶菌酶第3位上的异亮氨酸改成半胱氨酸。改造后的T4溶菌酶，可在第3位（半胱氨酸）与第97位（半胱氨酸）之间形成一个新的二硫键，使T4溶菌酶获得了较强的耐热特征（图1-1-21）。

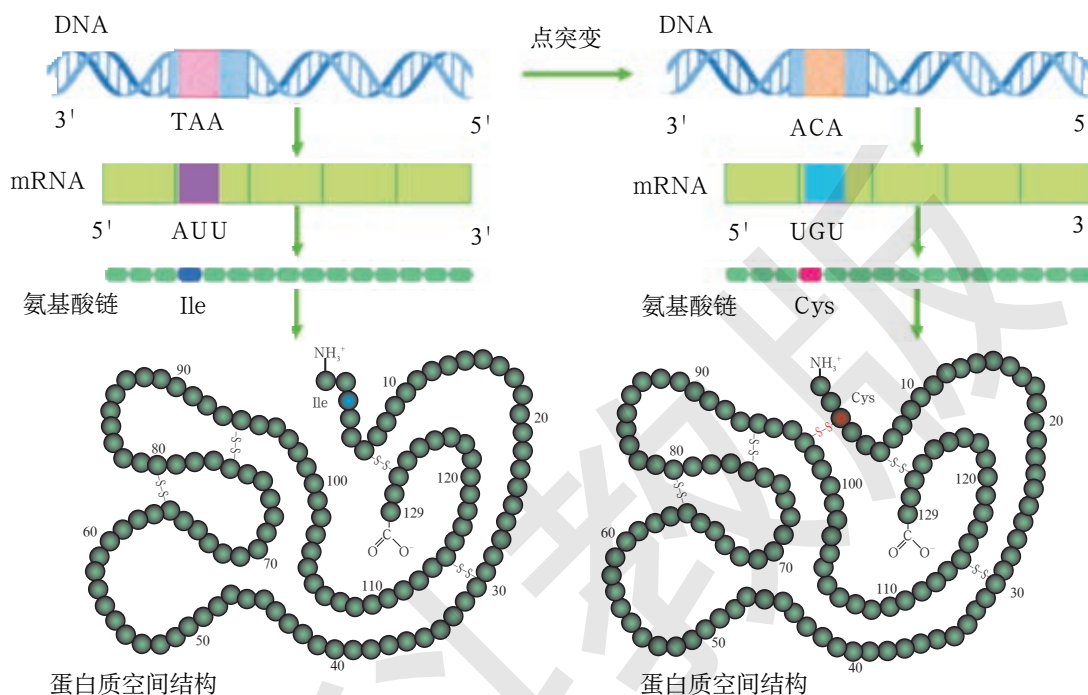


图1-1-21
T4溶菌酶的改造过程示意图

改变蛋白质的活性

组织纤溶酶原激活物(t-PA)专一激活人体内的纤溶系统，保证血液循环的畅通。但t-PA用于溶栓治疗时具有一定的局限性，它进入血浆后大部分与纤溶酶原激活剂抑制物形成复合物，并迅速失去活性。利用蛋白质工程技术对t-PA进行改造，就可以消除上述缺点，从而增加溶栓效能，减少药用剂量并降低副作用。

合成嵌合抗体

小鼠单克隆抗体的制备比较简单，但这种鼠源性的单克隆抗体会被人的免疫系统排斥，不能直接用于人体。嵌合抗体(chimeric antibody)就是保留鼠单克隆抗体的可变区，而用人抗体的恒定区替换鼠单克隆抗体的恒定区，这种嵌合抗体的抗原性显著下降，而抗体的特异识别功能没有丧失（图1-1-22）。目前，已有

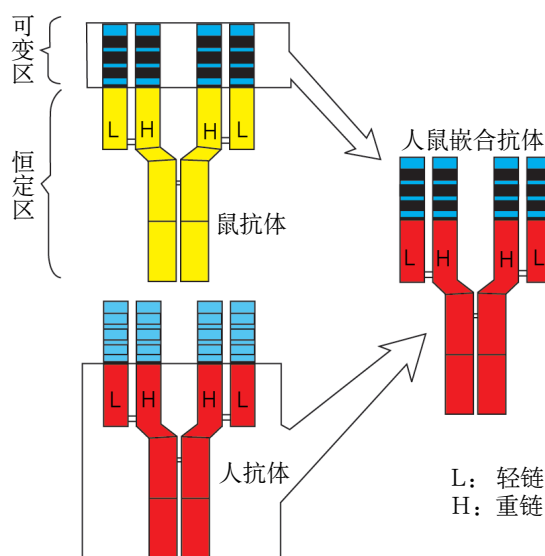


图1-1-22
嵌合抗体的合成示意图

多种嵌合抗体用于临床治疗。

蛋白质工程汇集了当代分子生物学等学科的最新成就，将蛋白质与酶的研究推进到崭新的时代，为蛋白质和酶在工业、农业和医药方面的应用开拓了诱人的前景。

巩固提高

1. 科学家将葡萄糖异构酶的第138位甘氨酸用脯氨酸替代，结果它的最适作用温度提高了10~12℃。据分析，脯氨酸替代甘氨酸后，由于引入了一个吡咯环侧链，刚好填充于138位甘氨酸附近的空洞，使蛋白质空间结构更具刚性，从而提高了酶的热稳定性。这种现象说明了什么？

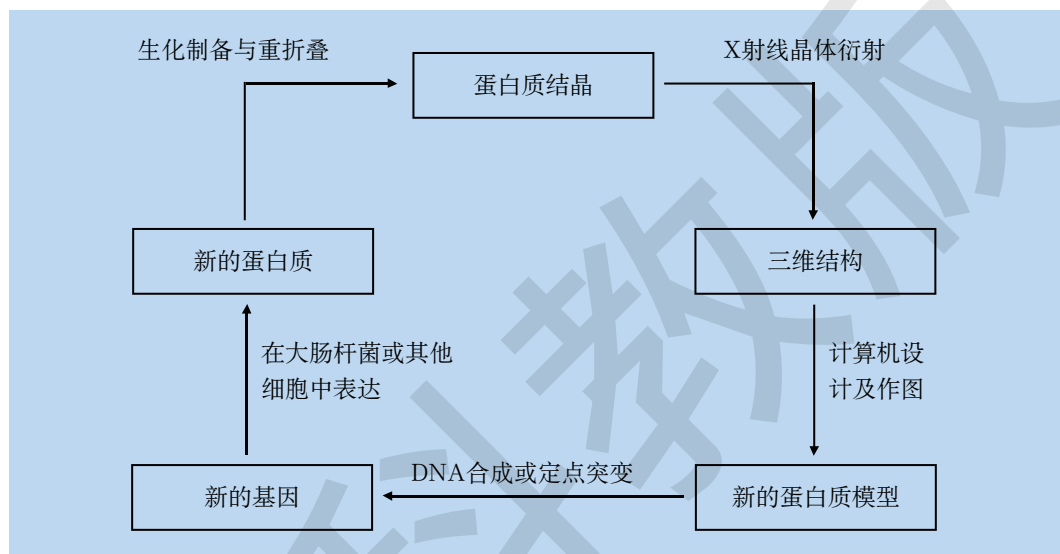


图1-1-23

蛋白质工程的基本流程示意图

2. 蛋白质的分子设计是一项复杂而艰巨的工程，其基本流程可以用图1-1-23来表示。

(1) 构建新的蛋白质模型是分子设计的关键环节，你认为构建蛋白质模型的依据是什么？

(2) 通过DNA合成或定点突变形成的新基因怎样才能得到准确的表达？

(3) 有的学者认为，蛋白质工程本身也是研究蛋白质结构和功能的一种有力工具。对此，你有何看法？



回顾总结

基因工程是根据人们的意愿，将外源目的基因转入到受体细胞中构建转基因生物，生产出人们所期望的产物，或创造出具有新的遗传性状的生物类型。基因工程可以突破物种间的遗传障碍，在分子水平上定向改变生物的遗传特性。目前基因工程已经广泛应用于医药保健、农牧业、生态与环境保护等领域，促进了人类社会的进步和发展。基因工程的发展促进了蛋白质工程的诞生。蛋白质是生命现象的体现者，蛋白质的构造直接影响其功能活性，蛋白质工程就是通过工程手段来研究、确定和改造蛋白质构造，以完善其功能，有目的地制备特定的蛋白质。有了第

一代与第二代基因工程技术，人们有可能根据不同的需要设计和创造出世界上原来不存在的新基因、新蛋白质和各种不同用途的产品。



基因芯片

基因芯片技术是基于计算机芯片的灵感而发展起来的一项生物新技术。基因芯片是将许多特定的DNA片段（称为探针）固定在玻璃板、硅片等载体的特定位置上形成的芯片。

基因芯片的制作方法包括原位合成法和直接点样法。原位合成是指在载体表面特定区域合成已知序列的DNA探针。直接点样法是用点样仪将目的基因直接点到预先进行过化学修饰的载体上，然后再将那些未结合的目的基因从载体表面清除，就得到基因芯片。例如，微阵列芯片的制作和使用（图1-1-24）。这两种技术方法各有优缺点，针对不同的用途可以采取不同的制作方法。

基因芯片制成后，便可以发挥其威力了。使用基因芯片时，先将待测样本标记，再同芯片混合，利用碱基互补配对原理进行杂交，通过检测杂交信号并进行计算机分析，从而检测对应片段是否存在以及存在量的多少。

基因芯片可用于大规模筛查由基因突变引起的疾病。例如，科学家成功地利用基因芯片来扫描检测人体细胞中的一种p53基因的突变状态，p53基因突变在癌症患者中发生的比例高达60%。随着人类基因组计划的加快实施，利用基因芯片分析基因组及发现新基因等具有很大优势。它特别适用于寻找新基因、基因表达检测、基因突变检测、基因组多态性分析以及杂交测序等方面。因此，基因芯片能广泛应用于医学、化学、新药开发、农作物的优育优选、司法鉴定、食品卫生监督、环境检测、国防等领域。

基因芯片技术虽然已经取得了很大的发展，得到了世人的瞩目，但目前还有许多问题需要解决，如技术成本昂贵，操作复杂，重复性差等。总之，在样品的制备、探针合成与固定、分子的标记、数据的读取与分析等方面还有大量的工作等待我们去进一步完善。

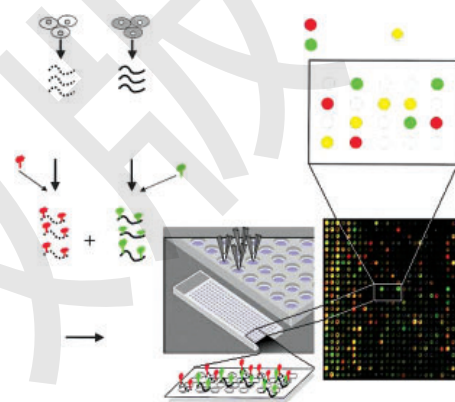
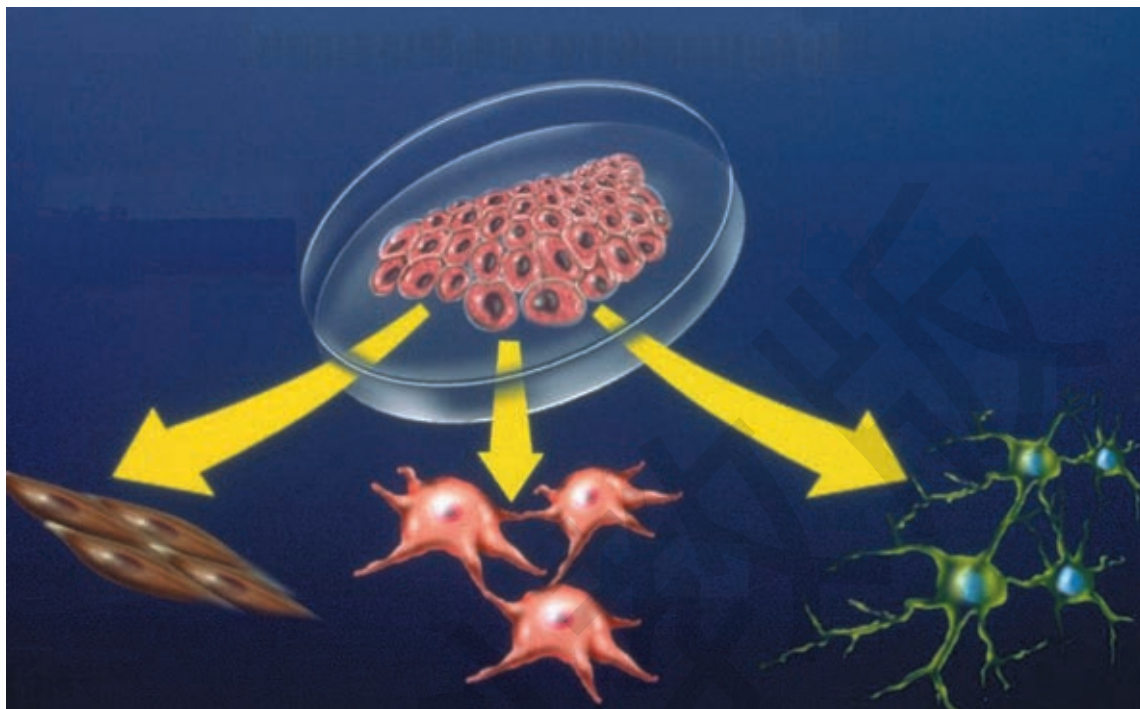


图1-1-24 微阵列芯片制作和使用示意图

第二章 细胞工程



课题研究

看到这幅图片，你一定会感到有些不可思议：我们真的能根据自己的意愿获得所需要的细胞吗？实际上，科学家已经运用细胞工程技术，把它变成了现实。目前，细胞工程已获得了很大的进展，在农业、医药、畜牧业等方面都取得了一些开放性的成果，产生了明显的经济效益和社会效益。假设你现在是一名从事细胞工程研究的专家，对细胞工程某一领域的研究很感兴趣，并致力于该领域的研究工作。请你撰写一篇论证报告，以获得有关部门对该研究的支持和资助。

▲ 研究计划

1. 充分查阅有关文献，掌握第一手资料。
2. 论证报告中，要提出你感兴趣的细胞工程某一领域的研究目的、意义、国内外的发展趋势、研究方法和手段、预期的研究成果等。
3. 给出进行该项研究的若干条理由。

▲ 总结交流

与同学交流你的论证报告，看谁的报告最有说服力。

第一节 动物细胞培养

通过饲养家禽和牲畜，我们可以从完整的动物体获得一些产品，如肉、蛋、奶等。如果我们以细胞作为“饲养”的对象，会有什么收获呢？细胞培养(cell culture)是细胞工程中最基础的技术，它是把机体的某一组织或器官取出，分散为单个细胞，使其在人工培养条件下继续生存、生长甚至增殖的过程。

1 细胞培养的基本条件

动物细胞培养的研究已经持续了100多年，但早期的研究很不理想，其中一个重要原因是没有很好地满足离体细胞对各种条件的需求。



培养动物细胞需要的条件

科学工作者在培养动物细胞的过程中，通过不断地探索和研究，已经基本了解了动物细胞所需要的各种条件，培养动物细胞的方法也已日益成熟。请你仔细阅读下列有关资料。

[资料1] 细菌、真菌和病毒等均可造成细胞培养环境的污染，而离体培养的细胞已经失去了对微生物和有毒物质的防御能力，一旦受到污染或有毒自身代谢产物积累等，培养的细胞就会死亡。

[资料2] 人体细胞培养的标准温度为 $36.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，偏离这一温度范围，细胞的正常代谢就会受到影响。培养的细胞对低温的耐受能力高于对高温的耐受力。

[资料3] 开放培养时一般把细胞置于95%空气和5%二氧化碳组成的气体环境中。氧气参与细胞的呼吸作用，二氧化碳可以调节、维持培养基的pH。大多数细胞的适宜pH为7.2~7.4。

[资料4] 培养的细胞就像体内细胞一样，需要一些基本的营养物质和生长因子，如氨基酸、葡萄糖、无机盐、维生素、核苷酸等。不同组织来源的细胞需要不同的生长因子，而且需求量也不同，所以必须精心设计这些成分的搭配比例。

分析讨论

1. 体外培养细胞时需要哪些物理条件和化学条件？
2. 人们曾尝试过用温热的盐水、动物的血清、鸡胚浸出液等来培养细胞，这些材料能满足细胞的哪些需求？

动物细胞非常娇贵，对营养条件要求高、适应性差、容易污染，因此在进行体外培养

时,必须模拟细胞在体内生存的良好环境和物质代谢过程,为其提供必需的营养物质、适宜的酸碱度、渗透压、温度、二氧化碳以及严格的无菌条件。

2 细胞培养的过程

原代培养

将组织块从健康动物体内取出并剪碎,用浓度与活性适中的胰蛋白酶使组织分散成单个细胞,然后用培养基配成一定浓度的细胞悬浮液,转入培养瓶中进行培养。这个过程称为原代培养(primary culture)(图1-2-1)。

细胞在培养基中悬浮生长一段时间之后,大部分细胞会贴附在培养瓶的表面生长,我们把这种现象称为贴壁生长(图1-2-2)。多数哺乳动物的细胞具有贴壁生长的特征,也有一些细胞如淋巴细胞,它们能够持续在悬浮状态下生长。悬浮培养易于大规模生产,但能够悬浮生长的细胞种类是有限的。

传代培养

当贴壁生长的细胞分裂生长到表面相互接触时,就会停止分裂增殖,逐渐走向衰亡,这种现象叫做接触抑制(contact inhibition)。这时我们需要用胰蛋白酶将它们脱离下来,重新分散成细胞悬浮液,分装到多个培养瓶中继续培养。这个过程称为传代培养(subculturing)。

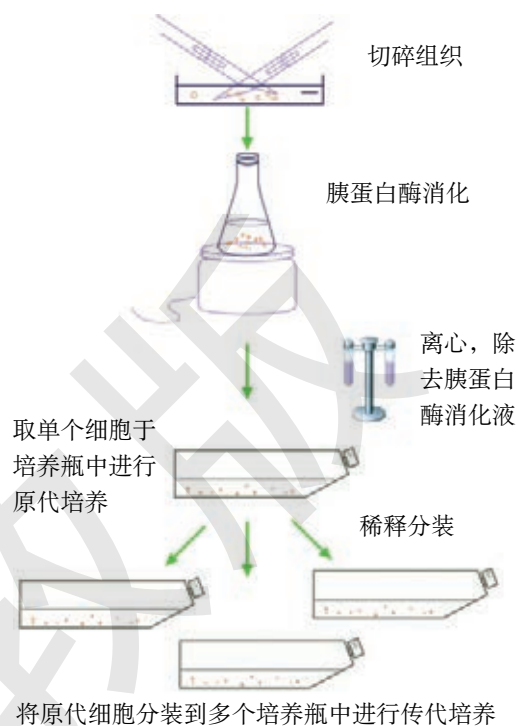


图1-2-1

动物细胞的培养过程示意图

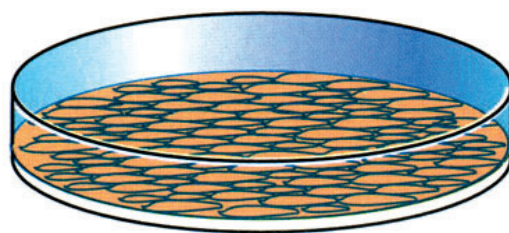


图1-2-2

贴壁生长模式图

细胞株与细胞系

原代培养的细胞一般传至10代左右,细胞的生长就会出现停滞,大部分细胞衰老死亡。但极少数细胞能存活下来并继续传下去,一般还可以顺利地传至40~50代,这种传代细胞被称作细胞株。一般情况下,当细胞株传至50代以后会再次出现停滞,不能再传代。但有部分细胞的遗传物质发生了改变,并带有癌变的特点,从而有可能在培养条件下无限制地传下去,这种传代细胞叫做细胞系。

相关链接

冻存及复苏

在培养细胞的传代及维持过程中，我们有时需要将培养的细胞保存起来，并在需要时使它们复苏以供研究使用。

保存细胞的措施主要是降低温度。短期和临时性的保存可以采用一般的低温，如哺乳动物的细胞在4℃左右可存活几十天甚至几个月。长期保存细胞的方法，目前一般采用超低温冻存法，即将细胞和保护剂放入-196℃的液氮中进行保存。在超低温环境下，细胞的代谢活动降到了最低点，近似于“休眠”状态。

当需要这些细胞时，我们可以随时将它们取出，迅速放入37℃温水中解冻，细胞便会逐渐“苏醒”过来。再经过培养，细胞就能继续生长。

3 细胞培养的意义

细胞培养技术的应用是多方面的。酶、生长因子、疫苗、单克隆抗体等许多有重要价值的生物制品，都可以借助于动物细胞的大规模培养来生产。利用细胞培养还可以进行有毒物质和药物的检测，如将待测物质加入培养液后，根据变异细胞占全部培养细胞的比例来判断该物质的毒性高低。一些培养细胞在临床治疗上具有可喜的应用前景。例如：利用大面积烧伤或烫伤病人自身的皮肤细胞培养出人工皮肤，供受伤者移植使用，可以避免移植他人皮肤后所出现的免疫排斥反应（图1-2-3）。

细胞培养技术在基础研究中也发挥了重大作用。近年来细胞生物学一系列主要的理论研究进展，如细胞全能性(totipotency)的揭示，细胞周期及其调控，癌变机理与细胞衰老的研究等，都是与细胞培养技术分不开的。

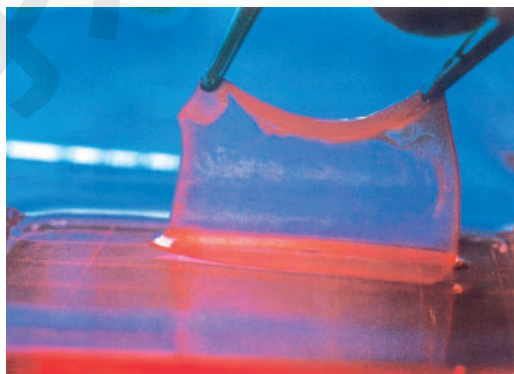


图1-2-3

在器皿里培养出来的人工皮肤

巩固提高

1. 简述动物细胞培养的基本过程。
2. 通过动物细胞培养能否获得一个完整的动物个体？这一事实说明了什么问题？

第二节 植物组织培养

“春风欲擅秋风巧，催吐幽兰继落梅。”素有“天下第一香”之称的兰花（图1-2-4），以其优美高雅的叶片和芳香艳丽的花朵，自古以来就是文人墨客吟诗作赋的对象。但是，兰花在自然条件下播种繁殖的难度很大，需要较长时间才能获得少量幼苗。如何才能满足人们对兰花的需求呢？科学家在细胞全能性的理论基础上发现了兰花快速繁殖的技术——植物组织培养。



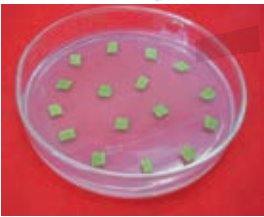
图1-2-4
兰花

1 植物细胞的全能性

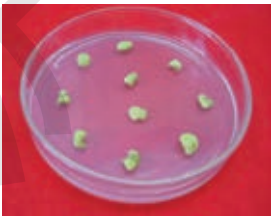
一个植物体的全部体细胞，都是从受精卵经过有丝分裂产生的，具有发育为完整个体所必需的全套遗传物质。所以，从理论上讲，植物体的每一个活细胞都具有形成完整植物体的遗传潜能。植物细胞的这种特性就叫做全能性。

在植物体内，细胞并没有表现出全能性，而是分化成为不同的组织和器官，这是基因在特定的时间和空间条件下选择性表达的结果。但是，它们的遗传潜力并没有丧失，全部遗传信息仍然被保存在DNA的序列当中，一旦脱离了原来组织器官的束缚，成为游离状态，在一定的营养条件和植物激素的诱导下，细胞就能表现出全能性，发育成完整的植株。

2 植物组织培养技术



①烟草叶片种植到培养基上



②产生愈伤组织



③愈伤组织增殖



④把愈伤组织转移到生芽培养基上再分化产生小芽



⑤将小芽切下接种到生根培养基中



⑥培养基中的试管苗

图1-2-5

植物组织培养基本原理示意图

植物组织培养(tissue culture)就是利用植物体的离体器官、组织或细胞，无菌条件下在含有营养物质的培养基上，给予适宜的光照、温度、湿度等环境条件进行人工培养，使其增殖、生长、发育而形成完整的植株（图1-2-5）。

植物组织培养技术的核心是诱导离体的植

物器官、组织或细胞脱分化(dedifferentiation)形成愈伤组织和诱导愈伤组织再分化(redifferentiation)。

植物细胞的脱分化

离体的植物器官、组织或细胞,称为外植体(explant)。外植体细胞通常是处于静止状态的成熟细胞。创伤和外源激素可以使外植体细胞的合成代谢活动加强,迅速进行蛋白质和核酸的合成,不断分裂增生,形成愈伤组织。由高度分化的植物器官、组织或细胞产生愈伤组织的过程,称为植物细胞的脱分化。愈伤组织的细胞排列疏松而无规则,是一种高度液泡化的呈无定形状态的薄壁细胞(图1-2-6)。

愈伤组织形成以后,如果在原来的培养基上继续培养,就会由于培养基中营养不足或有毒代谢产物的积累,导致愈伤组织停止生长,甚至老化变黑乃至死亡。如果要想愈伤组织继续生长增殖,必须定期地将它们分成小块,接种到新鲜的培养基上,这样愈伤组织就可以长期保持旺盛的生长。

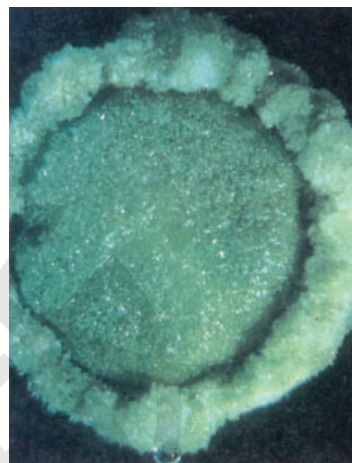


图1-2-6
愈伤组织

植物细胞的再分化



探究活动

影响植物细胞再分化的因素

只有满足了某些条件,愈伤组织才会发生再分化,产生芽和根,进而发育成完整植株。阅读下列有关资料,分析影响植物细胞再分化的因素。

[资料1] 在快速繁殖颤杨时,如果我们将一个枝条平均分成三段,结果发现,靠近顶端的那一段枝条的侧芽离体培养时繁殖系数最高,中间的次之,基部的最低。

[资料2] 用不同种类和比例的植物激素处理离体培养的烟草茎髓,发现当细胞分裂素/生长素的比值低时诱导根的分化;两者比值处于中间水平时,愈伤组织生长而不分化;两者比值较高时,则诱导芽的分化(图1-2-7)。进一步研究发现,不同植物的愈伤组织分化时所需要的激素比值是不一样的。

[资料3] 在研究烟草组织培养时发现,烟草芽的形成以18℃为最好,在12℃以下、30℃以上,芽的形成率很低。

分析讨论

1. 植物组织培养过程中,哪些因素影响了愈伤组织的分化?
2. 生长素和细胞分裂素对植物的生命活动有哪些调节作用?

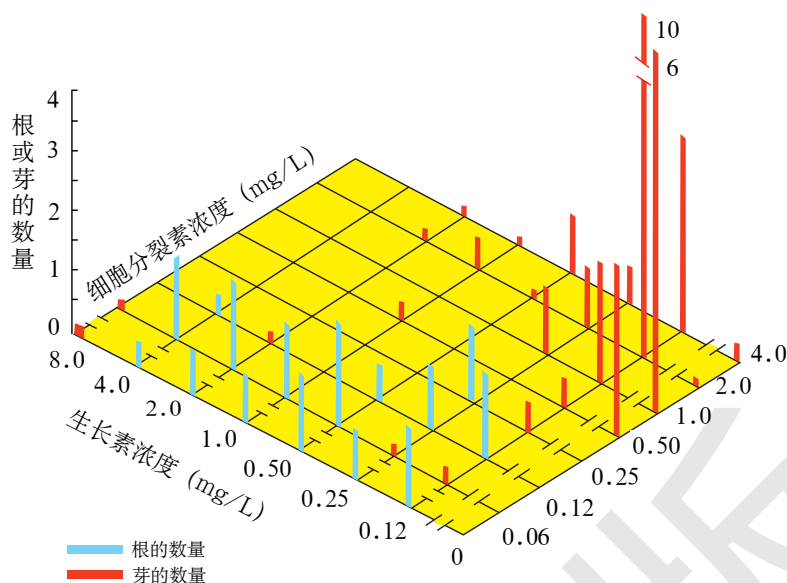


图1-2-7

植物激素对细胞再分化的影响

愈伤组织继续培养可以重新分化形成根或芽等器官,这一过程称为植物细胞的再分化。外植体的遗传特征、取材的位置都会影响愈伤组织的再分化能力。培养基的成分和物理性质都会对器官的发生有一定的影响,但起决定作用的是植物激素,特别是生长素和细胞分裂素的配比。培养环境中的光照和温度也会影响愈伤组织的分化能力。

愈伤组织的再分化主要有两种方式。一种是不定芽方式,就是在某些条件下,愈伤组织的细胞发生分化,形成不同的器官原基,再逐渐形成芽和根(图1-2-8)。另一种是胚状体方式,就是由愈伤组织诱导分化出的具有胚芽、胚根、胚轴的类似于胚的结构。能够产生胚状体的愈伤组织常见于胡萝卜、芦笋、玉米和小麦等植物。

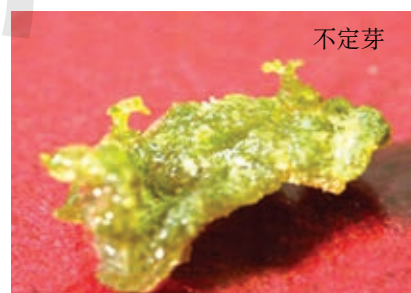


图1-2-8

再分化的不定芽方式

侧芽增殖

细胞分裂素能够打破植物的顶端优势现象。所以利用侧芽进行增殖时,培养基中要加入细胞分裂素,它能促进侧芽不断分化和生长,逐渐形成芽丛。如果反复切割和转移到新的培养基上传代培养,就可在短期内得到大量的芽。侧芽增殖的主要优点是能保持遗传的稳定性。

相关链接

得到了有根、茎、叶的幼苗以后,人们习惯上采用“过渡处理法”,逐渐地改变环境,使之逐步由人工培养环境过渡到自然环境。出瓶苗移栽时要使用消毒的土壤,注意保湿和保温,同时还要补充营养液等。经历一定的炼苗处理后,这些幼苗就能够顺利成活了。

3 植物组织培养的应用

由于植物组织培养技术在提高农作物产量、培育农作物新品种等方面具有广阔的应用前景，因此越来越受到各国科学家的重视，已经成为现代农业生产中重要的技术手段。

植物快速繁殖

我们将植物的组织切碎后，接种到培养基上，通过脱分化和再分化形成根和芽，就可以建成该种植物的无性繁殖系。将得到的无性繁殖系经过反复地分割和扦插，即可达到几何级数的增殖，这个过程就是所谓的快速繁殖。目前，该项技术已广泛应用于生产实践中。如兰花、菊花等观赏植物的快速繁殖已经获得成功，甘蔗、香蕉等作物的试管苗也已经大量推广种植。（图1-2-9）。



图1-2-9

香蕉试管苗的大规模生产

培育无病毒植株

病毒是影响农作物产量和质量的重要因素之一，目前仍然没有特效防治药物。植物病毒主要通过病媒昆虫或其他原因造成的植物茎叶损伤入侵植物体，在植物细胞中繁殖的病毒还可以不断感染其相邻的细胞，最终扩散至整个植株。但是，植物分生组织的生长点细胞一般不含病毒。切取生长点细胞，进行组织培养，就可以获得许多无病毒的分生细胞或脱分化的其他体细胞。进一步使这些无病毒细胞增殖、分化，最终就能够达到大量繁殖无病毒植株的目的（图1-2-10）。



图1-2-10

脱毒马铃薯（左）普通马铃薯（右）

生产植物产品

植物细胞在代谢过程中，能够产生一些有机化合物，如人参皂甙、奎宁、除虫菊酯、茉莉花油、番红素等，它们可以用作药物、杀虫剂、香料、色素等。以前，人们都是利用植物体来提取或合成这些有机化合物。现在，人们可以通过大规模培养植物细胞，从中提取这些物质。

制造人工种子

所谓人工种子（图1-2-11），就是将植物组织培养产生的胚状体包裹在能提供养分的

胶囊里，再在胶囊外包上一层具有保护功能的外膜，而形成的一种类似于种子的球状结构。在制造人工种子时，我们可以根据植物的需要选择最优化的营养配比，加

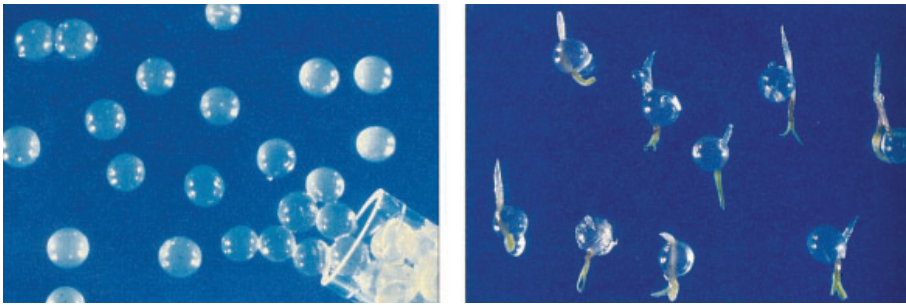


图1-2-11
人工种子（左）萌发的人工种子（右）

入某些农药、微生物、除草剂等。这样，就可使其具备天然种子不具备的功能，从而使其具有特殊的价值。人工种子具有育种周期短、便于贮藏和运输等优点，但由于受科技水平的限制，对人工种子的研究尚未完全过关，还存在着抗菌性差、萌发率低等不足。我们相信，随着组织培养技术的发展，人工种子将成为21世纪高科技种子业的主导技术之一，在农业生产中发挥重要作用。

巩固提高

1. 根据植物组织培养和动物细胞培养的过程填写下表，说明二者的不同。

比较项目	原理	培养基	结果	培养目的
植物组织培养				
动物细胞培养				

2. 运用植物组织培养技术能否大幅度地提高粮食产量？为什么？

植物组织培养技术在生产上已得到广泛应用。组成调查小组，对当地组织培养技术的应用情况进行调查研究。选择当地的大学、科研院所或花卉公司作为调查对象，分析当地应用这一技术的潜力，编制一份科技发展报告。报告要求：

1. 说明组织培养技术在当地的应用情况。
2. 分析组织培养技术在当地应用的成功经验和不足。
3. 介绍用组织培养技术开展生产的基本过程。
4. 提出发展组织培养技术的对策。

课外实践

第三节 细胞融合技术

2003年1月5日,“神舟”四号准确着陆。这次历时6天零18小时的太空飞行,开展了多项在轨研究,其中有一项被媒体描述成“太空婚礼”的生物实验。不过,“婚礼”中的“新郎”和“新娘”是一对对体细胞,作为“新房”的是一个黑色的小盒子——电融合仪。原来,这是科技工作者在空间微重力条件下进行的细胞融合(cell fusion)实验。

1 细胞融合技术

当两个细胞紧密接触的时候,在适当条件下,其细胞膜可能融合在一起,产生具有原来两个细胞遗传信息的细胞,称为杂交细胞(hybrid cell)。两个或两个以上的同种或异种细胞融合成一个细胞的过程,叫做细胞融合。



探究活动

观察鸡血细胞的融合现象

目的要求

1. 了解利用聚乙二醇诱导细胞融合的方法。
2. 观察细胞融合的现象。

材料器具

一龄公鸡的静脉血;体积分数为50%的聚乙二醇溶液、抗凝缓冲液、生理缓冲液、物质的量浓度为 0.145 mol/L 的NaCl溶液;显微镜、离心机、离心管、注射器、细滴管、试管、载玻片、盖玻片等。

活动程序

1. 鸡血细胞的制备

注射器内吸入2 mL抗凝缓冲液,将注射器内壁湿润,从鸡翼下静脉抽鸡血2 mL。拨下针头,将鸡血注入试管中,再加入6 mL抗凝缓冲液,混匀。

2. 离心

取制备的鸡血1 mL,加入离心管中,同时加入4 mL物质的量浓度为 0.145 mol/L 的NaCl溶液混匀, $1\,200\text{ r/min}$ 离心5 min。除去上清液,再以上述条件离心2次(5 min、10 min)。

3. 调节细胞浓度

将最后一次离心沉降的鸡血细胞,加入适量的生理缓冲液,使之成为10%悬液,混匀待用。

4. 诱导细胞融合

取细胞悬液各1 mL,分别放入甲、乙两支试管。在甲试管中逐滴加

入0.5 mL体积分数为50%的聚乙二醇溶液，充分混匀后，静置2 min。

5. 镜检

用细滴管从甲、乙试管分别取悬液一滴于载玻片上，制成装片。然后分别放在显微镜下观察。计算鸡血细胞的融合率：

$$\text{融合率} = (\text{融合细胞数} / \text{总细胞数}) \times 100\%$$

分析讨论

1. 注意观察不同程度的融合现象，尝试归纳细胞融合的过程。
2. 比较甲、乙试管镜检的结果，你能得出什么结论？

聚乙二醇具有强烈的吸水性以及凝聚蛋白质的作用，能使细胞膜表面的电荷发生变化，从而使细胞更容易相互接近和凝集，有效地促进细胞的融合。用人工方法诱导细胞融合，并在一定条件下使融合细胞分化再生、形成新物种或新品种的技术，叫做细胞融合技术。

实际上，在体外培养条件下，动物细胞也会自发地融合，但是频率极低。科学家们发现，有些病毒（如仙台病毒）能使培养的细胞发生融合。这些病毒表面含有一些糖蛋白和酶，它们能够与细胞膜上的糖蛋白发生作用，使细胞相互接近并紧密地凝集在一起，造成细胞膜上蛋白质分子和脂质分子重新排布，形成融合细胞（图1-2-12）。

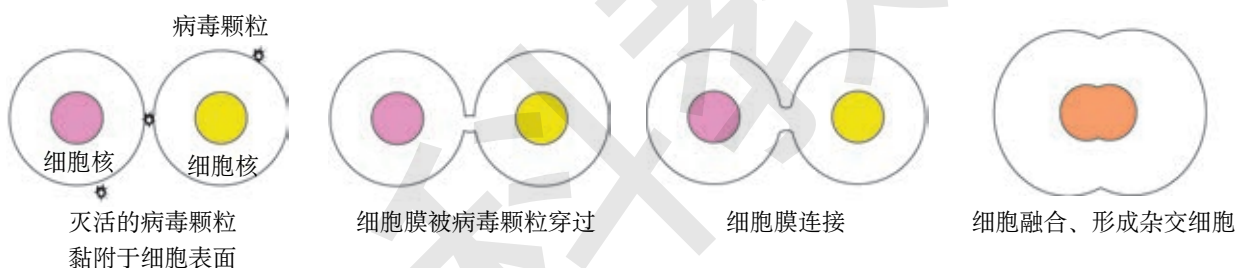


图1-2-12
病毒诱导的细胞融合示意图

利用病毒促进细胞融合，可能会对细胞的生命活动产生干扰，而聚乙二醇也有一定的毒性，对有些细胞（如卵细胞）不适用。20世纪80年代，科学家们发明了电融合技术，将两种细胞的混合液悬置于正负电极之间，施加很高的直流电脉冲，电压的作用使细胞膜表面的正电荷向靠近负极的一端聚集，而膜上的负电荷则向靠近正极的一端聚集，相邻细胞由于异性电荷的吸引而紧密接触，最终使两个或多个细胞相互融合（图1-2-13）。与聚乙二醇诱导的细胞融合相比，电融合法优点很多，如重复性强，对原生质体伤害小；装置精巧，方法简单，免去了聚乙二醇诱导后的洗涤过程；诱导过程可控性强。

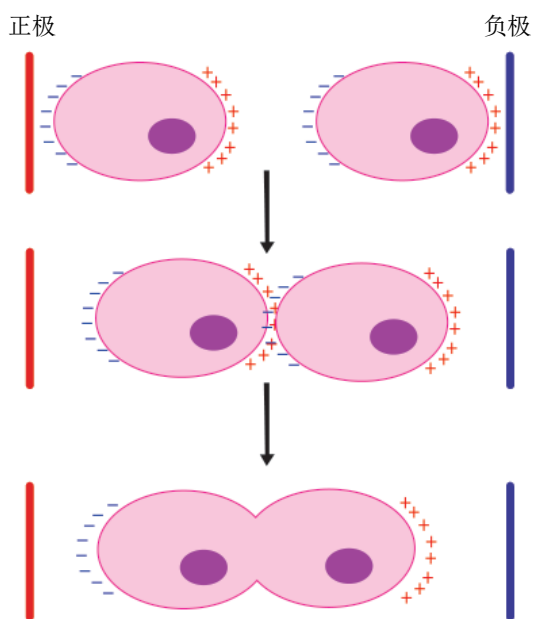


图1-2-13
电融合原理示意图

2 细胞融合与单克隆抗体

在外来抗原物质的刺激下，B淋巴细胞会产生针对该抗原物质的抗体。一个B淋巴细胞只能针对一种抗原决定簇产生一种特异性的抗体，源自一个B淋巴细胞的克隆所产生的抗体只会特异性地作用于一种抗原决定簇，我们将这种抗体称为单克隆抗体(monoclonal antibody)。那么，我们怎样才能从体内无数个细胞中找到这个淋巴细胞或它的克隆？然而即使能找到，这些B淋巴细胞也不能在体外大量扩增以产生足够的抗体，因为在体外培养的过程中，B淋巴细胞会很快死亡。

1975年，英国剑桥大学的科学家科莱尔(G. Kohler)和米尔斯坦(G. Milestein)利用细胞融合技术，成功地解决了这一难题。他们将小鼠骨髓瘤细胞与免疫小鼠的脾细胞(B淋巴细胞)进行融合，发现融合形成的杂交瘤细胞(hybridoma cell)既能够像骨髓瘤细胞那样在体外培养条件下快速生长和无限增殖，又可以像B淋巴细胞那样产生和分泌特异性的抗体。利用这一特点，我们就可以很容易地制备单克隆抗体了(图1-2-14)。

单克隆抗体具有理化性质单一、与抗原结合的特异性强等优点，所以一问世便受到欢迎和重视。特别是在医学领域里，在疾病诊断、防治和致病机理的研究等方面有广泛应用，具有很大的社会和经济效益。

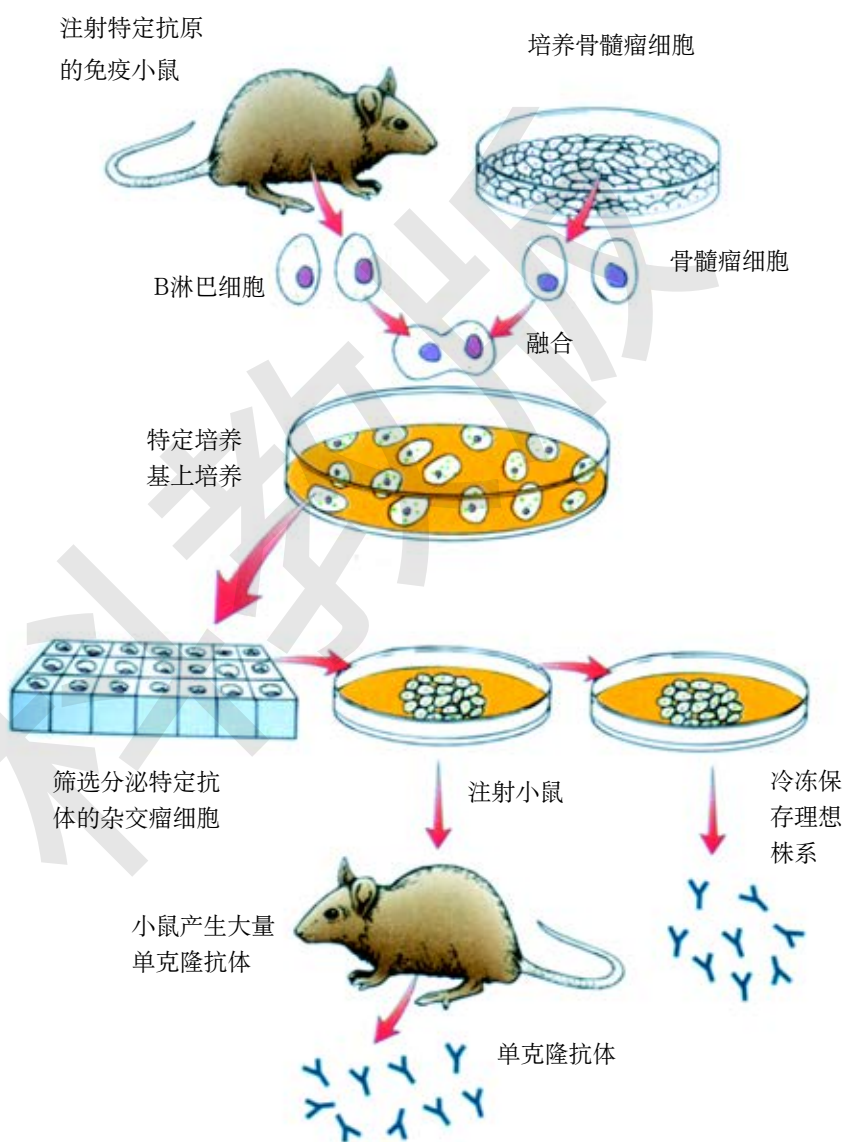


图1-2-14
单克隆抗体的制备过程示意图

“药物导弹”

利用单克隆抗体特异性识别抗原物质的特点，可以研制具有精确定位能力的抗癌“药物导弹”。“药物导弹”一般由两部分组成：一是单克隆抗体，由于它具有特异识别癌细胞的能力，所以将其作为“制导装置”，用于药物的导向和定位；二是抗癌药物，利用它的杀伤癌细胞的功能，作为“弹头”。“药物导弹”能够将弹头药物准确地引导到癌细胞表面予以攻击，可以提高抗癌药物的特异性和抗癌效率。目前，这种“药物导弹”已经开始进入临床应用（图1-2-15）。

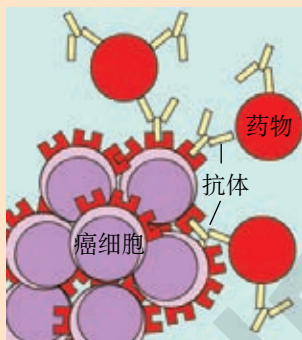


图1-2-15

药物导弹作用示意图

相关链接

3 细胞融合与作物育种

细胞融合技术在作物育种和种质创新上有其独到的意义。一般情况下，亲缘关系较远的植物进行杂交，往往表现为不能受精或是胚胎早期败育，因此常规的有性杂交很难获得种间或属间杂种。细胞融合技术就可以避免受精过程，在亲缘关系较远的物种间实现基因转移，创造出自然界没有的新物种。例如，用甘蓝与白菜的细胞融合，使得两个物种的染色体组相加，培育成了“白菜—甘蓝”（图1-2-16）。



图1-2-16

“白菜—甘蓝”

植物细胞融合

植物细胞的外面是一层细胞壁，这层细胞壁阻碍了植物体细胞的融合。因此，必须首先除去细胞壁，分离出有活力的原生质体。目前最常用的方法是酶解法，也就是在温和的条件下用纤维

相关链接

素酶、果胶酶等分解植物细胞的细胞壁。获得原生质体后，就可以进行植物细胞杂交了，所以，植物细胞杂交的过程，实际上是不同植物体细胞的原生质体融合的过程。

自发现细胞融合现象之后，人们对人工诱导细胞融合方法的研究不断深入，使其很快发展成为一门技术，并在科学研究和生产实践领域得到了广泛应用。我们有理由相信，这一技术将会有更加广阔的发展前景，将会对我们的生产、生活产生更加深远的影响。

巩固提高

1. 请你比较细胞融合的几种诱导方法，并填写下表。

	病毒诱导	聚乙二醇诱导	电诱导
优点			
缺点			

2. 以往获得抗体的方法是将某种抗原反复注射到动物体内，然后从该动物的血清中分离所需的抗体。这种方法有什么缺点？单克隆抗体技术是如何克服这些缺点的？

3. 植物细胞的外面是一层细胞壁，这层细胞壁阻碍了植物体细胞的融合。必须首先除去细胞壁，分离出有活力的原生质体。因此，植物细胞杂交的过程，实际上是不同植物体细胞的原生质体融合的过程。请回答下列问题：

(1) 进行植物体细胞杂交时为什么要去掉细胞壁？如何操作？

(2) 原生质体融合的标志是什么？我们应该怎样筛选出杂交细胞？

(3) 最终培育出的杂种植株是否可育？为什么？请你从理论上解释一下该项技术的现实意义。

除了课文中提到的用途外，单克隆抗体还广泛应用于各种检验。调查一些单克隆抗体应用于检验工作的实例，根据单克隆抗体的特性，说明这种检验方法的原理。

— 课外实践 —

第四节 干细胞工程

当壁虎遇到敌害时，它的尾部会自行断落，离体的尾巴转移了敌害的视线，壁虎也就逃脱了。壁虎的尾部有很强的再生能力，断尾以后会很快长出一条新的尾巴。其实，人体在生长发育的过程中，也保留了一部分未参与分化或未完全分化的原始细胞，一旦生理需要，它们可以按照一定的途径通过分裂、分化产生机体所需的细胞。这种具有自我更新和分化发育潜能的原始细胞称为干细胞(stem cell)。

1 干细胞分类

干细胞遍布于机体的全身，它们负责着机体的生长和发育，维持着机体的健康。干细胞不是一个简单的细胞群体，它由具有不同发育阶段、不同分化能力的细胞组成。按分化潜能的大小，干细胞可分为三种类型：全能干细胞、多能干细胞和专能干细胞。

全能干细胞具有形成机体的任何组织或器官直至形成整个个体的潜能。受精卵便是一个最初的全能干细胞，它可以分化出许多全能干细胞，如胚胎干细胞。提取这些细胞中的任意一个置于子宫内，就可能发育成一个完整的个体。多能干细胞具有分化成多种组织的潜能，但不能发育成完整的个体，如骨髓造血干细胞可以分化出至少12种血细胞（图1-2-17）。专能干细胞只能分化成某一类型的细胞，如神经干细胞只可分化为各种神经细胞。

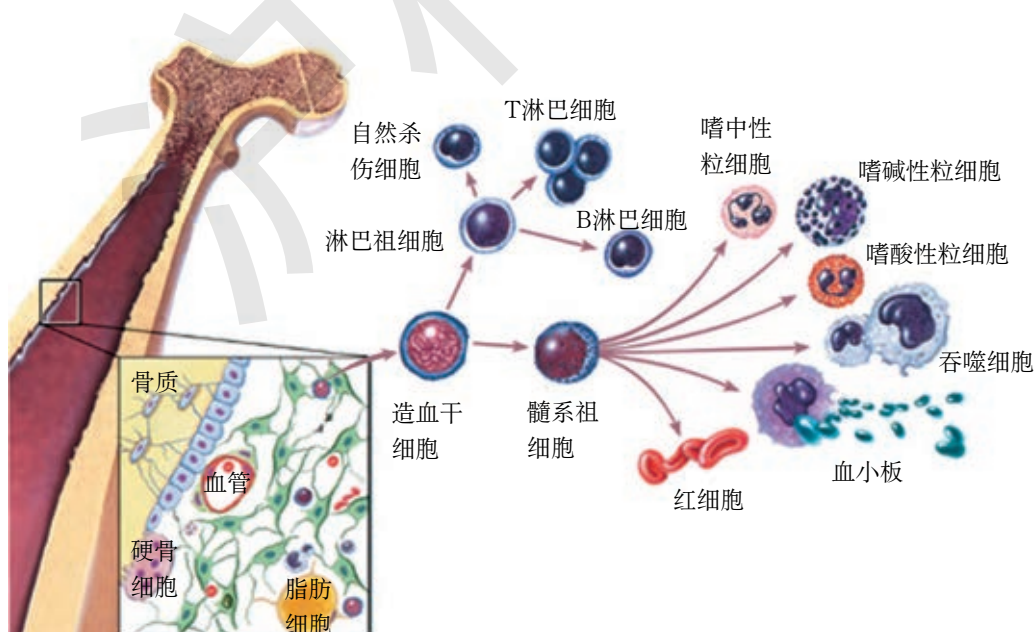


图1-2-17
造血干细胞的分化

2 干细胞工程

干细胞工程是指在体外对干细胞进行操作,包括体外增殖,定向诱导、分化,基因修饰和组织形成等,最终将干细胞培养成人们所需要的各种细胞、组织甚至器官。干细胞工程的科学价值在于其诱人的应用前景,用于细胞技术治疗疾病将是未来医学发展的方向。

造血干细胞移植

造血干细胞的基本特征自我维持和自我更新。正常情况下,造血干细胞主要进行不对称性的有丝分裂,在不断产生大量祖细胞的同时,自身不增殖也不分化,而造血祖细胞进一步分化为成熟的血细胞,释放进入血液,从而维持各种血细胞的数量和循环系统生理功能的稳定。在损伤后的修复过程中,或者在某些因素的刺激作用下,造血干细胞则通过对称性的有丝分裂,迅速实现自我更新。由于造血干细胞是所有血细胞的始祖细胞,这就决定了造血干细胞具有重要的临床应用价值。



造血干细胞的来源

早在1967年,科学家应用骨髓移植治疗白血病获得成功,开启了应用干细胞移植重建造血组织治疗血液和免疫系统疾病之先河。阅读下列有关造血干细胞的资料。

[资料1] 人体造血干细胞的80%以上储存在骨髓中,所以人们把早期的造血干细胞移植叫做骨髓移植。从正常人体中抽取一定量的骨髓,对人体不会有任何损害,骨髓中的造血干细胞会很快地通过自我更新而恢复到原来状态。

[资料2] 从外周血中分离造血干细胞的方法是:为捐献者注射一种细胞因子,如粒细胞刺激因子,诱使干细胞从骨髓迁移到外周血中。然后,在捐献者静脉中插入导管,使血液经过专门的分选系统,选出干细胞,将其他血细胞和血浆返回捐献者体内。

[资料3] 通常脐带和胎盘在胎儿分娩后就被抛弃。1988年,一位患有范科尼贫血病的儿童,首次接受脐带血移植,并获得了成功,这使医务工作者认识到了脐带血的重要价值。

分析讨论

1. 举例说明造血干细胞移植的意义。
2. 比较三种造血干细胞移植的优点和缺点。
3. 捐献适量的造血干细胞,为什么不会伤害捐献者的身体健康?

目前,临床使用的造血干细胞主要来自骨髓、动员后的外周血和脐带血。现在,造血干细胞移植已经成为临床治疗血液系统疾病、遗传性血液病、顽固性自身免疫性疾病、严

重免疫缺陷疾病以及癌症化学治疗与放射性治疗后免疫力低下等的有效手段。我国已经掌握了脐血干细胞分离、纯化、冷冻保存以及复苏的整套技术，并在上海建立了我国第一个脐血库。

由造血干细胞到祖细胞再到外周血细胞的这种分化调节过程相当复杂，依赖于多种因素的相互作用与平衡，并涉及细胞的增殖分化、发育成熟、迁移定居、衰老凋亡和癌变等生命科学中的许多基本问题，这也是基础研究的主要热点。

胚胎干细胞移植

胚胎干细胞的定向诱导分化

自20世纪80年代初小鼠的胚胎干细胞获得分离并建立细胞系以来，人们就开始了从胚胎干细胞向各类细胞分化的研究。下面是研究胚胎干细胞定向诱导分化的三个实验。

[实验1] 在小鼠胚胎干细胞培养液中加入骨髓基质细胞和造血生长因子，培养一段时间后，胚胎干细胞就可以分化为早期的造血干细胞。

[实验2] 撤去小鼠胚胎干细胞培养液中的分化抑制因子，2~5d后胚胎干细胞就会自发形成细胞团。将该细胞团加入到含有造血生长因子和红细胞生成素的培养液中，可以生成红系造血干细胞。

[实验3] 撤去小鼠胚胎干细胞培养液中的分化抑制因子，2~5d后加入分化诱导剂地塞米松，2~3d更换一次培养液，50d后，小鼠胚胎干细胞发育成了软骨细胞。

分析讨论

1. 科学家设计这几个实验的目的是什么？
2. 综合这几个实验的结果，你能得出什么结论？

胚胎干细胞移植的操作过程大致如下：

首先，将分离培养的胚胎干细胞进行遗传操作（如基因修饰等），建立可供移植的胚胎干细胞库。

然后，根据不同的移植对象和要求，将胚胎干细胞定向诱导分化为各种功能性细胞（如神经细胞等），或定向诱导分化为相应的干细胞（如神经干细胞等），最终移植输入到患者的体内（图1-2-18）。

利用胚胎干细胞移植技术有可能为部分细胞坏死的病人进行细胞移植，使病人恢复丧失的功能。例如，帕金森病人是因为大脑某个部位的结构发生变性，使其相应的功能丧失，平衡能力下降，身体颤抖。如果能用胚胎干细胞分化为特定的神经元细

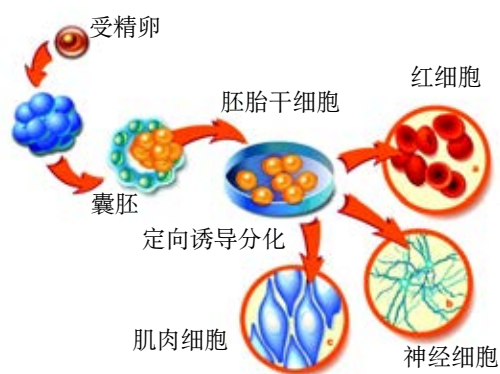


图1-2-18

胚胎干细胞的定向诱导分化示意图

胞来替代受损的脑细胞，就可以治愈帕金森病。将来，人们甚至可能会利用胚胎干细胞诱导分化出组织和器官，像更换机器零件一样更换人体坏死或功能不佳的组织和器官。

相关链接

胚胎干细胞移植面临的挑战

1. 如何维持干细胞在体外扩增时不分化？胚胎干细胞无论在体内外均具有自我分化潜能，极易分化为其他细胞。虽然在体外培养时防止干细胞分化方面已取得了重大进展，但对其培养条件的优化仍需进一步研究。

2. 如何定向诱导干细胞的分化？从理论上讲，胚胎干细胞可以分化成各种组织细胞，形成各种器官。然而，从胚胎干细胞向不同组织定向分化的条件尚不十分清楚，从而限制了胚胎干细胞的临床应用。

3. 如何克服移植排斥问题？创造一种“万能供者”细胞，需要破坏或改变细胞中的许多基因，其可行性仍不清楚；而通过核移植技术，是否会激活卵细胞的沉默基因，会不会改变染色体的结构等问题也需要进一步澄清。

总之，胚胎干细胞真正用于器官克隆和移植，还需要许多技术上的突破。

干细胞的应用不仅限于医学领域，由于大多数哺乳动物的胚胎发育过程非常相似，因此用同样技术，将会促进畜牧业、制药业等方面的蓬勃发展。

巩固提高

1. 麦克在3岁时失去了视力。一盏油灯在靠近他脸部的地方爆炸，撕裂了他的左眼，严重损伤了他的右眼角膜。现代医学的发展可以使他重见光明。思考一下，有哪些途径可以使麦克重见光明？

2. 阿尔茨海默病的病人一般要经历两次死亡。一次是心理死亡，病人不认识自己的亲人，找不到自己的家，甚至找不到自己的床；另一次是生理死亡。由于这种病发病率高，危害严重，被称为“世纪之病”。这种病的病因是大脑的生理变性。请你谈谈利用干细胞治疗这种疾病的可能性。

利用互联网搜集有关于干细胞分化研究新进展的资料，然后进行书面交流。

— 课外实践 —

第五节 克隆技术

《西游记》中的孙悟空神通广大，他能用毫毛“变”出若干个自己，令儿时的我们产生了许多美好的遐想。在人类跨入21世纪的前夕，科学家们创造了用成年哺乳动物的体细胞“复制”动物自身的奇迹，引发了全世界的克隆研究热潮。

“克隆”(clone)一词起源于希腊文“klone”，原意是用“嫩枝”或“插条”进行繁殖。用现代的观点来解释，克隆是指从一个共同的祖先，通过无性繁殖的方法产生出来的一群遗传特性相同的分子、细胞或个体。如果把它作动词用，就表示整个无性繁殖的过程。

1 克隆技术的研究历程

动物的体细胞具有全能性吗？

与植物细胞不同，在动物发育过程中，分化了的细胞不能通过培养的方式再产生完整的个体。这是否意味着，随着动物细胞的分化，它的全能性会逐渐丧失呢？为了解决这一问题，科学家们进行了不懈的探索。

[资料1] 1952年，美国学者布里格斯(R.W.Briggs)和金(T.T.King)将豹蛙囊胚期细胞的核取出，移植到去核的豹蛙卵细胞中，成功地孵育出了豹蛙的幼体。然而，当他们将分化程度更高的细胞核进行核移植时，则没有得到预期的结果。他们认为，这可能是由于发育过程中细胞逐渐丢失了部分遗传物质或遗传物质发生畸变引起的。

[资料2] 20世纪60年代初，戈登(J.Gurdon)等将非洲爪蟾蝌蚪的肠上皮细胞核移入去核的卵母细胞中，成功获得了完整的蝌蚪甚至成体的非洲爪蟾。但是，与早期胚胎细胞的核移植相比，这种体细胞核移植的成功率很低，只有2%左右。



图1-2-19
多利的研究者维尔穆特

[资料3] 由于技术操作等方面的困难，哺乳动物的核移植研究进展缓慢，直到20世纪90年代，才逐渐在一些哺乳动物上取得重大进展。1996年，世界第一例体细胞克隆羊——“多利”诞生了(图1-2-19)。此后不久，体细胞克隆鼠、兔、牛等也相继问世。

分析讨论

1. 你认为布里格斯等人对他们实验结果的解释正确吗？



2. 为什么用早期胚胎细胞进行核移植的成功率要比用体细胞进行核移植高?
3. 戈登等人的实验说明什么问题?
4. 你从克隆技术的研究和发展过程中得到了哪些启示?

体细胞克隆动物的成功,证明了动物的细胞核也具有全能性。在细胞分化的过程中,细胞核中的遗传物质没有发生本质上不可逆的变化,这将对动物发育过程中基因表达的调控以及发育生物学、遗传学等相关学科的发展产生深远的影响。

2 动物体细胞克隆的一般过程

我们以“多利”的培育过程为例,说明动物克隆技术的一般过程。

首先,从白脸母羊的乳腺中取出乳腺细胞,在体外进行培养。取出黑脸母羊的卵细胞,经显微操作方法移去细胞核。然后,用电融合方法,将乳腺细胞与去核卵细胞融合成杂交细胞,并用电刺激法使杂交卵细胞进行分裂。将发育成的早期胚胎移植到一个黑脸“代孕”母羊的子宫里,胚胎在“代孕”母羊的子宫内发育148天后,诞生了多利(图1-2-20)。

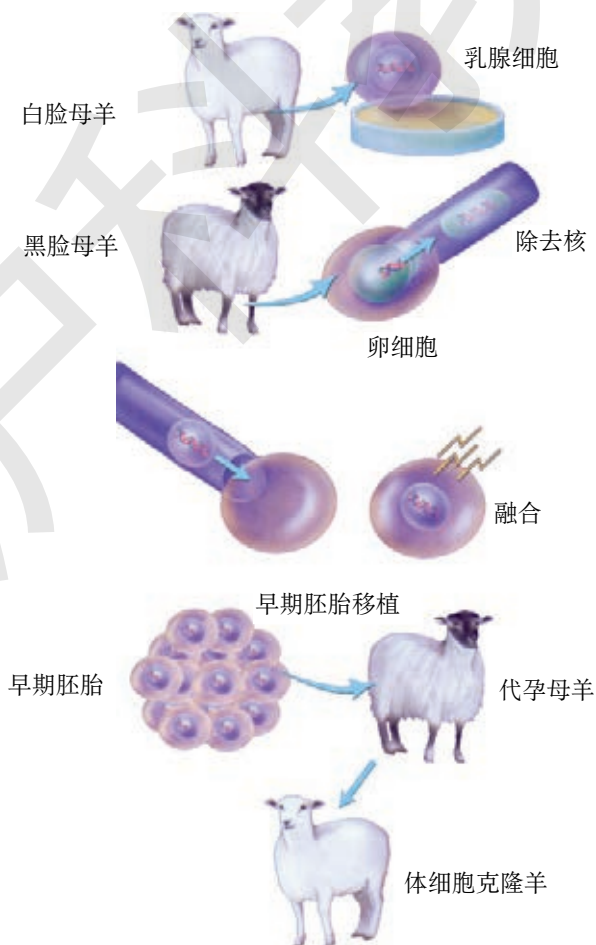


图1-2-20
“多利”的克隆原理和过程示意图

多利并不是通过正常的精卵结合孕育产生的，而是通过人工无性繁殖技术“创造”出来的。因此，它只有遗传学上的“原本”和一个象征性的“代孕妈妈”，而没有传统意义上的父亲和母亲（图1-2-21）。



图1-2-21
“多利”和它的“原本”

利用体细胞克隆技术，人们可以获取遗传物质相同的细胞作为供体进行核移植，并且对这些供体细胞进行一系列复杂的遗传操作，从而为大规模繁育动物优良品种和生产转基因动物提供了有效方法。

首先，利用克隆技术可以快速培育具有优良品质的家畜，并且可以保证家畜的优良性状不会丢失（图1-2-22）。而用传统的有性生殖方式培育良种家畜，不但需要花费很长的时间，而且优良性状难以在后代中得到长期的保持。



图1-2-22
克隆牛和它的“代孕妈妈”

其次，克隆技术在制造基因工程药物方面的设想和应用有着十分诱人的前景。在生物反应器研究方面，可以先将编码某种生物因子的基因转入体细胞中，再从这些体细胞中筛选出整合有外源基因，而且能高效表达外源基因产物的杂交细胞。由于这些体细胞易于进行体外培养、遗传操作和检测，因而同受精卵的转基因方法相比，减少了盲目性，提高了成功率。利用这种杂交细胞的核进行动物克隆，产生的转基因克隆动物，就可以高效地通过乳腺等器官分泌所需要的生物因子。

第三，克隆技术是保护动物遗传资源和生物多样性的有效手段之一，为保护和拯救濒危动物开辟了一条新途径。例如，大熊猫在自然条件下的繁殖速度很慢，长期处于濒危状态。1997年3月，中国科学院动物研究所率先提出了克隆大熊猫的设想。1999年，他们将大熊猫的体细胞核植入去核后的兔卵细胞中，成功地培育出了大熊猫的早期胚胎。克隆大熊猫面临的关键问题正在逐步得以解决。

治疗性克隆

考虑到器官移植的免疫排斥反应，科学家们将胚胎干细胞技术同克隆技术相结合，提出“治疗性克隆”的新思想。即从拟移植组织或器官的病人身上取出一个细胞核，显微注射到一个去核的供体卵中，该卵经卵裂形成囊胚，从囊胚中取出内细胞团并培养成胚胎干细胞。将胚胎干细胞定向诱导分化成拟移植的组织或

器官，移植到病人体内，就不会产生免疫排斥反应了（图1-2-23）。

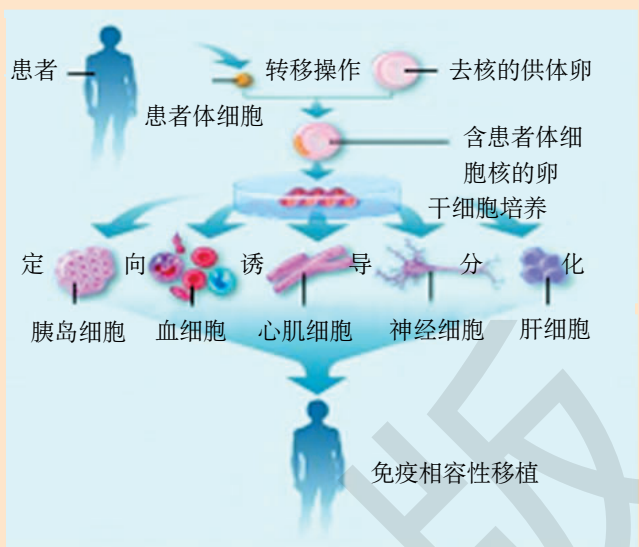


图1-2-23

治疗性克隆的一般过程示意图

4 克隆技术存在的问题

在实践中，克隆动物的产业化还有很漫长的路要走。首先，克隆动物的成功率很低。维尔穆特研究组在培育“多利”的实验中，用了434枚去核卵进行融合，只获得了277枚融合细胞，这些核移植的卵只有29枚发育成早期胚胎。将这29枚早期胚胎移植到13只“代孕”母羊子宫中，最终只得到一例克隆动物。其他动物克隆实验的成功率也都比较低，即使是用最先进的技术和手段、使用分化程度很低的细胞作为核供体进行克隆实验，其成功率也只有百分之几。

另外，克隆动物的夭折率较高，不少体细胞克隆动物患有先天性疾病或出现生理缺陷。例如，许多克隆牛在降生后两个月内就死去；有些克隆牛犊的胸腺、脾和淋巴腺未得到正常发育等。即使是正常发育的“多利”，也被发现有早衰迹象。2003年2月14日，“多利”因患有进行性肺病而被研究人员实施了“安乐死”，共存活6年，而一般绵羊可活12年左右。

目前，克隆技术已经在技术和理论上取得了一些突破，但从总体上说，仍处于不断改进和完善的发展阶段。不过，这并不妨碍它在诸多领域中的应用与开发。这一技术的逐步成熟必将对相关产业的发展产生重要影响。

巩固提高

1. 图1-2-24为用两栖类动物卵所做的实验图解，据图回答：
(1)通过图中实验，你可以得出什么结论？

(2)克隆过程中的核移植操作为何常以卵细胞作为受体细胞?

(3)若用图中融合形成的细胞克隆多个蛙,可利用发育过程中哪些时期的细胞进行分离?

(4)目前克隆动物的方法除了体细胞核移植外,还有哪些?

2.克隆绵羊的问世引起了许多人对克隆人的兴趣,假如能够成功地克隆出伟大的科学家,试从生物性状的决定和影响因素等方面进行分析,克隆出的科学家是否完全具有“原本”的外貌、思想、气质和才能?

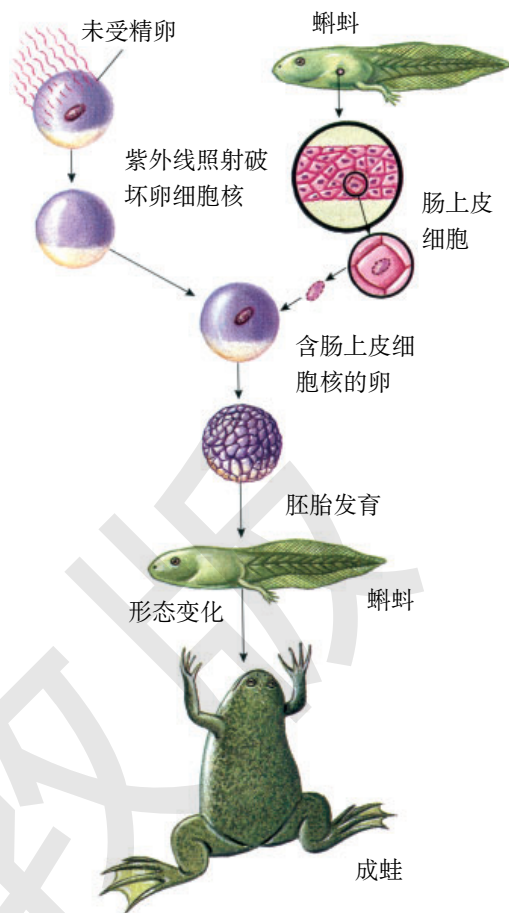


图1-2-24

- 1.利用互联网或其他媒体,搜集通过动物体细胞核移植进行克隆的实例,并对这些动物克隆的过程以及克隆动物的性状等加以描述。
- 2.通过调查了解大众对体细胞克隆动物技术的了解程度以及看法。
- 3.了解动物克隆技术的应用前景。

== 课外实践 ==



回顾总结

细胞工程是当今生物技术的重要组成部分,是指在细胞水平上按照人们的设计蓝图,有目的有计划地对细胞进行“施工”,使细胞的遗传学和生物学特性发生改变,从而对生物进行创造设计的技术。细胞工程的基本内容包括细胞培养、细胞融合、细胞核移植、动植物克隆等一系列技术。其中,细胞培养是细胞工程的基础技术;利用细胞融合技术可以创建动植物、微生物新品种,可以制备单克隆抗体;干细胞分离、培养以及定向诱导分化技术的应用,将为临床治疗各种疾病提供全新的方法和思路;体细胞克隆的成功,证明了分化的动物细胞核仍保持着全能性,而且,体细胞克隆技术还显示出诱人的应用前景。细胞工程中各种技术手段的综合应用,将会导致一场生命科学的革命。



我国动物克隆技术的发展与成果

在动物体细胞克隆领域，我国也经历了与世界相似的发展历程。在“863”计划等国家科技计划的大力支持下，我国科学家紧跟国际相关技术的前沿研究，结合我国的实际国情和动物体细胞克隆技术的实际意义及应用价值，通过不懈的努力，取得了一系列重大进展，在这一研究领域已经跻身于世界前列。主要研究成果如下：

1. 转基因体细胞克隆山羊

1999年10月，中国科学院发育生物研究所和扬州大学合作研究，经过艰辛努力，成功地采用克隆技术培育出转基因羊。即取普通山羊若干体细胞，在体外培养时就将外源基因整合到体细胞的染色体中，然后挑选出已含有外源基因即转基因的体细胞进行克隆，进而得到了转基因体细胞克隆山羊。此法克服了显微注射法的缺点，成功率大大提高。同时，这也使得大规模生产培育转基因羊技术取得突破性进展，大大加快了我国转基因动物制药的进程。

2. 体细胞克隆山羊

2000年6月，西北农林科技大学张涌教授研究组，采用山东小青羊的耳朵皮肤细胞，经过体外培养和核移植等操作过程，成功获得了体细胞克隆山羊。

3. 体细胞克隆牛

2001年10月，由中国农业大学农业生物技术国家重点实验室陈永福教授带领的克隆研究小组应用他们在新西兰实验室制作的冷冻克隆胚胎成功获得了克隆牛。

4. “胎儿皮肤上皮细胞”克隆牛

2001年11月，利用牛胚胎的皮肤上皮细胞作核供体细胞的克隆牛在山东莱阳农学院动物胚胎工程中心实验场诞生。

5. 体细胞克隆引进良种牛——荷斯坦奶牛和盖普威种公牛

2002年1月，中国科学院动物研究所陈大元教授的研究小组和山东中大动物胚胎工程中心，成功获得体细胞克隆荷斯坦奶牛和盖普威种公牛。克隆牛供核体细胞来源于两头优质成年牛的牛耳成纤维细胞，一头是高产荷斯坦奶牛，另一头是盖普威种公牛，受体卵母细胞来源于鲁西黄牛的卵巢。共生产克隆牛14头，其中13头为荷斯坦牛，1头为盖普威牛，现存活5头。

6. 体细胞克隆我国优质黄牛——红系冀南牛

2002年，中国农业大学李宁教授带领的课题组利用冀南牛纯种小母牛的卵巢和耳朵皮肤细胞成功克隆出第一头中国优质黄牛——红系冀南牛（图1-2-25）。



图1-2-25
体细胞克隆红系冀南牛