



第2节 动物细胞工程

——动物细胞培养

本节聚焦：

- 动物细胞培养需要哪些基本条件？
- 动物细胞培养的基本操作过程是什么？
- 怎样客观分析干细胞在临床上的应用所产生的效益与风险？

在治疗大面积烧伤时，通常采用的方法是取烧伤病人的健康皮肤进行自体移植。但对这样的病人来说，自体健康皮肤非常有限，使用他人皮肤来源又不足，而且会产生免疫排斥反应。**那么：**怎样才能获得大量的自体健康皮肤？能不能用自体皮肤的单个细胞培养出可供移植的皮肤？

可以从病人身上取取少量正常、健康的皮肤在**体外进行培养、扩增**。目前，科学家还在研究对**皮肤干细胞**进行培养，以获得适合临床上使用的人造皮肤。

——动物细胞培养



通过细胞培养构建的人造皮肤

一、动物细胞培养的条件

➤动物细胞培养：

指动物机体中取出**相关的组织**，将它**分散成单个细胞**，然后，放在**适宜的培养基中**，让这些细胞**生长和繁殖**的技术。

营养容易供应，代谢废物容易排出

①原理： 细胞增殖(有丝分裂)

②培养对象： 胚胎或幼龄动物的细胞（因为这些组织或细胞的生命力旺盛，分化程度低，分裂能力强，容易培养）。

③目的： 获得细胞或者细胞产物。

④作用： 人造皮肤的构建，动物分泌蛋白的生产等，是动物细胞工程的基础。

 **思考讨论：** 欲使动物细胞培养顺利进行，应营造怎样的环境？

一、动物细胞培养的条件

糖类、氨基酸、无机盐、维生素……



- ★ 无菌、无毒的环境
- ★ 适宜的温度、pH和渗透压
- ★ 适宜的气体环境

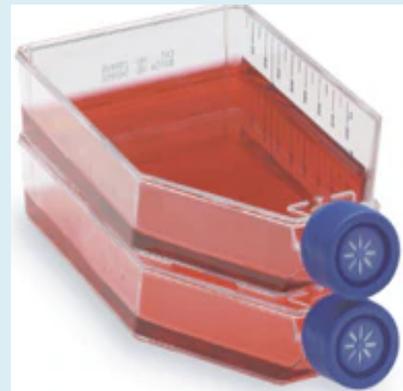
1. 营养：

〔合成培养基〕 + 〔血清〕

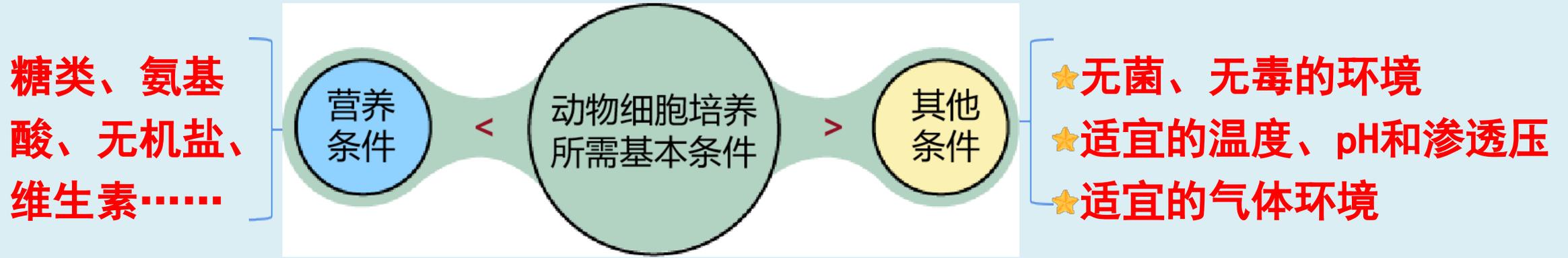
(1) **合成培养基**：将细胞所需的营养物质按种类和所需量严格配制而成的培养基，称为**合成培养基**。

(2) **血清**：由于人们对细胞所需的营养物质尚未全部研究清楚，在使用合成培养基时，通常需要加入**血清**等一些天然成分。

(3) **培养基类型**：**液体培养基**（培养液）



一、动物细胞培养的条件



2. 无菌、无毒的环境：

- (1) 对培养液和所有培养用具进行**灭菌处理**；
- (2) 在**无菌环境**下进行操作；
(可根据实际情况适量添加**抗生素**)

无菌

- (3) **定期更换**培养液

清除代谢物，防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害。

无毒

一、动物细胞培养的条件

糖类、氨基酸、无机盐、维生素……



- ★ 无菌、无毒的环境
- ★ 适宜的温度、pH和渗透压
- ★ 适宜的气体环境

3. 温度、pH和渗透压：

- (1) 适宜的温度：哺乳动物细胞培养的温度多以 $36.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 为宜；
- (2) 适宜的pH：多数动物细胞生存的适宜pH为 $7.2-7.4$ ；
- (3) 适宜的渗透压：目的是维持细胞正常的形态和功能。



4. 气体环境

- (1) 气体组成及作用： O_2 (细胞代谢所必需)； CO_2 (维持培养液的pH)。
- (2) 具体操作：



培养皿或松盖培养瓶 $\xrightarrow{\text{置于}}$ 含有95%空气和5% CO_2 的混合气体的 CO_2 培养箱

二、动物细胞培养的过程

➤取动物组织

1. 取材：动物**胚胎或幼龄动物的组织、器官**。
2. 原因：细胞**分化程度低，增殖能力强**，容易培养。

➤制成细胞悬液

1. 将组织分散成单个细胞

- ①方法：**机械法**或用**胰蛋白酶、胶原蛋白酶**等处理。
- ②原因：从动物体取出的成块组织中，细胞与细胞靠在一起，彼此**限制了生长和增殖**；能使细胞与培养液充分接触，更易进行**物质交换**。



进行动物细胞培养地常用胰蛋白酶分散细胞，这说明细胞间的物质主要是
什么成分？用胃蛋白酶行吗？

动物细胞间的物质**主要是蛋白质**；

不可以；胃蛋白酶作用的**适宜pH约为2**，当pH大于6时会失活，而多数**动物细胞培养的适宜pH为7.2-7.4**。

二、动物细胞培养的过程

➤ 制成细胞悬液

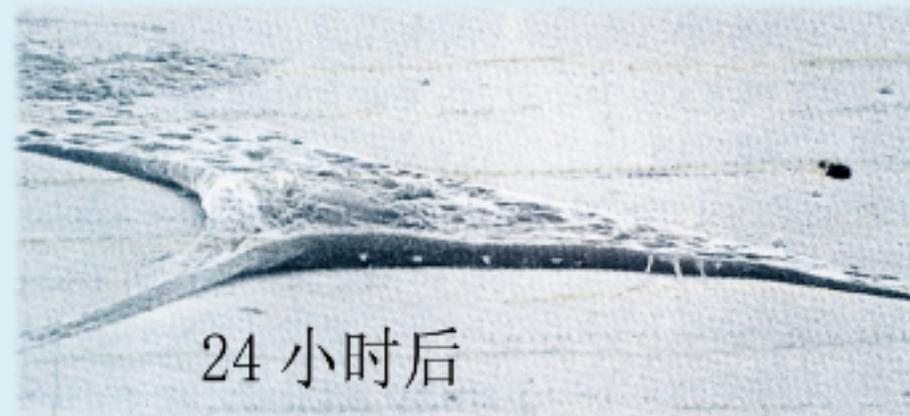
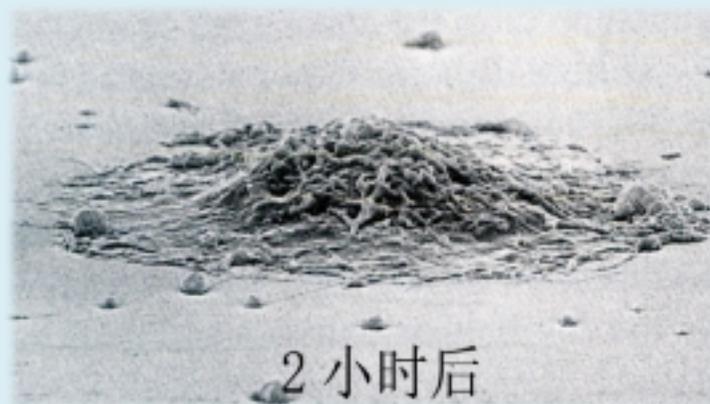
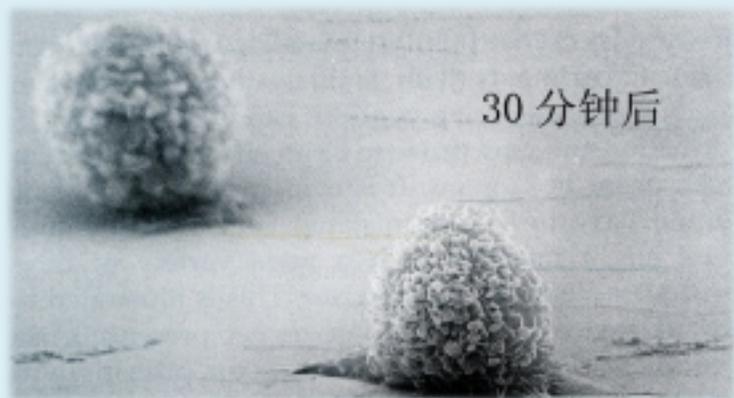
2. 用培养液将细胞制成细胞悬液

体外培养的动物细胞

- ①能够**悬浮**在培养液中生长增殖；
- ②需要**贴附**于某些基质表面才能生长增殖，大多数细胞属于这种类型，这类细胞往往贴附在培养瓶的瓶壁上，这种现象称为**细胞贴壁**。



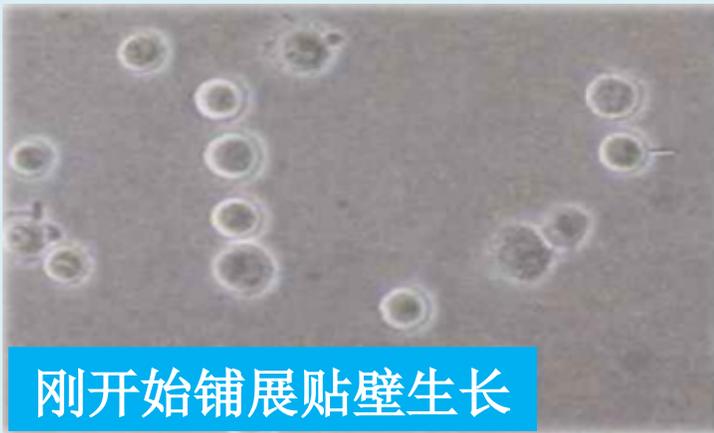
悬浮培养瓶



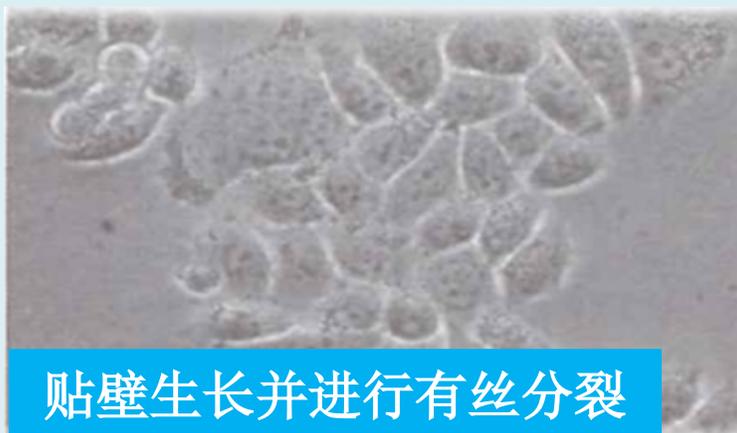
二、动物细胞培养的过程

➤ 原代培养

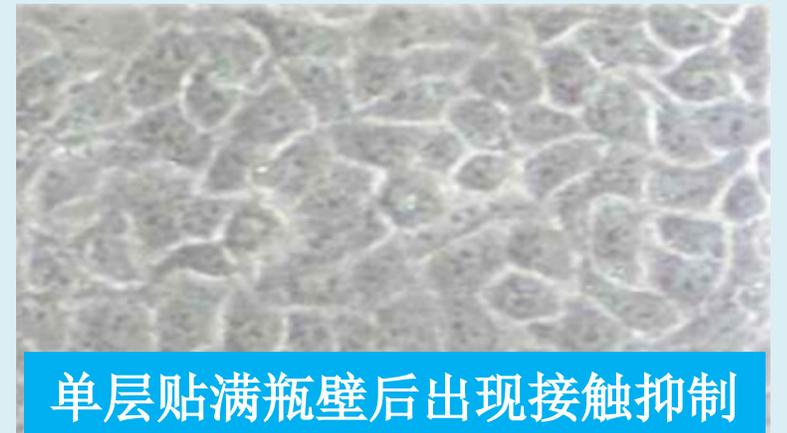
1. 概念： **分瓶之前**的细胞培养，即动物组织处理后的**初次**培养。
2. 操作方法： 将**细胞悬液**放入**培养皿**或**培养瓶**内，置于**适宜环境**中培养。
3. 两类细胞的生长特点：
 - ①**悬浮生长类**： 会因**细胞密度过大**、**有害代谢物积累**和**培养液中营养物质缺乏**等因素而**分裂受阻**。
 - ②**贴壁生长类**： 除受**密度**、**有害代谢物**、**营养物质**影响外，还会发生**接触抑制**现象（**当贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时，细胞通常会停止分裂增殖**）。



刚开始铺展贴壁生长



贴壁生长并进行有丝分裂



单层贴满瓶壁后出现接触抑制

二、动物细胞培养的过程

➤ 分瓶、进行传代培养

1. 传代培养：**分瓶后**的细胞培养

2. 需**分瓶**进行传代培养的原因：

悬浮培养的细胞会因细胞密度过大、有害代谢物积累和培养液中营养物质等因素而**分裂受阻**，贴壁细胞在生长增殖时，除受上述因素影响外，还会发生**接触抑制**现象。

3. 步骤：

①**收集细胞** { **悬浮生长类**：直接用**离心法**收集
贴壁生长类：重新用**胰蛋白酶**等处理，使之分散成单个细胞，然后再用**离心法**收集

②将收集的细胞**制成细胞悬液**，分瓶培养。



二、动物细胞培养的过程

➤ 传代培养

10~50代

使用或保存的细胞通常为**10代以内**，以保持细胞正常的二倍体核型**(遗传物质不改变)**；

部分细胞的细胞核型**可能会发生变化**，**增殖缓慢**，甚至完全停止。

这一阶段的细胞称为**细胞株**

这一阶段的细胞称为**细胞系**

继续培养
(50代以后)

大部分细胞
衰老死亡

少数细胞会**克服细胞寿命的自然极限**，获得**不死性**，这些细胞已经发生了**突变**，正朝**癌细胞**发展。

遗传物质**一定改变了**

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：
<https://d.book118.com/3362351040310114>