

哺乳动物生殖工程学



农业重大科学研究成果专著

MAMMALIAN REPRODUCTIVE  
ENGINEERING

李光鹏 张 立 主编

# 哺乳动物生殖工程学

科学出版社



科学出版社

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

# 哺乳动物生殖工程学

李光鹏 张 立 主编

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

本书以个体发生时序为主线,论述了哺乳动物生殖调控机理及其相关应用技术。对配子体外操作、体外受精、配子与胚胎保存、胚胎移植、性别控制、动物克隆、表观遗传、干细胞技术、发育的大数据分析、基因编辑与转基因动物制备等分别做了较为详尽的专门介绍。其主要特点是注重理论与实践的结合,系统阐述了各类生殖工程的基本原理与技术操作程序,融入了生殖工程学领域的最新研究进展,提供了大量实用的研究方法和应用技术,为生殖工程领域的科学研究、生产实践及解决动物繁殖与育种中存在的实际问题提供了可靠的实用工具。

本书可供生殖生物学、发育生物学、分子生物学、干细胞生物学、动物繁殖学、生殖医学等基础研究及生产一线工作者参考使用。

### 图书在版编目(CIP)数据

哺乳动物生殖工程学/李光鹏,张立主编. —北京:科学出版社,2018.10  
ISBN 978-7-03-058921-7

I. ①哺… II. ①李… ②张… III. ①哺乳动物纲—生殖—研究  
IV. ①Q959.805

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 218608 号

责任编辑:王 静 李秀伟 白 雪 / 责任校对:郑金红  
责任印制:肖 兴 / 封面设计:刘新新

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>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2018 年 10 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2018 年 10 月第一次印刷 印张:60

字数:1 420 000

定价:680.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

# 前 言

21 世纪以来,生命科学研究呈现出前所未有的发展速度。特别是生殖生物学基础理论与工程技术的研究,在动物体细胞克隆、干细胞研究、基因编辑技术等诸多方面均取得了里程碑式的成就。这些科学成就在揭示生殖发育机制、提高繁殖效率、加快品种改良、改善生殖健康水平、治疗生殖疾病等诸多方面发挥了重要作用,极大地推动了动物生殖工程学和人类生殖医学的快速发展。

本书以家畜和实验动物为研究对象,系统阐述了生殖调控相关理论、技术操作原理和程序,是作者多年从事相关科学研究和技术研发工作的经验积累,书中的相当一部分内容是作者科研成果的展示,并融入了生殖工程学领域的最新研究进展,阐述了大量实用有效的研究方法和应用技术,为生殖生物学领域的科学研究及解决家畜繁殖中存在的实际问题提供了一些有用的工具,对于从事本领域科研与生产的读者有一定的参考价值。

本书以配子发生、受精、胚胎发育、着床与分娩等个体发生时序为主线,论述了不同动物生殖调控机理及其相关技术的应用。其主要特点是注重理论与实践的结合,简明扼要地阐述了生殖生物学的基础理论,便于读者系统准确地理解工程技术原理。对生殖细胞体外培养、冷冻保存及胚胎移植等一系列常规技术做了较详尽的论述,便于读者在科研和生产实践中查阅参考。对体外受精、动物克隆、表观遗传学、基因编辑、大数据分析、干细胞研究等影响深远、意义重大的技术分别做了专门介绍,旨在引领读者对科学前沿的充分关注。

在本书撰写过程中,仓明教授参编第三章,杨磊博士参编第五章和第十八章,苏广华博士参编第七章,吴侠副教授参编第八章和第十六章,左永春教授参编第九章,李雪玲教授参编第十三章,魏著英博士参编第十四章,华进联教授参编第十五章,魏著英和苏小虎博士参编第十七章,白春玲博士参编第十九章,雪莲博士参编第二十章,郑重博士负责图片整理与文字校对,李煜教授协助主编负责全书的整体修改、编辑及联系出版等事宜,在此对全体参编人员表示衷心感谢!

在本书交付出版之际,衷心感谢职业生涯中给予我们精心培养、精神鼓励与关心呵护的老师们的和前辈们。广西大学卢克焕教授帮助审阅了“性别决定与性控技术”一章,内蒙古农业大学刘俊平教授帮助审阅了“动物的发情周期与同期发情”和“妊娠、分娩与产后母畜生殖调控”两章,西北农林科技大学郭泽坤教授为“基因编辑技术”一章提供了重要材料,向他们表示衷心的感谢。内蒙古大学实验动物研究中心的梁浩、岳永莉、赵宇航、刘雪霏、弓春玲、黄亚斐、高丽、高广琦、吕洋和王煜等老师和学生,西北农林科技大学的吴江、朱海鲸、李波和于萌等老师和学生,在资料查阅、图片制作、文字

校对等工作中做了大量细致的工作，在此表示衷心感谢。

尽管编者在编写过程中付出了极大的努力，但由于水平和知识面所限，以及学科的迅速发展，仍有许多不足和不妥之处，望读者批评指正。

主 编

2016 年 11 月于内蒙古大学

# 目 录

## 前言

绪论	1
一、人类对生殖活动的认知	1
二、生殖细胞	3
三、哺乳动物个体发生	3
四、生殖生物技术的发展	4
五、生殖生物技术在动物繁殖中的应用	9
六、生殖生物学基础研究的热点与发展趋势	10
参考文献	12
第一章 卵母细胞体外成熟	13
第一节 卵母细胞成熟的特征	13
一、卵丘细胞的成熟	13
二、透明带的成熟	15
三、卵母细胞的细胞膜成熟	16
四、卵母细胞的细胞核成熟	18
五、卵母细胞的细胞质成熟	22
第二节 卵母细胞体外成熟培养	25
一、卵巢卵母细胞的收集	25
二、卵母细胞成熟培养操作	27
三、小鼠卵母细胞体外成熟培养操作要点	29
四、家畜卵母细胞体外成熟培养操作要点	29
第三节 卵母细胞的质量评价方法	30
一、物理方法	31
二、化学方法	33
三、体外受精、体外胚胎培养评定法	35
第四节 影响卵母细胞体外成熟的因素	35
一、影响卵母细胞体外成熟的主要因素	35
二、促进卵母细胞体外成熟的措施	39
参考文献	40

第二章 体外受精 .....	43
第一节 哺乳动物体外受精的研究简史 .....	43
第二节 精液与精子的生物学特性 .....	46
一、精液的主要常规参数 .....	46
二、有关精子的一些生物学数据 .....	49
第三节 精子获能 .....	51
一、精子获能原理 .....	51
二、精子获能处理 .....	54
三、提高精子活力的措施 .....	59
四、精子获能的检测 .....	59
五、影响精子体外获能的因素 .....	62
六、体外诱导顶体反应 .....	63
第四节 实验动物的体外受精操作 .....	65
一、小鼠的体外受精操作 .....	65
二、大鼠的体外受精操作 .....	69
三、兔的体外受精操作 .....	72
第五节 家畜的体外受精操作 .....	74
一、牛的体外受精操作 .....	74
二、绵羊与山羊的体外受精操作 .....	78
三、猪的体外受精操作 .....	79
四、不同动物体外受精操作的主要参考指标 .....	83
第六节 显微受精 .....	83
一、显微受精研究概况 .....	83
二、ICSI 操作过程 .....	85
三、影响显微受精的因素 .....	89
四、ICSI 的转基因应用 .....	91
参考文献 .....	91
第三章 胚胎体外生产 .....	94
第一节 哺乳动物早期胚胎发育 .....	95
一、母源—合子基因转变 .....	95
二、致密化的桑椹胚形成 .....	100
三、囊胚形成机制 .....	102
四、囊胚孵化机制 .....	104
五、胚胎的细胞凋亡 .....	106
第二节 胚胎体外发育阻滞与胚胎能量代谢 .....	107

一、胚胎体外发育阻滞现象和机理	107
二、胚胎体外发育阻滞的克服	109
三、早期胚胎发育的能量代谢途径	111
第三节 培养系统	112
一、培养用具的选择与要求	112
二、气相条件	113
三、培养温度	114
四、光照	115
五、湿度	115
六、培养液	115
第四节 胚胎培养液	115
一、几种动物输卵管液的化学成分	116
二、培养液的种类和组成	117
三、培养液中主要成分的作用	126
四、培养液的配制方法	128
第五节 胚胎收集与胚胎培养体系	129
一、胚胎收集	129
二、胚胎培养体系	132
第六节 胚胎质量评价	136
一、胚胎细胞计数方法	137
二、胚胎细胞计数具体操作	139
三、胚胎与胎儿细胞的染色体分析技术	141
四、囊胚辅助孵化技术	143
五、胚胎细胞凋亡检测分析技术	145
六、哺乳动物早期胚胎蛋白质组学分析	147
七、代谢组学的胚胎质量评估	149
八、多潜能基因表达检测技术	150
第七节 胚胎体外生产与应用技术体系	151
一、牛胚胎体外生产技术体系	151
二、绵羊胚胎体外生产技术体系	158
三、山羊胚胎体外生产技术体系	162
参考文献	165
第四章 孤雌生殖与孤雄生殖	168
第一节 单性生殖的研究简史	168



一、朱洗与他的单性繁殖研究	168
二、哺乳动物的单性生殖研究	169
第二节 孤雌激活与孤雌生殖	170
一、孤雌激活的机理	170
二、孤雌激活的方法	172
三、孤雌激活操作	174
四、卵母细胞孤雌激活的类型	176
五、孤雌胚的发育	177
第三节 孤雄生殖	178
一、孤雄胚胎的制作方法	178
二、孤雄胚胎的发育	180
三、孤雄胚胎干细胞	181
四、单倍体胚胎干细胞	181
参考文献	183
第五章 动物克隆技术	186
第一节 细胞核移植的研究简史	187
一、细胞核移植技术设想的提出	187
二、无尾两栖动物细胞核移植研究	188
三、鱼类细胞核移植研究	189
四、哺乳类细胞核移植研究	190
五、异种动物的核移植	192
第二节 细胞核移植的基本程序	192
一、供体细胞的选择	192
二、受体胞质的选择	194
三、受体胞质与供体核的细胞周期同步性	195
四、核移植操作	196
五、细胞融合	198
六、克隆胚胎激活	200
七、克隆胚胎培养	203
八、克隆胚胎移植	204
九、克隆动物鉴定	204
第三节 小鼠体细胞核移植技术	204
一、小鼠核移植操作的基本程序	204
二、显微注射针的准备	206

三、去核针或注核针的安装及 Piezo 调试	207
四、卵母细胞的收集	208
五、去核操作	209
六、供核体细胞的准备	210
七、供体核注射	210
八、融合胚的激活和培养	211
九、克隆胚胎的移植	213
第四节 牛体细胞核移植技术	213
一、卵母细胞的成熟培养	213
二、体细胞培养与供核体细胞的选择	215
三、去核操作	218
四、注核操作	219
五、融合	219
六、融合胚的激活	219
七、胚胎培养和囊胚质量鉴定	221
八、囊胚的核型分析	221
九、胚胎移植和妊娠检查	222
十、克隆牛生产与克隆犊牛护理	223
十一、克隆牛的繁殖与应用	227
第五节 羊与其他动物的体细胞核移植技术	227
一、羊克隆技术要点	228
二、猪克隆技术要点	232
三、马(或骡)克隆技术要点	234
四、克隆动物研究进展	236
第六节 影响体细胞核移植的因素	237
一、体细胞克隆存在的主要问题	237
二、影响克隆效率的因素	239
第七节 克隆动物的健康与食品安全性	244
一、克隆动物的健康	244
二、克隆动物的行为	245
三、克隆动物的生态适应性	246
四、克隆动物的食品安全	250
第八节 异种核移植	251
一、异种核移植的研究历史	251

二、异种核移植胚胎基因组激活和基因表达	252
三、异种核移植胚胎线粒体异质性	253
第九节 胚胎分割	254
一、胚胎分割方法	255
二、分割胚的发育	257
三、胚胎分割技术存在的问题	259
四、胚胎分割技术的意义	259
第十节 嵌合体制作技术	260
一、嵌合体研究的目的与意义	260
二、嵌合体的制作方法	260
三、嵌合体分析	264
四、嵌合体技术的意义	265
参考文献	266
第六章 性别决定与性控技术	275
第一节 哺乳动物性别决定原理	276
一、性染色体上的性别决定基因	278
二、Sry 是 TDF 的证据	280
三、与睾丸决定有关的基因	282
四、与卵巢决定有关的基因	284
五、SRY 的作用及性腺细胞间的相互作用	286
六、动物性别决定模型	287
第二节 哺乳动物胚胎性别鉴定的传统方法	288
一、细胞遗传学方法	288
二、免疫学方法 (H-Y 抗原法)	289
三、H-Y <sup>+</sup> 精子与 H-Y <sup>-</sup> 精子的分离	290
四、X 染色体相关酶法鉴定胚胎性别	291
五、分子生物学方法	292
六、SRY-PCR 法	293
七、其他方法	294
第三节 X 精子、Y 精子分离技术	295
一、分离精子的理论基础	296
二、精液分离速度	298
三、分离精子准确率的评价方法	299
四、性控精液的产犊准确率	301

第四节 性控精液的应用	301
一、分离精子的人工输精	302
二、性控精液的体外受精	302
三、性控精液在奶牛生产中的应用	303
四、性控冷冻精液存在的问题	303
五、受精环境对哺乳动物性别形成的影响	304
参考文献	306
第七章 配子与胚胎保存	311
第一节 胚胎的短期保存	311
一、异种动物体内保存	312
二、胚胎的低温保存	313
第二节 程序化超低温冷冻保存技术	316
一、超低温冷冻保存的原理	316
二、冷冻保护剂	318
三、冷冻保存的方法	320
四、冷冻保存的操作程序	321
五、冷冻胚胎解冻后的活力鉴定	325
六、程序化胚胎冷冻研究进展	325
第三节 玻璃化冷冻保存技术	329
一、玻璃化冷冻保存的原理	329
二、玻璃化冷冻保存的操作要求	330
三、玻璃化冷冻方法	330
四、玻璃化冷冻保存具体操作	332
五、影响玻璃化冷冻效果的可能因素	334
六、玻璃化冷冻保存技术研究进展	336
第四节 卵母细胞的冷冻保存	338
一、卵母细胞的冷冻损伤	339
二、卵母细胞冷冻保存操作	341
三、卵母细胞冷冻保存进展与存在的问题	343
第五节 精液的冷冻保存	345
一、精液的冷冻过程及其对精子的损伤	346
二、精液稀释液中的添加剂	348
三、牛冷冻精液生产操作过程	350
四、羊冷冻精液生产操作过程	352

五、猪冷冻精液生产操作过程·····	354
六、精液冷冻保存的发展趋势·····	356
参考文献·····	357
第八章 配子与胚胎发生的表观遗传学·····	363
第一节 表观遗传学原理·····	364
一、DNA 甲基化与去甲基化·····	364
二、组蛋白修饰·····	367
三、染色质重塑·····	372
四、假基因·····	378
五、非编码 RNA·····	379
第二节 配子发生过程中的表观遗传现象·····	382
一、PGC 分化过程存在广泛的表观遗传修饰·····	382
二、雌雄生殖细胞印记的重建·····	385
三、精母细胞减数分裂过程中的表观遗传修饰·····	386
四、卵母细胞减数分裂过程中的表观遗传修饰·····	387
五、DNA 羟甲基化修饰·····	389
第三节 胚胎发育过程中的表观遗传学修饰·····	390
一、胚胎早期发育过程中的基因组 DNA 甲基化修饰·····	391
二、胚胎发育过程中的 DNA 羟甲基化修饰·····	392
三、胚胎发育过程中的组蛋白修饰变化·····	393
四、克隆胚胎中的表观遗传修饰·····	396
五、异种核移植胚胎的核重塑·····	401
第四节 表观遗传系统的生物学意义·····	403
一、表观遗传学与疾病·····	403
二、环境对表观遗传学的影响·····	408
三、表观遗传学在动物繁殖领域的应用前景·····	408
参考文献·····	409
第九章 组学大数据解析生殖发育调控·····	416
第一节 大数据与生命科学·····	417
一、大数据时代·····	417
二、大数据处理算法和软件·····	418
三、生物大数据的特征和应用·····	419
四、大数据“干”实验生物学·····	421
五、大数据生物学的发展趋势·····	422
第二节 大数据生物信息技术·····	423

一、生物信息学的多学科本质	423
二、生物信息技术的发展概况	424
第三节 大数据调控网络分析方法	426
一、系统生物学与模块化调控	426
二、基因模块聚类识别方法	428
第四节 组学技术概述	433
一、基因组测序技术	434
二、基因组研究策略	438
三、转录组技术	442
四、表观遗传组技术	444
五、蛋白质组技术	446
六、单细胞测序技术	447
第五节 配子发生的组学研究	448
一、精子发生的组学研究	448
二、卵子发生的组学研究	450
三、胚胎内生殖细胞遗传图谱解密	453
四、配子发生相关数据库	454
第六节 哺乳动物胚胎发育多层次协同调控	454
一、关键基因表达模块的精确化开启是早期胚胎正常发育的关键	455
二、非编码 RNA 调控早期胚胎发育	459
三、表观遗传修饰通过有序地开启/关闭基因表达来调控早期胚胎发育	462
四、染色质 DNA 空间局域构象是关键转录因子调控基因表达和表观遗传 修饰基因组 DNA 的充分条件	463
参考文献	464
第十章 动物的发情周期与同期发情	469
第一节 生殖激素	470
一、生殖激素的作用特点	470
二、主要的生殖激素	470
三、各生殖激素之间的相互关系	473
第二节 动物的发情周期与发情调控	473
一、家畜的发情周期	473
二、实验动物的发情周期	474
三、动物季节性发情的调控	474
第三节 发情周期内卵泡发育过程与发育模式	479
一、哺乳动物卵泡发育和卵子发生	479

二、卵泡发育和卵子发生有关的候选基因	481
第四节 诱导发情	482
一、发情调控理论	482
二、乏情期动物的诱导发情	483
三、催产素诱导发情	485
四、褪黑素诱导发情	486
第五节 同期发情	487
一、同期发情的原理	488
二、同期发情的药物	488
三、同期发情方法	489
四、影响同期发情的因素	491
五、发情鉴定	492
六、提高母畜繁殖率的措施	494
参考文献	494
第十一章 胚胎移植	496
第一节 胚胎移植的生理学基础与基本原则	496
一、胚胎移植	496
二、胚胎移植技术的生理学原理	498
三、胚胎移植的基本原则	500
四、胚胎移植的内容	501
五、胚胎移植的意义	501
第二节 供体动物的超数排卵	502
一、供体选择与饲养管理	502
二、超数排卵处理	503
三、超数排卵遇到的问题	507
第三节 人工授精与胚胎收集	509
一、母牛发情鉴定	509
二、人工授精技术	510
三、胚胎收集	511
四、拣胚技术	518
五、胚胎质量分级	519
第四节 受体动物的同期发情处理	522
一、受体选择	522
二、受体饲养管理	523

三、同期发情处理·····	523
第五节 胚胎移植的技术程序·····	524
一、手术法移植·····	525
二、非手术法移植·····	527
三、妊娠检查·····	529
四、妊娠受体的饲养管理·····	529
第六节 影响胚胎移植成功率的因素·····	530
一、供体方面·····	530
二、受体方面·····	532
三、操作技术问题·····	533
参考文献·····	534
第十二章 妊娠、分娩与产后母畜生殖调控·····	535
第一节 妊娠与围产期饲养管理·····	535
一、妊娠期母畜的饲养管理·····	536
二、围产期母畜的饲养管理·····	537
第二节 分娩调控·····	541
一、诱导分娩的意义·····	541
二、诱导分娩的原理·····	541
三、诱导分娩的方法·····	542
四、分娩助产·····	543
第三节 哺乳母畜与初生幼畜的管理·····	545
一、哺乳母牛与初生犊牛的管理与护理·····	546
二、哺乳母羊与初生羔羊的管理与护理·····	547
三、产后母猪与仔猪的管理与护理·····	548
第四节 母畜产后生殖器官的生殖机能调控·····	549
一、影响子宫恢复的因素·····	549
二、牛产后子宫机能监测·····	552
三、促进母牛产后子宫恢复的保健技术·····	554
参考文献·····	554
第十三章 胚胎干细胞·····	556
第一节 干细胞及其生物学特性·····	557
一、干细胞·····	557
二、干细胞的生物学特性·····	557
三、干细胞的应用·····	558
四、干细胞研究大事记·····	559



第二节 胚胎干细胞的获取和基本特征	560
一、胚胎干细胞的获取途径	560
二、胚胎干细胞的研究现状	563
三、胚胎干细胞的分子标记	566
四、胚胎干细胞的生物学特性	567
第三节 胚胎干细胞的分化能力	569
一、向生殖细胞的定向分化	570
二、向造血细胞的定向分化	571
三、向内皮细胞的定向分化	571
四、向肝细胞的定向分化	572
五、向胰岛细胞的定向分化	572
六、向心肌细胞的定向分化	572
七、向神经细胞的定向分化	573
八、向其他细胞的定向分化	573
第四节 饲养层细胞的制备	574
一、饲养层细胞培养液	574
二、原代胎儿成纤维细胞的制备	574
三、细胞传代和冷冻保存	575
四、细胞解冻和培养	576
五、饲养层的制备	576
第五节 小鼠胚胎干细胞的分离和培养	576
一、小鼠胚胎干细胞培养液	577
二、小鼠胚胎干细胞的分离和培养	577
三、小鼠胚胎干细胞的鉴定	578
第六节 大鼠胚胎干细胞的分离与培养	583
一、小鼠与大鼠胚胎干细胞多能性信号通路	583
二、大鼠 3i 胚胎干细胞培养体系	584
三、具有种系嵌合能力的大鼠胚胎干细胞培养体系	585
四、大鼠干细胞的转基因模型应用	588
第七节 人胚胎干细胞的分离、培养和鉴定	589
一、人组织的饲养层细胞制备	589
二、胚胎干细胞的分离与培养	590
三、hES 细胞的生物学鉴定	593
四、无血清无饲养层细胞的干细胞培养体系	595

第八节 胚胎干细胞的应用及存在问题	597
一、ES 细胞的应用研究现状	597
二、存在的问题	599
参考文献	600
<b>第十四章 组织干细胞</b>	607
第一节 间充质干细胞	609
一、骨髓间充质干细胞	609
二、骨髓间充质干细胞的分离与培养	612
三、间充质干细胞的应用	616
第二节 肌肉卫星细胞	617
一、肌肉卫星细胞的分离	617
二、肌肉卫星细胞的鉴定	619
三、肌肉卫星细胞的诱导分化	619
四、肌肉卫星细胞的发展趋势	623
第三节 其他组织干细胞	624
一、脂肪干细胞	624
二、脐带血干细胞	628
三、羊水干细胞	630
四、毛囊干细胞	632
五、肝干细胞	635
六、胰腺干细胞	637
七、组织干细胞的发展趋势	639
参考文献	643
<b>第十五章 精原干细胞</b>	647
第一节 精原干细胞的来源	647
一、精原干细胞的发生	647
二、精原干细胞的特征	648
三、SSC 的分子标记及纯化	649
四、SSC 微环境	651
第二节 精原干细胞的分离、培养与鉴定	653
一、小鼠精原干细胞的分离培养与鉴定	653
二、绵羊精原干细胞的分离	655
三、山羊精原干细胞的培养与鉴定	657
四、牛精原干细胞的分离培养与鉴定	662
第三节 精原干细胞自我更新的调控机制	665

一、影响精原干细胞自我更新的相关因子	665
二、影响精原干细胞自我更新的相关基因	666
三、影响精原干细胞自我更新的相关小 RNA	668
四、影响精原干细胞自我更新的相关通路	669
五、表观遗传修饰对精原干细胞自我更新的影响	671
参考文献	671
第十六章 诱导干细胞	678
第一节 诱导干细胞的产生	679
一、细胞重编程的方法	679
二、诱导干细胞技术	680
三、重编程转录因子	681
第二节 诱导多能干细胞研究进展	683
一、iPS 细胞的特性愈加接近胚胎干细胞	683
二、iPS 细胞诱导效率的提升	684
三、iPS 细胞诱导的生物安全性	686
四、体细胞诱导重编程的分子机制	689
五、家畜诱导多能干细胞研究概况	694
六、多能干细胞的状态	696
第三节 小鼠诱导多能干细胞的制备	701
一、培养液、试剂及小鼠	701
二、iPS 细胞的诱导	702
三、iPS 细胞的多能性分析	705
第四节 人诱导多能干细胞的制备	707
一、细胞培养液	707
二、需要的细胞株和载体	708
三、人诱导多能干细胞的制备方法	708
四、人 iPS 细胞的鉴定	710
第五节 猪诱导多能干细胞的制备	711
一、试剂与材料	711
二、猪诱导多能干细胞的制备方法	713
三、猪 iPS 细胞的鉴定	714
第六节 牛诱导多能干细胞的制备	715
一、牛羊膜来源诱导多能干细胞的制备	715
二、biPS 细胞的鉴定	717

第七节 诱导多能干细胞的应用及存在问题	719
一、诱导多能干细胞的应用	719
二、iPS 技术存在的问题	721
三、干细胞技术成为第三次医学革命的主导技术	722
参考文献	723
<b>第十七章 基因编辑技术</b>	<b>730</b>
第一节 基于同源重组的基因打靶技术	731
一、基因打靶技术简介	731
二、基因打靶技术流程	731
三、应用与优缺点	734
第二节 锌指核酸酶 (ZFN) 技术	734
一、ZFN 技术简介	734
二、ZFN 技术流程	735
三、ZFN 技术发展应用及特点	737
第三节 类转录激活效应物核酸酶 (TALEN) 技术	738
一、TALEN 技术简介	738
二、TALEN 技术流程	739
三、TALEN 技术应用及特点	743
第四节 CRISPR/Cas9 技术	744
一、CRISPR/Cas9 技术简介	744
二、CRISPR/Cas9 技术流程	744
三、CRISPR/Cas9 技术的优化	746
第五节 基因组编辑技术的比较和应用	747
一、不同基因编辑技术的比较	747
二、基因组编辑技术的应用进展	748
参考文献	753
<b>第十八章 转基因小鼠制备技术</b>	<b>757</b>
第一节 小鼠的生物学特性与饲养管理	758
一、小鼠的行为习性	758
二、小鼠的生理学特点	758
三、小鼠的饲养管理	759
第二节 小鼠及其他实验动物的品系	760
一、小鼠的近交系	760
二、常用小鼠近交品系特征及用途简介	762
三、常用小鼠封闭群	768

四、常用杂交一代小鼠	769
五、大鼠近交品系特征及用途	772
六、实验兔品种	778
七、实验犬品种	780
八、实验猪品种	781
第三节 小鼠超数排卵与输精管结扎手术	783
一、小鼠的交配与超数排卵	783
二、输精管结扎术	786
第四节 原核注射技术	788
一、显微注射 DNA 的准备	789
二、液体配制	791
三、小鼠受精卵的收集	794
四、显微操作系统及注射针	795
五、原核的显微注射	798
六、胚胎培养	799
第五节 胚胎移植与转基因鉴定	799
一、假孕母鼠的准备	799
二、输卵管移植	800
三、子宫内移植	801
四、转基因小鼠鉴定	802
五、纯合子小鼠的培育	803
第六节 原核注射制备转基因小鼠的技术优化	804
一、质粒准备	804
二、注射针的直径对转基因小鼠效率的影响	804
三、注射的外源 DNA 浓度对转基因小鼠效率的影响	804
四、单或双原核注射对转基因小鼠阳性率的影响	805
五、母鼠的假孕时间对转基因小鼠生产的影响	806
六、其他一些影响因素	806
参考文献	807
第十九章 家畜转基因技术	809
第一节 动物转基因技术发展简史	810
一、研究简史	810
二、生物转基因技术发展的主要事件	812
三、动物转基因技术发展的主要事件	813

第二节 目的基因的操作	814
一、基因分离	814
二、利用 PCR 技术扩增目的基因	816
三、DNA 重组	816
第三节 动物转基因操作技术	820
一、原核注射法	820
二、病毒载体法	821
三、精原干细胞法	822
四、精子载体法	823
五、人工酵母染色体法	824
六、体细胞克隆法	825
七、RNA 干扰	825
第四节 家畜转基因研究概况	826
一、转基因猪研究	827
二、转基因牛研究	833
三、转基因羊研究	839
四、转基因家畜存在的主要问题	842
第五节 转基因动物的生物安全	843
一、转基因动物的生物安全	844
二、转基因动物的食品安全	846
三、转基因动物的安全评价	849
参考文献	857
第二十章 人类辅助生殖技术	863
第一节 人类辅助生殖技术的历史和发展	865
一、世界人类辅助生殖技术发展简史	865
二、我国人类辅助生殖技术发展历史	867
三、人类辅助生殖技术的主要内容	868
第二节 人类辅助生殖中的促排原理及配子操作技术	873
一、控制性超促排卵	873
二、卵母细胞的采集与培养	875
三、精液的采集及处理	875
四、人类体外受精操作流程	878
第三节 人类辅助生殖技术中的受精操作及胚胎培养	878
一、IVF 适应证及操作方法	878

二、ICSI 适应证及操作方法	879
三、胚胎的体外培养及评分	883
四、精子、卵子及胚胎的冷冻	886
五、胚胎移植	889
第四节 胚胎植入前遗传学诊断技术	890
一、胚胎植入前遗传学活检技术概述	890
二、胚胎植入前遗传学诊断的技术方法	891
第五节 ART 相关衍生技术的发展	895
一、经形态学选择后的卵胞质内单精注射	896
二、卵子辅助激活技术	896
三、实时胚胎发育监测分析培养系统	897
四、非侵入性胚胎分级体系	897
五、卵母细胞老化与 IVF-ET 结局	898
六、卵子胞质成熟及其对 IVF-ET 结局的影响	899
七、卵子线粒体功能紊乱与卵子老化	900
八、临床医学对扭转卵子老化采取的一些措施	900
第六节 辅助生殖技术的子代健康分析	901
一、不同辅助生殖技术的特点	902
二、ART 子代的安全性与健康	903
三、ART 子代的基因学研究	907
四、ART 对孕妇的影响	909
五、人类辅助生殖技术的社会与伦理问题	910
参考文献	911
索引	917