

<<表皮细胞实验指南>>

图书基本信息

书名：<<表皮细胞实验指南>>

13位ISBN编号：9787030282361

10位ISBN编号：7030282361

出版时间：2010-7

出版时间：科学出版社

作者：（加拿大）图尔克森 主编，彭代智 主译

页数：453

译者：彭代智

版权说明：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：<http://www.tushu007.com>

<<表皮细胞实验指南>>

前言

自从二十多年前Rheiuward Green和同事们第一次成功地在体外培养了表皮细胞并使其持续生长，我们对这种细胞的了解和操作能力得到惊人的提高。

然而，多年来在某些范围内一直有一种近乎神秘观念，那就是表皮细胞的研究工作较难开展。

尽管和成纤维细胞相比，这种观念通常是正确的，但该领域还是在建立这种细胞类型的许多方法学方面取得了特别的进展。

因此，我感到现在正是收集一些有用的实验方案的时候，这些实验方案涵盖了培养表皮细胞、富集很早期表皮祖细胞以及研究表皮细胞在体内和体外定向分化的不同方法和模型。

《表皮细胞实验指南》一书并不意味着广泛收集所有操作表皮细胞的实验方案，而是面向有经验的和初学的表皮生物学者收集他们很容易在自己实验室重复的又十分有价值的实验方案。

我能完成这本书，与那些非常忠诚的撰稿者是分不开的，他们乐意无私分享他们“来之不易”的方法

。我感谢他们所有的人。

我也想借此机会来感谢我多年来的好导师Jane Aubin博士，特别是他在我作为细胞培养和分化的初学者时灌输给我的极大的热情和严谨。

我同样感谢Elaine Fijchs博士给了我自己动手操作表皮细胞和小鼠模型进行研究的机会。

没有他们的支持和给我的机会，我不可能在令人兴奋的科学研究领域得以成长。

John Walker博士在我所选择的科研项目上对我一直的支持和帮助也非常重要。

此外，我感谢所有在Hlamana Press给过我热心支持的人，特别是Craig Adams。

我非常感谢N.Urfe与我进行的启发性讨论。

最后，我感谢我伟大的合作者——Tatomy Troy，她无尽的爽朗和热情的帮助与支持使我很愉快地完成了这本书。

<<表皮细胞实验指南>>

内容概要

本书是一本有关表皮细胞和表皮干细胞研究的最新且实用的实验技术指南。

全书共42章，涵盖了人和小鼠表皮细胞分离培养的技术方法以及表皮干细胞富集、鉴定、培养和体内标记的技术方法，详细介绍了免疫学、细胞生物学、分子生物学和基因组学等最新技术在研究表皮组织的胚胎发生、发育、分化及皮肤疾病中的应用，还叙述了表皮细胞和成纤维细胞的基因修饰(转染、突变和打靶)、组织工程皮肤的体外构建和体内移植及毛囊的基因和干细胞治疗等具有广泛开发和应用前景的重要技术，对从事上皮细胞尤其是表皮细胞和表皮干细胞的教学、科研和开发人员来说是一本很有价值的工具书。

本书可作为上皮细胞尤其是表皮细胞和表皮干细胞研究、开发和应用的工具书，也可供细胞生物学、分子生物学、发育生物学、临床医学等有关领域的教学、科研人员参考。

<<表皮细胞实验指南>>

作者简介

译者：彭代智 编者：（加拿大）K.图尔克森（Turksen.K.） 合著者：黄文华 赵雄飞

<<表皮细胞实验指南>>

书籍目录

中译本序译者的话前言第一部分 角质形成细胞和器官培养 第1章 小鼠角质形成细胞的原代培养 第2章 原代成年小鼠角质形成细胞的连续培养 第3章 无基质贴附下的角质形成细胞培养 第4章 基因修饰的饲养细胞在角质形成细胞培养中的应用 第5章 胎鼠皮的器官培养及其在形态发生分子机制研究中的应用 第6章 分析培养的角质形成细胞体外和体内分化功能的实验模型 第7章 工程化人体皮肤的体外构建第二部分 表皮干细胞 第8章 表皮干细胞的体内标记和分析 第9章 体外形成克隆的小鼠角质形成干细胞的收集和检测方法 第10章 人角质形成干细胞的FACS富集 第11章 上皮干细胞的分离、鉴定与培养 第12章 角蛋白19作为体内和体外干细胞的标志第三部分 表皮分化的分析 第13章 免疫定位技术在表皮研究中的应用 第14章 以逆转录聚合酶链反应分析表皮细胞 第15章 表皮发育过程中基因诱导和屏障形成的全组织包埋分析 第16章 斑马鱼早期表皮发育的分析 第17章 E2F因子在表皮细胞分化中的作用 第18章 表皮中HOX同源盒结构域蛋白和基因转录物的分析 第19章 表皮的凋亡 第20章 桥粒蛋白在凋亡表皮细胞中的命运 第21章 角质形成细胞表达间隙连接蛋白43的流式细胞术分析 第22章 角质形成细胞培养物内基质金属蛋白酶-9和金属蛋白酶组织抑制剂-1的检测 第23章 毛囊上皮细胞表达S100蛋白的特征 第24章 角质化细胞包膜的免疫电子显微镜分析和抗原修复第四部分 表皮功能分析的方法及途径 第25章 用免疫化学方法进行人工皮肤的细胞动力学分析 第26章 多参数流式细胞术分析正常及过度增生性皮肤的增殖、分化和炎症 第27章 细胞数目的DNA荧光测定法 第28章 角质形成细胞的瞬时转染技术 第29章 四环素调控下表皮角质形成细胞的基因表达 第30章 角质形成细胞中寡核苷酸介导的基因打靶 第31章 人SPRR基因家族启动子分析 第32章 大片段PAC重组载体在角质形成细胞中的稳定整合 第33章 小鼠表皮的定向体细胞突变 第34章 蛋白质相互作用的研究方法 第35章 识别皮肤角质形成细胞的重组噬菌体展示抗体的分离 第36章 发育过程中组织特异性DNA甲基化模式的分析 第37章 人角质形成细胞和表皮的基因表达系列分析 第38章 DermArray尼龙膜DNA微阵列应用于皮肤病基因表达谱的研究方法 第39章 表皮内双光子荧光成像及活性氧检测第五部分 移植与基因治疗 第40章 人组织工程皮肤的体内移植 第41章 利用活体电穿孔进行表皮定向的基因转移 第42章 毛囊的基因及干细胞治疗索引彩图

<<表皮细胞实验指南>>

章节摘录

插图：很多不同的病毒载体可用于高效的基因传递。

为了取代有缺陷的基因，病毒载体必须包括整个基因或，以及一些对基因表达非常重要的调控区的完整拷贝。

整合病毒颗粒（逆转录病毒、慢病毒和腺相关病毒）介导的基因传递，可提供长期表达，因为转入的基因可永久整合到宿主染色体。

尽管由病毒介导的基因向临床应用推进上已取得令人难忘的进展，但也存在不少问题。

例如，逆转录病毒感染需要细胞分裂，因此限制了对慢分裂周期的干细胞的感染，而且也一直难以产生出稳定的高滴度病毒，以便有效地用于体内感染。

一些研究还表明尽管载体DNA完好存在，但病毒启动子所驱动的转入基因表达却逐渐失活。

还有一涉及安全的忧虑是可能产生具有复制活性的逆转录病毒，例如，病毒的随机整合还能激活致癌基因或使肿瘤抑制基因失活^[1]。

虽然腺病毒传递系统的优点在于其感染不需要靶细胞分裂且可产生高滴度的病毒，但是腺病毒载体更易于感染不复制的终末分化细胞，因而限制了其在这些细胞过渡时期的表达。

此外，感染的细胞可成为免疫系统的靶点而被清除出体外，高滴度的腺病毒用于临床可引起急性免疫反应，对宿主有害。

考虑到使用病毒载体面临的困难，开展用于皮肤基因治疗的其他方式是非常必要的。

已建立出几种通过同源重组纠正突变的基因打靶策略，这样在纠正突变的同时又保持了对于基因的适当表达和调控很重要的复杂基因组结构。

采用双链DNA的传统基因打靶策略有可能取代或敲除染色体的遗传信息，而通过筛选很少成功的靶向产物可以将这一策略应用于胚胎干细胞另一可选择的方法是通过偶联活性化学基团的寡核苷酸形成三螺旋结构的寡核苷酸进行靶向基因突变，可形成三螺旋结构的寡核苷酸识别靶向碱基附近的序列，活性基团化学修饰靶向核苷酸或导致DNA修复。

小片段同源替代策略采用300~400个碱基的单链核苷酸可在哺乳动物细胞中产生约1%的同源替代引。

还有一种方法包括由两种不同的结构域组成的双功能寡核苷酸，三螺旋区域可结合目的碱基附近的序列，修复结构域含有与目的碱基错配的序列。

近年来，腺相关病毒载体已被用来修饰同源染色体的序列，其在正常人细胞次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶（HPRT）位点上的打靶效率接近。

尽管这些方法的每一种成功使用的案例有限，但由于同源重组的效率仍然很低，因而使用仍受到严格限制。

目前，我们实验室着重开展使用相对短的单链寡聚脱氧核苷酸针对单个点突变的位点特异性校正的实验策略。

这些研究包括建立敏感及可重复的分析方法以评价哺乳动物细胞中基因校正的频率，以及提高打靶频率的机制性研究。

针对这些目标，已经建立了两种分析系统通过基因校正、突变的及突变的酪氨酸酶用来检测表型的改变。

两种系统都可证实一些哺乳动物细胞的游离基因及染色体中通过进行基因校正，如、原代人角质形成细胞、黑素细胞及小鼠胚胎干细胞。

在最近的实验中，我们设计了分别改变酪氨酸酶及r砌基因的两种DDN，它们能够导致单个白化小鼠黑素细胞中这两种基因同时被修正。

我们的结果表明在一个具有“修复一活性”细胞核中如果同时存在两种DNA，则双重打靶事件发生的频率相对较高。

这一策略可以使用筛选操作来克服基因校正的低频率和目前基于寡核苷酸基因打靶的限制。

<<表皮细胞实验指南>>

编辑推荐

《表皮细胞实验指南》是“十一五”国家重点图书出版规划项目。

<<表皮细胞实验指南>>

版权说明

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:<http://www.tushu007.com>