

《综合生物学实验 II》教学大纲

课程代码： NANA2053

课程名称： 《综合生物学实验 II》

英文名称： Comprehensive biological experiment II

课程性质： 专业必修课

学分/学时： 1.5 学分/54 学时

考核方式： 预习+实验操作+实验报告

开课学期： 第 6 学期

适用专业： 纳米医学

先修课程： 综合生物学实验 I

后续课程： 毕业设计

开课单位： 纳米科学技术学院

课程负责人： 曹友志

大纲执笔人： 曹友志

大纲审核人： 殷黎晨

选用教材： 《纳米生物学交叉实验教程》（普通高等教育“十三五”规划教材，

主编：刘庄、许利耕，科学出版社）

一、课程目标

通过本课程的理论教学和实验训练，使学生具备下列能力：

1. 能够针对目标生物学问题，选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。（支撑毕业要求指标点 3-1）
2. 能正确选用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，能使用专业制图软件和数据处理软件，对实验结果进行数学处理和科学整理，并与预期结果或理论结果进行比较和分析，进而优化实验条件和方案，对纳米科技领域的复杂问题进行预测与模拟。（支撑毕业要求指标点 5-2）

二、教学内容

包含 16 个动植物细胞相关实验的综合实验项目，每个实验约 3-4 学时，共 54 学时；每个实验项目相对独立，且都能与 2 个课程目标相对应。

1. 微生物学实验常用器皿及使用方法

该实验使学生了解微生物学实验中常用的器皿，掌握使用方法及原理；学习并掌握常用器皿的清洗、包装、灭菌的方法及注意事项。

实验目的：(1) 掌握微生物学实验中常用器皿的名称、用途及使用方法；(2) 掌握微生物学实验正常用器皿的清洗与包装方法。

安全及注意事项：(1) 不同材质的器皿，其使用范围不同；(2) 洗涤液中的硫酸具有强腐蚀作用，玻璃器皿浸泡时间太长，会使玻璃变质，因此切忌到时忘记将器皿取出冲洗。

2. 生物培养基的配制和高压蒸汽灭菌

该实验使学生了解微生物学实验中常用培养基的基本概念、分类、用途，学习并掌握基本培养基的配置方法，学习培养基的灭菌原理及不同灭菌方法。

实验目的：(1)学习和掌握配制培养基的一般方法和步骤；(2)掌握牛肉膏蛋白陈培养基的配制方法；(3)掌握培养基按照不同用途进行分装的方法；(4)掌握高压蒸汽灭菌的原理、应用范围及操作方法。

安全及注意事项：(1) 称药品用的牛角匙不要混用，称完药品应及时盖紧瓶盖。调 pH 时要小心操作，避免回调。不同培养基的配制各有特点，要注意具体操作；(2) 如果待灭菌物品中有玻璃试剂瓶或其他带盖子的容器，需要适当旋松盖子，使容器内外空气流通，保证灭菌完全，否则高压蒸汽进入容器后容易发生爆裂；待灭菌结束后取出物品时，要立即旋紧盖子；(3) 灭菌结束后，如果短期内不再使用灭菌锅，需要打开排水管，及时将腔体内的去离子水排出，否则长时间存水内腔体易生锈。

3. 实验室环境和人体表面微生物的检查

该实验使学生了解利用平板培养基培养微生物细菌的基本方法和原理，了解不同种类微生物的采集方法，观察并记录不同微生物的菌落形态特征。

实验目的：(1)证明实验室环境与体表存在微生物；(2)比较来自不同场所与不同条件下细菌的数量与类型；(3)观察不同类群微生物的菌落形态特征。

安全及注意事项：(1) 严格按照规范操作使用酒精灯 (2) 实验结束后产生的带菌培养皿按照规范操作进行灭菌处理。

4. 微生物涂片、染色及普通光学显微镜观察

该实验使学生学习了解微生物涂片和染色的基本原理、方法，掌握常用的碱性染料的染色方法，学习显微镜的基本操作过程。

实验目的：(1)学习微生物涂片、染色的基本技术，掌握细菌的染色方法；(2)熟练掌握显微镜的使用方法。

安全及注意事项：严格按照规范操作使用显微镜并在实验结束后应及时进行维护保养。

5. 革兰氏染色法的原理及应用

该实验使学生学习掌握革兰氏染色法的基本原理，掌握革兰氏染色法的基本操作步骤，了解影响染色成功率的各项因素。

实验目的：(1)了解革兰氏染色的原理；(2)学习并掌握革兰氏染色的方法。

安全及注意事项：严格按照规范操作使用显微镜并在实验结束后应及时进行维护保养。

6. 血球计数板的计数原理及应用

该实验使学生学习了解血球计数器的技术原理，并通过实际应用掌握血球计数器的使用方法，减少实验误差。

实验目的：(1)掌握血球计数板的计数原理；(2)掌握血球计数板的计数方法。

安全及注意事项：严格按照规范操作使用显微镜并在实验结束后应及时进行维护保养。

7. 平板菌落计数法的原理及应用

该实验使学生学习了解平板菌落计数法的概念、原理，掌握平板菌落计数的方法，并且了解不同技术方法的优缺点。

实验目的：学习平板菌落计数的基本原理和方法。

安全及注意事项：平板菌落计数法所选择的倒平板的稀释度很重要，一般以 3 个稀释度中的第二个稀释度倒平板所出现的平均菌落数在 50 个左右为最好

8. 不同种类纳米材料与细菌的相互作用比较

该实验使学生学习了解不同纳米材料与不同种类细菌的相互作用关系，理解纳米材料对细菌生长的影响机制。

实验目的：(1)掌握平板菌落计数法评价纳米材料与细菌相互作用的基本方法；(2)理解纳米材料与细菌相互作用的基本原理。

安全及注意事项：严格按照规范操作使用高压灭菌器。

9. 利用显微镜识别动物贴壁细胞和植物细胞的形态特征

该实验使学生了解显微镜的基本构造，学会规范的显微镜操作方法；学习并掌握临时装片的制作与镜下观察，观察动植物细胞的不同；观察也的横切面结构；熟练掌握绘制生物学图的基本方法。

实验目的：(1)了解光学显微镜的基本构造与成像原理；(2)掌握光学显微镜的基本使用方法；(3)学会辨认哺乳动物不同组织贴壁生长细胞及植物细胞的形态；(4)学会辨别动物细胞和植物细胞的形态特征。

安全及注意事项：(1) 调焦装置非常精密，需注意其量程；(2) 载玻片和盖玻片为玻璃材质，取用和放回时需格外注意，勿划伤；(3) 显微镜镜头分为油相镜头和水相镜头，使用前应分清。

10. 动物细胞的体外培养与传代

该实验使学生了解动物细胞原代培养的原理及基本方法，掌握组织块法及消化培养法的操作过程，掌握无菌操作的技术要领；了解传代培养方法及操作过程，学习观察体外培养细胞的形态。

实验目的：(1) 熟练掌握贴壁细胞的传代方法；(2) 观察传代细胞贴壁、生长和增殖过程中细胞形态的变化。

安全及注意事项：(1) 要严格按照无菌操作要求进行细胞培养的相关操作；(2) 消化细胞时，要根据不同细胞对胰蛋白酶的敏感性差异，结合显微镜观察，灵活控制细胞的消化时间，避免消化过度影响细胞的生长状态；(3) 在同时进行多种细胞的传代培养时，要注意更换实验器具，如移液器的吸头等，避免细胞间的交叉污染。

11. 液泡系和线粒体的活体染色

活体染色是指对生活有机体的细胞或组织能着色但又无毒害的一种染色方法。它的目的是显示生活细胞内的某些结构，而不影响细胞的生命活动和产生任何物理、化学变化以致引起细胞的死亡。活染技术可用来研究生活状态下的细胞形态结构和生理、病理状态。

实验目的：(1) 观察植物活细胞内线粒体、液泡系的形态、数量与分布；(2) 掌握一些细胞活体染色的原理和技术。

安全及注意事项：(1) 要严格按照规范操作使用染色液；(2) 染色液使用完毕后要注意回收及无害化处理。

12. 植物细胞骨架的光学显微镜观察

当使用适当浓度的 TritonX-100 处理细胞时，可将细胞质膜和细胞质中的蛋白质和全部脂质溶解抽提，但细胞骨架系统的蛋白质不受破坏而被保护，经戊二醛固定，考马斯亮蓝 R250 染色后，可在光学显微镜下观察到有微丝组成的微丝束，这就是细胞骨架。

实验目的：(1) 了解细胞骨架的结构特征及其制备技术

安全及注意事项：(1) 要严格按照规范操作使用染色液；(2) 染色液使用完毕后要注意回收及无害化处理。

13. 鸡血细胞的体外融合

细胞融合(cell fusion)，细胞遗传学名词，是在自发或人工诱导下，两个细胞或原生质体融合形成一个杂种细胞。基本过程包括细胞融合形成异核体(heterokaryon)、

异核体通过细胞有丝分裂进行核融合、最终形成单核的杂种细胞。细胞融合可作为一种实验方法被广泛适用于单克隆抗体的制备，膜蛋白的研究。

实验目的：(1) 了解聚乙二醇诱导体外细胞融合的基本原理；(2) 掌握细胞融合的基本操作。

安全及注意事项：(1) 事先做好两种原生质体融合的认可标记，如色素、缺陷型、抗性标记等；(2) 原生质体或细胞密度应在 10^5 个/ml，两种原生质体或细胞按 1: 1 等量混合；(3) PEG 诱导融合的效果，同分子量大小及浓度高低密切相关。分子量和浓度愈大，促进细胞融合的能力愈高，而其粘度及对细胞的毒性也随之增大，故通常以选用分子 4000-6000 浓度 30-50% 的 PEG 进行融合为宜；(4) PEG 使细胞融合或致死剂量界限很狭小，为达到成功有效的融合，还必须严格掌握 PEG 的处理时间。一般加入 PEG 后，24℃ 培育 10-20min (注意时间宜短不宜长，过长使原生质体周围包裹一层膜形成凝集体，降低融合率)，缓缓加入高钙离子溶液 15min 后用冲洗液清洗，离心收集细胞或原生质体。

14. DNA 的细胞化学-Feulgen 反应

福尔根氏反应 (亦译作富尔根氏反应 Feulgen's reaction) 指由 R. Feulgen 和 H. Rossenbeck (1924) 提出的鉴定 DNA 的细胞化学反应。将细胞用 RNHCl 在 60℃ 下水解 (水解时间由固定液而定)。

如用 Schiff's 试剂来作用，由于嘌呤碱基特异性的游离所生成的脱氧核糖的醛基与复红 (fuchsin) 反应，核染色体染成紫红色，表示 DNA 的存在。对由在最适条件基础上的富尔根反应所显色的 DNA，可用显微分光测定法进行定量。

实验目的：(1) 了解 Feulgen 反应的原理，掌握有关的操作方法。

安全及注意事项：(1) 对照切片的制做进行 Feulgen 反应时，一般要做一对照切片以便验证反应结果。

15. RNA 的细胞化学-Brachet 反应

甲基绿—派洛宁 (Methyl green-Pyronin) 为碱性染料，它能分别与细胞内的 DNA、RNA 结合而呈现不同颜色。当甲基绿与派洛宁作为混合染料时，甲基绿和染色质中 DNA 选择性结合显示绿色或蓝色；派洛宁与核仁、细胞质中的 RNA 选择结合显示红色。其原因可能是两种染料的混合染液中有竞争作用，同时两种核酸分子都是多聚体，而其聚合程度有所不同。甲基绿易与聚合程度高的 DNA 结合呈现绿色。而派洛宁则与聚合程度较低的 RNA 结合呈现红色，但解聚的 DNA 也能和派洛宁结合呈现红色。即 RNA 对派洛宁亲和力大，被染成红色，而 DNA 对甲基绿亲和力大，被染成蓝绿色。

如用 Schiff's 试剂来作用，由于嘌呤碱基特异性的游离所生成的脱氧核糖的醛基与复红 (fuchsin) 反应，核染色体染成紫红色，表示 DNA 的存在。对由在最适条件基础上的富尔根反应所显色的 DNA，可用显微分光测定法进行定量。

实验目的：(1) 了解 Brachet 反应的原理，掌握有关的操作方法。

安全及注意事项：(1) 要严格按照规范操作使用染色液；(2) 染色液使用完毕后要注意回收及无害化处理。

16. 植物基因组 DNA 的提取

采用接卸研磨的方法破碎植物的组织和细胞，由于植物细胞匀浆含有多种酶对 DNA 的抽提产生不利影响，在抽提缓冲液中需加入抗氧化剂或者强还原剂以降低这些酶类的活性。在液氮中研磨，材料易于破坏，并减少研磨过程中的酶类作用。CTAB 能溶解细胞膜和核膜蛋白，使核蛋白解聚，从而使 DNA 得以游离出来。

实验目的：(1) CTAB 法提取植物基因组 DNA

安全及注意事项：(1) 第一次沉淀选用异丙醇而不是无水乙醇，不仅用量少，而且用异丙醇沉淀，带入的多糖类杂质相对较少；(2) 为了减少叶绿体 DNA 对核基因组 DNA 提取的污染，也可将小苗置于黑暗条件下生长，得到不含叶绿体的黄化苗作为实验材料。

三、考核方式

每个实验项目分为三个过程考核：预习（视频学习+预习报告），实验操作，实验报告；考核内容主要包括：文献调研、实验设计、安全规范、实验技能、团队合作、数据收集和处理、结果分析和讨论、方案优化、实验报告撰写等，课程目标与考核内容及方式的对应关系如下：

| 课程目标 | 考核内容 | 考核方式 |
|---|---|--------------------------------|
| 1.能够针对目标生物学问题，选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。 （支撑毕业要求指标点 3-1） | 文献调研能力，实验设计能力，对实验安全和规范操作的了解，创新意识及设计理念。开展实验的能力，遵守实验安全规定和规范操作，使用现代设备的技能，数据收集能力，实验现象观察和记录。 | 视频学习，预习报告，课堂实验操作，课堂提问和讨论，实验报告。 |
| 2.能正确选用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，能使用专业制图软件 and 数据处理软件，对实验结果进行数学处理和科学整理，并与预期结果或理论结果进行比较和分析，进而优化实验条件和方案，对纳米科技领域的复杂问题进行预测与模拟。 （支撑毕业要求指标点 5-2） | 数据处理的能力，结果分析能力，使用模拟、处理等软件的能力，方案优化，实验报告撰写。 | 课堂仪器操作，实验报告，问题讨论。 |

成绩评定方法：

预习/实验操作/实验报告的占比分别为：预习（20%）+ 实验操作（40%）+ 实验报告（40%）=100%，相关权重如下：

| | 预习相关权重 | 实验操作权重 | 实验报告权重 |
|--------|--------|--------|--------|
| 课程目标 1 | 0.8 | 0.3 | 0.3 |
| 课程目标 2 | 0.2 | 0.7 | 0.7 |

课程目标（即毕业要求指标点）达成度评价方法：

每个实验的分目标达成度 = (预习平均分*预习权重*0.2+实操平均分*实操权重*0.4+报告平均分*报告权重*0.4)/(100*预习权重*0.2+100*实操权重*0.4+100*报告权重*0.4)

该课程的分目标达成度为所有实验该分目标达成度的平均值。

评分标准：——对于主观评价的考核部分，需提供该评分/等级标准，尤其是“及格”标准，应面向全体学生，属于专业认证判定是否“合格”的主要评价依据，以“课程目标”为基础进行撰写，注意修饰词的使用。

| 课程目标 | 90-100 (优秀) | 75-89 (良好) | 60-74 (及格) | 0-59 (不及格) |
|---|--|---|--|--|
| 1. 能够针对目标生物学问题，选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。 | 针对目标生物学问题， 准确 选用合理的研究方式和方法， 合理 设计具体实验方案以 完美 解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标， 精准 设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。 | 能够针对目标生物学问题，选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。 | 针对目标生物学问题， 基本准确 选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以 部分 解决目标生物学问题，并能根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线 能力一般 。 | 针对目标生物学问题， 不能 选用合理的研究方式和方法，设计具体实验方案以解决目标生物学问题能力 欠缺 ，并 未能 根据设计/开发目标，设计纳米材料合成、表征及应用的工艺流程或技术路线。 |
| 2. 能正确选用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，能使用专业制图软件和数据处理软件，对实验结果进行数学处理和科学整理，并与预期结果或理论结果进行比较和分析，进而优化实验条件和方案，对纳米科技领域的复杂问题进行预测与模拟。 | 能正确选用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，能 熟练 使用专业制图软件和数据处理软件，对实验结果进行 合理 的数学处理和科学整理，并与预期结果或理论结果进行 充分 的比较和分析，进而 有效 优化实验条件和方案，对纳米科技领域的复杂问题进行预测与模拟。 | 能正确选用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，能 较熟练 地使用专业制图软件和数据处理软件，对实验结果进行 一定 的数学处理和科学整理，并与预期结果或理论结果进行比较和分析， 提出 优化实验条件和方案的 建议 ， 有望 对纳米科技领域的复杂问题进行预测与模拟。 | 在教师协助下 能使用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备， 了解部分 专业制图软件和数据处理软件的使用方法，对实验结果的数学处理和科学整理有 基本 的 了解 ，并与预期结果或理论结果进行比较和 初步分析 ， 在指导下提出 优化实验条件和方案的 建议 ，但对纳米科技领域的复杂问题 不能给出合理 预测与模拟。 | 在教师协助下 能使用合适的仪器和现代纳米表征、测试设备，对专业制图软件和数据处理软件 不太了解 ，对实验结果的数学处理和科学整理 也不了解 ， 无法 与预期结果或理论结果进行比较和分析， 也不能提出 优化实验条件和方案的 建议 ，对纳米科技领域的复杂问题 不能给出 预测与模拟。 |