

细胞生物学实验教学大纲

课程基本信息 (Course Information)					
课程代码 (Course Code)		学时 (Credit Hours)	32	学分 (Credits)	1
课程名称 (Course Name)	细胞生物学实验 Experiments of Cellular Biology				
课程性质 (Course Type)	专业必修课				
授课语言 (Language of Instruction)	中文				
开课院系 (School)	生命科学技术学院实验教学中心				
先修课程 (Prerequisite)	生命科学导论、生命科学导论实验、生物化学、生物化学实验、细胞生物学				
授课教师 (Teacher)	张萍、秦敏君	电邮、电话 (email & phone)	applezhang@sjtu.edu.cn qmjun@sjtu.edu.cn 34204103		
办公时间 (Office Time)	工作日 8:00~17:00	办公地点 (Office Location)	生命学院 4-408 室		
课程网址 (Course Webpage)					
*课程简介 (Description)	<p>细胞生物学实验是生命科学领域基础且重要的实验课程之一，是生命科学、医学、生物医学工程、农学等学科相关专业本科生的一门专业必修课程。它从细胞、亚细胞和分子三个不同水平研究细胞的结构、功能和生命活动的基本规律。实验课程内容包括两个模块，一是基础实验技能模块，培养学生熟练使用多种科研常用显微镜、移液器、高速离心机等设备，掌握密度梯度离心、细胞化学染色、酶化学反应等技术；二是动物细胞培养、免疫化学和体外表达综合实验模块。包括细胞培养、细胞计数和周期分析、细胞骨架的免疫酶标染色、GFP在细胞中的瞬时表达等。基础实验技能模块与理论课程紧密结合，通过实践不仅观察所学的理论知识，加深对理论知识的理解；还通过动手操作，规范掌握观察、研究细胞结构和功能的基础和先进的实验方法和技术。综合实验模块通过一系列前后有联系的实验探索，完成综合项目研究，培养学生观察、比较、分析、改进等科学思维能力，独立探索和团队合作的能力，以及实事求是的科学作风和良好的科研素质。通过细胞生物学实验的全面培养，学生不仅掌握了先进的技术，还提高了分析问题和解决问题的能力，为今后独立开展科研工作打下</p>				

	坚实的基础。
<p>*课程简介 (Description)</p>	<p>Experiments of Cellular Biology is one of the most important courses in Life Sciences and is compulsory for the undergraduates in the subjects of Life Sciences, Medicine, Biomedical Engineering, Agronomy <i>et al.</i> It focuses on the cellular structure, function and the basic principles of life on three levels of cellular, subcellular and molecular. The course contains two modules: One is the basic experimental skills module, which make students properly use many types of microscope and other devices, grasp the technology about density gradient centrifugation, cytochemistry staining <i>et al.</i> Another is the integrated experiments module, which contains cell culture, cell counting and cycle analyzing, enzyme-labeled immunocytochemistry and GFP transient expression <i>in vitro</i>. The basic experimental skills module joint tightly the cellar theory. It would help student not only observe the phenomenon from knowledge and then understand deeply the theory, but grasp correctly the advanced technology of the observation of the cells. The integrated experiments module completes one project by a series of experiments, which fosters the students' ability to observe, compare, analyze and make improvement. It also promote the students' capability to explore independently, co-operate in teamwork and their better quality in scientific research. Trained by Experiments of Cellular Biology, students can grasp the advanced technology, analyze and resolve the problems effectively, which lays a solid foundation for students of scientific work in future.</p>
课程教学大纲 (course syllabus)	
<p style="text-align: center;">一、基础实验技能模块</p> <p style="text-align: center;">实验 1. 细胞观察与分析技术</p> <p>教学内容: 讲述显微镜的发展历史, 普通光学显微镜的原理、机械部分和光学部分结构、使用方法、注意事项和维护等。特殊显微镜如相差显微镜、微分干涉显微镜、倒置显微镜、荧光显微镜、激光共聚焦显微镜的原理、分析和应用。学生练习并达到熟练使用光学显微镜及显微数码互动系统, 观察典型的生物细胞并规范地拍照和生物绘图。练习使用倒置显微镜、荧光显微镜和激光共聚焦显微镜观察和分析样品片, 熟悉特殊显微镜的原理和使用方法, 为今后的实验打下基础。</p> <p>目的要求: 通过实验训练, 学生知道光学显微镜的基本结构和用途, 会熟练使用光学显微镜来观察样品, 可以做到正确使用油镜, 规范操作, 并规范整理和归位显微镜。同时学生熟练使用 Motic 显微数码互动系统, 会使用软件进行曝光、优化、拍照、保存和上传。学生知道显微镜的分类、原理及其适用范围, 会初步利用倒置显微镜观察细胞、</p>	

利用荧光显微镜和激光共聚焦显微镜观察荧光标记的样品。

实验 2. Feulgen 反应显示细胞 DNA

教学内容：引导学生讨论科研中定性和定量分析细胞中 DNA 的多种原理及其方法，介绍细胞化学染色、荧光染色、显微光度术、流式细胞术等定性和定量分析 DNA 的原理。重点讲述 Feulgen 反应显示细胞 DNA 的原理及技术，细胞/组织化学染色的流程，实验研究对象简介等。举例说明实验中设置对照组的重要性，如何设计对照组。制定 Feulgen 反应显示细胞 DNA 的简明操作方法和注意事项。学生分组，根据细胞化学反应的流程进行 Feulgen 反应，各组讨论，各自设计实验对照和不同的实验条件，探索并优化实验条件，引导学生做实时记录。学生对实验结果进行镜检观察并相互分析与比较实验条件对结果产生的影响，及时记录数据和拍照，提交照片。引导学生讨论产生最佳结果的条件和原因，总结经验。

目的要求：学生通过实验，学到了 DNA 显色的多种方案，了解了当前 DNA 染色的先进方法，知道了细胞/组织化学染色的常规步骤。能够独立使用载玻片和染色缸进行样品固定和系列化学反应，能够在具体实验中设计阳性对照和阴性对照，会独立设计不同条件来优化实验结果。在实验中会熟练地并正确地使用各种规格的移液器及其吸头，并且能够及时将移液器复位，养成规范使用及保养移液器的好习惯。

实验 3. 细胞吞噬和酸性磷酸酶染色

教学内容：引导学生讨论细胞的胞吞作用（endocytosis），从低等单细胞生物到高等生物中细胞有哪些吞噬现象，讨论溶酶体的概念和生理作用，讨论酶细胞化学实验技术的原理、影响酶活性的因素、对酶细胞化学染色的结果分析。重点讲述酸性磷酸酶的显色原理及技术。举例说明实验中设置对照组的重要性，如何设计对照组。制定酸性磷酸酶染色的简明操作方法和注意事项。学生分组，观察四膜虫吞噬碳粒的过程，并根据酶细胞化学反应中的影响因素，分组设计不同的反应条件，探索并优化实验条件，对四膜虫吞噬豆奶制片进行酸性磷酸酶染色反应，引导学生做实时记录。学生对实验结果进行镜检观察并相互分析与比较实验条件对结果产生的影响，及时记录数据和拍照，提交照片。引导学生讨论产生最佳结果的条件和原因，总结经验。

目的要求：学生通过实验，学习了酶细胞化学染色技术的原理、技术和注意事项，直观的看到四膜虫的吞噬作用，吞噬后溶酶体的定位和大小形态，从而加深理解溶酶体的形态和生理意义。能够独立进行酸性磷酸酶的显色实验和酶细胞化学的相关实验，学会实验中设计阳性对照和阴性对照，能够在实验探索中独立设计不同条件，合理设计参数，优化实验结果。

实验 4. 牛蛙骨髓细胞染色体标本的制备与观察

教学内容：引导学生讨论染色体的制备原理、Giemsa 显带的原理、染色体的显带技术和带型分析原理。重点讲述染色体的制片技术、染色体显带技术和多种带型分析如 G、Q、R、C、T、N 带等。具体分析各种带型，展示图片、原理和相关应用。举例分析染色

体特征和命名原则。学生分组，解剖实验动物如牛蛙，取出动物的大型骨骼，用生理盐水抽提骨髓细胞，进行固定、低渗、滴片处理，讨论制定方案，优化实验条件，反复练习滴片技术，对染色体进行滴片并进行染色，用光学显微镜观察染色体制片，寻找分裂相最好的染色体，拍照计数，分析实验细节和不同的条件对染色体制片结果产生的影响。

目的要求：学生通过实验，系统地学习有丝分裂中期染色体的制备方法和各种显带技术，包括 G、R、N、T 带等，明确各种显带技术的原理及其应用，会将其应用在具体的科学研究中。学生可以独自利用染色体的制备原理进行真核生物有丝分裂中期染色体的制备操作，获得分裂相较好的染色体标本片。为进一步的核型分析、荧光杂交等实验奠定基础。

二、综合实验模块

实验 5. CHO 细胞的体外传代培养

教学内容：引导学生讨论动物细胞培养技术的概念，体外培养动物细胞的环境、条件和要求，讨论原代培养技术和传代培养技术。重点讲述培养动物细胞所需的硬件条件、无菌环境和设备，常用培养器皿和耗材，细胞常规培养用液，原代培养和传代培养的区别和具体过程。播放细胞传代培养操作视频，示范操作过程。提前为每位学生准备 1 瓶生长良好的 CHO 细胞，学生到无菌操作间的超净工作台上独立开展操作，对 CHO 细胞进行胰酶消化，传代培养，并用倒置显微镜观察细胞生长状况。以此训练学生无菌操作的基本技能。

目的要求：学生通过实验，在今后的科研中会独立进行细胞传代培养的相关无菌操作。能够维护细胞培养专用房间的无菌环境，严格按照要求操作，会在无菌环境中配制各种培养液、消化液和其他试剂，会包装灭菌消毒各种器具，会在超净台中熟练进行细胞传代培养。能够在实验结束后及时清理细胞房间和各种实验用品，养成良好的实验习惯。

实验 6. 细胞计数和流式细胞仪分析细胞周期

教学内容：引导学生讨论计数细胞的多种方法和相应的仪器，讨论细胞计数仪的设计原理——库尔特原理，以及流式细胞仪的原理和应用。重点讲述细胞计数板的设计原理，图片解释计数池、大方格、中方格和小方格，计数板的使用方法，计数方法和规则。然后讲述流式细胞仪的发展历史、原理及其应用。提前准备培养的 CHO 动物细胞。学生固定和染色细胞，反复练习使用细胞计数板计数细胞，计算浓度，使多次计数的结果之间的差异不超过 5%。学生使用流式细胞仪计数细胞，并分析 CHO 细胞周期。对比细胞计数板和流式细胞仪的结果并分析。

目的要求：学生通过实验，系统地学习细胞计数的常规技术，了解各种计数仪器设备的原理及其应用，熟悉流式细胞仪的原理和应用。能够独立进行细胞计数板的正确使用，明确多次使用取平均值的重要性；对影响细胞计数准确性的操作可以进行有效的判断。能够正确处理细胞并运用流式细胞仪进行细胞周期分析。

实验 7. CHO 细胞药物处理离心后中间纤维的免疫酶标染色

教学内容：引导学生讨论免疫细胞化学技术的原理和应用，以及如何设计对照组。重点讲述免疫学中的重要概念，利用免疫学的抗原和抗体的结合讲述免疫细胞化学技术，单克隆抗体和多克隆抗体的区别，一抗和二抗的概念，免疫酶标技术、免疫荧光技术和免疫电镜技术，对照组的设计，细胞骨架的基本概念等。学生利用自己培养的 CHO 细胞，用破坏微管和微丝的药物处理后，在离心力的作用下发生变形，其中密度较大的细胞核被甩出细胞外。由于中间纤维的支持作用，细胞核仍旧被细胞骨架和细胞膜包裹，甩向一侧。用抗中间纤维的成分之一波形蛋白的抗体和带有碱性磷酸酶标记的二抗孵育细胞，然后用化学试剂显色，可以观察正常细胞和变形细胞的中间纤维，及其对细胞核的支持作用。

目的要求：学生通过实验，在今后的科研中会独立进行细胞免疫化学操作，能够进行相关固定、封闭、抗体孵育、清洗和显色等步骤。明确所有操作的原理和注意事项。能够正确设计对照组，从实验中总结经验，分析成败的原因和改进意见，并进行实验条件的优化探索。此外，学生还对细胞骨架的支持作用加深了理解。

实验 8. GFP 在体外培养的 CHO 细胞中瞬时表达

教学内容：引导学生在染色体和 DNA 分子（基因）两个水平上，讨论将基因导入细胞的技术方法。包括细胞融合、转基因技术、显微注射、细胞转染等。并讨论细胞转染中瞬时表达和稳定表达的概念和区别。重点讲述细胞转染技术，从质粒和病毒两种载体分别讲述外源 DNA 的导入方法，报告基因的表达与检测，绿色荧光蛋白的发现和应用，外源基因的瞬时和稳定表达。播放视频演示脂质体法将质粒导入细胞表达的方法。提前准备好细胞和质粒，学生在无菌操作间将脂质体和质粒混合，转染 CHO 细胞。学生可以分组讨论，制定不同的反应条件，探索并优化实验条件，引导学生做实时记录。学生用倒置荧光显微镜观察实验结果并相互分析与比较实验条件对结果产生的影响，及时记录数据和拍照，提交照片。引导学生讨论产生最佳结果的条件和原因，总结经验。

目的要求：学生通过实验，系统地学习了外源基因导入细胞的各种实验原理及其应用。在今后的科研中会独立进行脂质体法将外源基因转染细胞并瞬时表达的操作，能够在无菌条件下进行细胞的瞬时转染技术，并会用倒置荧光显微镜观察细胞瞬时表达荧光蛋白质的定位、分布以及表达量。能够自我分析转染过程中的注意事项、转染效率高低的因素，能够对结果的优劣做出判断并会加以改进。能够在以后的科研中，顺利进行细胞转染的实验操作。

*学习目标
(Learning
Outcomes)

1. 配合细胞生物学的理论学习，帮助理解理论知识，加深记忆。
2. 熟练掌握和规范使用细胞生物学研究的基本技术，学习并会独立使用当前先进的研究方法和技能。
3. 开展文献阅读、小组讨论、课上汇报，能够围绕课题自学并制定研究方案，提高团队合作能力和流利的语言表达能力。
4. 通过综合实验的训练，培养和提高实验设计能力、深入探索和优化实验的能力、科学的思维能力、比较和分析问题的能力。
5. 通过实验课程的训练，具备全面的科学研究素质和创新能力，为进

一步开展创新研究打下坚实的基础。						
	教学内容	学时	教学方式	作业及要求	基本要求	考查方式
*教学内容、进度安排及要求 (Class Schedule & Requirements)	细胞观察与分析	4	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	DNA Feulgen 染色	4	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	酸性磷酸酶染色	4	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	骨髓细胞染色体	6	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	细胞培养	4	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	细胞计数与周期分析	5	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	细胞骨架的免疫酶标染色	5	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	GFP 在细胞中表达	6	学生汇报、授课、实践	预习报告、实时记录和实验报告	围绕题目预习，分组准备 PPT，课上汇报与讨论	综合考察
	*考核方式 (Grading)	本实验课程单独设课，单独考核评分。对学生的成绩考核按百分制计算，由 7 个方面组成：按时上课占 5%，预习与汇报占 15%，实验操作占 10%，实验结果占 10%，实时记录占 10%，实验报告占 30%，期末考试占 20%。				
*教材或参考资料 (Textbooks & Other Materials)	李志勇主编，闫晓梅副主编。《细胞工程技术实验》，北京：高教育出版社，2016 孙群主编，《现代细胞生物学与分子生物学实验》，北京：林业出版社，2012 王金发，何炎明主编，《细胞生物学实验教程》第二版，北京：科学出版社，2013					
其它 (More)	无					
备注 (Notes)	无					