

《综合生物学实验 I》教学大纲

课程代码: NANA2052

课程名称: 综合生物学实验 I

英文名称: General Biology experiment I

课程性质: 专业必修课

学分/学时: 1.5 学分/54 学时

考核方式: 预习报告+实验操作+实验报告

开课学期: 5

适用专业: 纳米材料与技术

先修课程: 生物化学与分子生物学

后续课程: 综合生物学实验 II

开课单位: 纳米科学技术学院

课程负责人: 甘牡丹

大纲执笔人: 甘牡丹

大纲审核人: 殷黎晨

选用教材: 《综合生物学实验 I》

一、课程目标

通过本课程的理论学习和实验训练,使学生具备下列能力:

1. 能根据实验目标,选择合理的方法研究纳米材料的不同性质对其与生物物质相互作用的影响,设计研究纳米材料在生物领域的应用的技术路线。(支撑毕业要求指标点 3-1)

2. 能够使用现代科学仪器设备研究纳米科技领域的复杂问题,能够使用信息技术工具设计实验方案,专业软件处理实验图片和数据,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

综合生物学实验I 为纳米医学培养方向核心课程,1.5 个学分,有 54 个学时,生物化学基础实验 8 个、分子生物学基础实验 9 个,课程先培养学生基础实验技能,后研究纳米材料在生物领域的应用,每个实验项目互相独立又相互联系,整体对应 2 个课程目标。

1. 实验课程简介及要求

介绍课程内容、实验室安全规则、仪器使用规范。

要求学生:

(1) 了解课程内容,掌握实验室安全规则;

(2) 掌握电子天平、移液器、高速离心机常规仪器的使用方法和注意事项。

2. 氨基酸纸层析

该实验项目利用纸层析法对不同性质的氨基酸进行分离。

安全及注意事项:

(1) 操作过程中,保持滤纸清洁。

(2) 点样时,点样斑点直径不超过 0.5cm,防止斑点重叠。

(3) 层析缸中展开剂的高度不超过 2cm。且展开剂接触滤纸时均匀,保持前沿线与滤纸平行。

(4) 层析结束后,勿忘记画溶剂前沿线,显色在通风橱操作!

要求学生:

(1) 了解纸层析法的原理

(2) 熟悉不同种类氨基酸在水相和有机相中的溶解差异

(3) 掌握纸层析法的具体操作方法

3. 蛋白质的颜色反应和蛋白质的沉淀反应

实验内容为蛋白质的不同颜色反应(双缩脲反应、黄色反应和茚三酮反应)和蛋白质在不同条件下的

沉淀反应。

安全及注意事项：

- (1) 硫酸铜不能多加，否则将产生蓝色的 $\text{Cu}(\text{OH})_2$
- (2) 茚三酮反应中加热注意安全，管口禁止朝人！

要求学生：

- (1) 了解蛋白质不同颜色反应和沉淀反应的反应机理
- (2) 熟悉蛋白质中不同基团的反应特点
- (3) 掌握蛋白质颜色反应和沉淀反应的分析方法
- (4) 熟悉蛋白质沉淀反应的基本种类

4. Bradford 法检测蛋白质含量

实验原理是考马斯亮蓝在游离状态下，最大吸收峰为 465nm；与蛋白质结合后为青色，蛋白质-色素结合物在 595nm 波长处有最大吸收。实验内容为用 Bradford 法检测蛋白质含量。

安全及注意事项：

(1) 测定工作应在蛋白质染料混合后 2min 开始，力争 1h 内完成，否则会因蛋白质-染料复合物发生凝集沉淀而影响测定结果。

- (2) 手持比色皿两侧的毛面。

要求学生：

- (1) 了解蛋白质不同定量检测方法的基本原理
- (2) 掌握文献检索蛋白质不同定量检测方法，了解其优缺点
- (3) 掌握 Bradford 法进行蛋白质定量检测的操作方法
- (4) 掌握紫外分光光度计的使用方法。

5. SDS-PAGE 电泳技术

实验内容为利用 SDS-PAGE 电泳技术对蛋白质进行分离

安全及注意事项：

(1) 玻片需要洗干净且完全干燥，且制备凝胶过程中每一步都不可以产生气泡，否则电泳时蛋白样品流经气泡会导致条带参差不齐。

(2) 按顺序依次加入凝胶制备剂，过硫酸铵和 TEMED 加速剂 需最后加入混匀，才能保证正确的触发胶凝固。

要求学生：

- (1) 了解 SDS-PAGE 电泳的基本原理
 - (2) 掌握 SDS-PAGE 电泳技术的具体操作方法
 - (3) 掌握凝胶成像仪使用方法
- #### 6. 不同种类氧化石墨烯衍生物对蛋白质的吸附能力比较

实验项目以氧化石墨烯 GO 及其不同种类衍生物为研究对象，利用蛋白质定量检测和蛋白质电泳两种方法，研究表面化学性质对其与蛋白质相互作用的影响。

安全及注意事项：

在进行 BCA 蛋白定量检测时，需要准备阴性对照样品。

要求学生：

- (1) 理解表面化学性质对纳米材料与蛋白质相互作用的影响
- (2) 掌握研究不同性质纳米材料与蛋白质相互作用的基本方法
- (3) 掌握研究纳米材料在生物领域应用的基本方法

7. 糖的颜色反应

实验内容为采用莫氏试剂和塞氏试剂与不同种类糖类物质发生颜色反应。

安全及注意事项：

- (1) 使用浓硫酸、浓盐酸注意!
- (2) 加入浓硫酸后, 慢慢竖起试管, 勿摇动!
- (3) 沸水浴小心烫伤!

要求学生:

- (1) 了解糖的颜色反应的基本原理
- (2) 熟悉不同种类糖类物质的颜色反应特点
- (3) 掌握利用颜色反应鉴定糖类物质的方法

8. 卵磷脂的提取与鉴定

实验内容为鸡蛋中卵磷脂的提取与鉴定。

安全及注意事项:

必须水浴蒸去乙醇, 不可用明火!

要求学生:

- (1) 了解卵磷脂提取的基本原理
- (2) 掌握卵磷脂的提取与鉴定方法

9. 动物肝脏 DNA 的提取

实验内容为提取小鼠肝脏 DNA。

安全及注意事项:

- (1) 研磨要充分
- (2) 操作柔和, 防止 DNA 链断裂。

要求学生:

- (1) 了解小鼠的解剖结构及处死方法
- (2) 熟悉肝脏 DNA 提取的基本原理
- (3) 掌握肝脏 DNA 提取的基本操作方法

10. 氯化钙法制备感受态大肠杆菌

实验内容为利用氯化钙制备感受态大肠杆菌。

安全及注意事项:

- (1) 严格无菌操作, 保持器皿、试剂无菌。
- (2) 严格按照要求低温操作, 步步不离冰
- (3) 悬浮细胞时要轻柔, 以免菌体破碎。

要求学生:

- (1) 了解制备感受态大肠杆菌的基本原理
- (2) 熟悉并掌握氯化钙法制备感受态大肠杆菌的基本方法
- (3) 掌握超净工作台基本操作

11. 感受态细菌的转化

实验内容为用质粒 DNA 转化感受态细菌。

安全及注意事项:

- (1) 严格无菌操作, 保持器皿、试剂无菌。
- (2) DNA 体积不能超过感受态细胞体积的 5%。
- (3) 严格控制热休克时间。
- (4) 加 LB 液体培养基振荡转速不超过 150rpm/min。

要求学生:

- (1) 了解感受态大肠杆菌转化的基本原理
- (2) 熟悉并掌握感受态大肠杆菌转化的基本操作方法

12. 质粒 DNA 的提取与琼脂糖凝胶电泳

实验内容为提取大肠杆菌质粒 DNA，进行琼脂糖凝胶电泳分离质粒 DNA

安全及注意事项：

- (1) 悬浮细菌沉淀彻底。
- (2) 制胶过程不要形成气泡！
- (3) 加样时小心不要碰坏样品孔周围及底部的凝胶！
- (4) 电压不应超过 5V/cm，溴酚蓝指示剂不能跑出胶外！

要求学生：

- (1) 掌握质粒 DNA 提取的基本原理和操作方法
- (2) 掌握琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 的原理和基本操作

13. 不同种类金纳米材料对质粒 DNA 的吸附能力比较

本实验以不同理化性质的金纳米材料为研究对象，利用核酸分析仪定量检测和琼脂糖凝胶电泳两种方法，研究表面化学性质对其与核酸相互作用的影响。

安全及注意事项：

- (1) 注意纳米材料和质粒 DNA 加入顺序。
- (2) 琼脂糖颗粒溶解彻底，插入梳子注意高度！
- (3) 胶凝固后，再放入电泳槽，放入时注意正负极。

要求学生：

- (1) 理解不同理化特性对纳米材料与 DNA 相互作用的影响
- (2) 掌握研究不同性质纳米材料与 DNA 相互作用的基本方法
- (3) 掌握研究纳米材料在生物领域应用的基本方法

14. 不同种类纳米材料的基因转染能力评价

本实验以不同纳米材料为研究对象，利用流式细胞仪和倒置荧光显微镜两种仪器，研究不同纳米材料的基因转染能力。

安全及注意事项：

- (1) 转染复合物用无血清培养基配制
- (2) 上流式样品必须是单细胞悬液
- (3) 倒置荧光显微镜观察荧光时，30min 内不可以关闭汞灯开关。

要求学生：

- (1) 掌握基因转染的基本原理和操作方法
- (2) 掌握流式细胞仪、倒置荧光显微镜的原理和基本操作方法
- (3) 掌握研究纳米材料在生物领域应用的基本方法

15. 引物设计

本节内容为用引物设计软件设计目的基因的互补引物

要求学生：

- (1) 了解基因工程原理
- (2) 掌握引物设计的原理和基本原则
- (3) 掌握运用信息技术获取基因序列和设计引物的方法

16. mRNA 提取及 cDNA 的获取

本实验以 Trizol 裂解法提取肿瘤细胞总 RNA，并采用反转录获取目的基因 cDNA。

安全及注意事项：

- (1) 细胞裂解充分，无明显沉淀。
- (2) 所有反应在冰上进行。
- (3) 防止 RNA 酶污染。

要求学生：

- (1) 了解 mRNA 提取及其反转录(cDNA 获取)的基本原理
- (2) 熟悉影响 mRNA 提取质量的关键因素
- (3) 掌握 mRNA 提取及 cDNA 获取的基本方法

17. 聚合酶链反应制备目的基因

本实验利用 PCR 技术扩增制备目的基因。

安全及注意事项:

- (1) 解冻后的试剂需温和涡旋，离心再使用。
- (2) PCR 管置于冰上，先加水，buffer，引物，模板等性质较稳定物质，再加 dNTP 和 Taq 酶等易降解物质，dNTP 溶解后和 Taq 酶置于冰上。

要求学生:

- (1) 了解 PCR 仪的基本原理
- (2) 熟悉 PCR 反应中上下游引物的设计原理与方法
- (3) 掌握 PCR 反应的基本操作方法

三、考核方式

每个实验项目分为三个过程考核：实验预习（教材学习+预习报告），实验操作，实验报告；考核内容主要包括：文献研读、方案设计、安全规范、操作技能、结果分析、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. 能根据实验目标, 选择合理的方法研究纳米材料的不同性质对其与生物物质相互作用的影响, 设计研究纳米材料在生物领域应用的技术路线。(支撑毕业要求指标点 3-1)	文献研读能力、实验设计能力、遵守实验室安全规范能力、探究纳米材料在生物领域应用的能力、方案优化能力	预习报告 课堂实验 操作 实验报告 课堂讨论
2. 能够使用现代科学仪器设备研究纳米科技领域的复杂问题, 能够使用信息技术工具设计实验方案, 专业软件处理实验图片和数据, 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)	信息检索能力、实验仪器规范使用能力、数据图片收集处理能力、实验结果分析和预测能力	预习报告 视频学习 课堂讨论 实验报告 课后习题 讨论

成绩评定方法:

每个实验项目的成绩 = 预习 (20%) + 实验操作 (40%) + 实验报告 (40%)

学生课程总成绩为 17 个实验的平均成绩。

	实验预习权重	实验操作权重	实验报告权重
课程目标 1	0.6	0.3	0.3
课程目标 2	0.4	0.7	0.7

课程目标（即毕业要求指标点）达成度评价方法:

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)

各项平均分为所有学生所有实验该环节的平均值。

评分标准:

课程目标	90-100	75-89	60-74	0-59
------	--------	-------	-------	------

	(优秀)	(良好)	(及格)	(不及格)
<p>1. 能根据实验目标,选择合理的方法研究纳米材料的不同性质对其与生物物质相互作用的影响,设计研究纳米材料在生物领域应用的技术路线。(支撑毕业要求指标点 3-1)</p>	<p>针对实验目标,能准确选用合理的研究方法,能自主设计纳米材料在生物领域应用的技术路线,能全面考虑方案和技术路线相关的各项因素,能自主完成设定的技术路线,能提出有效优化方案。</p>	<p>针对实验目标,能选用合理的研究方式和方法,能自主设计纳米材料在生物领域应用的技术路线,能基本考虑方案和技术路线的相关因素,能自主完成设定的技术路线,能提出部分优化方案。</p>	<p>针对实验目标,能够研读给定文献,选用基本合理的研究方式和方法,能部分设计纳米材料在生物领域应用的技术路线,但考虑不全面,能在教师指导下完成设定的技术路线,不能提出优化方案。</p>	<p>研读给定文献困难,针对实验目标,选用的研究方式和方法不够合理,不能参与设计具体技术路线以实现纳米材料在生物领域应用,且在实验操作过程中需要教师辅助才能完成实验步骤。</p>
<p>2. 能够使用现代科学仪器设备研究纳米科技领域的复杂问题,能够使用信息技术工具设计实验方案,专业软件处理实验图片和数据,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)</p>	<p>在教师指导下能熟练使用现代科学仪器并掌握其原理,在方案设计、数据处理过程中能熟练地使用信息技术工具,能与预期结果或理论结果进行比较,并作出准确分析,预习报告、实验报告内容丰富。对纳米科技领域的复杂问题能给出合理预测与模拟。</p>	<p>在教师协助下能使用现代科学仪器并了解其原理,在方案设计、数据处理过程中能比较熟练地使用信息技术工具,能与预期结果或理论结果进行比较和合理分析,预习报告、实验报告内容充实。对纳米科技领域的复杂问题能给出有限预测与模拟。</p>	<p>在教师帮助下能使用现代科学仪器,在方案设计、数据处理过程中能部分使用信息技术工具,并与预期结果或理论结果进行比较和初步分析,预习报告、实验报告完整。但对纳米科技领域的复杂问题不能给出合理预测与模拟。</p>	<p>对现代科学仪器不太了解,在方案设计、数据处理过程中不能使用信息技术工具,无法与预期结果或理论结果进行比较和分析,对纳米科技领域的复杂问题不能给出预测与模拟。预习报告、实验报告不完整。</p>