

《细胞生物学实验》课程教学大纲

(Cell Biology Experiment)

一、课程说明

课程名称及代码：细胞生物学实验/02301670

课程性质：专业必修

课程学分：1.5

开课学期：第四学期

适用专业：生物科学专业(师范)

课程总学时：48

课程周学时：4

先修课程：动物学、植物学、生物化学、植物生理学

二、课程目标

1. 课程目标内容

课程目标 1：学生可以科学解读细胞生物学实验原理，规范开展植物细胞骨架标本制作、植物原生质体分离及诱导融合、细胞器超活染色、动物细胞常规培养等实验操作；具有独立完成细胞生物学综合实验的能力。

课程目标 2：学生能够掌握细胞生物学的基本研究方法，并了解生物显微镜、细胞融合技术及动物细胞培养等技术在社会实践和科学研究领域中的应用价值。

课程目标 3：学生通过不同类型实验的训练，逐渐形成信息收集整理、创新、反思等科学素养，在细胞生物学相关研究和实践中，形成主动分析和解决问题的意识和能力。

2. 课程目标与毕业要求的对应关系

毕业要求指标点		课程目标 (支撑度)
3. 学科素养	3-2. 具备基础的生物学实验操作技能，具备解读实验原理、执行生物实验室操作规范、撰写实验研究报告等素养，具有独立开展验证性或综合性实验的经验。	课程目标 1 (H)
3. 学科素养	3-3. 知晓生物学相关领域的基本发展规律，理解生物学科知识体系基本思想和研究方法，了解生物相关知识技能与社会实践的联系与应用。	课程目标 2 (M)

毕业要求指标点		课程目标 (支撑度)
7. 学会反思	7-2. 具备一定的生物专业创新意识, 可以运用批判性思维和反思方法, 分析和解决生物专业学习和中学生物教学过程中存在的实际问题。	课程目标 3 (L)

(注: H 代表课程分目标与毕业要求分指标点为高支撑, M 代表中支撑, L 代表低支撑。)

3. 课程目标与课程教学内容的对应关系

章次	内容	支撑课程目标
一	普通光学显微镜的调试与观察	课程目标 1. 2
二	暗视野显微镜的制作与使用	课程目标 1. 2
三	细胞膜的渗透性及意义	课程目标 2. 3
四	液泡系及线粒体的活体染色与观察	课程目标 1
五	植物细胞骨架的光学显微镜观察	课程目标 1. 2
六	植物原生质体的分离与诱导融合	课程目标 1. 2. 3
七	动物细胞培养的无菌化准备	课程目标 1
八	动物细胞传代培养的虚拟仿真实训	课程目标 1
九	动物贴壁细胞的复苏	课程目标 1. 2. 3
十	动物贴壁细胞的传代培养	课程目标 1. 2. 3
十一	动物贴壁细胞的冻存	课程目标 1. 2. 3

三、课程教学与学习方法

1. 教学方法

(1) “线上” + “线下” 混合式教学

建立线上学习资源平台, 设置“导学作业”引导学生思考, 其中“导学作业”主要为具有启发意义的高阶性问题、程序性问题, 主要侧重于“实验原理的剖析”, “实验步骤的设置逻辑”, “实验结果的推断”等; 循序渐进的、逐步引导学生开展“信息收集整理”、“思维训练”、“主动探究”等自主学习行为, 促进学生表述个人观点, 关注别人的见解, 以更加开阔的心态开展学习活动。

(2) 形成性讲授法

在教学目标既定的前提下, 基于多媒体教学手段, 采用形成性课堂教学。主要根据学生线上学习出现的个性化问题、知识盲区或者核心知识冲突开展课堂教学, 引导学生在剖析实验原理的基础上理解实验步骤的合理性, 课堂教学辅助学生完成知识的验证和逻辑结构的形成。

（3）基于问题的教学

线上和线下均积极开展基于问题的情境化教学，将“知识形态”转变为“问题形态”，将核心知识点以情境下的问题形态交代给学生，鼓励学生自主探究该情境下的解决方法，由教师的“主动教”转变为学生的“主动学”。

2. 学习方法

（1）主动探究

学生在开展课堂学习之前，需要在网络教学平台进行先行的自学活动，主要通过解决教师提供的导学问题，完成对本节新课内容的了解和初步探究，形成基本的理论知识铺垫和思考。鼓励同学根据自己的认知情况，自主设计试验方案，在课堂开展实验验证和探究。

（2）文献调研

针对本课程的前沿性知识动态，可以通过文献调研拓展自己的专业知识领域，同时对于导学内的知识盲区可以通过文献调研的方式进行弥补和解答。

（3）团队合作

线上和线下学习中，建议同学开展积极的小组讨论、团队合作等学习方式，通过积极的讨论、实践完成知识的学习探究过程，主动的发现问题、解决问题。

四、教学内容

1. 教学内容与学时分配

章次	内 容	学时
实验一	普通光学显微镜的调试与观察	4
实验二	暗视野显微镜的制作与使用	4
实验三	细胞膜的渗透性及意义	4
实验四	液泡系及线粒体的活体染色与观察	4
实验五	植物细胞骨架的光学显微镜观察	4
实验六	植物原生质体的分离与诱导融合	4
实验七	动物细胞培养的无菌化准备	8
实验八	动物细胞培养的虚拟仿真实训	4
实验九	动物贴壁细胞的复苏	4
实验十	动物贴壁细胞的传代培养	4
实验十一	动物贴壁细胞的冻存	4

2. 教学大纲

实验一、普通光学显微镜的调试与观察（4 学时）（支撑课程目标 1.2）

1. 学习目的与要求

- （1）掌握普通光学显微镜的标准操作；
- （2）学会光学显微镜光路合轴的调试；
- （3）通过人口腔上皮细胞形态的规范观察，进行标准的生物绘图；

2. 学习重点

- （1）知晓光学显微镜每个结构的功能和标准使用方法；
- （2）掌握光路合轴标准的调节方法；

3. 学习难点

- （1）标准化操作光学显微镜的光路合轴；

4. 主要内容

在了解光学显微镜详细结构及观察原理基础上，进行光路合轴的调试操作。并制作人口腔上皮细胞标本，完成一次标准的光学显微镜观察，了解生物绘图规范。

5. 课后参考作业：

- （1）10 倍或 40 倍镜视野下，标准的绘制人口腔上皮细胞生物绘图。

实验二、暗视野显微镜的制作与使用（4 学时）（支撑课程目标 1.2）

1. 学习目的与要求

- （1）掌握暗视野显微镜的工作原理及使用方法；
- （2）了解暗视野显微镜的观察特点；

2. 学习重点

- （1）理解暗视野显微镜的成像原理；

3. 学习难点

- （1）理解暗视野显微镜的实际应用；

4. 主要内容

在了解暗视野显微镜观察原理基础上，利用普通光学显微镜制作基本的暗视野观察情境，利用浮游生物（如剑水蚤等）进行暗视野显微镜观察，拍照记录实验结果，对比分析暗视野显微镜和普通光学显微镜观察图像的区别。

5. 课后参考作业：

- (1) 对浮游生物进行暗视野效果观察。
- (2) 对比观察普通光学显微镜和暗视野显微镜观察浮游生物图像的差别。
- (3) 如果挡光板制作的时候出现残缺的瑕疵，是否会影响观察效果？举例说明。

实验三、细胞膜的渗透性及意义（4 学时）（支撑课程目标 2.3）

1. 学习目的与要求

- (1) 理解血细胞测试细胞膜选择透过性的原理；
- (2) 通过单盲实验，理解实验误差产生的原因，认真对待科学研究的严谨性；

2. 学习重点

- (1) 通过组间数据对比，分析了解实验误差产生的原因，进而规范个人实验操作；

3. 学习难点

- (1) 通过实验原理解读，对预设实际进行溶血速度的预判，并开展单盲实验；

4. 主要内容

设置单盲实验，通过实验原理解读，预判 8 种试剂进入细胞膜的速度（时间），并通过实验操作进行验证。通过组间数据的比较，了解标准化操作、组内重复、实验误差等科学研究基本方法论的核心理念。

5. 课后参考作业：

- (1) 记录实验结果并分析不同组物质进入细胞膜速度不同的原因（按极性、分子大小等分析）。
- (2) 分析数据并讨论本组数据产生误差的可能原因。

实验四、液泡及线粒体的活体染色与观察（4 学时）（支撑课程目标 1）

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握细胞器超活染色的原理及应用领域。
- (2) 利用詹纳斯绿 B 染色，观察线粒体的基本形态与分布。
- (3) 利用中性红染色，观察植物液泡的形态与分布。

2. 学习重点

- (1) 总结归纳不同超活染色的原理区别；
- (2) 自主探究超活染色的应用领域；

3. 学习难点

- (1) 超活染料与细胞器之间的匹配，才能实现超活染色，理解其实验设计理念。

4. 主要内容

活体染色是指对生活有机体的细胞或组织能着色但没有毒害的一种染色方法。线粒体内膜上分布有细胞色素氧化酶，该酶能使詹姆士绿 B 保持在氧化状态，呈现蓝绿色从而使线粒体显色，而细胞质中的染料被还原成无色。液泡是细胞内浓缩产物的主要场所。中性红是液泡的特殊染色剂，将液泡染成红色。利用该原理对人口腔上皮细胞/洋葱表皮细胞进行相应细胞器的染色观察。

5. 课后参考作业：

- (1) 绘制线粒体和液泡的形态图，并描述其分布及形态，并对实验结果进行分析总结。

实验五、植物细胞骨架的光学显微镜观察（4 学时）（支撑课程目标 1.2）

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握植物细胞骨架标本的基本制备方法；
- (2) 掌握考马斯亮蓝 R250 对细胞骨架的染色方法；
- (3) 理解细胞骨架标本制作方法的设计原理；

2. 学习重点

- (1) 理解植物细胞骨架标本的制作原理；
- (2) 理解每级试剂设置在本实验系统内的作用；

3. 学习难点

- (1) 理解细胞骨架染色操作关键因素对实验结果的影响，并能科学分析实验结果。

4. 主要内容

本实验采用去垢剂 Triton-100 的缓冲液处理植物材料，可将细胞的膜结构和大部分蛋白质抽提掉，但细胞骨架系统的蛋白却被保存下来。用考马斯亮蓝 R250 染色，酸性溶液中与蛋白质结合显蓝色，胞质背景着色弱利于细胞骨架纤维显示。观察植物细胞骨架的形态及分布特点。

5. 课后参考作业：

- (1) 10 倍或 40 倍镜视野下，进行植物细胞骨架生物绘图，并对实验结果进行分析总结。

实验六、植物原生质体的分离与诱导融合（4 学时）（支撑课程目标 1.2.3）

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握获得植物单细胞的两种基本方法；

- (2) 学会酶解法制备植物原生质体；
- (3) 组内协作完成 PEG 诱导的植物原生质体诱导融合；
- (4) 文献调研了解细胞融合技术的前沿应用进展；

2. 学习重点

- (1) 酶解法获得植物单个细胞和原生质体的技术要领；
- (2) 掌握 PEG 诱导植物细胞融合的方法；

3. 学习难点

- (1) 获得活性较高的植物原生质体，提高诱导融合比率

4. 主要内容

利用酶解法（纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶），辅以机械法获得植物原生质体，利用 PEG 诱导植物原生质体融合，并进行观察。介绍植物及动物获得单细胞的方法及原理，诱导动物细胞（植物原生质体）的方法，并拓展有关细胞融合技术在单克隆抗体制备领域的应用。

5. 课后参考作业：

- (1) 10 倍或 40 倍镜视野下，植物原生质体诱导融合过程生物绘图，对实验结果进行分析总结。
- (2) 文献调研了解细胞融合技术的前沿应用进展；

实验七、动物细胞培养的无菌化准备（8 学时）（支撑课程目标 1）

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握无菌室无菌化准备流程及方法；
- (2) 掌握动物细胞培养各类仪器器皿的无菌化处理方法及标准；

2. 学习重点

- (1) 各种操作对象的无菌化标准及方法；

3. 学习难点

- (1) 形成较为系统的无菌操作意识，并认识到无菌操作的严谨性；

4. 主要内容

通过团队协作，完成动物细胞培养前期的无菌化准备工作，主要包括实验室、基本仪器、器皿及试剂的无菌化处理（清洗、消毒、试剂分装等），掌握无菌化准备的基本流程及严谨性，为后期细胞培养工作做好筹备工作。

5. 课后参考作业：

- (1) 记录无菌化准备的基本流程，形成可行性技术路线图；

实验八、动物细胞传代培养的虚拟仿真实训（4 学时）（支撑课程目标 1）

1.学习目的与要求

- (1) 通过虚拟实验室，对动物贴壁细胞的培养过程形成感性认知；
- (2) 完成动物贴壁细胞传代培养的实训操作；

2.学习重点

- (1) 独立完成贴壁细胞的传代培养操作；

3.学习难点

- (1) 动物细胞培养无菌操作理念的形成；

4.主要内容

通过动物细胞培养虚拟实验室的操作，基本了解细胞培养的基本流程，通过实验室实训，独立完成一次细胞传代操作，并规范个人无菌操作习惯。

5.课后参考作业：

- (1) 完成超星泛雅平台有关细胞操作的视频观摩。

实验九、动物贴壁细胞的复苏（4 学时）（支撑课程目标 1.2.3）

1.学习目的与要求

- (1) 掌握细胞复苏的基本原理；
- (2) 熟练进行细胞复苏的操作；

2.学习重点

- (1) 自主完成贴壁细胞的复苏操作；

3.学习难点

- (1) 基于标准的无菌操作，保证复苏细胞的存活率；

4.主要内容

在掌握基本无菌操作的基础之上，独立完成一次复苏实验，保证无菌操作规范。

5.课后参考作业：

- (1) 拍照记录复苏的细胞状态；
- (2) 在下次实验，拍照记录细胞贴壁的状态，对冻存效果进行评估；

实验十、动物贴壁细胞的传代培养（4 学时）（支撑课程目标 1.2.3）

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握动物贴壁细胞传代培养的基本操作过程;
- (2) 观察体外培养细胞的形态及生长状态;
- (3) 熟练无菌操作技术;

2. 学习重点

- (1) 能够独立、标准化的进行动物贴壁细胞的传代;

3. 学习难点

- (1) 在传代的过程中注意无菌操作的严格性;
- (2) 了解细胞需要传代的判定标准;

4. 主要内容

基于无菌化操作, 掌握动物细胞常规培养条件, 进行贴壁细胞的传代培养工作。

5. 课后参考作业:

- (1) 记录独立开展传代培养的操作心得和体会;
- (2) 拍照记录细胞传代后的形态, 通过对比贴壁前后细胞的状态, 对细胞的活性和无菌操作情况进行判断;

实验十一、贴壁细胞人肺癌细胞 A549 的冻存 (4 学时) (支撑课程目标 1. 2. 3)

1. 学习目的与要求

- (1) 掌握细胞冻存的基本原理;
- (2) 熟练进行细胞冻存的操作;

2. 学习重点

- (1) 自主完成贴壁细胞的冻存操作;

3. 学习难点

- (1) 基于标准的无菌操作, 保证冻存细胞的存活率;

4. 主要内容

在掌握传代培养的基础之上, 独立完成一次细胞的冻存, 主要包括细胞的消化判定、细胞吹打效果、梯度降温等, 并验证个人无菌操作和细胞存活情况。

5. 课后参考作业:

- (1) 完成并分析你所做的细胞冻存实验。

五、考核内容及方式

1. 学生成绩评价方式

课程目标	权重	评价方式
课程目标 1	0.5	1. 课堂表现测评 2. 期末测试
课程目标 2	0.3	1. 网络平台测评 2. 课堂表现测评 3. 期末测试
课程目标 3	0.2	1. 网络平台测评 2. 期末测试

2. 学生成绩评定方法

(1) 总评成绩计算方法

总评成绩=50%课堂表现测评+20%期末测评+10%课程音频学习+10%线上作业+10%课程积分

课堂表现测评=10%出勤+10%课堂互动+60%实验操作+20%报告册书写

课程目标 \ 比例	课堂表现 分数分配比例%	期末测试 分数分配比例%	网络平台测评 分数分配比例%
课程目标 1	60	20	
课程目标 2	40	50	50
课程目标 3		30	50

(2) 评分标准

评分标准					
评价方式	评价内容	90-100 分	75-89 分	60-75 分	小于 60 分
		优	良	合格	不及格
课堂表现测评	出勤	无缺勤	缺勤 1 次	缺勤 2 次	缺勤 3 次及以上
	课堂互动	能够主动回答问题，回答逻辑清楚，能够正确回答问题	能够主动回答问题，回答逻辑较为清楚，基本可以解决问题	能够回答问题，回答逻辑较为清楚，内容基本正确	未主动回答问题；回答问题逻辑混乱，不能解决问题
	实验操作	准确理解实验原理和方法，能够独立开展标准化的操作实验	理解实验原理和方法，能够开展较为标准化的操作实验	了解实验原理和方法，可以开展较为标准化的操作实验	未清楚了解实验原理和方法，不能开展标准化的操作实验

评分标准					
	评价内容	90-100 分	75-89 分	60-75 分	小于 60 分
		优	良	合格	不及格
	报告册书写	报告册书写格式标准，内容表述科学，能对实验结果进行客观合理的分析总结	报告册书写格式较为标准，内容表述较为科学，对实验结果进行初步的分析总结	报告册书内容较为完整，对实验结果进行了分析总结，有待改善	报告册书写格式混乱，内容科学性欠缺，未能对实验结果进行分析总结
期末检测	实验操作技能的掌握情况	准确掌握实验操作执行标准的各项要求	掌握实验操作执行标准的基本要求	基本了解实验操作执行标准的要求	尚未了解实验操作执行标准的的基本要求
	实验原理及方法的理解情况	准确理解实验原理的内涵及实验方法的应用	理解实验原理的内涵及实验方法的应用	较为理解实验原理的内涵及实验方法的应用	尚未掌握实验原理的内涵及实验方法的应用
	实验反思及应用掌握情况	针对实验情景能够进行积极准确的反思，并给出正确的分析解释	针对实验情景能够进行反思，给出较为正确的分析解释	针对实验情景能够开展反思，但是其分析解释的合理性有待加强	针对实验情景不能开展合理的反思，无法给出分析解释
网络平台测评	解决问题的方法及方案的正确性和合理性	提出合理的问题解决方法和方案	提出较为合理的问题解决方法和方案	试图提出问题解决方法和方案，但有待强化其合理性	不能提出解决方案；或方案基本无效
	开展自主探究、创新反思的情况	能够积极的进行自主探究学习，开展有效的创新和反思尝试	能够进行自主探究学习，开展创新和反思尝试	能够完成教师布置的自主探究性任务，进行创新或反思尝试	未完成自主探究性任务

3. 课程达成度评价方法

(1) 课程目标达成度评价方法

比例 课程目标	课堂表现测 评权重	网络平台 作业测评	期末检测 权重	课程分目标达成评价方法
课程目标 1	0.7		0.3	课程目标 1 达成度= $0.7 \times (\text{课堂表现测评平均成绩} / \text{课堂表现测评总分}) + 0.3 \times (\text{期末检测平均成绩} / \text{期末检测总分})$
课程目标 2	0.4	0.3	0.3	课程目标 2 达成度= $0.4 \times (\text{课堂表现测评平均成绩} / \text{课堂表现测评总分}) + 0.3 \times (\text{期末检测平均成绩} / \text{期末检测总分}) + 0.3 \times (\text{网络平台作业测评平均成绩} / \text{网络平台作业测评总分})$
课程目标 3		0.7	0.3	课程目标 3 达成度= $0.3 \times (\text{期末检测平均成绩} / \text{期末检测总分}) + 0.7 \times (\text{网络平台作业测评平均成绩} / \text{网络平台作业测评总分})$

(2) 课程达成度评价方法

课程目标达成度= $0.5 \times \text{课程目标 1 达成度} + 0.3 \times \text{课程目标 2 达成度} + 0.2 \times \text{课程目标 3 达成度}$

六、推荐教材及学习参考资料

1. 推荐教材

(1) 《细胞生物学实验教程》(第二版),王金发等,科学出版社,2011.

参考书目:

(1) 《细胞生物学实验教程》(第三版),安利国等,科学出版社,2015.

(2) 《细胞生物学实验》(第二版),杨汉民,高教出版社,1995.

(3) 《细胞实验指南》(上、下),D. L. 斯佩克特,科学出版社,2003.

2. 学习参考资料

(1) 沈阳师范大学动物细胞培养虚拟教学平台

(2) 沈阳师范大学网络教学平台: <http://210.30.208.205>

(3) 沈阳师范大学超星智慧教学平台: <http://synudx.fanya.chaoxing.com/portal>

撰写人（签字）： 王泽

审定人（签字）：张颖

单位负责人（签字）：刘新宇

单位（盖章）：

时间： 2023 年 12 月 31 日