**组织工程学（732020）实验教学大纲**

**01．教学单位名称：**吉林大学药学院

**02．实验中心名称：**生物工程实验中心

**03．课程名称：**组织工程学

**04．课程代码：**732020

**05．课程类别：**专业课

**06．课程性质：**必修

**07．课程学时：**64学时，其中含实验32学时

**08．课程学分：**3

**09．面向专业：**吉林大学药学院生物医学工程专业本科生

**10．实验课程的教学任务、要求和教学目的**

组织工程学是将细胞、材料、组织和细胞因子及基因治疗应用于体内组织再生或体外组织构建的一门新兴、交叉学科，是重建外科领域重大革命进程的一个重要组成部分，是从事生物医学工程专业本科生必修的专业基础课。其实验课程的教学任务是使学生掌握组织工程学的基本实验方法和技术手段，加深并巩固学生对组织工程学理论的认识，培养实际操作技能。

要求：学生全面掌握组织工程基本的实验操作要领，对实验结果能做出客观、全面的分析与总结，独立撰写实验报告，培养和提高学生分析问题和解决问题的能力，使学生完成本门课程的学习任务之后，能够对组织的体内再生与体外构建过程中出现的问题进行正确分析并提出解决办法。

教学目的：通过本课程的学习，使学生掌握组织工程学的基本实验方法，培养学生的实验操作技能，提高学生独立思考、独立处理问题和独立解决问题的能力。

**11．学生应掌握的实验技术及实验能力**

1．通过学习各种组织细胞的培养技术，掌握无菌操作的基本方法。

2．采用机械分离、酶分离、密度梯度离心技术，使学生掌握关节软骨细胞、胶质细胞、骨髓间充质细胞的分离与培养技术。

3．掌握天然细胞外基质-胶原的制备与提纯技术。

4．掌握免疫细胞化学染色的基本方法，并利用该法鉴定神经胶质细胞。

**12．开设实验项目**

**开设实验项目一览表**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **实验项目编号** | **实验项目名称** | **实验类型** | **实验性质** | **实验学时** | **每组人数** | **首次开出年月** |
| 73202001 | 骨髓间充质细胞的分离培养 | 综合性 | 必做 | 8 | 2 | 201610 |
| 73202002 | 软骨细胞的分离及原代培养 | 综合性 | 必做 | 8 | 2 | 201610 |
| 73202003 | 大鼠神经胶质细胞的分离培养 | 综合性 | 必做 | 8 | 2 | 201610 |
| 73202004 | 天然细胞外基质-胶原的制备与提纯 | 研究性 | 必做 | 4 | 2 | 201610 |
| 73202005 | 大鼠星形胶质细胞的初步鉴定 | 验证性 | 必做 | 4 | 2 | 201610 |

**13．实验教材或指导书或主要参考资料**

1.鄂征、刘流等主编. 医学组织工程技术与临床应用. 北京出版社. 2003,第1版

2.金岩主编. 组织工程学原理与技术. 第四军医大学出版社.2004，第1版

3.侯宜、王芳等主编. 组织工程学实验讲义. 自编 2005

**14．考核要求、考核方式及成绩评定标准**

考核要求

考核方式：实验课成绩包括课上实践操作与实验报告，共占期末考试总成绩的20%。要求每次实验课后学生需提交一份实验报告，每份实验报告满分为20分，最终将所有实验报告的平均成绩作为实验成绩。

成绩评定标准：实验报告将根据学生的出勤情况5分、实验过程中的设计能力5分、操作能力5分以及对实验结果的综合分析能力5分综合评定。

**15．执笔人**

侯宜副教授

**16．制定日期**

20131026

**17．审核人**

王毅教授

**18．审核日期**

20131027

**19．学院审定程序说明**

大纲制定完毕后首先由学院教学指导委员对实验内容进行审定，然后由负责该实验的实验中心对耗材及价格进行审定。

**20．学院审定日期**

20131120

**组织工程(732020)实验项目卡1**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 组织工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732020 |
| 3 | 实验项目名称 | 骨髓间充质细胞的分离培养 |
| 4 | 实验项目编号 | 73202001 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 2 |
| 7 | 计划学时数 | 8 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 1、掌握新西兰白兔胫骨骨髓的取材方法；  2、掌握原代培养骨髓间充质细胞的方法。 |
| 10 | 实验内容 | 1、利用骨髓穿刺针在新西兰白兔胫骨抽取新鲜骨髓液；  2、利用分离介质Percoll对骨髓进行密度梯度离心，分离出骨髓间充质干细胞，并进行原代培养。 |
| 11 | 实验原理 | 利用密度梯度离心法，将骨髓中的各种细胞分层，分离出骨髓间充质干细胞。 |
| 12 | 实验类型 | 1.演示性□；2.验证性□；3.综合性□√；4.设计性□；5.研究性□。 |
| 13 | 实验者层次 | 本科生 |
| 14 | 实验仪器设备 | CO2培养箱、倒置生物显微镜、低速离心机、分析天平（万分之一）、电子秤（称动物重）、高压灭菌器、干燥箱、普通冰箱、蒸馏水制造设备、超净工作台 |
| 15 | 实验套数 | 10 |
| 16 | 开出时间 | 2016.10 |
| 17 | 教学单位名称 | 药学院 |
| 18 | 教学单位编号 | 73 |
| 19 | 实验单位名称 | 生物工程实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院210 |
| 23 | 一次性材料品名 | 新西兰大白兔1只、无水乙醇200ml、0.22微米滤器2个、进口一次性培养瓶5个、血清及培养基50ml、Percoll分离液20ml |
| 24 | 一次性材料 | 200元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 侯宜副教授 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 王毅教授 |

**组织工程(732020)实验项目卡2**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 组织工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732020 |
| 3 | 实验项目名称 | 软骨细胞的分离培养 |
| 4 | 实验项目编号 | 73202002 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 2 |
| 7 | 计划学时数 | 8 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 掌握软骨细胞体外分离、培养的基本方法 |
| 10 | 实验内容 | 1．取材：无菌条件下将死亡4小时以内的新西兰白兔两侧膝关节取出后，收集于含有D-Hanks溶液的培养皿中。  2．机械分离与酶分离。  3．细胞计数，接种培养。 |
| 11 | 实验原理 | 关节软骨包含有高度发达的细胞外基质（主要为Ⅱ型胶原）和相对稀疏、特化的关节软骨细胞。根据这种构成特点，关节软骨的分离主要依赖于Ⅱ型胶原酶，该酶具有较强梭状芽胞杆菌酶活性，适用于软骨、骨等组织的消化。 |
| 12 | 实验类型 | 1.演示性□；2.验证性□；3.综合性□√；4.设计性□；5.研究性□。 |
| 13 | 实验者层次 | 本科生 |
| 14 | 实验仪器设备 | CO2培养箱、倒置生物显微镜、低速离心机、分析天平（万分之一）、配平用天平、高压灭菌器、水浴箱、普通冰箱、蒸馏水制造设备、超净工作台 |
| 15 | 实验套数 | 10 |
| 16 | 开出时间 | 2016.10 |
| 17 | 教学单位名称 | 药学院 |
| 18 | 教学单位编号 | 73 |
| 19 | 实验单位名称 | 生物工程实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院210 |
| 23 | 一次性材料品名 | 新西兰大白兔1只、无水乙醇200ml、0.22微米滤器2个、进口一次性培养瓶/板5个、血清及培养基50ml、Ⅱ型胶原酶0.025g、胰蛋白酶0.125g |
| 24 | 一次性材料 | 220元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 侯宜副教授 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 王毅教授 |

**组织工程(732020)实验项目卡3**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 组织工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732020 |
| 3 | 实验项目名称 | 大鼠神经胶质细胞的分离培养 |
| 4 | 实验项目编号 | 73202003 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 2 |
| 7 | 计划学时数 | 8 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 1．掌握脑组织取材的基本方法。  2．掌握神经胶质细胞体外培养的基本方法。 |
| 10 | 实验内容 | 1．大鼠大脑神经胶质细胞的分离培养（原代培养）  (1)取出生1周内新生大白鼠大脑皮质。  (2)胰蛋白酶消化。  (3)制备初细胞悬液与次细胞悬液。  (4)将次细胞悬液培养。  2．进行星形胶质细胞与少突胶质细胞的分离培养 |
| 11 | 实验原理 | 采用机械分离与胰蛋白酶消化的方法，分离出大脑神经胶质细胞。依据星形胶质细胞的特征，对大脑灰质组织中的星形胶质细胞和少突胶质细胞进行进一步的分离培养。 |
| 12 | 实验类型 | 1.演示性□；2.验证性□；3.综合性□√；4.设计性□；5.研究性□。 |
| 13 | 实验者层次 | 本科生 |
| 14 | 实验仪器设备 | CO2培养箱、倒置生物显微镜、低速离心机、分析天平（万分之一）、高压灭菌器、干燥箱、水浴箱、普通冰箱、蒸馏水制造设备、超净工作台 |
| 15 | 实验套数 | 10 |
| 16 | 开出时间 | 2016.10 |
| 17 | 教学单位名称 | 药学院 |
| 18 | 教学单位编号 | 73 |
| 19 | 实验单位名称 | 生物工程实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院210 |
| 23 | 一次性材料品名 | 幼年大鼠1只、无水乙醇200ml、进口一次性培养瓶5个、血清及培养基50ml、胰蛋白酶0.125g、0.22微米滤器两个 |
| 24 | 一次性材料 | 80元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 侯宜副教授 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 王毅教授 |

**组织工程(732020)实验项目卡4**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 组织工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732020 |
| 3 | 实验项目名称 | 鼠尾胶原的制备 |
| 4 | 实验项目编号 | 73202004 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 2 |
| 7 | 计划学时数 | 4 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 1、掌握天然细胞外基质——胶原的制备方法。  2、通过本实验，探索研究胶原有哪些提取的方法。 |
| 10 | 实验内容 | 1．取成年大鼠鼠尾肌腱；  2．将切碎的肌腱转移至稀乙酸溶液中4℃保持48h；  3．离心后的上清加入NaOH，中和乙酸，离心获取沉淀；  4．等体积稀乙酸（1：1000）溶解沉淀，4℃保存。 |
| 11 | 实验原理 | 胶原蛋白通常从富含胶原纤维的组织，如皮肤、肌腱、骨骼中提取。根据胶原的溶解特性，其制备方法可分两类：一是通过溶解掉组织中可溶的胶原和非胶原成分，得到胶原纤维；另一种是分离和提纯可溶的胶原分子。 |
| 12 | 实验类型 | 1.演示性□；2.验证性□；3.综合性□；4.设计性□；5.研究性√。 |
| 13 | 实验者层次 | 本科生 |
| 14 | 实验仪器设备 | 分析天平（万分之一）、酸度计、高压灭菌器、干燥箱、水浴箱、普通冰箱、蒸馏水制造设备、冻干机 |
| 15 | 实验套数 | 10 |
| 16 | 开出时间 | 2016.10 |
| 17 | 教学单位名称 | 药学院 |
| 18 | 教学单位编号 | 73 |
| 19 | 实验单位名称 | 生物工程实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院210 |
| 23 | 一次性材料品名 | 成年大鼠1只、无水乙醇200ml、平衡盐溶液250ml、乙酸100ml |
| 24 | 一次性材料 | 80元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 侯宜副教授 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 王毅教授 |

**组织工程(732020)实验项目卡5**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 组织工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732020 |
| 3 | 实验项目名称 | 大鼠星形胶质细胞的初步鉴定 |
| 4 | 实验项目编号 | 73202005 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 2 |
| 7 | 计划学时数 | 4 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 1．掌握免疫细胞化学染色的基本方法；  2．了解其它免疫标记技术的基本原理。  3．验证利用纤丝神经胶质细胞酸性蛋白GFAP表达水平的检测，鉴定所获得的细胞是否为神经胶质细胞。 |
| 10 | 实验内容 | 1.星型胶质细胞内含有大量的胶质丝，为GFAP的多聚体。GFAP是星型胶质细胞所特有的细胞骨架蛋白，利用其特异性标记抗体为探针来显示其在细胞内的定位与定量情况。2.根据GFAP的表达水平，验证所检测细胞是否为星型胶质细胞。 |
| 11 | 实验原理 | 免疫细胞化学技术是利用抗原与抗体特异性结合的原理，以标记抗体为探针来显示细胞表面或细胞内抗原成分，对其进行定位、定性及定量的研究。 |
| 12 | 实验类型 | 1.演示性□；2.验证性□√；3.综合性□；4.设计性□；5.研究性□。 |
| 13 | 实验者层次 | 本科生 |
| 14 | 实验仪器设备 | CO2培养箱、倒置生物显微镜、低速离心机、分析天平（万分之一）、高压灭菌器、水浴箱、普通冰箱、蒸馏水制造设备、超净工作台、-80℃冰箱 |
| 15 | 实验套数 | 10 |
| 16 | 开出时间 | 201610 |
| 17 | 教学单位名称 | 药学院 |
| 18 | 教学单位编号 | 73 |
| 19 | 实验单位名称 | 生物工程实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院210 |
| 23 | 一次性材料品名 | 进口一次性培养瓶5个、血清及培养基50ml、胰蛋白酶0.125g、多聚赖氨酸1mg、兔抗GFAP抗体（即用型）0.1mL、SP免疫组化试剂盒3mL、DAB试剂盒3mL、TritonX-100 1mL |
| 24 | 一次性材料 | 100元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 侯宜副教授 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 王毅教授 |