# 基因工程学（732018）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（医学）实验中心

**03．课程名称：**基因工程学

**04．课程代码：**732018

**05．课程类别：**专业课

**06．课程性质：**必修

**07．课程学时：**96学时，其中含实验 48学时

**08．课程学分：**4.5

**09．面向专业：**生物医学工程

**10．实验课程的教学任务、要求和教学目的**

基因工程技术是现代生物技术的核心技术，《基因工程学》是生命学科的专业必修课，也是一门实践性很强的课程，基因工程实验课是基因工程课程教学中的重要组成部分。本课程的目的是使学生加深对理论知识的理解，掌握基因工程核心技术DNA重组技术的原理和操作方法，提高实验操作技能，掌握基因克隆的设计思路和策略，培养学生独立工作的能力和实事求是的科学作风，为以后的学习和科研工作打下良好的基础。

本课程的实验教学是基因工程理论教学内容的实践，要求学生全面掌握DNA重组技术的原理和操作方法，包括DNA的提取技术、DNA扩增技术、DNA的酶切技术、DNA重组与转化技术及目的基因的筛选技术；掌握T7启动子表达载体诱导目的蛋白表达的原理和操作方法；掌握利用SDS-PAGE鉴定目的蛋白的原理。熟悉蛋白电泳和DNA电泳胶的制备；了解常用仪器的使用方法和注意事项。

**11．学生应掌握的实验技术及实验能力**

通过本实验课程的学习，使学生掌握基因工程的基本实验原理、操作方法、注意事项，加深对理论知识的理解，同时学会分析实验结果，书写实验报告。具体应达到以下要求：

（1）掌握DNA重组技术的原理和操作方法。

（2）熟悉SDS-PAGE电泳胶的制作，染色和脱色的原理；熟悉DNA电泳胶的配制方法和电泳原理。

（3）了解PCR仪的使用和程序设计方法。

（4）培养学生独立思考、提出问题和解决问题的能力。

**12．开设实验项目**

DNA重组技术是基因工程学的核心技术，是将不同的DNA片段按人们的设计方案定向连接起来，并在特定的受体细胞中复制表达。我们根据DNA重组技术的操作程序设计基因工程学实验，从采用PCR方法扩增目的基因，限制性酶切后与合适的载体连接形成重组DNA，转化受体细胞，到筛选重组子设计成综合性实验一。将实验一获得的重组子进行诱导表达得到目的蛋白为实验二，实验三是利用SDS-PAGE电泳检测实验二获得的目的蛋白。通过基因工程学实验，可以使同学们掌握基本的实验技术，并对DNA重组技术有一个全面系统的理解。

**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** |
| 73201801 | 已知序列基因的克隆 | 综合性 | 必做 | 32 | 1 | 200704 |
| 73201802 | 目的蛋白的诱导表达 | 验证性 | 必做 | 8 | 1 | 200704 |
| 73201803 | SDS－聚丙烯酰胺凝胶电泳检测目的蛋白 | 验证性 | 必做 | 8 | 1 | 200704 |

**13．实验教材或指导书或主要参考资料**

（1）魏景艳等，基因工程学实验，自编，2007年.

（2）马文丽，《分子生物学实验手册》，人民军医出版社，2011年6月.

（3）J.萨姆布鲁克等，《分子克隆实验指南》（精编版），化学工业出版社，2008年1月.

**14．考核要求、考核方式及成绩评定标准**

考核要求：掌握DNA重组技术的原理；已知序列基因克隆的实验操作方法；T7启动子表达系统诱导外源蛋白表达的原理和方法；SDS-PAGE电泳鉴定目的蛋白的原理和方法。

考核方式：实验操作、实验态度和实验报告。

成绩评定标准：实验报告（40%）、实验操作（40%）和实验态度（20%）三项为实验成绩评分的考核标准，实验课考核成绩占《基因工程学》课程总成绩的30%。

**15．执笔人**

霍锐 副教授

**16．制定日期**

20131021

**17．审核人**

魏景艳 教授

**18．审核日期**

20131028

**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

**基因工程学（732018）实验项目卡1**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 基因工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732018 |
| 3 | 实验项目名称 | 已知序列基因的克隆 |
| 4 | 实验项目编号 | 73201801 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 1 |
| 7 | 计划学时数 | 32 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 掌握已知序列基因克隆的原理、流程及操作方法，包括目的基因的分离，与载体的连接，重组DNA的转化及重组子的鉴定。 |
| 10 | 实验内容 | PCR扩增目的基因、凝胶回收目的基因、限制性酶酶切目的基因、与载体片段的连接、转化大肠杆菌、提取质粒、筛选重组子。 |
| 11 | 实验原理 | 重组DNA技术是用酶学方法，将不同来源的DNA分子在体外进行特异切割、重新连接，组成新的杂合DNA分子。这个杂合分子能够在一定的宿主细胞中进行扩增，形成大量的子代分子。 |
| 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 | PCR仪，电泳仪，台式离心机，低温高速离心机，超净工作台，凝胶成像仪，恒温水浴箱，制冰机，恒温培养箱，振荡培养箱 |
| 15 | 实验套数 | 2 |
| 16 | 开出时间 | 200704 |
| 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（医学）实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程（医学）实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院207室 |
| 23 | 一次性材料品名 | PCR引物（5OD），TaqDNA聚合酶（1支），dNTP（1支），凝胶回收试剂盒（2盒），质粒回收试剂盒（2盒），T4DNA连接酶（1支），BamHI（4支），NdeI（6支），荧光染料（1支），氨苄青霉素（1g）等 |
| 24 | 一次性材料 | 380元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 霍锐 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 魏景艳 |

**基因工程学（732018）实验项目卡2**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 基因工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732018 |
| 3 | 实验项目名称 | 目的蛋白的诱导表达 |
| 4 | 实验项目编号 | 73201802 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 1 |
| 7 | 计划学时数 | 8 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 掌握pET 15b载体在大肠杆菌中诱导外源蛋白表达的原理及方法。 |
| 10 | 实验内容 | 表达菌株的活化培养、表达菌接种、加入IPTG诱导表达目的蛋白、离心收集菌体。 |
| 11 | 实验原理 | T7噬菌体启动子的转录完全依赖于T7 RNA聚合酶，因此T7 RNA聚合酶的转录调控模式就决定了表达系统的调控方式。用噬菌体DE3的溶源菌作为表达载体的宿主菌，可表达T7 RNA聚合酶，加入IPTG可诱导目的基因的表达。 |
| 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 | 超净工作台，振荡培养箱，台式离心机，冷冻冰箱 |
| 15 | 实验套数 | 4 |
| 16 | 开出时间 | 200704 |
| 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（医学）实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程（医学）实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院207室 |
| 23 | 一次性材料品名 | 胰蛋白胨（20g），酵母提取物（10g），IPTG（1g），氨苄青霉素（1g），除菌滤器（2个），一次性输液器（2个），1.5mlEP管（200个），200µl枪头（1包），1ml枪头（1包），10µl枪头（半包）等 |
| 24 | 一次性材料 | 65元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 霍锐 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 魏景艳 |

**基因工程学（732018）实验项目卡3**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | 字段名 | **填写内容** |
| 1 | 课程名称 | 基因工程学 |
| 2 | 课程编号 | 732018 |
| 3 | 实验项目名称 | SDS－聚丙烯酰胺凝胶电泳检测目的蛋白 |
| 4 | 实验项目编号 | 73201803 |
| 5 | 网络实验 | 0 |
| 6 | 每组人数 | 1 |
| 7 | 计划学时数 | 8 |
| 8 | 实验性质 | 必做 |
| 9 | 实验目的 | 掌握SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的原理及操作方法。 |
| 10 | 实验内容 | 制备SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳胶、电泳样品处理、上样、电泳、染色、脱色及观察结果。 |
| 11 | 实验原理 | 聚丙烯酰胺凝胶是由丙烯酰胺和交联试剂N,N’-甲叉双丙烯酰胺在引发剂和增速剂的催化下聚合而成的多孔介质，具有分子筛效应。SDS-蛋白质复合物在凝胶电泳中的迁移率，只受到蛋白质分子量的影响。 |
| 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 | 迷你双垂直电泳仪(槽)，双稳电泳仪电源，电磁炉，凝胶成像仪 |
| 15 | 实验套数 | 4 |
| 16 | 开出时间 | 200704 |
| 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（医学）实验中心 |
| 20 | 实验中心编号 | 133103 |
| 21 | 实验地名称 | 生物工程（医学）实验中心 |
| 22 | 实验地编号 | 药学院207室 |
| 23 | 一次性材料品名 | 丙烯酰胺（50g），甲叉双丙烯酰胺（5g），SDS（10g），TEMED（1ml），Tris（100g），过硫酸铵（5g），低分子量蛋白marker（1支），考马斯亮蓝R250（1g），2-巯基乙醇（5ml），溴酚蓝（1g）等 |
| 24 | 一次性材料 | 85元 |
| 25 | 面向专业 | 生物医学工程 |
| 26 | 实验项目卡制定人 | 解桂秋 |
| 27 | 实验项目卡审核人 | 霍锐 |