**本科实验教学大纲**

**一、课程基本信息**

课程名称：基础医学实验技能培训及考核（形态学）

英文名称：Basic medical laboratory skills training and assessment (morphology)

教学专业：基础医学基地班（本科）

课程类型：实践课

学时：24（不含课外附加） 学分：2

**二、教学目的及要求：**

本课程是针对基础医学专业的实验技能训练课程。课程教学的目的是让学生掌握显微形态学关键技术环节的实验操作，并熟悉其技术原理。包括组织灌注取材、常规显微制片、组织化学检测、体外培养等，要求学生能够在实验室独立进行相关操作。

**三、教学内容**

1. 手术取材和组织固定（4学时）

掌握：

1. 常用醛类固定液的配方和工作原理；
2. 经心脏灌注固定操作。

了解：

1. 特殊固定液的配方和原理；
2. 影响固定效果的因素。

2. 冰冻切片法（1学时）

掌握：

1. 冰冻切片标本的预处理操作；
2. 冰冻切片操作。

了解：

1. 冰冻保护剂。

3. 石蜡包埋（6学时，不占课堂时间）

掌握：

1. 常用标本脱水流程及原理；
2. 石蜡包埋操作。

了解：

包埋石蜡制备。

4. 石蜡切片法（3学时）

掌握：

1. 石蜡切片操作；

了解：

1. 玻片防脱剂配方及工作原理；
2. 轮转式切片机和滑行切片机的工作原理。

5. H-E染色法（2学时）

掌握：

1. H-E染色的技术原理和影响染色结果的因素；
2. H-E染色操作流程；

了解：

1. H-E染色法的替代性操作研究进展；
2. 其它常用广谱染色技术。

6. 特殊染色法（2学时）

熟悉：

1. Giemsa染色法原理和操作流程；
2. 尼氏染色法原理和操作流程；
3. 镀银和还原银染色的原理；
4. 活体染色的原理和常用方法

了解：

1. 显示细胞器的特殊染色法；

7. 组织化学术（4学时）

掌握：

1. 免疫组织化学的原理和操作流程。

熟悉：

1. 常规组织化学的原理及其分类；
2. 常用组织化学反应；
3. 原位杂交组织化学的原理的操作流程；
4. 酶组织化学的原理和操作流程。

8. 形态学图像分析（2学时）

掌握：

1. 显微图像的报告、描述和常规定量方法；
2. 卡瓦列里原理及应用；
3. 分子表达定量测定的正确方法。

熟悉：

1. 显微尺度测定的方法；
2. 显微计数原理和方法；

了解：

1. 光学伪差对分析的影响；
2. 虚拟切片技术；
3. 显微断面图像的三维重建。

9. 体外培养技术（6学时）

掌握：

1. 细胞生存、生长和分化的必要液相条件；
2. 无菌术的原理和常用消毒、灭菌操作；
3. 原代动物细胞培养操作；
4. 传代动物细胞培养操作；

了解：

1. 培养基的配方和原理；
2. 细胞纯化技术；
3. 体外培养技术的发展和应用；
4. 常用细胞系和细胞株。

**四、教材与参考资料**

手稿复印件《实用组织学基本技术》作为讲义。

课外参考资料：

（1）《动物细胞培养—基本操作指南》，科学出版社，2004，英国弗雷谢尼编著；

（2）《组织学技术》，人民卫生出版社，2007，英国班克罗夫特等编著。

**五、成绩评定**

课堂考勤占10%（严重迟到或早退者扣分）；

操作评分占40%；

当次标本成品/结果占30%；

实验报告作业占20%（并非每次有报告作业）；

上述3项评分为每次课的平时成绩，期末取平均作为课程成绩。

**附件：显微形态学技术操作考核参考标准**

**第一类：光学显微镜制片技术**

**操作1：组织标本的手术切取**

内容：从麻醉动物开始，到取下规定的器官或组织标本放入固定液。

考核要点：（1）动物抓持和麻醉操作；

（2）手术取材的手法、熟练度及止血情况（包括识别器官）；

（3）标本切割和定型的技巧。

时间：20 min。

**操作2：石蜡包埋操作**

内容：从蜡液取出标本，用包埋模具包埋、冷却并修块。

考核要点：（1）临时包埋模具的准备；

（2）石蜡包埋操作的流程、手法和熟练度；

（3）冷却的正确方法；

（4）石蜡块修结的操作。

时间：25 min。

**操作3：石蜡切片操作**

内容：从包埋蜡块切出4 ~ 6 μm的切片，并标贴在载玻片上。

考核要点：（1）轮转式切片机的准备和操作；

（2）石蜡切片操作的技术要领；

（3）展片和裱片的技巧。

时间：15 min。

**操作4：HE染色操作1**

内容：石蜡切片脱蜡入水，完成HE染色主要操作。

考核要点：（1）脱蜡入水过程中停留时间和脱蜡程度的把握；

（2）苏木素染色的准备、染色过程、分色与返蓝操作；

（3）伊红染色程度的把握；

（4）保证充分、恰当脱水透明的操作；

（5）封片和标记的操作。

时间：35 min。

**第二类：电子显微镜制片技术**（未来如条件具备，待扩展）

**操作1：经心脏血管灌注固定**

内容：麻醉动物，绑定并完成灌注固定的全过程，直到全身固定充分。

考核要点：（1）动物抓持和麻醉操作；

（2）灌注手术的技巧；

（3）灌注效果的判断和评价。

时间：30 min。

**第三类：细胞体外培养技术**

**操作1：试剂无菌分装**

内容：把1瓶无菌液体无菌分装到10个小管中。

考核要点：（1）超净台的准备和使用；

（2）无菌操作的意识、方法与熟练度；

（3）分装后的无菌程度评价（次日）。

时间：30 min。

**操作2：原代培养标本的获取和预处理**

内容：从实验动物体内取出待培养的标本，并完成培养前的准备和预处理。

考核要点：（1）超净台的准备和使用；

（2）动物标本的消毒处理；

（3）无菌操作的意识、方法与熟练度；

（4）正确分离待培养标本的方法和预处理措施。

时间：30 min。

**操作3：细胞原代外植操作**

内容：从完成预处理的标本开始，进行切割、分离和外植的操作。

考核要点：（1）无菌操作的意识、方法与熟练度；

（2）组织切割、分离、标记的操作技巧和熟练度；

（3）外置细胞或组织的密度控制。

时间：30 min。

**操作4：培养细胞的染色观察**

内容：将培养状态下的细胞进行固定、染色和镜下观察。

考核要点：（1）体外培养物的固定方法；

（2）培养细胞的染色操作；

（3）倒置显微镜的操作使用。

时间：15 min。

**第四类：分子原位检测技术**

**操作1：冰冻切片操作**

内容：冷冻标本恒冷箱切片、漂片和贴片的操作。

考核要点：（1）恒冷箱切片机的使用和操作；

（2）冰冻切片操作；

（3）贴片法和漂片法的操作技巧。

时间：20 min。

**操作2：石蜡切片组织化学检测前处理**

内容：石蜡切片用于免疫组织化学检测前的预处理操作。

考核要点：（1）免疫组化预处理的流程；

（2）切片脱蜡入水过程中停留时间和脱蜡程度的把握；

（3）切片孵育和漂洗的操作规范和操作技巧。

时间：30 min。

**操作3：第一抗体孵育操作**

内容：3张切片从结束预处理到第一抗体开始孵育之间的操作。

考核要点：（1）湿盒的准备和操作；

（2）抗体稀释和使用的规范（包括加样枪操作）；

（3）切片漂洗、孵育的操作技巧。

时间：20 min。

**第四类：图像分析和处理技术**

**操作1：染色强度的光学分析**

内容：测定组织显微染色照片上特定结构的平均光密度、面积和积分光密度。

考核要点：（1）图像分析软件的了解和使用；

（2）灰度和光密度关系、平均和积分光密度的关系与应用；

（3）显微图像光学分析的流程。

时间：15 min。

**操作2：显微镜染色照片的标注和发表前处理**

内容：获取显微镜染色照片后，按要求进行标记和编写注解，打印成稿。

考核要点：（1）图像标记和图像注解的规范性；

（2）图像信息的完整性和自明性。

时间：15 min。