

附件 2

2019 年度国家虚拟仿真实验教学项目申报表

学 校 名 称	南昌大学
实 验 教 学 项 目 名 称	虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 0157:H7 血清型出血性大肠杆菌
所 属 课 程 名 称	基础医学整合性实验 II
所 属 专 业 代 码	100101K
实 验 教 学 项 目 负 责 人 姓 名	黄春洪
有 效 链 接 网 址	http://jwc4.ncu.edu.cn/apps/GanJun

教育部高等教育司 制

二〇一九年七月

填写说明和要求

1. 以 Word 文档格式，如实填写各项。
2. 表格文本中的中外文名词第一次出现时，要写清全称和缩写，再次出现时可以使用缩写。
3. 所属专业代码，依据《普通高等学校本科专业目录（2012 年）》填写 6 位代码。
4. 不宜大范围公开或部分群体不宜观看的内容，请特别说明。
5. 表格各栏目可根据内容进行调整。

1. 实验教学项目教学服务团队情况

1-1 实验教学项目负责人情况					
姓名	黄春洪	性别	男	出生年月	1979-01-29
学历	博士研究生	学位	博士	电话	0791-86361347
专业技术职务	教授 研究员(Z)	行政职务	副院长	手机	13732975804
院系	基础医学院			电子邮箱	chhuang@ncu.edu.cn
地址	南昌市八一大道南昌大学基础医学			邮编	330006
<p>教学研究情况：主持的教学研究课题（含课题名称、来源、年限，不超过 5 项）；作为第一署名人在国内外公开发行的刊物上发表的教学研究论文（含题目、刊物名称、时间，不超过 10 项）；获得的教学表彰/奖励（不超过 5）。</p> <p>一、主持的教学研究课题：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、医学生化与分子 微信教学公众号与移动微课体系建设。江西省教学改革重点课题， JXJG-16-1-5， 2016-2019（已结题） 2、医学生物技术检测肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的虚拟仿真综合性实验。2018 年。 3、提升学生综合能力的课程改革研究（2012-2015）省级教改课题（已结题） 4、教育部来华留学品牌课程《medical biochemistry》，主要负责人。 5、《医学分子生物学》精品课程立项建设，2011 年（已完成） <p>二、教改论文</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、Tu Shuo, Yan Xiaohua, Jie Kemin, Ying Muying, Huang Chunhong*（黄春洪，通讯）. WeChat: An applicable and flexible social app software for mobile teaching. Biochem Mol Biol Educ. 2018,46(5):555-560. （Sci, IF=1.04） 2、黄春洪，揭克敏，涂硕，罗达亚。答辩式考核在研究生专业基础课程考查中的应用。卫生职业教育，2009， 27（23）： 28-29 3、黄春洪，揭克敏，刘刚，涂硕，朱伟锋。基于网络教学平台，开展多元化教学。中国高等医学教育， 2011,11. 53-54 4、黄春洪，杨晓红，胡晓鹃，涂硕，熊向阳，揭克敏*。如何让生化课堂生动化。生命的化学，2018， 38(1)： 156-159 5、涂硕，黄春洪，揭克敏。提高本科医学生物化学教学质量的策略探讨。教育教学论坛。2013， 3： 71-72 					

三、获得的教学表彰

- 1、中国宝钢优秀教师奖 黄春洪 2014 年
- 2、南昌大学十大教学标兵 黄春洪 2014 年
- 3、中国生物化学与分子生物学会教学委员会常务委员 黄春洪 2018 年
- 4、教育部在线教学智慧教学之星 黄春洪 2017 年
- 5、获得南昌大学教学成果二等奖 2 项（排名第一） 黄春洪 2012 与 2019 年

学术研究情况：近五年来承担的学术研究课题（含课题名称、来源、年限、本人所起作用，不超过 5 项）；在国内外公开发行刊物上发表的学术论文（含题目、刊物名称、署名次序与时间，不超过 5 项）；获得的学术研究表彰/奖励（含奖项名称、授予单位、署名次序、时间，不超过 5 项）

一、承担的课题

- 1、国家自然科学基金,华游蛇肝脏“抗蛇毒组”解析及抗毒机制研究（31960199），2020-2023 年，**主持**
- 2、国家自然科学基金,蛇血清 PLI- γ 对 sPLA2 炎症通路的干预作用及相关机制研究（31260209），2013-2016 年，**主持**
- 3、国家自然科学基金，抗蛇毒蛋白 PLI γ 的分子改造及模拟肽设计（31460227）。2015-2018 年,**主持**
- 4、江西省自然科学基金，华游蛇 PLI γ 抗蛇毒局部和系统肌肉毒活性及机制研究 20171BAB204015。2017-2019，**主持**
- 5、江西杰出青年人才资助计划 20171BCB23018 黄春洪（井冈之星）

二、发表的学术论文

- 1、Xiao Huixiang, Li Haoran, Zhang Denghong, Li Yuanyuan, Sun Shimin, **Huang Chunhong***（黄春洪，通讯作者）. Inactivation of Venom PLA2 Alleviates Myonecrosis and Facilitates Muscle Regeneration in Envenomed Mice: A Time Course Observation. *Molecules*, 2018, 23(8), 391-401
- 2、Zhang Denghong, Li Jingjing, Sun Shimin, **Huang Chunhong***（黄春洪，通讯作者）. The inhibitory effect of saPLI γ , a snake sourced PLA2 inhibitor on carrageenan-induced inflammation in mice. *Toxicon*, 2018, 151:89-95.
- 3、Xiong Shengwei, **Huang Chunhong***（黄春洪，通讯作者）. Synergistic strategies of predominant toxins in snake venoms. *Toxicol let.* 2018, 287:142-154
- 4、Yiding Wang, Jing Zhang, Denghong Zhang, Huixiang Xiao, Shengwei Xiong, **Chunhong Huang***（黄春洪，通讯作者）. Exploration of the Inhibitory Po

tential of Varespladib for Snakebite Envenomation. *Molecules* 2018, 23(2), 391

5、Xiong S, Luo Y, Zhong L, Xiao H, Pan H, Liao K, Yang M, **Huang C*** (黄春洪, 通讯作者). Investigation of the inhibitory potential of phospholipase A2 inhibitor gamma from *Sinonatrix annularis* to snake envenomation. *Toxicon*. 2017, 137:83-91

三、学术研究表彰

- 1、江西省井冈之星杰出青年科学家 (江西省科技厅 2018 年)
- 2、江西省百千万人才工程入选者 (江西省人力资源与社会保障厅 2019 年)
- 3、南昌大学 215 赣江青年学者 (南昌大学 2014 年)
- 4、江西省生物化学与分子生物学会副理事长 (江西省生物化学与分子生物学会 2019)
- 5、中国生物化学与分子生物学会生物技术委员会委员 2018 年

1-2-1 团队主要成员 (含负责人, 5 人以内,)

序号	姓名	所在单位	专业技术职务	行政职务	承担任务	备注
1	黄春洪	南昌大学	教授 研究员(Z)	副院长	实验设计	
2	于新慧	南昌大学	实验师	无	开发监制, 脚本撰写	
3	涂硕	南昌大学	副教授	无	脚本撰写, 在线教学	
4	宋矿余	南昌大学	副教授	无	脚本撰写、 实验教学	
5	朱伟锋	南昌大学	副教授	无	开发监制, 在线服务	

1-2-2 团队其他成员

序号	姓名	所在单位	专业技术职务	行政职务	承担任务	备注
1	黄孝天	南昌大学	教授	医学部主任	微生物实验 设计	微生物
2	李蓉	南昌大学	教授	副院长	实验设计, 在线教学	微生物
3	余乐涵	南昌大学			实验准备, 在线服务	实验 准备
4	罗达亚	南昌大学	教授	科主任	实验设计	分子生

					在线教学	物学
5	颜念龙	南昌大学	副教授	无	实验教学	分子生物学
6	潘泽政	南昌大学	副教授	无	实验教学, 在线服务	分子生物学
7	杨晓红	南昌大学	讲师	无	实验教学	实验秘书
8	谢彩凤	南昌大学	讲师	无	实验准备	实验教学
9	魏炜	南京莱医特电子科技有限公司	高级系统分析师	项目总监	产品开发技术支持	技术支持
10	万书帆	南京莱医特电子科技有限公司	高级程序员	研发部经理	动画设计, 项目制作	技术支持
11	黎鹏	南昌大学	软件工程师	科员	服务器管理	管理支持
项目团队总人数: 16 (人) 高校人员数量: 14 (人) 企业人员数量: 2 (人)						

注: 1.教学服务团队成员所在单位需如实填写, 可与负责人不在同一单位。

2.教学服务团队须有在线教学服务人员和技术支持人员, 请在备注中说明。

2. 实验教学项目描述

2-1 名称

虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 O157:H7 血清型出血性大肠杆菌

2-2 实验目的

出血性大肠杆菌 (EHEC) 可导致人出血性腹泻和肠炎, 以 O157:H7 为代表菌株, 具有高传染性和频发性。本实验对 EHEC 进行病菌培养、生化检测和毒力基因鉴定, 需要在专业的 P2 实验室操作。该综合实验周期长、病原材料如患者粪便难以获得, 利用虚拟仿真技术重现真实场景, 可较好地解决上述问题。

- 1、培养学生 P2 实验室安全知识和正确的操作规范
- 2、培养学生病菌增菌、纯培养和鉴定的实验技能
- 3、培养学生提取 DNA 和质粒、纯度测定、PCR 鉴定实验技能
- 4、帮助学生区分 EHEC 与 ETEC、EIEC、EAEC、EPEC 的毒力基因和临床症状差异; 训练学生实验设计能力。
- 5、帮助学生系统掌握 O157:H7 的致病症状、疫情、传染源和传播途径知识, 强化食品卫生安全意识和个人防范能力。

2-3 实验课时

(1) 实验所属课程所占课时：48

(2) 该实验项目所占课时：16

2-4 实验原理（简要阐述实验原理，并说明核心要素的仿真度）

实验原理：采集患者粪便样本，在 BSL-2 (P2) 开展增菌培养，利用 O157:H7 不发酵山梨醇和不具备 β -D 葡萄糖醛酸酶活性特点，在 SMAC 培养基上 O157:H7 菌落为光滑、无色、半透明的菌落，而普通大肠杆菌菌落为蓝紫色，因此可以实现分离培养。经纯培养后，进行各类生化鉴定（双糖铁、吲哚、尿素、MUG），以区分大肠杆菌及其他致病菌（如伤寒沙门菌）。粪便菌液革兰氏染色鉴定为阴性，O157 诊断血清呈浑浊反应。然后提取致病菌基因组 DNA 和质粒，针对 EHEC0157:H7 的主要毒力因子，如 *stx2*、*eae*、*hly*、*rfbE*、*fliC* 等进行 PCR 鉴定，这些毒力因子可以区分普通大肠杆菌及其他类型致病性大肠杆菌，如 EPEC、ETEC、EIEC 等。

实验采取虚实结合方式，EHEC0157:H7 具有高传染性、致病性，其培养、生化鉴定、DNA 和质粒提取均在 P2 实验室虚拟完成。线下实验采用非致病性大肠杆菌 BL21 同步进行，实验老师同时准备 O157:H7 阳性菌五种毒力因子的 PCR 产物，用于学生实验对照。

知识点：共 10 个

- (1) P2 实验室的操作规范。参照 GB50346-2011 “生物安全实验室建筑技术规范”设计 P2 实验室，并按照操作规程模拟进出 P2 实验室。
- (2) 出血性大肠杆菌生物学特征
- (3) 出血性大肠杆菌的流行病学特征。采用国内外 O157:H7 病菌爆发真实案例
- (4) 病原菌纯化分离。真实模拟患者粪菌增菌和纯培养。
- (5) 病原菌的生化培养基鉴定，含双糖铁试验、吲哚试验、尿素试验、MUG 试验等，大部分结果为真实结果。。
- (6) 细菌 DNA 提取方法。模拟了 CTAB 法提 DNA 的过程。
- (7) 质粒的提取与纯度检测。以质粒提取试剂盒为蓝本，模拟质粒提取全过程。纯度和浓度检测真实还原了 nanodrop2000 仪器和软件。
- (8) PCR 反应原理和操作过程。模拟了 PCR 引物设计、体系配制、程序设置等。
- (9) 出血性大肠杆菌的传播方式、防治措施
- (10) 五种主要致病性大肠杆菌毒力因子分布，要求学生进行实验设计。

2-5 实验仪器设备（装置或软件等）

（1）仪器设备

计算机、服务器、超净工作台、二级生物安全柜、微量移液器、恒温摇床培养箱、高速离心机、恒温培养箱、凝胶成像系统、PCR 扩增仪、电泳仪、水浴箱、冰箱、NanoDrop 2000 核酸浓度检测仪等

（2）软件：NanoDrop 2000，PCR 软件

2-6 实验材料（或预设参数等）

患者粪便样品、培养基（SMAC、EC 肉汤、LB 固体、双糖铁、蛋白胨水、尿素）、MUG 测试条、诊断血清（大肠杆菌 0157:H7 抗血清）、革兰染色液、吡啶试剂、大肠杆菌 0157:H7 菌株、大肠杆菌 BL21 菌株等。

分子生物学试剂：CTAB、蛋白酶 K、苯酚、氯仿、异戊醇、质粒提取试剂盒、乙醇、PCR mix、琼脂糖、DNA Marker (100-1500bp)、TBE 电泳缓冲液。

预设 DNA 含量和纯度数据

预设引物 (eae A, stx2, hly, rfbE, fliC, 16srDNA)

2-7 实验教学方法（举例说明采用的教学方法的使用目的、实施过程与实施效果）

1、实验教学方法使用目的

本实验教学采取“线上虚拟仿真+线下实体操作”相结合，线下采用无致病性的大肠杆菌 BL21（基因工程菌）进行平行实验，如菌的分离培养、生化培养基鉴定、血清学鉴定、革兰氏染色、DNA 提取和 PCR 电泳等。

线上通过虚拟 P2 实验室，让学生掌握 P2 实验室的使用规程，解决了实验场地问题。部分实验因试剂和仪器昂贵，如质粒提取试剂盒、Nanodrop 核酸定量仪，有些高校难以开展，通过虚拟仿真可以达到“以虚补实”的教学效果。通过线上教学，学生可以预习相关致病菌的正规操作方法和防范措施，培养生物安全意识，达到“以虚强实”效果。此外，本虚拟仿真项目中设有“出血性大肠杆菌防治”模块，学生可以学习病原菌的传播途径和预防及治疗知识，增强饮食安全意识，减少感染风险。

平台中构建了“学-测-评”一体化教学体系，系统中有答题和操作考评。实验结束后，系统将即时反馈得分和失分点，完成形成性评价。实验最后布置了一道实验设计题，让学生课后思考，并提交设计方案，老师进行批改并组织讨论。该项目有助于医学本科生综合能力训练和科研创新思维培养。

2、实施过程：

(1) **课前预习，以虚促实：**学习 EHEC O157:H7 患者临床表征、流行病学情况，掌握 O157:H7 生物学特征，为理解后期的鉴定实验原理打基础。

(2) **线上线下混合式教学。**利用虚拟仿真实验，熟悉实验步骤、要点和注意事项，减少线下操作的错误率，提高实验成功率。

(3) **课后复习和讨论。**学生完成实验后，需要提交实验报告，并针对仿真系统布置的实验设计题，提出解决方案。

本实验材料出血性大肠杆菌传染性高，开展完整实验周期长，实验场所要求 P2 实验室，所用实验检测试剂昂贵，实验原理复杂抽象，因此本实验实际开展存在高风险、高成本、高要求、高时长等问题。实验开展涉及临床、微生物和分子生物学三个方面，是多学科的融合，实验实际开展难度大。而使用本项目，应用软件模拟实际场景，让学生如临现场体会临床诊断过程；高风险、高成本和高耗时的操作方法在动画中逐一完成，并且虚实结合；兼顾知识点考核，突出重点难点，实时了解学生知识点掌握情况，通过这些手段避免了致病菌传染的风险，解决了场地要求高的问题。本项目使用的教学方法有图、表、模拟软件功能、动画、计算、设计反应体系多种教学方法等，力求学生结合已学知识，弄懂每一步实验的目的和原理，了解实验内容和方案，针对实验中所遇到的困难和实验结果能进行较为深入的思考和分析，从而掌握本项目的基本理论和实验操作技能。

以毒力基因的 PCR 鉴定为例，展示实验过程。

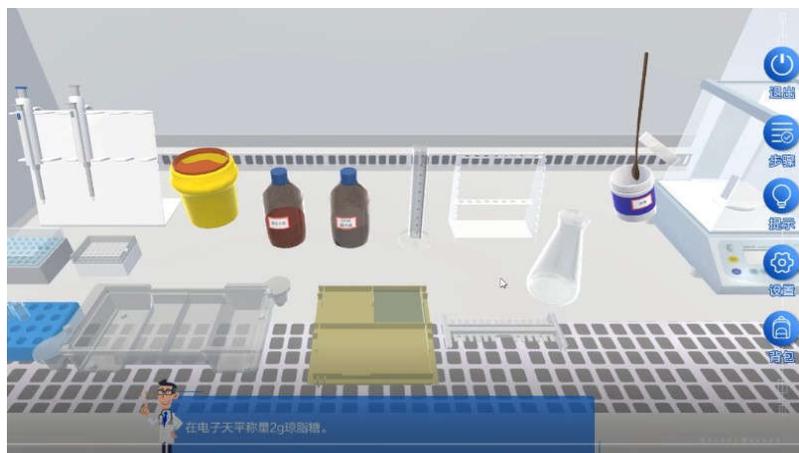
1) Nanodrop 测定 DNA 含量



2) PCR 反应



3) 配制琼脂糖凝胶



4) 点样和电泳



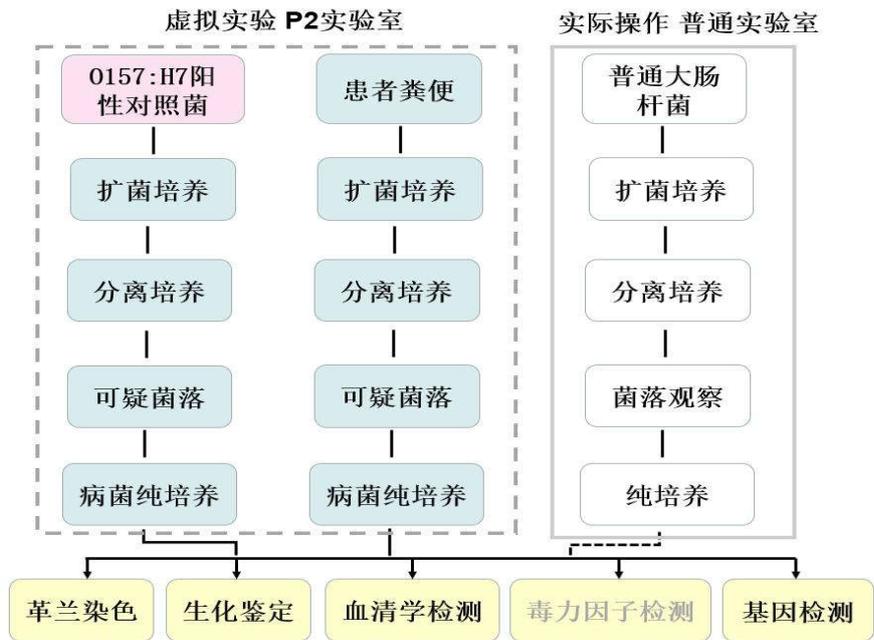
5) 凝胶成像和拍照



2-8 实验方法与步骤要求（学生交互性操作步骤应不少于 10 步）

(1) 实验方法描述：

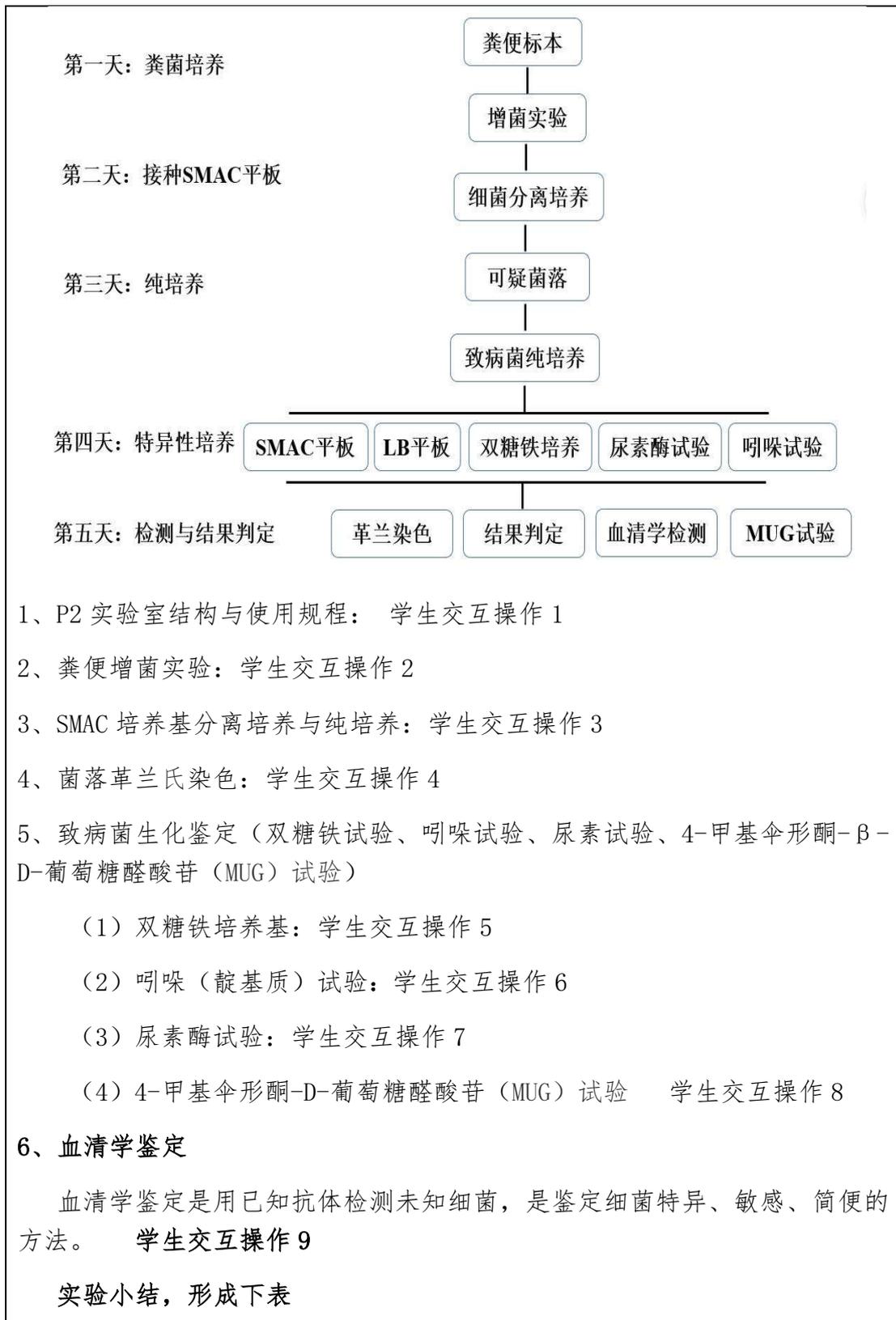
本实验项目包括两个学科的实验内容，第一部分为微生物学实验、第二部分为分子生物学实验。实验的特点是，传染性的 O157:H7 在 P2 虚拟实验室完成，用普通大肠杆菌 BL21 进行同步操作。以虚拟实验作为预习预练和平行比较，达到以虚促实的目的。总体实验过程如下：



注：毒力因子检测属于免疫学内容，列为二次开发内容

第一部分：微生物学实验部分

在虚拟 P2 实验室,对患者粪便标本中大肠杆菌 O157:H7 及阳性对照菌进行分离培养和鉴定，包含以下实验。



- 1、P2 实验室结构与使用规程： 学生交互操作 1
- 2、粪便增菌实验： 学生交互操作 2
- 3、SMAC 培养基分离培养与纯培养： 学生交互操作 3
- 4、菌落革兰氏染色： 学生交互操作 4
- 5、致病菌生化鉴定（双糖铁试验、吲哚试验、尿素试验、4-甲基伞形酮-β-D-葡萄糖醛酸苷（MUG）试验）
 - （1）双糖铁培养基： 学生交互操作 5
 - （2）吲哚（靛基质）试验： 学生交互操作 6
 - （3）尿素酶试验： 学生交互操作 7
 - （4）4-甲基伞形酮-D-葡萄糖醛酸苷（MUG）试验 学生交互操作 8
- 6、血清学鉴定

血清学鉴定是用已知抗体检测未知细菌，是鉴定细菌特异、敏感、简便的方法。 学生交互操作 9

实验小结，形成下表

培养菌株		粪便标本	大肠杆菌 BL21	0157:H7 对照菌
实验项目				
SMAC		光滑、无色、半透明的菌落、不发酵山梨醇	光滑、蓝紫色、不透明菌落、发酵山梨醇	光滑、无色、半透明的菌落、不发酵山梨醇
革兰染色		-	-	-
双糖铁实验	葡萄糖	+	⊕	+
	乳糖	+	⊕	+
	硫化氢	-	-	-
	动力	+/-	+	+/-
吲哚实验		+	+	+
尿素酶实验		+	-	+
血清学玻片凝集		+	-	+
MUG 试验		-	+	-

实验结论： 粪便标本中含有大肠杆菌 0157:H7

7、实验结束清场和离场 学生交互操作 10

第二部分：分子生物学实验部分

同样采取虚实结合两种实验教学手段。虚拟实验：在 P2 实验室对疑似污染大肠杆菌 0157:H7 的肉制品进行增菌试验。分别提取 0157:H7 阳性菌、肉制品菌液和患者粪菌培养液 DNA，进行 DNA 含量和纯度检测。实体实验：学生在普通实验室对大肠杆菌 BL21 进行系列对照试验。最后进行 PCR 扩增、琼脂糖电泳检测等试验。

8、大肠杆菌 DNA 提取 学生交互操作 11

9、质粒 DNA 的提取 学生交互操作 12

此实验针对 Hly 基因，该基因位于大肠杆菌 0157:H7 的 p0157 质粒上。

10、DNA 定量检测 学生交互操作 13

11、引物设计 学生交互操作 14

针对 0157:H7 特异毒力基因进行引物设计：肠上皮细胞紧密黏附素 (eae)、志贺样毒素 (stx)、肠溶血素 (hly)、特异性 LPS 基因 (rfbe)，特异性鞭毛 H7 基因 (fliC)，以及内参基因 16srDNA。

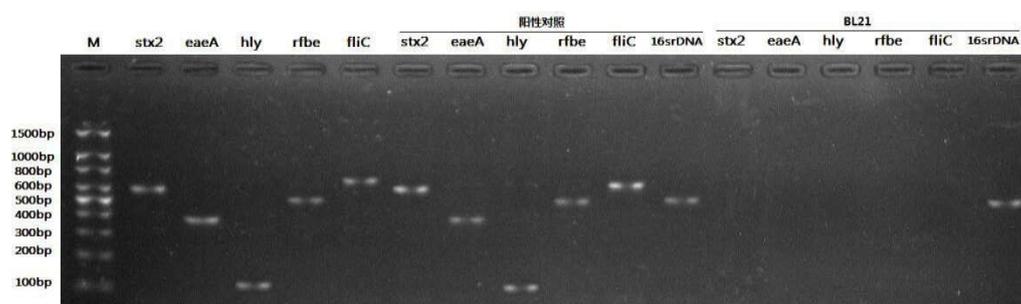
12、PCR 体系及程序 学生交互操作 15

进行 PCR 反应体系配制和计算。设置 PCR 程序。

13、PCR 产物琼脂糖电泳 学生交互操作 16

14、结果观察

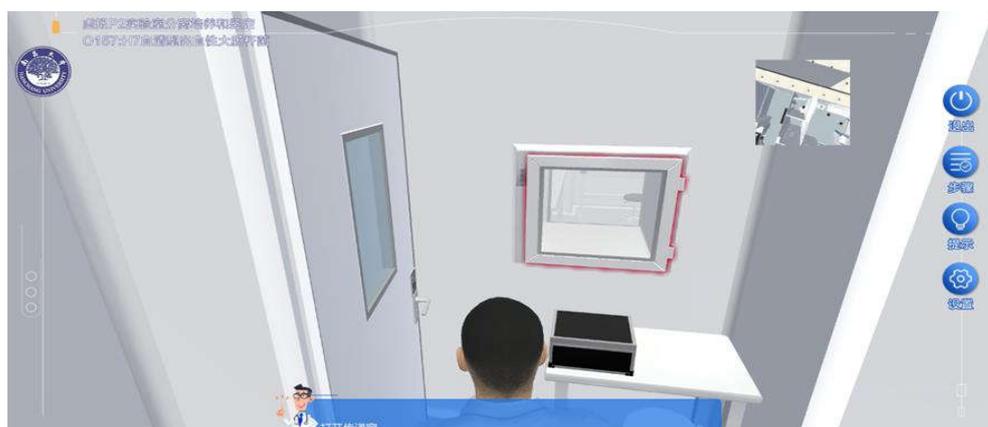
大肠杆菌 O157:H7 中能检测出 stx2、eaeA、hly、rfbe、fliC 和 16s rDNA 等基因的 PCR 产物。



学生交互训练 17: 实验设计题

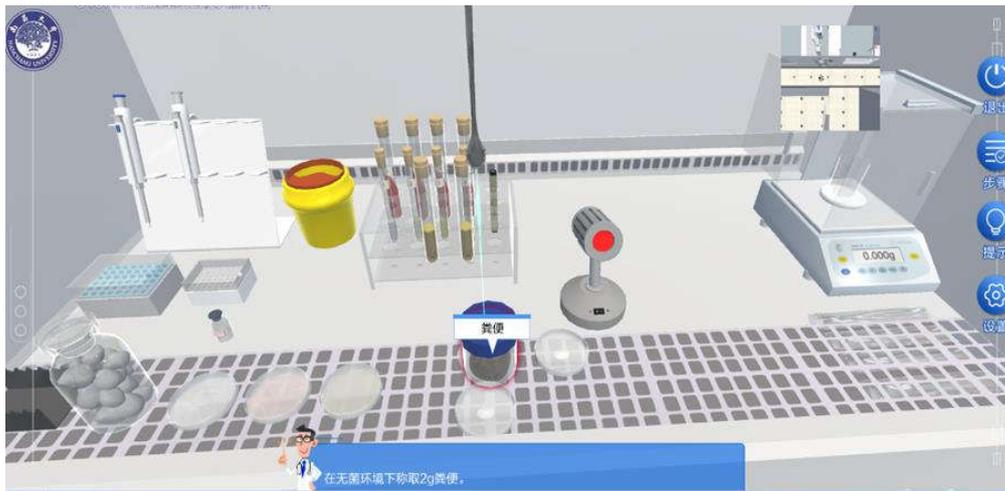
(2) 学生交互性操作步骤说明:

学生交互操作 1: 学生练习如何进入 P2 实验室、衣帽口罩手套的正确佩戴、物品的传送、P2 实验室灭菌要求、生物安全柜的正确使用、实验结束后各类污染物品的处理、如何正确出实验室等。

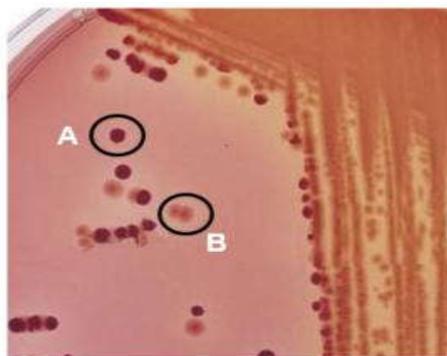


学生交互操作 2: 在无菌环境下称取 2g 粪便加到 10ml 的 EC 肉汤培

培养基中， 37℃恒温震荡培养箱中培养 18~24h。



学生交互操作 3: 接种环灼烧，冷却后蘸取上述菌液 1 次，在麦康凯固体培养基 (SMAC) 平板连续划线，划线后盖好培养皿，倒置于 37℃ 恒温培养箱中培养 18~24h。接种完对接种环进行灼烧灭菌，避免污染。



学生需要对 SMAC 培养基的菌落进行鉴定，确定哪种菌落为 O157:H7 致病菌。需要正确选择菌落 B，进行纯培养

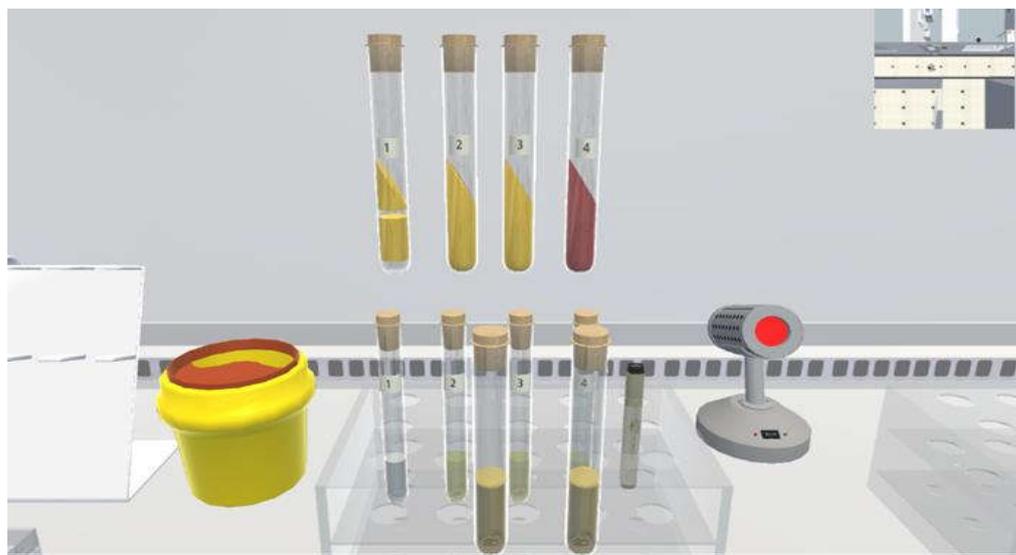
学生交互操作 4: 涂片、干燥、固定按单染色法进行。染色按下列步骤进行。(1) 涂片 (2) 初染。滴加结晶紫染液染 1min, 水洗。(3) 媒染。滴加芦戈碘液, 染 1min, 水洗。(4) 脱色。滴加 95%酒精, 轻轻摇动玻片, 直至不再脱色为止, 水洗。(5) 复染。滴加石炭酸稀释复红液, 染 30s, 水洗。(6) 镜检。干燥后, 盖上盖玻片, 油镜下镜检。



学生交互操作 5: 先将克氏双糖铁 4 支斜面培养基试管做好标记①-④

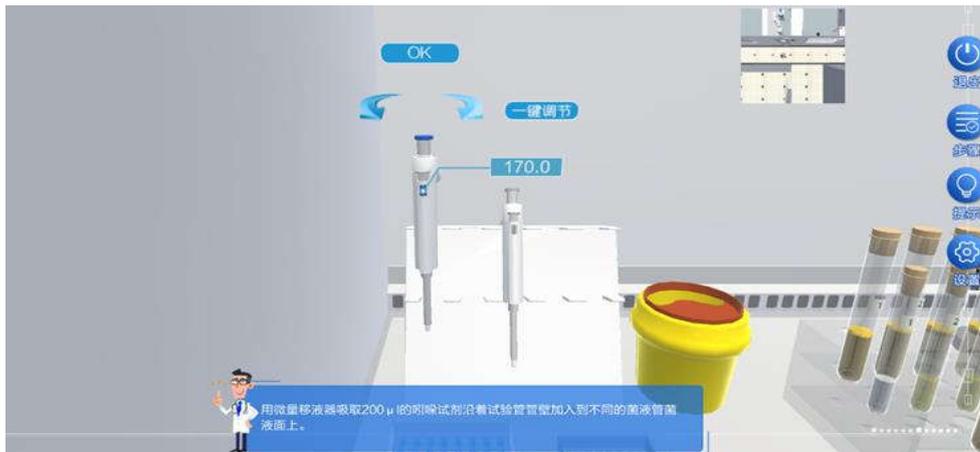
① 接种大肠杆菌 BL21 平板上的纯培养菌落; ②号接种粪便标本 SMAC 平板上的纯培养菌落; ③号接种大肠杆菌 O157:H7 菌株; ④不接种任何细菌。

菌落垂直接种于克氏双糖铁斜面培养基中, 经 37℃ 恒温培养箱 18~24h 后观察结果。

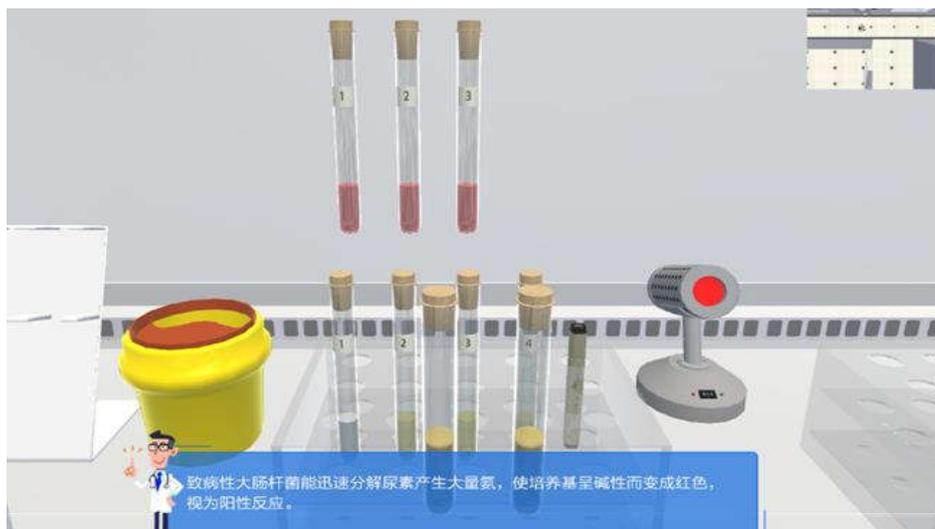


学生交互操作 6: 用可调微量移液器分别吸取 BL21 菌液、粪便菌液、O157:H7 阳性菌液接种于 1、2、3 号蛋白胨水培养管中 (沿管壁接种), 后置于 37℃ 恒温培养箱中培养 24h。培养后从恒温培养箱取出, 加入吲哚试剂沿着管壁加入到不同的菌液面上, 轻轻晃动使试剂与培养液接触, 然后静置

5~10 分钟，观看是否变色。上层试剂呈玫瑰红色为阳性，不变色为阴性。

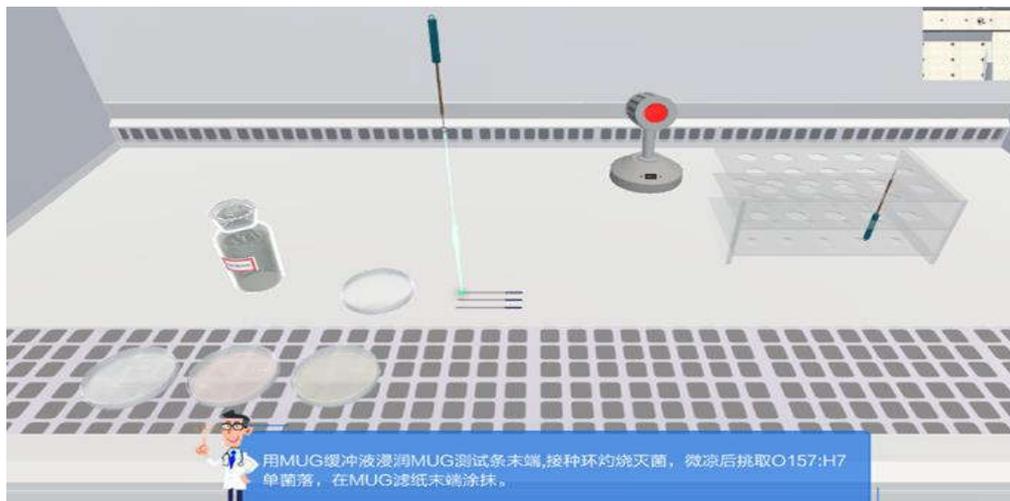


学生操作练习 7：将粪便标本 SMAC 单个菌落、大肠杆菌 BL21 单菌落、O157:H7 对照菌单菌落、分别用接种环接种于 1、2、3 号尿素培养基中，37℃ 培养 18~24h，观察培养基颜色。



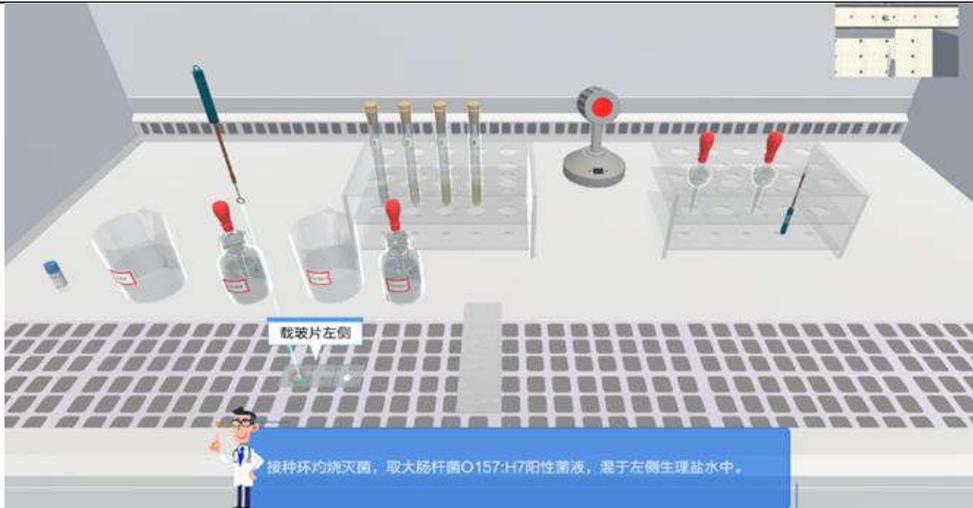
学生交互训练 8：用 MUG 缓冲液浸润 MUG 测试条末端，分别用接种环接种 O157:H7 阳性菌、BL21 菌、粪便 O157:H7 菌于测试条末端，均匀涂抹。将

MUG 试纸条放于空平皿防止水分丢失， $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 孵育 1.5h~2h，在 WOOD 灯 366nm 观察 MUG 条末端是否有蓝白色荧光产生。



学生交互训练 9:

先将载玻片划分三个格。分别加左侧加生理盐水、中间和右侧加 O157 诊断血清各一滴。用无菌接种环分别蘸取阳性 O157:H7 菌液生理盐水和中间 O157 诊断血清；蘸取粪便标本菌液，加于右侧 O157 诊断血清中。轻轻摇动玻片，1~2 min 后观察是否出现乳白色凝集块，出现者为阳性，否则为阴性。



学生交互训练 10: 将所使用的各种培养基和菌种先高压灭菌，再分类清洗或丢弃。练习个人物品洗消，如衣帽、口罩、手套等，正确离开实验室，以及实验室灭菌。



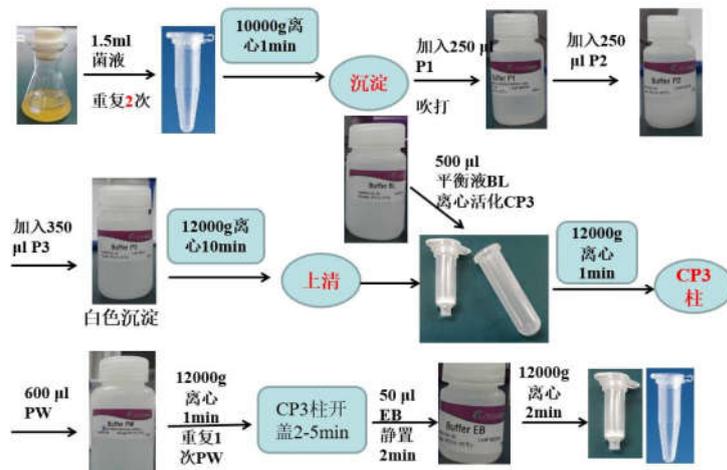
学生交互训练 11: CTAB (十六烷基三甲基溴化铵) 抽提法



学生交互训练 12: 质粒的提取

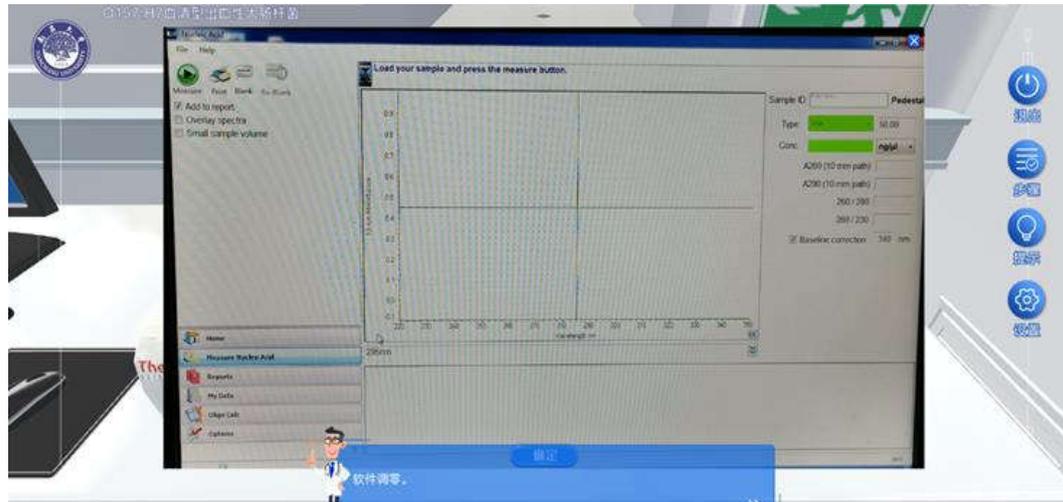


提取步骤



学生交互训练 13: Nanodrop 使用。

取 1 μL TE 溶液滴入 Nanodrop 测定孔上，选择核酸—DNA 模式，点击 Blank 调零。用吸水纸擦拭测定孔。



取 1 μL 上述 DNA 溶液滴入 Nanodrop 测定孔上，点击“Measure”测定 DNA 浓度，得到下表（虚拟数据）。



根据上表完成配伍题（ ）（如果做错 2 次，则显示正确答案）

样品1	RNA污染
样品2	蛋白质或苯酚污染
样品3	高纯度DNA

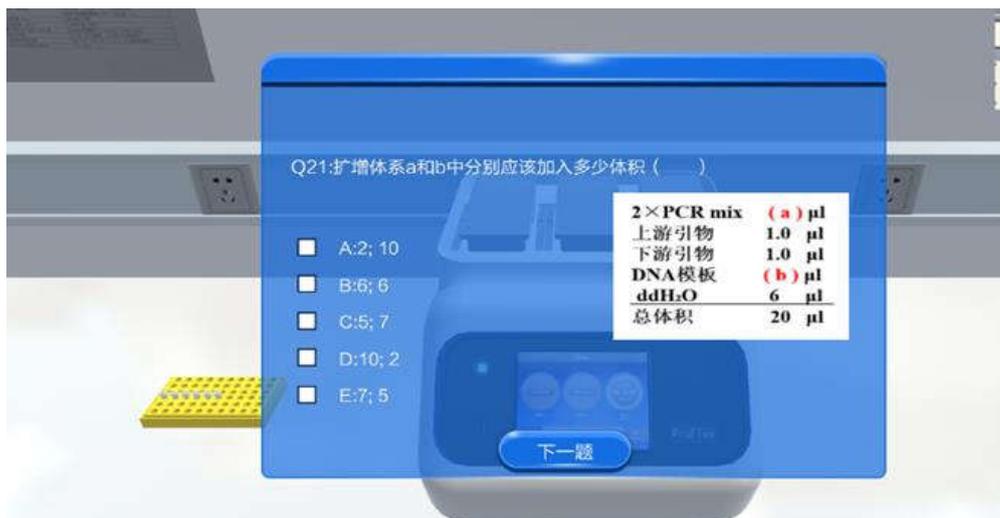
学生交互训练 14: 以下为 Stx2 基因，红色与蓝色序列之间为 PCR 扩增的区域，请分别选择上下游引物（ ）（选 2 个）

tgggtttttc ttcggtatcc tattccggg agtttacgat agacttttcg acccaacaaa
 gttatgtctc ttcgttaaat agtatacggg cagagatatac gaccctctctt gaacatatat
 ctcaggggac cacatcgggtg tctgttatta accacacccc accgggcagt tatttttgctg
 tggatatacag agggcttgat gtctatcagg cgcgttttga ccatcttctg ctgattattg
 agcaaaataa tttatatgtg gccgggttcg ttaatacggc aacaaatact ttctaccgtt
 tttcagattt tacacatata tcagtgcccg gtgtgacaac ggtttccatg acaacggaca
 gcagttatac cactctgcaa cgtgtcgcag cgcgtggaacg ttccggaatg caaatcagtc
 gtcactcact ggtttcatca tatctggcgt taatggagtt cagtggtaat acaatgacca
 gagatgcatac cagagcagtt ctgcgttttg tcaactgtcac agcagaagcc ttacgcttca
 ggcagatatac gagagaattt cgtcaggcac tgtctgaaac t**gctcctgtg tatacagatga**
cgccgggaga cgtggacctc

- A. atcctattcccgggagtttacg B. gcgtcatcgtatacacaggagc
 C. taggataagggcctcaaatgc D. cgtaaaactcccgggaataggtat
 E. cgcagtagcatatgtgtcctcg F. gctcctgtgtatacagatgacgc

学生有 2 次机会选择，选中答案 (A, B) 才正确。

学生交互训练 15: PCR 反应体系配制及程序设置

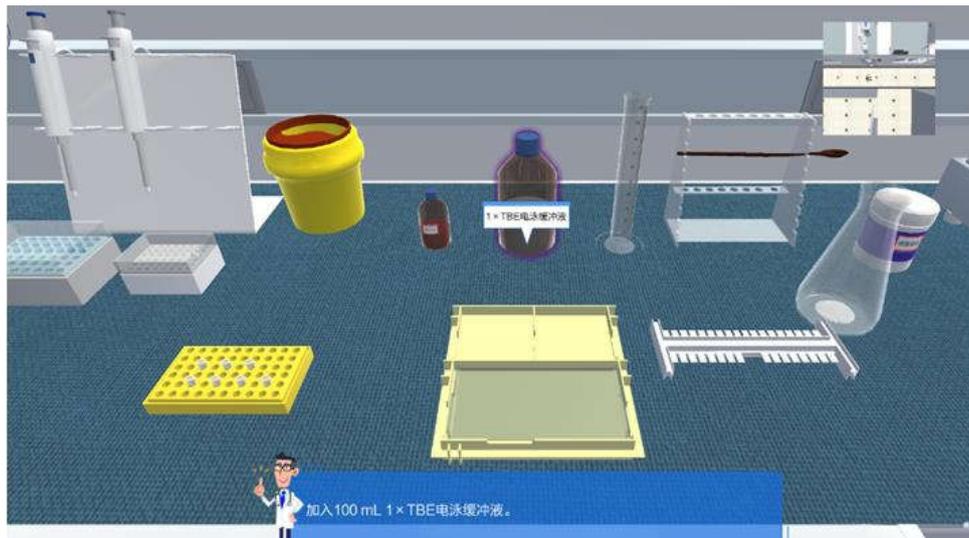


PCR 程序: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 56 °C 退火 30s, 72 °C 延伸 40 s, 30 个循环, 72 °C 延伸 5 min。



学生交互训练 16: 琼脂糖电泳

按照提示组装制胶槽、配制 2.0% 琼脂糖凝胶、点样 (DNA marker 和各毒力基因 PCR 产物)、电泳 (120V 30min) 和凝胶成像。



学生交互训练 17: 实验设计题

请根据下表设计实验, 对 ETEC 型大肠杆菌进行基因鉴定。

各种致病性大肠杆菌种致病因子分布

毒力因子	ETEC	EPEC	EHEC	EIEC	EAEC
毒素类					
志贺毒素 1 (stx1)			++		
志贺毒素 2 (stx2)			++		
热不稳定毒素 1 (LT1)	++				
热不稳定毒素 2 (LT2)	+				
热稳定毒素 I (Sta)	++				
热稳定毒素 II (Stb)	+				
低分子量热稳定毒素 (EAST1)	+	+	++		+
溶血素 (Hly)			++		
粘附素类					
定植因子抗原 I (CFA/I)	+				
定植因子抗原 II (CFA/II)	++				
束状菌毛 (Bfp)		++			
聚集性粘附菌毛 I (AAF/I)					++
紧密黏附素 Intimin (eae)		++	++		
侵袭素类					
质粒入侵抗原				++	

2-9 实验结果与结论要求

- (1) 是否记录每步实验结果： 是 否
- (2) 实验结果与结论要求： 实验报告 心得体会 其他 - 实验设计
- (3) 其他描述：

通过本虚拟仿真实验教学系统，每名学生在结束后都可以获得一份学习报告，包含详细的答题得分和操作得分。学生通过 P2 实验室操作规程考试后，还可以获得虚拟的 P2 实验室操作合格证书。

2-10 考核要求

仿真系统答题：总共设置了 22 题，100 分，其中单选 10 题，多选 10 题，配伍题 1 题，实验设计题 1 题。答题总分得分 60 分以上为合格，70 以上为良好，85 以上优秀。

实验过程操作得分：总共 100 分，其中微生物部分操作 58 分，分子生物学操作 42 分。答题总分得分 60 分以上为合格，70 为良好，85 以上优秀。

虚拟 P2 实验：包括 P2 实验室实验操作 10 分，生物安全实验知识答题 10 分。通过后可以获得电子 P2 实验室上岗证，获得电子上岗证后有机会进入实体 P2 实验室。

2-11 面向学生要求

- (1) 专业与年级要求：

主要面向临床医学、基础医学、预防医学、检验医学等专业，大二学生

- (2) 基本知识和能力要求：

学习了或正在学习微生物、分子生物学课程。

2-12 实验项目应用及共享情况

- (1) 本校上线时间：2018-09-03
- (2) 已服务过的本校学生人数：1100
- (3) 是否纳入到教学计划： 是 否

(勾选“是”，请附所属课程教学大纲，所属课程教学计划或授课提纲。)

- (4) 是否面向社会提供服务： 是 否
- (5) 社会开放时间：2018-11-01，已服务人数：1400

3. 实验教学项目相关网络及安全要求描述

3-1 有效链接网址

<http://jwc4.ncu.edu.cn/apps/GanJun/>

3-2 网络条件要求

(1) 说明客户端到服务器的带宽要求（需提供测试带宽服务）
经测试客户端到服务器的带宽要求为 10M 及以上。本次带宽初步测试基于主流计算机配置，模拟真实网络学习环境，最大限度的还原用户上网学习虚拟仿真实验项目的需求。测试一：物理连接链路测试，测试方法：本端与连入 internet 上的本次虚拟仿真实验项目网站进行 PING 操作，测试目的：测试虚拟仿真实验项目网站间的延迟情况和丢包情况；测试二：测试线路带宽质量，测试目的：测试不同 ip 访问本虚拟仿真实验页面的加载情况，测试方法：通过 IP 代理，记录电脑端不同地域 IP 打开虚拟仿真实验项目网页的速度。测试结果现总结如下：1、当客户端到服务器带宽小于 10M 的时候，ping 主流网站的延时值都非常的高，丢包情况也很严重，基本上保持在 50ms 以上甚至更高，丢包率也基本大于 5%；2、当客户端到服务器带宽小于 10M 的时候，在不同 IP 对本虚拟仿真实验网页打开的随机测试中，网页打开速度很慢，尤其是是三维模型的加载卡顿现象非常严重，打开测试不理想。所以建议客户端到服务器的带宽要求为 10M 及以上。

(2) 说明能够支持的同时在线人数（需提供在线排队提示服务）2000

3-3 用户操作系统要求（如 Windows、Unix、IOS、Android 等）

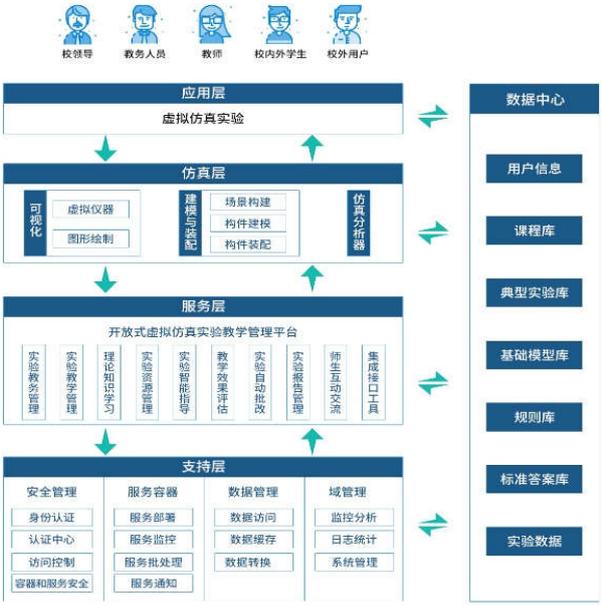
(1) 计算机操作系统和版本要求
虚拟仿真实验要求在操作系统为 windows7 64 位、win10 64 位操作系统的电脑上运行。

(2) 其他计算终端操作系统和版本要求
无

(3) 支持移动端： <input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
3-4 用户非操作系统软件配置要求（如浏览器、特定软件等） (1) 需要特定插件： <input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否 （勾选“是”，请填写）插件名称 插件容量 下载链接 (2) 其他计算终端非操作系统软件配置要求（需说明是否可提供相关软件下载服务） 需要使用 360 浏览器极速模式打开，或者使用 360 极速浏览器、火狐浏览器、谷歌浏览器打开
3-5 用户硬件配置要求（如主频、内存、显存、存储容量等） (1) 计算机硬件配置要求 CPU 要求：建议采用 intel 酷睿 i3 2.6 赫兹及以上 CPU 内存要求：DDR3 4GB 以上内容 显存要求：2GB 以上显存 存储容量要求：系统盘可用空间 10GB 及以上 (2) 其他计算终端硬件配置要求 无
3-6 用户特殊外置硬件要求（如可穿戴设备等） (1) 计算机特殊外置硬件要求 无 (2) 其他计算终端特殊外置硬件要求 无
3-7 网络安全 (1) 项目系统是否完成国家信息安全等级保护： <input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否 （勾选“是”，请填写）二级

4. 实验教学项目技术架构及主要研发技术

指标	内容
系统架构图及简要说明	本项目的教学资源可实现对相关实验课程面向国内各大院校开展必修课或选修课的虚拟仿真实验教学，以计算机仿真技术、多媒体技术和网络技术为依托，采用面向服务的软件架构开发具有自主知识产权，集实物仿真、场景虚拟、创新设计、智能指导、虚拟实验结果自动批改和教学管理于一体，具有良好自主性、交互性和可扩展性的虚拟实验项目，同时为其它学科的相关实验课程提供互联的标准接口，底层的构件库，并为上层的调用

	<p>提供标准化的调用接口，为用户提供统一的访问接入服务和通用的用户服务工具包。</p> 	
实验教 学项目	开发技术	<input type="checkbox"/> VR <input type="checkbox"/> AR <input type="checkbox"/> MR <input checked="" type="checkbox"/> 3D 仿真 <input type="checkbox"/> 二维动画 <input type="checkbox"/> HTML5 其他
	开发工具	<input checked="" type="checkbox"/> Unity3D <input checked="" type="checkbox"/> 3D Studio Max <input checked="" type="checkbox"/> Maya <input checked="" type="checkbox"/> ZBrush <input checked="" type="checkbox"/> SketchUp <input type="checkbox"/> Adobe Flash <input type="checkbox"/> Unreal Development Kit <input type="checkbox"/> Animate CC <input type="checkbox"/> Blender <input checked="" type="checkbox"/> Visual Studio 其他
	运行环境	<p>服务器 CPU <u>4</u>核、内存 <u>32</u> GB、磁盘 <u>500</u> GB、显存 <u>1</u> GB、GPU 型号 <u>Ryzen 7</u></p> <p>操作系统 <input checked="" type="checkbox"/>Windows Server <input type="checkbox"/>Linux <input type="checkbox"/>其他 具体版本</p> <p>数据库 <input type="checkbox"/>Mysql <input checked="" type="checkbox"/>SQL Server <input type="checkbox"/>Oracel</p> <p>其他 备注说明 <u>需要其他硬件设备或服务器数量多于 1 台时</u> <u>请说明</u></p>

	<p>项目品质 (如：单场景模型总面数、贴图分辨率、每帧渲染次数、动作反馈时间、显示刷新率、分辨率等)</p>	<p>1. 模型制作规范 系统中模型、材质、纹理等文件规范命名及分层、分类管理，命名中不可有中文名称，不能重名，易于识别，模型格式是.stl、.fbx 或.3ds；均为 3D 效果，构建与实物 1:1 比例非拟人化、非漫画形象，仿真度高；单个 max 文件里如有多个物体，将多个物体打组（单个物体无需打组），静态辅助物体需要 attach 成一个物体；材质球命名与物体名称一致，材质球的 ID 号和物体的 ID 号一致；模型制作既保证逼真的质量又控制好三角面的数量，单个模型的面数不少于 200000 面；模型的中心点在模型的中心位置。 2. 贴图材质规范 模型材质进行烘焙处理，以生成带有阴影、高光、反射等效果的贴图；所有模型采用实物贴图，并做优化处理，要色彩协调、明暗和冷暖统一，贴图格式为.DDS，进行法线贴图处理来达到最佳的视觉效果；一个物件一张贴图，颜色贴图不放在凹凸通道里，一张贴图要占满整个画布，不能出现浪费贴图空间的情况，场景中连续贴图不能看到有明显的缝隙；UV 展开均匀舒展，避免拉伸，最大化提高 UV 的利用率；材质大小长宽像素为 2 的次方倍数，贴图大小最大不超过 2048×2048；同种贴图必须使一个材质球。 3. 场景制作规范 场景制作：无分辨率限制，能够支持 1920×1200 以上分辨率的三维视景，1:1 实物大小显示，可对场景模型进行实时顶点优化和动态加载 LOD 设置调整，根据视觉效果调整优化比例，减少数据量，提高运行效率，帧速率 25 帧以上；场景布置：基本物件在制作过程中严禁有缩放，有旋转的物体应保留旋转信息，不要镜像物体。 4. 音视频及文字制作规范 声音：场景音效、声音解说要求制作逼真，采用专业的普通话进行配音； 视频：在场景对象上可嵌入外部视频文件，视频文件格式支持不少于 AVI、WMV、MPA、MPG、MP3 格式。要实现视频流的预读取功能，以保证视频播放流畅；系统内嵌提醒帮助机制，在各个子界面中，采用场景对象方式，设计文本提示框等信息，系统设置帮助文档，浮动帮助文字。</p>
--	---	---

5. 实验教学项目特色

(体现虚拟仿真实验项目建设的必要性及先进性、教学方式方法、评价体系及对传统教学的延伸与拓展等方面的特色情况介绍。)

(1) 实验方案设计思路:

本项目属于基础医学整合性实验,涵盖微生物学、分子生物学和免疫学三个学科,结合了整合性实验与虚拟仿真实验的特点和优势。整合性实验一方面可以促进学科的交叉与知识的整合,促进学生创新科研思维;另一方面可以优化教学内容,淘汰实验水课,更符合一流本科人才培养的需求。

本项目实验材料为出血性大肠杆菌 O157:H7,有**高传染性、高致病性**等特点,需要**P2 实验室、生物安全柜等特殊场所和设备**;整个实验**连贯性强、耗时长、所需的仪器和试剂成本较高**,这些都限制了实体实验的开设。本项目虚拟仿真系统包括了临床症状、流行病学、生物学特征、病菌培养与鉴定、基因检测、疫病防控等模块,形成了“学-测-评”一体化。

O157:H7 疫情主要来源于食物感染,在全球高发、多发,我国已将它列为对国人卫生健康有重大影响的 12 种病原微生物之一。该项目与临床和日常生活息息相关,利用该项目进行教学和虚拟仿真实验,可以调动学生参与实验教学的积极性和主动性,激发学生的学习兴趣 and 潜能,增强学生创新创造能力。可以促进理论知识与实践的融合、提高学生的公共卫生意识和疫病防范能力。

(2) 教学方法创新:

本项目采取“线上虚拟仿真+线下实体实验”混合式方法进行教学。即将高危的 O157:H7 菌的分离培养、生化鉴定、血清鉴定、DNA 提取、质粒提取、DNA 定量等在虚拟 P2 实验进行,线下以无致病性的大肠杆菌 BL21 开展平行实验。线上的虚拟学习和训练,可以为线下实验打下基础,提高实验成功率,达到“以虚强实”效果。学生在线上开展 P2 实验室规程训练,通过考试和考核后可以获得电子合格证书。获得证书后可以获准进入我院的实体 P2 实验室,因此本虚拟仿真系统兼有 P2 实验室的虚拟培训和考核功能,实现“以虚补实”。此外,在大肠杆菌毒力基因检测环节,我们采取“虚实结合”,即在实体 P2 实验提取 O157:H7 菌 DNA,进行毒力基因 PCR 扩增,拿到普通实验室与学生做的 BL21 菌 PCR 产物一起电泳,比较条带差异。

教学形式上,有线上自学(包含文字、图片、动画、视频等)、课堂讲解、课堂演示、实验设计、线上讨论等多种。多种方式有机结合,提高学生思维能力、动手能力、分析问题和解决问题的能力以及创新能力。

(3) 评价体系创新:

本系统评价体系包括线上和线下两类。

线上评价包括交互答题（选择题为主）、虚拟实验操作，两项各为一百分；答题为通关形式，每题有2次机会，通过了才能进入下一场景。

学生满分通过了线上P2实验室的操作训练和考试，可以获得电子合格证书一份。获得了电子合格证书有机会进入实体P2实验室开展实验。

线下评价包括考勤、实验报告、课堂表现、实验设计等。

（4）对传统教学的延伸与拓展：

该实验周期长，连贯性强，传统教学开展本实验要拆解为多次课堂教学完成，教学过程散乱。虚拟仿真实验通过模拟，缩短了菌培养过程，省去了等待时间，利于前后知识的连贯，也更利于提高线下实验的成功率。

传统教学多人一组，部分学生没有足够的动手机会，也存在少数学生滥竽充数。虚拟仿真系统可以记录每一个学生的学习行为、答题结果和操作得分，既利于其自我评价，也推动了学生的主动学习。

虚拟仿真的教学内容也更为丰富、更全面，学生可以开展多次学习，并可以通过平台进行讨论和交流，而传统教学只有一次机会。虚拟仿真教学可以提高教学效果。

6. 实验教学项目持续建设服务计划

（本实验教学项目今后年继续向高校和社会开放服务计划及预计服务人数）

（1）项目持续建设与服务计划：

本项目严格遵守我国教育、知识产权、互联网等相关法律法规建设项目，具有自主知识产权；符合南昌大学医学虚拟仿真教学平台对接的要求，可纳入省级或国家级虚拟仿真教学共享平台使用。

本软件目前为V1.2版，未来我们将根据实验项目的教学应用具体情况，进行合理的更新、补充与完善。初步计划是进一步充实毒力因子免疫学检测的内容，做成一个三学科大整合的实验。另外，将适时推出手机版，方便学生移动学习。

（2）面向高校的教学推广应用计划：

本项目涉及的多个技术均属于本、专科院校医学专业的教学范围，适合在各高校推广使用。我们将通过实验空间（ilab）、江西省微生物学会、生物化学与分子生物学会、我校国家级虚拟仿真实验示范中心网站，“医学生化与分子”微信教学公众号等积极向省内外高校推广。我们还将积极申报江西省高校课程共享育人计划，通过学分互认推动省内高校学生选修该实验课程，获得学

分。另外，我们主办的“生物化学与分子生物学综合技能大赛”已经举办了9届，今后的比赛，虚拟仿真实验操作将成为一个重要的环节，以竞赛来促进虚拟仿真实验学习和训练。

2019年，首届基础医学实验技能竞赛在安徽医科大学开赛，该赛事成功采用了虚拟仿真实验进行竞赛，引起了各高校、企业对基础医学虚拟仿真实验的重视。我们计划通过全国基础医学技能竞赛、国家示范性医学实验中心联席会、基础医学整合性实验数字化教材编写、各类教学研讨会等载体，加强本项目的推广和宣传。预期服务的高校超过20家，服务人数4万人以上。

(3) 面向社会的推广应用计划：

该项目内容与人们饮食卫生、疫病防控息息相关，本项目虚拟仿真实验内容已经将进一步开放给江西省疾控中心，用于进行继续教育和培训服务。下一步计划与疾控中心进行合作，逐步增加其他常见食源性致病菌的检测、防治措施等。并将根据需求，适时开发科普版，提高民众食品安全意识和防范能力，为健康中国2030贡献一份力量。

7. 知识产权

软件著作权登记情况	
软件著作权登记情况	<input checked="" type="checkbox"/> 已登记 <input type="checkbox"/> 未登记
完成软件著作权登记的，需填写以下内容	
软件名称	虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 0157: H7 血清型出血性大肠杆菌虚拟仿真实验
是否与项目名称一致	<input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
著作权人	南昌大学
权利范围	全部
登记号	2019R11L1309844

8. 诚信承诺

本人承诺：所申报的实验教学设计具有原创性，项目所属学校对本实验项目内容（包括但不限于实验软件、操作系统、教学视频、教学课件、辅助参考资料、实验操作手册、实验案例、测验试题、实验报告、答疑、网页宣传图片文字等组成本实验项目的一切资源）享有著作权，保证所申报的项目或其任何一部分均不会侵犯任何第三方的合法权益。

本人已认真填写、检查申报材料，保证内容真实、准确、有效。

实验教学项目负责人（签字）：

年 月 日

9. 附件材料清单

1. 政治审查意见（必须提供）

（本校党委须对项目团队成员情况进行审查，并对项目内容的政治导向进行把关，确保项目正确的政治方向、价值取向。须由学校党委盖章。无统一格式要求。）

2. 校外评价意见（可选提供）

（评价意见作为项目有关学术水平、项目质量、应用效果等某一方面的佐证性材料或补充材料，可由项目应用高校或社会应用机构等出具。评价意见须经相关单位盖章，以1份为宜，不得超过2份。无统一格式要求。）

10 申报学校承诺意见

本学校已按照申报要求对申报的虚拟仿真实验教学项目在校内进行公示，并审核实验教学项目的内容符合申报要求和注意事项、符合相关法律法规和教学纪律要求等。经评审评价，现择优申报。

本虚拟仿真实验教学项目如果被认定为“国家虚拟仿真实验教学项目”，学校将严格贯彻《教育部高等教育司关于加强国家虚拟仿真实验教学项目持续服务和管理有关工作的通知》（教高司函〔2018〕56号）的要求，承诺将监督和保障该实验教学项目面向高校和社会开放，并提供教学服务不少于5年，支持和监督教学服务团队对实验教学项目进行持续改进完善和服务。

（其他需要说明的意见。）

主管校领导（签字）：

（学校公章）

年 月 日



关于对《虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 O157:H7 血清型出血性
大肠杆菌》项目内容及项目团队成员的政治审查意见

按照教育部高等教育司要求，本单位对申报项目《虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 O157:H7 血清型出血性大肠杆菌》及其团队成员进行了政治审查，相关结论如下：

本项目团队多名成员为中共党员，政治立场坚定，政治素质较好，能自觉在思想政治上、行动上同以习近平同志为核心的党中央保持高度一致。

本项目坚持正确的育人导向，着眼于一流医学本科教育，通过“以虚强实、虚实结合”强化临床医学本科生创新实践能力培养。项目中的内容符合教学要求，没有违反政治方向和医学伦理的不当言论。

中共南昌大学医学部基础医学院总支部委员会（盖章）

中共南昌大学委员会（盖章）

九江学院共享使用南昌大学“虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 O157:H7 血清型出血性大肠杆菌”的评价意见

自学院共享使用南昌大学基础医学院开发的“虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 O157:H7 血清型出血性大肠杆菌”以来，学生感觉生动逼真、实用性强、简单易学、操作方便，受到使用学生的普遍好评与积极反响。

首先，O157:H7 常见食源性传播，关乎饮食安全、生命健康，学生比较重视，也特别希望掌握病菌分离、鉴定的技能。

其次，我院暂无 P2 实验室，学生同学该虚拟软件学习了 P2 实验室的安全知识与进出程序，弥补了教学上的缺憾。

第三，实验项目整合性强，教学内容丰富，重点知识详实，交互性强，题目设置比较合理。

最后，该虚拟仿真实验设计合理，思路清晰，运用方便，交互性强，能明显提高学生的实验兴趣，获得满意的实验教学效果。

九江学院基础医学院

使用人：张

2019年9月10日

3604010024355

虚拟仿真实验教学资源共享协议书

甲方：南昌大学基础医学院

乙方：赣南医学院基础医学院

根据南昌大学基础医学院与赣南医学院基础医学院的友好合作和协商，推进国内高校虚拟仿真实验教学资源的高效利用，为更多高校相关专业的学生提供优质实验教学服务，达到资源共享的目的，经甲乙双方同意，现就南昌大学基础医学院与赣南医学院基础医学院关于“虚拟 P2 实验室分离培养和鉴定 0157: H7 血清型出血性大肠杆菌”教学资源达成如下协议：

1. 南昌大学基础医学院同意将虚拟仿真实验教学资源向赣南医学院基础医学院免费开放（至多 3 年），并在开放共享过程中向使用学校师生提供技术保障。
2. 甲方与乙方每年就本虚拟仿真实验教学资源利用、改进及进一步建设进行至少 1 次教学交流或沟通，以推动虚拟仿真实验教学资源的进一步完善和辐射共享。
3. 协议学校负责对其学生进行网络安全和用网道德规范进行必要的监督和管理。
4. 本协议自签订之日起执行。
5. 未尽事宜，双方及时沟通协商解决。

甲方：南昌大学基础医学院

授权代表：

日期：2019 年 9 月 6 日



乙方：赣南医学院基础医学院

授权代表：

日期：2019 年 9 月 6 日

