《心肌缺血再灌注损伤实验整合课程》教学大纲（实验）

（基础医学专业用）

前 言

心肌缺血再灌注损伤实验整合课程是面向基础医学专业学生开设的新型实验课。通过实验课学习缺血-再灌损伤的基本理论，掌握基本知识和基本理论，并且在实验课过程中进一步的探索和学习，巩固基本理论知识，了解缺血-再灌损伤的科学研究前沿。通过实验课使学生能正确使用仪器，初步掌握常用仪器的操作方法，使学生了解临床和科研常用的实验方法，初步掌握动物实验设计方法。通过实验课教学培养学生对科学工作的严肃态度以及严密的工作方法和实事求是的工作作风，并逐步培养学生观察、比较、分析、综合解决实际问题的能力，同时提高学生的创造力，为今后临床实践和科学研究工作提供基本技能。

心肌缺血再灌注损伤实验整合课程以活体动物或离体组织器官为研究对象，在教师指导下，自己动手，完成疾病模型的复制及实验治疗学观察，完成血液、心脏样本的采集，使用收集到的样本进行组织学和分子生物学实验的检测。

心肌缺血再灌注损伤整合实验基于BL-420生物信号系统，通过实验，学生应掌握学习酶标仪、电泳仪、切片机等临床和实验室常用仪器的使用及计算机辅助的医学研究的新技术和新方法。

此大纲适用于基础医学专业。

本课程总计学时数：36学时，实验：33学时，自主学习 3学时。

考核方式：实验成绩85%（包括出勤、实验报告和实验操作）和自主学习成绩15%。

实验一 建立家兔心肌缺血-再灌损伤模型

一、教学目的

（一）学习在体家兔心肌缺血-再灌注损伤模型的制备方法。

（二）掌握心电各导联电极的连接并了解发生心肌缺血时心电的变化。

（三）观察缺血预适应对心肌缺血-再灌注损伤家兔相关指标的影响。

（四）掌握生物机能实验系统和呼吸机的使用。

（五）掌握心脏灌流的方法。

二、教学内容

（一）实验动物：家兔。

（二）实验方法

1. 家兔静脉麻醉、固定。

2. 颈部手术：气管插管、颈总动脉插管。

3. 连接针形心电图导联电极和呼吸机。

4. 观察记录正常心电图、取正常家兔血液。

5. 家兔心肌缺血再灌注损伤模型的制备。

6. 观察心肌缺血以及缺血预适应、心肌缺血再灌注损伤对家兔心电图的影响。

7. TTC-染色。

8. 血液及心脏样本的分类收集。

三、教学学时安排

9学时

四、教学方法

实验教学

实验二 心肌组织石蜡标本的制备

一、教学目的

（一）掌握石蜡组织标本的制作方法。

（二）了解常用脱水剂、固定剂的种类。

二、教学内容

1. 心肌组织脱水、透明。

2. 心肌组织浸蜡。

3. 心肌组织包埋。

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学

实验三 心肌组织石蜡标本切片

一、教学目的

（一）掌握石蜡切片技术。

（二）学习切片机的使用方法。

二、教学内容

1. 固定标本。

2. 固定刀片于持刀架。

3. 调节切片机切片的厚度。

4. 调节蜡块切面与刀片之间的距离。

5. 切片。

6. 展片。

7. 贴片。

8. 烤片。

三、教学学时安排

3学时

四、教学方法

实验教学

实验四 苏木精-伊红染色

一、教学目的

（一）掌握苏木精-伊红染色方法的原理和步骤。

（二）观察心肌组织的结构特点，比较心肌组织缺血前后的变化。

二、教学内容

1. 石蜡切片脱蜡至水。

2. 苏木精染色。

3. 盐酸酒精分色。

4. 自来水返蓝。

5. 伊红染色。

6. 梯度脱水、透明、封片。

7. 镜下观察。

三、教学学时安排

2学时

四、教学方法

实验教学

实验五 变色酸2R-亮绿染色

一、教学目的

（一）掌握变色酸2R-亮绿染色方法的基本原理，了解其基本步骤。

（二）比较心肌组织缺血前后的变化。

二、教学内容

1. 石蜡切片脱蜡至水。

2. 变色酸2R染色。

3. 冰醋酸洗。

4. 亮绿液染色。

5. 自来水洗。

6. 脱水、透明、封片。

7. 镜下观察。

三、教学学时安排

3学时

四、教学方法

实验教学

实验六 Western blot检测心肌组织中磷酸化P38丝裂原活化蛋白酶(p-p38 MAPK)的表达

一、教学目的

（一）掌握心肌组织蛋白提取的方法。

（二）掌握用BCA法进行蛋白定量，了解蛋白质定量的其他方法。

（三）掌握Western blot法的基本原理，熟悉其基本步骤。

二、教学内容

1. 提取心肌组织蛋白。

2. BCA法蛋白定量。

3. 预制胶加蛋白样品。

4. 电泳分离。

5. 转膜。

6. 封闭。

7. 孵育抗体。

8. 显色。

9. 结果分析。

三、教学学时安排

8学时

四、教学方法

实验教学

实验七 ELISA法检测缺血再灌注后的血清肌钙蛋白表达和乳酸脱氢酶活性

一、教学目的

（一）掌握ELISA法的基本原理，熟悉其基本步骤。

（二）学习酶标仪的使用。

二、教学内容

1. 标准品的稀释与加样。

2. 加样。

3. 温育。

4. 配液。

5. 洗涤。

6. 加酶。

7. 温育。

8. 洗涤。

9. 显色。

10. 终止。

11. 测定。

三、教学学时安排

4学时

四、教学方法

实验教学

自主学习

一、教学目的

（一）提高对实验结果的综合分析能力。

（二）通过对实验结果的讨论提升在科研过程中找出问题、解决问题的能力。

（三）通过对实验的总结和讨论学习科研思路。

（四）了解针对缺血-再灌注损伤的科研设计方法和手段。

二、教学内容

（一）给学生布置自主学习内容，告知学生自主学习要求、形式及考核方式。

（二）分组汇报展示本组本课程的所有实验结果，分析出现不同实验结果的可能原因，进一步完善本实验的建议或实验设计。

三、教学学时安排

3学时

四、教学方法

自主学习

五、自主学习

（一）自主学习布置（0学时）：告知学生自主学习教学要求、形式及考核方式。

（二）自主学习及指导答疑安排（0学时）：学生借助互联网、图书馆主动查阅检索搜集相关参考书籍及文献，学习理解掌握相关知识；教师通过电子邮件、QQ、微信、电话予以指导。

（三）课堂分组汇报、讨论（3学时）。