

## 肿瘤学研究方法和实验技术课程内容及要求

一、开设目的：在学习肿瘤学有关理论的基础上，学习一些肿瘤学常用技术和方法，为研究生完成实验提供基本方法和技术训练。

二、培养原则：实验课程以研究生导师所在实验室自行培训为主，培训与实际工作和课题研究紧密结合。培训过程管理和评估由各实验室完成。

三、教学要求：掌握常用肿瘤学研究方法的基本原理及其操作，并了解其应用。

### 四、考核要求：

(1) 就所培训的每项实验各提交一份报告，实验报告需写明实验名称、原理、步骤、结果、讨论及日期，由**带教老师签字**后于本学期结束前提交。

(2) 中期实验考核：围绕实验流程、结果分析、常见问题、注意事项、异常问题处理等，面试考核，考核成绩按比例计入总成绩

## 肿瘤学研究方法和实验技术课程计划表

提前做好课程计划，如某项实验技术与学生课题无关，可免修，选修的内容在表格“选修情况”一栏打“”，至少选择 10 项实验内容。

分子生物学部分				
序号	内容	选修情况	完成时段	实验地点
1	DNA 提取及电泳鉴定			
2	RNA 提取及电泳鉴定			
3	PCR 或 RT-PCR 及产物鉴定			
4	PCR 产物的 T/A 克隆			
5	连接产物转化（包括抗生素筛选平板制备）			
6	质粒提取及阳性克隆酶切鉴定			
7	Western Blotting （包括 PAGE 胶制作、电泳）			
8	<b>免疫组化</b> (1) 免疫组化染色原理 (2) 免疫组化染色步骤			肿瘤医院中心实验室

	(3) 免疫组化染色常见问题的处理 (4) 免疫组化染色结果观察			
<b>细胞生物学部分</b>				
序号	内容	选修情况	完成时段	实验地点
1	细胞培养常规技术: (1)细胞培养的基本步骤 (2)冻存及复苏 (3)培养物的污染及防止 (4)细胞计数及活力测定			
2	细胞增殖检测: CCK8 细胞增殖分析			
3	细胞迁移和侵袭: (1)细胞侵袭行为检测 (铺 matrigel 的 transwell 试验) (2)细胞迁移行为检测			
4	<b>流式细胞技术检测细胞周期和凋亡</b> <b>第一部分：细胞周期检测：</b> (1) 流式技术检测周期原理 (2)消化细胞、固定、去除 RNA 后 PI 染色及注意事项 (3)利用流式细胞仪分析并用 ModiFit 软件模拟结果 <b>第二部分：细胞凋亡检测：</b> (1) 流式技术检测凋亡原理； (2) 消化细胞、设置对照及补偿管、Annexin V-FITC 染色及 PI 染色及注意事项 (3)利用流式细胞仪调节补偿，并分析结果，结果呈现			肿瘤医院中心实验室
5	<b>多色免疫荧光细胞化学染色技术</b> (1) 抗体的选择 (2) 染色的基本原理和步骤 (3) 采用激光扫描共聚焦荧光显微镜获取图像的基本操作步骤 (4) 图像的定性、定量分析			肿瘤医院中心实验室
6	<b>流式细胞分选技术</b> (1) 单细胞悬液制备及注意事项 (2) 多色标记染色原则及步骤 (3) 分选流程及操作			肿瘤医院中心实验室

学生签字：

科室带教老师签字：

导师签字：

日期：

日期：

日期：

## “细胞周期检测”及“细胞凋亡检测”实验说明

“细胞周期检测”及“细胞凋亡检测”实验分两步骤完成：第一步：由学生在自主培训实验室完成细胞培养及样本制备；第二步：学生自由成组（5人左右）提前一周预约中心实验室，携准备好的样品进行流式细胞仪上机培训。

流式细胞仪上机样品准备要求如下：

- (1)样品需是单细胞悬液
- (2)分析样品细胞量： $\geq 1 \times 10^6$  个细胞/样
- (3)细胞悬浮于  $1 \times \text{PBS}$  溶液中
- (4)上样前必须用 400 目尼龙网或其他相当大小的网过滤
- (5)分析检测可以使用多种类型的样品管，包括任何品牌的  $12 \times 75\text{mm}$  管和普通  $1.5\text{ml}$  和  $2.0\text{ml}$  EP 管。
- (6)需准备好流式检测对照管和补偿管