内蒙古大学 化学化工学院

《细菌介导荧光传感器的构建及牛奶中致病菌检测应用虚拟仿真实验》

课程教案

课程名称	细菌介导荧光传感器的构建及牛奶中致病菌检测应用虚拟仿真实验	总计：10 课时	
课程负责人	董阿力德尔图	**职称**	教授
授课对象	面向具备一定专业基础的化学化工学院二年级的化学（基地）、应用化学专业学生，以及需要拓展、完善知识结构的生命科学学院的生物科学基地、生物技术基地专业学生。		
参考资料	（1）分析化学（第六版）下册，武汉大学主编，高等教育出版社，2018年9月 （2）现代食品微生物学，吴祖芳 主编，浙江大学出版社，2017年1月 （3）荧光探针技术，黄晓峰 等 主编，人民军医出版社，2004年5月 （4）靶向生物荧光探针制备技术，费学宁 等 著，科学出版社，2013年3月 （5）各类液态奶乳制品、食源性致病菌检测方法等国家标准 （6）ACS、Wiley等期刊数据库发表的相关科研文章		
教学环境及教具准备	**教学环境：**依托化学化工学院本科基础实验室、自治区级实验教学示范中心的虚拟仿真综合实验室或远程使用本实验3D软件。 **教具准备：**教师在实验课程开始之前应检查电脑设备、实验软件等虚仿设备是否能够正常使用，并提醒学生遵守实验室安全管理。		
教学目的和要求	多学科交叉复合型人才培养是未来学科建设与人才培养的重要趋势。秉承“以学生为中心”的理念，借助于学生参与度高、体验感强的现代化3D虚拟仿真技术，开发以场景体验、层层深入的方式完整地呈现牛奶中致病菌检测背景知识、新检测方法构建、检测方法评价以及检测方法在牛奶实际样品中多类型致病菌定量检测应用的全过程，整个实验从理论学习到实操运用再到理论升华，拓展了实验教学的深度和广度，实现对学生掌握知识、培养能力、提高素养等人才培养目标。 主要实验教学目标分为三个维度： **（1）知识维度** 本实验内容涵盖了荧光免疫传感器构建与制备、荧光免疫传感器检测方法的评价及实际样品检测应用，具体实验参数设计是参考已在权威知名国际期刊上发表的科研成果，并结合项目组成员的实际科研成果，使其高度完整还原了现实中利用荧光免疫传感方法检测牛奶中致病细菌的全过		

	程，因而能很好地达到传授学生综合运用所学知识解决实际问题的科研能力培养。 **（2）能力维度** 该实验通过线上身临其境的互动式操作，有效克服了现实实验条件和教学时空的限制，可以使每位上课学生单独且重复多次开展实验，不仅能更好地掌握多种仪器使用方法，巩固和加深仪器原理及理论知识，更重要的是能使学生系统地了解科学研究全过程，提高学生对科学研究工作认知，激发学生的创新意识，加大实验课的深度与广度。并通过结合线下互动式、研讨式实验教学，实现学生综合能力提升。 **（3）素养维度** 乳品微生物污染是制约乳业高质量发展的关键因素，食源性致病菌的定量检测是保障食品安全的必需手段，能够为人民的食品安全守牢一条生命线。因此，在培养多学科交叉复合型化学类专业人才时，除了训练学生掌握常规分析方法与实验技能外，更应注重学生创新性思维与科研能力的培养。将与内蒙古自治区特色产业发展相关的高水平、先进的科研成果引入实验教学，突出了教学培养的地区特色，增强了学生对地区经济建设的使命感，利用实验中设计的思政元素，将社会责任感、专业担当、职业精神等德育要素传递给学生，使学生树立家国情怀，激发学以致用奋进动能。
教学重点和难点	**<u>教学重点：</u>** （1）使学生系统掌握牛奶中致病菌检测的新方法开发和实际应用的全过程，培养学生在新方法开发中不断优化条件设计，以提高方法的检测性能。在实际应用中注重运用检测方法对实际样品进行结果判读，提高学生学术和实践素养。 （2）训练学生掌握仪器使用方法，巩固和加深仪器原理及相关理论知识，提高学生把理论知识转化为实践的能力。 （3）融入课程思政元素，将社会责任感、专业担当、职业精神等德育要素传递给学生，引导学生树立家国情怀，激发学以致用奋进动能。 **<u>教学难点：</u>** （1）本实验考察学生的综合能力，要求能与其他课程知识融合、贯通及应用。 本实验是基于多学科知识交叉融合开发的虚拟仿真综合实验，需要学生充分发挥探索性思维，给学生带来一定的挑战性。

实验内容	乳品中致病菌不仅威胁着人类健康，而且阻碍了乳品行业高质量健康发展。因此，开发出简便、高效并能够同时定量测定牛奶中多种类型致病细菌的分析方法具有重要意义。本实验依托乳制品质量安全控制技术教育部工程研究中心，以荧光传感器的开发与应用为主线，设计开发了包含三层次五模块的“细菌介导荧光传感器的构建及牛奶中致病菌检测应用虚拟仿真实验”。通过综合运用课前预习、线下荧光仪操作、虚拟仿真实验操作、实验报告、线下课堂研讨等多种方法，培养学生掌握分析方法建立及应用的全过程实验的探索研究思维，实现对学生知识→能力→素质的全面进阶式培养。 **模块一：牛奶中致病菌及其检测方法概述** 该模块包含四个部分：认识细菌、牛奶中的致病菌及其危害、牛奶中致病菌的检测方法、练习题。通过对相关基础知识的拓展学习，了解相关基础内容，深刻理解本实验的意义与价值，激发学生的学习兴趣。要求课前线上学习并完成“预习考核”。 **模块二：细菌基荧光探针的制备表征** 该模块模拟了细菌基荧光探针的制备与表征的全流程。模拟了荧光染料系列浓度的配制、荧光染料浓度的优化和荧光探针的制备；表征了荧光探针稳定性和制备方法的可靠性。使学生掌握细菌基荧光探针的制备方法和表征方法。 **模块三：双功能细菌定向荧光免疫传感器的构建** 该模块模拟了双功能细菌定向荧光免疫传感器的构建，模拟了细菌基荧光探针对靶标抗体的特异性免疫识别活性，由于有机染料的作用，表现出良好的荧光传感能力。使学生掌握双功能细菌定向荧光免疫传感器的原理、定量检测评价方法。 **模块四：分析方法的评价** 该模块模拟了基于荧光探针的荧光免疫传感器分析方法评价，使学生掌握分析方法评价手段类型：精密度评价（重现性）和选择性评价（特异性）。 **模块五：实际牛奶样品的分析应用** 该模块模拟了被检测靶标致病菌污染程度不同的牛奶样本制备、样品前处理以及时间动力学检测方法。使学生掌握设计与制备致病菌污染牛奶的方法，以及用时间动力学实验判读牛奶样品检测结果并分析原因。 知识点共10个： （1）牛奶中致病菌的危害； （2）致病菌的酶联免疫分析方法的原理及发展现状； （3）细菌的培养方法及平板计数方法； （4）有机染料HcM、FITC、RhB的荧光特征； （5）细菌基荧光探针的制备方法及表征；

	（6）细菌基荧光传感器对致病菌的检测原理； （7）荧光光谱仪的工作原理； （8）共聚焦荧光显微镜的工作原理； （9）免疫反应时间对测定的影响； （10）分析方法的准确度，可靠性评估方法。
实验方法	本虚拟仿真实验内容包含三层次五模块，是层层递进关系，模块一重在学生实验背景知识储备学习，模块二至四是荧光传感器检测方法的构建及性能表征，模块五是荧光传感器检测方法的实际应用。根据授课学生的专业培养目标不同，可选择模块自由组合学习，并智能统计实验成绩，如生命科学学院的学生仅需完成模块一至模块三，化学化工学院的学生需要依次完成五个模块学习。 登录账户进入课程软件实验界面，点击课程界面中的“开始实验”，进入五个模块实验界面，可分别点击每个模块的“开始实验”进入各个模块学习。各模块实验内容提纲如下： 模块一：牛奶中致病菌及其检测方法概述（课前自学、线下研讨） （1）认识细菌：细菌的分类、结构、鉴别方法等 （2）牛奶中的致病菌及其危害（蕴含思政元素） （3）牛奶中致病菌的检测方法：检测法（一）国家标准检测法（二）常规筛选法（ELISA等科研成果方法） 模块二：细菌基荧光探针的制备表征（线下荧光仪操作、虚拟仿真实验操作、线上填写报告） （1）新鲜系列浓度的荧光染料溶液的配制（梯度浓度的标准溶液配制方法） （2）细菌基荧光探针的制备（透析方法等） （3）荧光染料浓度的优化（荧光分光光度计） （4）细菌基荧光探针稳定性测试（低温储存期评价） （5）细菌基荧光探针制备方法的可靠性评估（批次重现性评价） 模块三：双功能细菌定向荧光免疫传感器的构建（虚拟仿真实验操作、线上填写报告、线下研讨） （1）最佳测试条件的优化：单克隆抗体mAb和细菌基荧光探针浓度的优化（棋盘滴定实验）、免疫反应时间的优化（荧光强度与免疫反应时间动力学） （2）单一靶标菌检测灵敏度：使用酶标仪测试线性范围并计算检出限LOD （3）单一靶标菌的细胞荧光成像检测（共聚焦激光显微镜） （4）三种靶标菌同时存在时的检测灵敏度（线性范围及检出限LOD） 模块四：分析方法的评价（虚拟仿真实验操作、线上填写报告） （1）精密度评价（重现性）：批内、批间回收率和变异系数

	（2）准确度评价（选择性）：测定靶标三种致病菌与十种常见的食源性病原体选择性 模块五：实际牛奶样品的分析应用（虚拟仿真实验操作、线上填写报告、线下研讨） （1）模拟制备细菌污染程度不同的牛奶样品 （2）模拟细菌污染的牛奶样品前处理和检测 （3）根据时间动力学实验数据判读检测结果
考评方式	利用线上平台的教师管理和智能实时评价统计系统，将学生考核评价延伸到整个学习过程，多维度地考察学生各环节的学习投入和学习成果，增强对学生学习过程的管理和要求。综合评价具体包括考核模式下进行虚拟仿真实验实操，系统根据学生操作情况自动打分。同时，学生需线上完成填写报告，由教师批阅打分，再结合学生课前线上预习情况、线下荧光仪操作、线下课堂研讨表现，赋予各部分考核不同的权重，最终计算得出综合评价与分数。这种多层次全过程考核评价方法能够更加客观、全面、真实、科学的反映学生学习情况，且能有效激发学生学习能动性。