

申报编号：2021-205993

第二批国家级一流本科课程申报书

(虚拟仿真实验教学课程)

课程名称：高精度肺肿瘤细胞外泌体分离鉴定及
归巢修饰虚拟仿真实验

专业类代码：0830

负责人：杨革

联系电话：13953760056

申报学校：曲阜师范大学

填表日期：2021-06-16

推荐单位：山东省教育厅

中华人民共和国教育部制

二〇二一年四月

填报说明

1.专业类代码指《普通高等学校本科专业目录（2020）》中的专业类代码（四位数字）。

2.文中○为单选；□可多选。

3.团队主要成员一般为近5年内讲授该课程教师。

4.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。

5.具有防伪标识的申报书及申报材料由推荐单位打印留存备查，国家级评审以网络提交的电子版为准。

6.涉密课程或不能公开个人信息的涉密人员不得参与申报。

1. 基本情况

实验名称	高精度肺肿瘤细胞外泌体分离鉴定及归巢修饰虚拟仿真实验	是否曾被推荐	○是●否
实验所属课程 (可填多个)	生物工程大实验		
性质	○独立实验课 ●课程实验		
实验对应专业	生物工程		
实验类型	○基础练习型 ●综合设计型 ○研究探索型 ○其他		
虚拟仿真必要性	<input type="checkbox"/> 高危或极端环境 <input checked="" type="checkbox"/> 高成本、高消耗 <input type="checkbox"/> 不可逆操作 <input checked="" type="checkbox"/> 大型综合训练		
实验语言	●中文 ○中文+外文字幕(语种) ○外文(语种)		
实验已开设期次	共 2 次: 1. 2019-10-12 ~ 2019-10-30、75 人 2. 2020-10-12 ~ 2020-10-30、102 人		
有效链接网址	(要求填写标准 URL 格式的实验入口网页, 不允许仅为文件下载链接) http://shenbao.rofall.net/virexp/gjd		

2. 教学服务团队情况

2-1 团队主要成员(含负责人, 总人数限 5 人以内)								
序号	姓名	出生年月	单位	职务	职称	手机号码	电子邮箱	承担任务
1	杨革	1966-10-08	曲阜师范大学	实验教学与设备管理中	教授	13953760056	yangge100@126.com	总体设计(在线教学)

				心主任				
2	车程川	1979-04-02	曲阜师范大学生命科学学院	生物技术与生物工程实训中心主任	讲师	18615234030	chechengchuan@163.com	实验教学
3	刘金锋	1972-04-01	曲阜师范大学生命科学学院	无	副教授	13792361875	Jinfeng101@126.com	实验教学
4	司美茹	1977-10-16	曲阜师范大学学生	无	副教授	15666758564	simeirul016@163.com	实验教学

			命 科 学 学 院					
5	巩志金	1988-12-03	曲阜师范大学	无	实验师	13258026287	qixianqin1988@126.com	实验教学

2-2 团队其他成员

序号	姓名	出生年月	单位	职务	职称	承担任务
1	李晨曦	1985-06-02	北京润尼尔网络科技有限公司	项目经理	无	协调、保障
2	黄炜	1995-10-02	北京润尼尔网络科技有限公司	研发负责人	无	技术支持

团队总人数：7 人 其中高校人员数量：5 人 企业人员数量：2 人

2-3 团队主要成员教学情况（限 500 字以内）

（近 5 年来承担该实验教学任务情况，以及负责人开展教学研究、学术研究、获得教学奖励的情况）

1、教学研究

（1）国家级“本科教学工程”生物工程专业综合改革试点项目（ZG0293），主持，2012.1-2017.12

（2）山东省高校应用型人才培养专业发展支持计划（[2015]5-16），主持，2015.10-2020.10

（3）山东省高水平应用型重点立项建设专业群项目（〔2016〕8），主持，2016.10-2020.10

（4）山东省卓越工程师教育培养计划生物工程专业项目（2013048），主持，2013.7-2017.7

（5）《微生物学》，化学工业出版社，2020

（6）《微生物生态工程》，化学工业出版社，2020

2、学术研究

完成和主持国家、省部级科研项目 12 项、横向课题 6 项，在国内外学术刊物发表论文 63 篇，其中 SCI、EI 收录 27 篇，获得授权国家发明专利 26 件，获得科研项目奖励 2 项。

3、教学奖励

(1) 2021 年获得山东省高等学校教学名师

(2) 2018 年“地方高校生物工程专业创新型应用人才培养模式的改革与实践”教改项目获山东获得山东省高等学校教学成果一等奖

(3) 2017 年主持的教学成果“地方高校工科‘新人才’培养模式探索与实践”获曲阜师范大学教学成果奖

注：必要的技术支持人员可作为团队主要成员；“承担任务”中除填写任务分工内容外，请说明属于在线教学服务人员还是技术支持人员。

3. 实验描述

3-1 实验简介（实验的必要性及实用性，教学设计的合理性，实验系统的先进性）

本实验适应我国生物事业发展的需求，以培养具有专业胜任能力和社会适应能力的创新应用型人才为目标，坚持“学生中心、问题导向、学科融合、创新实践”的实验教学理念，以肿瘤细胞外泌体提取为导向，从细胞培养，外泌体提取、表征及修饰方面，采用3D建模、动画、语音识别、人机交互等技术，创建了虚拟环境下的细胞培养室，还原了细胞培养、外泌体提取、表征的全过程，包括表征部分中Western Blot等的实验步骤，突破传统教学的时空界限，将传统固定教室、时间上课延展至无时间无空间限制的“空中课堂”，将有限的专业教师资源发挥最大的效果，大大激发了学生的学习兴趣、提升了学生的实践能力和创新能力。

(1) 实验的必要性及实用性

1) 必要性

第一，实验对象特殊。外泌体（Exosomes, Exos）是一种几乎所有活细胞都会分泌的直径30 - 150 nm的脂质双分子膜囊泡，广泛分布于各种体液中，内含miRNA、蛋白质DNA片段等多种胞内物质。研究发现除了网织红细胞以外，各种免疫细胞以及上皮细胞、肿瘤细胞等大部分细胞都会产生外泌体，被分泌出的外泌体会进入血液、组织液等体液中，通过循环系统到达其他组织与细胞，产生远程调控作用，已经证实，肿瘤来源的外泌体含有与分泌它们的细胞相似的蛋白质和脂肪成分，这表明外泌体可以用作抗癌治疗的载体。

第二，实验环境匮乏。外泌体的提取涉及细胞培养等实验步骤较为复杂，表征手段多样以及实验仪器较为贵重，无法满足大批学生现场操作学习的需求，难以给学生提供专业的指导。细胞培养室无菌条件要求严格，仪器设备成本高，实验耗材较为昂贵，实验室不能进行全方位的实际操作培训。该项目能有效解决因实验环境的匮乏所带来的困难。

2) 实用性

实验系统构建的虚拟仿真实验环境，全方位实现了外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰涉及的所有知识点的实验探究，将无菌条件细胞培养演示过程和结果展示以图形与应用场景的形式直观呈现，极具可观性和吸引力，解决了本实验中细胞房中的细胞操作难以组织实施，也无法承受大批量的学生同时实验的难题，有效地拓展了实验内容的深度和广度，加强了细胞培养，外泌体培养、鉴定和修饰的理论知识与实验实践的结合。

与传统的演示教学模式相比，虚拟仿真实验切实拓展了以自主探究为主要形式的实验教学方法，通过让学生自主虚拟操作实验器材，如具体调节超速离心机的具体参数，实现对目标实验结果的获取，结合软件的自动评分系统，让学生

能够直观看到实验结果，使学生对整个实验的基本研究方法和操作程序有了全面系统的认识，体会了科学研究的严密逻辑和科研理念，也充分调动了学生学习的主动性和积极性，培养了学生浓厚的实验兴趣，采用虚拟动画的方式来阐释每个知识点提高了学生的思维能力、动手能力、分析问题和解决问题的自主学习能力和创新能力，提升了学生的综合素质和能力，推进了探究式教学方法的普遍运用。

我校“现代生物学”国家级虚拟仿真实验教学中心拥有先进、高效的数字化教学平台，本项目已接入网页平台和移动平台，学生可在实验室开展实验，也可远程登录仿真软件进行操作。老师和学生可随时查看实验过程，学习记录、成绩报表，并可在线讨论或解答问题，实现了师生的零距离互动，显著提高了教学管理效率。这种教学模式也鼓励学生自由探索、勇于实践，并有效延伸了学生在课外的自主学习范围。

(2) 教学设计的合理性

本实验选择肺肿瘤细胞 A549 细胞的外泌体作为研究对象，外泌体具有天然的生物相容性，无细胞毒性，研究发现肿瘤来源的外泌体对亲本细胞显示出更好地亲和力，这些特性使它们成为一种天然存在的、有希望用于癌症治疗的药物传递系统。参考本校生物工程专业的人才培养目标，对学生的基础理论、基本技能等都得到相应的锻炼，拓展了学生的眼界，实现了理论和时间的相互交融，推动了山东省生物工程产业的可持续发展。

(3) 实验系统的先进性

本实验综合运用细胞生物学、生物化学、分子生物学、有机化学等多学科的研究成果。在 360 度全景拍摄的基础上创建了以真实细胞培养、外泌体提取、鉴定及归巢性的修饰的虚拟场景，运用三维建模、动画的技术手段，高度仿真了无菌细胞培养室、提取所需的贵重仪器，使实验场景和实验对象更加直观形象，增加学生对细胞培养及外泌体的认识，有助于强化学生对于理论知识的记忆；通过键盘和鼠标使实验者双手在虚拟场景中对细胞培养及外泌体的提取鉴定进行操作，让学生如同亲临实境，感受互动，有助于学生对于理论知识的灵活运用。本项目填补了外泌体提取、鉴定方面的空白，教学效果显著，可为国内兄弟院校有关外泌体相关教学提供借鉴资料。

3-2 实验教学目标（实验后应该达到的知识、能力水平）

肺癌属于一种严重威胁着人类生命健康的恶性肿瘤之一，是癌症死亡的主要原因，其发病率和死亡率与其他恶性肿瘤相比居于首位，况且安全性和生物相容性问题仍然是合成载体使用的主要问题。外泌体表面的小分子提供了与目

标细胞特异性相互作用的能力，在这一点上，外泌体具有天然的生物相容性，无细胞毒性，能够靶向特定的细胞，这些特性使它们成为一种天然存在的、有希望用于癌症治疗的药物传递系统。

曲阜师范大学《高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验》是生物工程专业的主干课程之一。课程要求学生掌握包括细胞培养，外泌体的提取鉴定及修饰的原理、方法及具体操作。通过本实验要达到教学目标如下：

①掌握细胞复苏、培养及冻存的具体无菌实验操作；

②掌握采用差速超速离心法对细胞上清中外泌体提取的原理及具体实验操作；

③掌握通过 Western Blot 对于提取的外泌体进行标志蛋白鉴定的原理及具体操作；

④掌握使用叶酸对外泌体进行修饰的原理及实验操作；

⑤了解通过透射电镜及动态光散射技术对外泌体进行鉴定的操作技术；

⑥培养学生知识应用能力、综合实践能力、思维判断与分析能力、跨学科思维能力、对新技术的学习能力；培养同学们团队意识、创新精神、科学严谨的工作态度。

上述实验教学目标的达成有助于学生对于课堂学习的理论知识能够有一个更为深刻的认识，提高教学效率，使学生对知识掌握的更加的深刻，能够对知识举一反三，为学生成为高层次应用人才奠定了重要的基础。

为达成以上实验教学目标的达成，本实验设置 4 个模块实验内容：

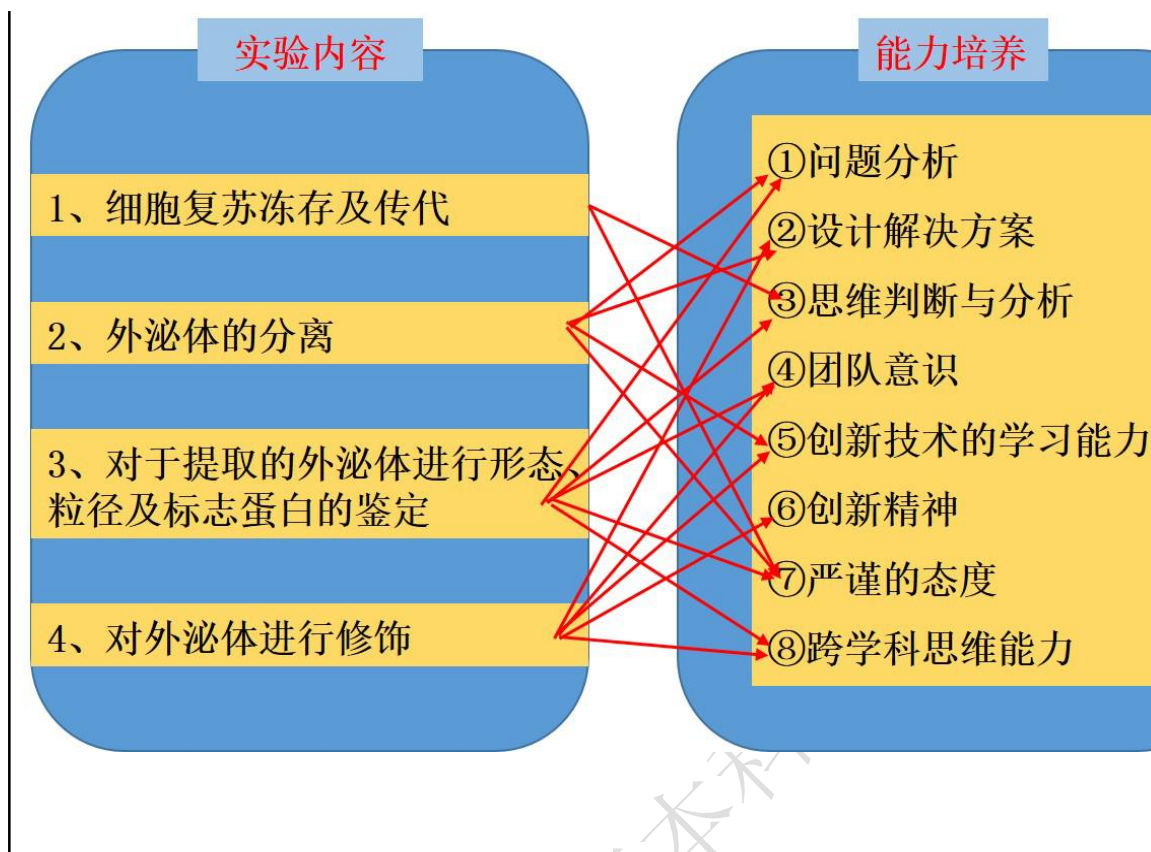
模块一：细胞复苏、冻存及传代。优化细胞状态，使细胞处于最佳状态收集细胞上清，做好提取外泌体的准备。

模块二：外泌体的分离。通过差速超速离心法逐步对杂质进行分离，从而获得外泌体。

模块三：对于提取的外泌体进行形态、粒径及标志蛋白的鉴定，从而确定实验材料的准确性。

模块四：使用叶酸对外泌体进行修饰，增强外泌体对于目标细胞的靶向性。

实验内容与能力培养的对应关系如图所示



3-3 实验课时

(1) 实验所属课程课时：45 学时

(2) 该实验所占课时：12 学时

3-4 实验原理

(1) 实验原理(限 1000 字以内)

本实验的实验原理和知识点覆盖了《细胞生物学》、《分子生物学》、《生物化学》、《有机化学》等多门本科生课程。

1) 差速离心法提取外泌体实验原理

其核心原理为沉降平衡方程，当两个或多个颗粒的直径有显著差异时，其离心沉降速度也将会有较明显差别。直径大的颗粒很快就可以沉淀下来，而更小的颗粒需要更大的离心力或者更长的离心时间才可完成沉降。超速离心法，正是通过大小和密度两个不同的维度，根据实验的需要，一步步地把我们所要重点研究的外泌体颗粒，从纷繁复杂的体液环境中、从不同的胞外囊泡中分离、富集和纯化下来。

2) 动态光散射检测外泌体粒径实验原理

粒子的布朗运动导致光强的波动，微小粒子悬浮在液体中会无规则地运动。布朗运动的速度依赖于粒子的大小和媒体粘度，粒子越小，媒体粘度越小，布朗运动越快。通过光强波动变化和光强相关函数计算

出粒径及其分布。

3) Western blot 检测外泌体标志蛋白实验原理

Western Blot 采用的是聚丙烯酰胺凝胶电泳，被检测物是蛋白质，“探针”是抗体，“显色”用标记的二抗。经过 PAGE 分离的蛋白质样品，转移到固相载体（例如硝酸纤维素薄膜）上，固相载体以非共价键形式吸附蛋白质，且能保持电泳分离的多肽类型及其生物学活性不变。固相载体上的蛋白质或多肽作为抗原，与对应的抗体起免疫反应，再与酶或同位素标记的第二抗体起反应，经过底物显色或放射自显影以检测电泳分离的特异性目的基因表达的蛋白成分。

4) 叶酸修饰外泌体实验原理

肿瘤细胞和正常细胞在细胞表面受体的表达上有着很多差异，在肿瘤细胞表面往往会存在一系列过度表达的特异性受体，这类特异性受体在肿瘤细胞膜表面高度表达，但在正常细胞膜表面表达很少，因此我们可以根据肿瘤细胞的这种特点，通过合适的靶头与其表面过度表达的受体进行特异性结合，达到肿瘤细胞靶向给药的目的。叶酸受体 α (Folate receptor, FR α) 是一种含糖基磷脂酰肌醇的单链糖蛋白，通过糖基磷脂酰肌醇固定在细胞膜表面，FR α 可以高度亲和叶酸，并将叶酸转运到细胞内利用，而叶酸对于细胞内的合成代谢有着广泛的作用。叶酸受体在正常细胞表面通常表达较少，但在某些肿瘤细胞包括肺肿瘤细胞表面过度表达其表达水平往往伴随肿瘤的进展而升高，因此叶酸受体被广泛用于诊断和治疗相关肿瘤的靶点。

知识点：共 11 个

1. 外泌体的认识
2. 肺肿瘤细胞 A549 的复苏
3. 肺肿瘤细胞 A549 的传代
4. 肺肿瘤细胞 A549 的冻存
5. 肺肿瘤细胞外泌体的分离提取
6. 透射电镜观察肺肿瘤细胞外泌形貌特征
7. 纳米颗粒跟踪分析仪测定外泌体粒径大小
8. Western Blot 测定外泌体标志蛋白表达情况
9. 肿瘤细胞和正常细胞在细胞表面受体表达的差异
10. 叶酸及叶酸受体 α 的认识
11. Exo-FA 的构建

(2) 核心要素仿真设计（对系统或对象的仿真模型体现的客观结构、功能及其运动规律的实验场景进行如实描述，限 500 字以内）

本实验的核心要素包括：细胞复苏冻存及传代，外泌体的分离，对

于提取的外泌体进行形态、粒径及标志蛋白的鉴定，对外泌体进行修饰。各要素仿真度如下：

1) 细胞复苏冻存及传代

该要素模拟细胞培养室中对于细胞的复苏冻存传代的模拟操作。内容包括细胞的复苏、细胞的冻存、细胞的传代等实验过程。该部分仿真让学生有机会多次重复亲历细胞培养室的实际操作，实现“以虚代实”，与实验教学无缝对接。

2) 外泌体的分离

该要素模拟了从细胞上清中对外泌体进行提取，形象地仿真了差速超速离心取外泌体的全过程。该部分的仿真不仅突破了实体实验时空尺度大、实验周期长的教学瓶颈，并且锻炼了学生实际动手操作能力，同时让学生体验了差速超速离心的成就感和乐趣。

3) 对于提取的外泌体进行形态、粒径及标志蛋白的鉴定

该要素构建了不同的实验仪器对外泌体进行表征，将透射电镜、Zetaview、Westren Blot 相关仪器进行模拟，使学生能将理论知识应用于实践，对于仪器的操作有了更深的认识，以虚拟仿真的仪器为载体，拓展了实验教学的深度和广度

4) 对外泌体进行修饰

该要素模拟了对于外泌体微观表面小分子的修饰。

3-5 实验教学过程与实验方法

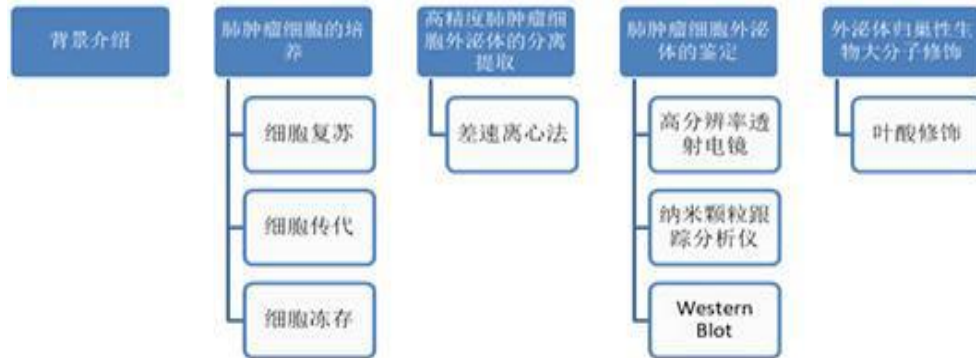
一、实验教学过程

本实验共有 12 学时，实验教学过程主要是通过引导学生思考与研究的探究式教学模式进行设计的。整个实验共分为四个大模块，其中第一模块 2 学时，第二模块 3 学时，第三模块 4 学时，第四模块 3 学时。

整个虚拟仿真实验是以学生自主操作为主，指导教师讲解实验过程及方法为辅助的一种实验教学方法。利用计算机模拟实验操作，完成细胞培养、外泌体的分离、外泌体的鉴定与外泌体的靶向修饰四大模块的操作。在实验开始前，学生进行自主学习，初步了解实验的原理与目的，了解整个实验的大体框架，然后由指导老师进行具体的实验步骤讲解，让学生了解每一步骤要点，之后给与时间让学生互相讨论交流。然后让学生进行实验模拟操作，具体在软件上体会课堂讲解的每一步的操作要点，在此过程中老师影只起到引导与推动的作用，让学生深刻体会各项实验的操作要点。最后老师要让学生总结实验过程中遇到的难点问题，提交实验报告。

这个虚拟仿真实验共分为四大模块，具体实验流程如下图：

实验流程图



模块一：肺肿瘤细胞的培养（2学时）

（1）细胞复苏

1) 液氮中取出 A549 细胞冻存管，37℃水浴，迅速摇动至完全融化，75%酒精消毒移至超净工作台；

2) 将冻存管中细胞悬液取出转移至 15ml 离心管中，300g 离心 5min，去上清；

3) 将含沉淀的离心管中加入 5ml 含 10%去外泌体血清的 DMEM 完全培养基，将细胞重悬，轻轻吹打使其分散，转移至细胞培养瓶中并使其在培养瓶中均匀分布，在细胞培养瓶表面标记培养信息，置于 37℃，5%湿润 CO₂ 培养箱中培养；

4) 利用倒置显微镜观察细胞的生长状态，当细胞铺满瓶壁的 80% 时，进行细胞传代，更换培养液，继续培养 48h，收集细胞培养上清液，用于外泌体的提取。

（2）细胞传代

1) 在超净工作台中将细胞培养瓶内的培养基弃去，使用无菌的胶头滴管吸取一管磷酸盐缓冲液（PBS）并沿无细胞一侧的瓶壁缓缓加入到细胞培养瓶中，轻轻摇动培养瓶将死细胞以及代谢物清洗掉，重复洗三次；

2) 使用另一只无菌胶头滴管吸取一管无菌 0.25%胰酶消化液，沿无细胞一侧的瓶壁缓缓加入到细胞培养瓶中，静置消化，在倒置显微镜下观察到细胞变圆后，倒出消化液，加入适量培养液终止消化；

3) 使用无菌弯头吸管，吸取瓶内的培养基，反复吹打培养瓶壁上的细胞，直至全部垂落下来，再轻轻地吹打细胞悬液，使其彻底分散，最后对细胞悬液进行分装处理，分装好的细胞培养瓶上做好标记，将其放入 CO₂ 培养箱

之前，先轻轻摇匀瓶内的细胞悬液，使细胞均匀生长。

(3) 细胞冻存

1) 利用倒置显微镜观察细胞的生长状态，当细胞铺满瓶壁的 80% 时，在超净工作台中将细胞培养瓶内的培养基弃去，使用无菌的胶头滴管吸取一管磷酸盐缓冲液 (PBS) 并沿无细胞一侧的瓶壁缓缓加入到细胞培养瓶中，轻轻摇动培养瓶将死细胞以及代谢物清洗掉，重复洗三次；

2) 使用另一只无菌胶头滴管吸取一管无菌 0.25% 胰酶消化液，沿无细胞一侧的瓶壁缓缓加入到细胞培养瓶中，静置消化，在倒置显微镜下观察到细胞变圆后，倒出消化液，加入 5ml 培养液终止消化；

3) 使用无菌弯头吸管，吸取瓶内的培养基，反复吹打培养瓶壁上的细胞，直至全部垂落下来，再轻轻地吹打细胞悬液，使其彻底分散，转移至 15ml 无菌离心管中，300g 离心 5min；

4) 离心管弃上清，超净台中加入 5ml 磷酸盐缓冲液 (PBS) 重悬细胞，300g 离心 5min；

5) 离心管弃上清，按 2×10^6 个细胞加入 1ml 冻存液 (90%DMEM 完全培养基+10%DMSO) 的比例重悬细胞；

6) 在超净台中将 1ml 细胞冻存液转移至容积为 2ml 的细胞冻存管中，按 4°C ，30min， -20°C ，30min， -80°C 过夜的程序梯度缓慢降温，并于次日放入液氮罐中长期冻存；

模块二：高精度肺肿瘤细胞外泌体的分离提取 (3 学时)

(1) 利用倒置显微镜观察细胞的生长状态，当细胞铺满瓶壁的 80% 时，更换新的 DMEM 培养液，继续培养 48h，收集细胞培养上清液，用于外泌体的提取；

(2) 取细胞上清于无菌 50ml 离心管中 4°C ，300g 离心 10min，目的去除游离细胞；

(3) 取上清于无菌 50ml 离心管 4°C ，2000g 离心 10min，目的去除死亡细胞；

(4) 取上清于无菌 50ml 离心管 4°C ，10000g 离心 30min，目的去除细胞碎片；

(5) 取上清，使用无菌 50ml 注射器过 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜，目的除去离心后残留的大颗粒；

(6) 将离心后的培养基转入超速离心机专用的离心管中，超速离心 4°C ，100000g 离心 70min，小心吸去上清，沉淀中含外泌体和一些杂蛋白；

(7) 使用无菌预冷的 PBS 溶液轻轻吹打均匀使沉淀复溶，再次置于超速离心机专用离心管 4°C ，100000g 离心 70min，小心吸去上清，沉淀用无菌预冷的 PBS 重悬，轻柔吹打均匀使沉淀复溶，即得纯化外泌体，将其转移至无菌 EP 管中， -80°C 冰箱长期保存。

模块三：肺肿瘤细胞外泌体的鉴定（4学时）

（1）高分辨率透射电镜

1) 制样 取上述外泌体悬液 10 μ L，滴加到 200 目碳膜铜网上，常温静置 15min，使用滤纸小心吸取剩余液体，将 3%磷钨酸溶液滴于铜网上，负染 10min，使用滤纸将多余负染液吸去，室温静置晾干；

2) 上机观察 将铜网置于透射电镜样品室对外泌体形态进行观察。

（2）纳米颗粒跟踪分析仪

将上述超速离心样品使用超纯水稀释 1000 倍，充分，温柔地混合均匀，使用吸管将样品加入至样品池中使用纳米颗粒跟踪分析仪 ZetaView 检测粒径大小。

（3）Western Blot

1) 试剂的配置

TBST 缓冲液、BSA 封闭液、SDS-PAGE 电泳缓冲液、转膜缓冲液。

2) 胶的配置

先配 15%分离胶迅速加入胶板中使之到刻度，待其凝固后，将水倒出，再配制 5%浓缩胶，迅速加入胶板中，并插入梳子待其凝固。

3) 制样

取超速离心所得的外泌体悬液，加入 PMSF，使其终浓度为 1mM，再加入适量 RIPA 细胞裂解液，混合均匀，冰浴裂解 30min，之后 4℃离心 10000g 离心 15min，取上清得到外泌体总蛋白，采用 BCA 蛋白定量试剂盒对外泌体裂解液进行蛋白定量，1:1 加入 SDS-PAGE 上样缓冲液，混合均匀，100℃，煮沸 10min，即得上样样品。

4) SDS-PAGE 蛋白电泳

将梳子拔出，将仪器说明书组装好电泳系统，内槽中加入 SDS-PAGE 电泳缓冲液，使用移液器吸取 10 μ L 蛋白 Marker，加至胶孔中，样品也依次加至胶孔中，组装完电泳仪，以 80V 恒压进行电泳，待溴酚蓝指示剂移至电泳槽底部，停止电泳，取出玻璃板，小心剥下凝胶，参照蛋白 Mark，切取目标蛋白所在的条带。

5) 转膜

小心剪切 PVDF 膜，使膜的大小与所切胶的大小相当，将其侵入甲醇中 20s 左右进行激活，去离子水漂洗后放入转膜缓冲液备用，转膜缓冲液清洗转膜槽，将转膜夹子阴极置于最下方，依次放入转膜缓冲液浸湿浸透的海绵垫、转膜缓冲液浸湿浸透的三层定性滤纸、切割的目标蛋白所在的凝胶，形成 PVDF 膜-转膜缓冲液浸湿浸透的三层定性滤纸、在转膜缓冲液浸湿浸透的海绵垫夹上阳极碳板，确保整个系统中没有气泡产生，将其放入电泳槽中，加入适量转膜缓冲液，使其没过转膜板。组装好转膜系统，100V，60min。

6) 封闭

转膜完成后，将 PVDF 膜用 TBST 彻底洗干净后，将其置于盛有 BSA 封闭液的大平皿中，正面朝上，脱色摇床上室温封闭 1h。

7) 敷一抗

将封闭后的 PVDF 膜使用 TBST 彻底清洗干净，使用 TBST 将一抗按 1:5000 进行稀释，将 PVDF 膜置于孵育盒中，正面朝下，加入一抗使其没过 PVDF 膜，脱色摇床 4℃ 孵育过夜。

8) 敷二抗

将敷完一抗的 PVDF 膜在脱色摇床上使用 TBST 缓冲液清洗 3 次，每次 15min，将二抗按 1:10000 进行稀释，将清洗好的 PVDF 膜置于盛有二抗稀释液的孵育盒中，脱色摇床上 4℃ 孵育 4h。

9) ECL 化学发光，凝胶成像系统采集图像

经孵育完二抗的 PVDF 膜使用 TBST 缓冲液清洗 3 次，每次 15min。ECL 试剂盒中的 A 液、B 液按 1:1 混匀，镊子将膜从 TBST 中取出，滤纸吸去多余的 TBST，将膜的正面即蛋白面放入混合液中，摇床避光反应 2min，取出膜，用滤纸将多余的混合液吸除，放入凝胶成像系统，设置化学发光信号检测模式，根据信号强弱适当调整曝光时间，获取清晰、完整的蛋白条带。

模块四：外泌体归巢性生物大分子（RNA、蛋白质）修饰（3 学时）

(1) 将超速离心制备的外泌体，使用 PBS 调整外泌体蛋白含量为 50 mg/ml；

(2) 取外泌体分散液 2 ml，加入 0.1 ml 浓度为 20 mg/ml 的 DSPE-PEG-FA 溶液，用枪头轻轻吹打混匀，在室温下孵育 1 小时；

(3) 之后将分散液在超净台中将其转移至超速离心机专用离心管，超速离心机 4℃，100000g 离心 70min；

(4) 吸去上层溶液，去除未结合的 DSPE-PEG-FA，所得沉淀即为连接了叶酸靶头的外泌体向沉淀中加入预冷的 PBS 溶液吹打使沉淀复溶即得叶酸靶头的外泌体。

二、实验方法

本实验主要是通过细胞培养、差速离心法、Western Blot 等各种实验方法对外泌体的靶向修饰及归巢性的特性进行了初步研究。整个实验过程所涉及到的实验方法主要包括以下几个：

(1) 通过细胞复苏，对 A549 肺癌细胞进行复苏，并使细胞长至 80% 左右进行传代培养，细胞用完结束后要对细胞进行冻存。这一步主要是培养肺癌细胞使其分泌外泌体至培养液中，收集细胞培养液，利用其进行外泌体的提取；

(2) 通过差速离心法进行外泌体的提取，首先进行常规高速离心：300g 在 4℃ 离心 10min，2000g 在 4℃ 离心 10min，10000g 在 4℃ 离心 30min；然后进行超高速离心：100000g 在 4℃ 离心 70min，PBS 重悬后 100000g 在 4℃ 离心 70min；

- (3) 通过透射电镜观察提取的外泌体的形态，主要呈现出茶托状结构；
- (4) 通过纳米颗粒跟踪分析仪测提取到的颗粒粒径大小，大约在 30-150nm 左右；
- (5) 通过 Western Blot 实验检测外泌体的标志蛋白 CD63、CD9 和 TSG101 的表达情况；
- (6) 通过共孵育的方法使其化学键相连实现外泌体的靶向修饰。

3-6 步骤要求（不少于 10 步的学生交互性操作步骤。操作步骤应反映实质性实验交互，系统加载之类的步骤不计入在内）

(1) 学生交互性操作步骤，共 10 步

步骤序号	步骤目标要求	步骤合理用时	目标达成度赋分模型	步骤满分	成绩类型
1	使学生掌握如何正确进入软件系统	5	成功登入软件 10 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
2	使学生初步了解本实验的研究背景	5	持续点击学习完成整个背景介绍 10 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
3	使学生掌握细胞培养的基本方法及原理，能够进行实际操作练习，补充理论知识的不足	10	液氮取出融化离心 3 分；细胞液重悬 3 分；置于培养箱 2 分；设定培养条件 2 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
4	使学生掌握细胞复苏后对细胞传代培养的具体操作，使学生进行具体练习，让其能具体掌控细胞传代培养过程中的	10	培养箱中取出细胞培养瓶置于显微镜观察 2 分；PBS 清洗 2 分；胰酶消化 2 分；显微镜下观察细胞变圆 2 分；轻轻吹打细胞后去浮沫 2	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告

	重难点，把握好细胞处理过程中的消化时间。		分。		
5	使学生掌握细胞冻存的基本方法与原理	10	细胞消化 2 分 细胞悬液离心 2 分 冻存液的配置 2 分；重悬细胞 2 分； 冰箱渐冻 2 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
6	使学生掌握利用差速超速离心提取外泌体的具体操作及每步操作的目的	10	细胞上清的收集 2 分；高速离心去大颗粒沉淀 4 分；超速离心参数设定 4 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
7	使学生更加深刻了解透射电镜鉴定外泌体的具体过程以及操作中的重难点	5	负染剂的选择 3 分；负染时间的选择 3 分；透射电镜下观察 4 分。	10	<input type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
8	使学生掌握 western blot 的原理及具体实验操作	15	胶的配置 2 分；SDS-PAGE 电泳参数的设置 1 分；转膜条件的设置 1 分；封闭时间的设置 2 分； 敷一抗条件的设置 2 分；敷二抗条件的设置 2 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告
9	使学生更深刻的了解该操作的具体实验原理和实验方法，使他们更深	10	叶酸靶向的原理 5 分；叶酸靶向与外泌体的连接 5 分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告

	刻的了解外泌体归巢性的特性，以及靶向修饰的作用。				
10	使学生对本实验的一些关键步骤进行考察，增强学生的记忆	20	按时准确完成实验报告10分。	10	<input checked="" type="checkbox"/> 操作成绩 <input checked="" type="checkbox"/> 实验报告 <input type="checkbox"/> 预习成绩 <input type="checkbox"/> 教师评价报告

(2) 交互性步骤详细说明

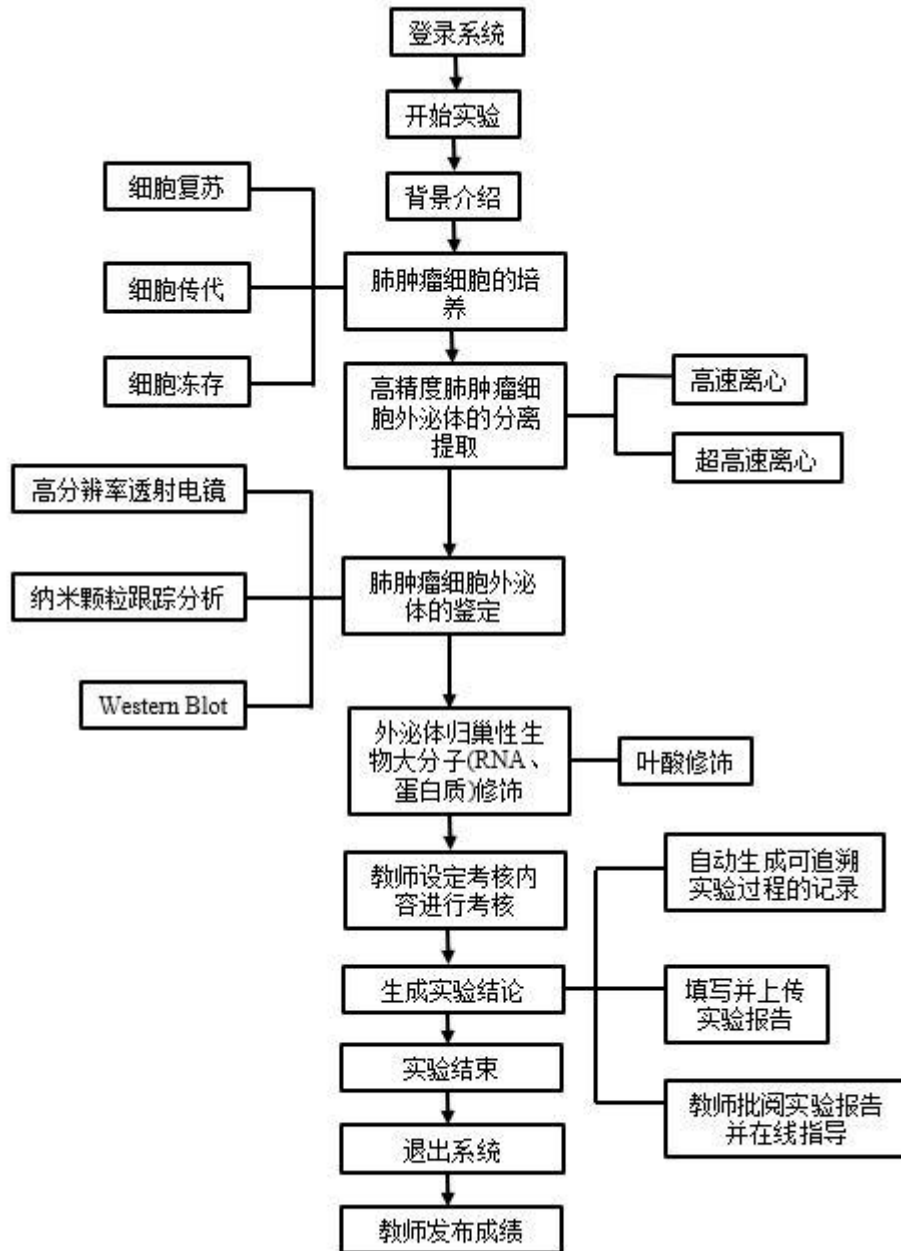
(1) 学生交互性操作步骤，共13步

(2) 交互性步骤详细说明

该项目为“高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验”课程，总计共12学时，其中细胞培养模块2学时，外泌体分离模块3学时，外泌体鉴定模块4学时以及外泌体的靶向修饰3学时。通过三维仿真技术，模拟了真实的实验操作场景，在整个场景和情境中进行交互性操作13步。

具体流程入下图所示

第一批国家级一流本科课程



交互性步骤 1：登录项目网站 <http://shenbao.rofall.net/virexp/gjd>，进入网站（见图 1）。点击“开始实验”按钮，开始实验操作。



图 1

熟悉界面操作，通过键盘和鼠标进行以下操作：

(1) 背景介绍模块

步骤 2：点击背景介绍，进入背景介绍模块，实验目的为使初步了解实验进行的背景条件，持续点击下一页，直至介绍完成（如图 2）。





图 2

(2) 肺肿瘤细胞的培养模块

步骤 3: 细胞复苏

本实验步骤的实验目的主要为通过选取每一步相应的仪器完成实验操作, 设定相应的条件使学生能够掌握细胞培养的基本方法及原理, 能够进行实际练习, 补充理论知识的不足。

操作过程为根据提示选择相应的设备仪器完成相应操作, 还包括学生自主调节显微镜放大倍数及粗细准焦螺旋来观察细胞形态 (如图 3)。



图 3

步骤 4: 细胞传代

本实验步骤的实验目的为使学生掌握细胞复苏后对细胞传代培养的具体操

作，使学生进行具体练习，让其能具体掌控细胞传代培养过程中的重难点，把握好细胞处理过程中的消化时间。

具体操作过程为根据提示选择相应的设备仪器完成相应操作，并包括让学生自主选择细胞终止消化时的时间（如图 4），要注意细胞消化如果过长，会损坏细胞，会出现相应提示，如果细胞消化时间过短，吹打过程会变得艰难并且细胞聚团，后续生长状态不佳。

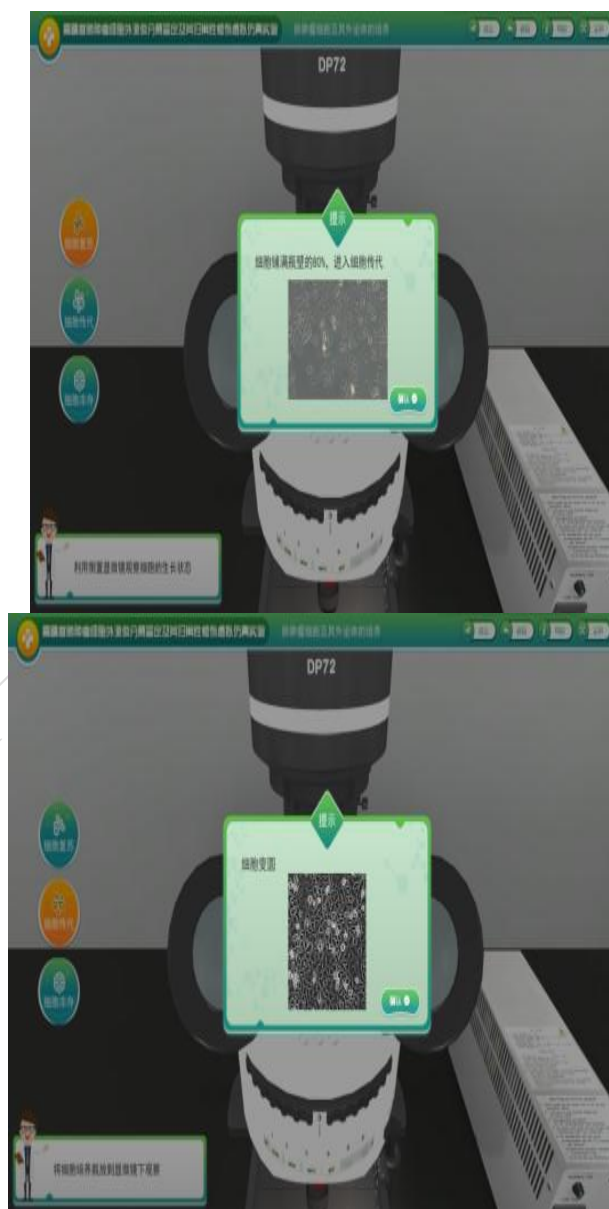


图 4

步骤 5：细胞冻存

本实验步骤主要是通过根据提示选择相应的设备仪器完成相应操作让学生掌握细胞冻存的基本方法与原理（如图 5）。此步和细胞复苏一起的最主要的注意事项为遵循速溶渐冻原则。



图 5

(3) 高精度肺肿瘤细胞外泌体的分离提取
步骤 6: 外泌体的提取

这一步骤中主要是利用差速离心法来提取外泌体，通过让学生设置具体的离心数据来让学生更深刻了解离心的每一步操作（如图 6），也了解了每一步离心的具体目的，此步主要需要注意的地方为最终外泌体的沉淀量可能较少，要仔细观察。过滤膜的主要目的为除菌，避免影响之后的实验。

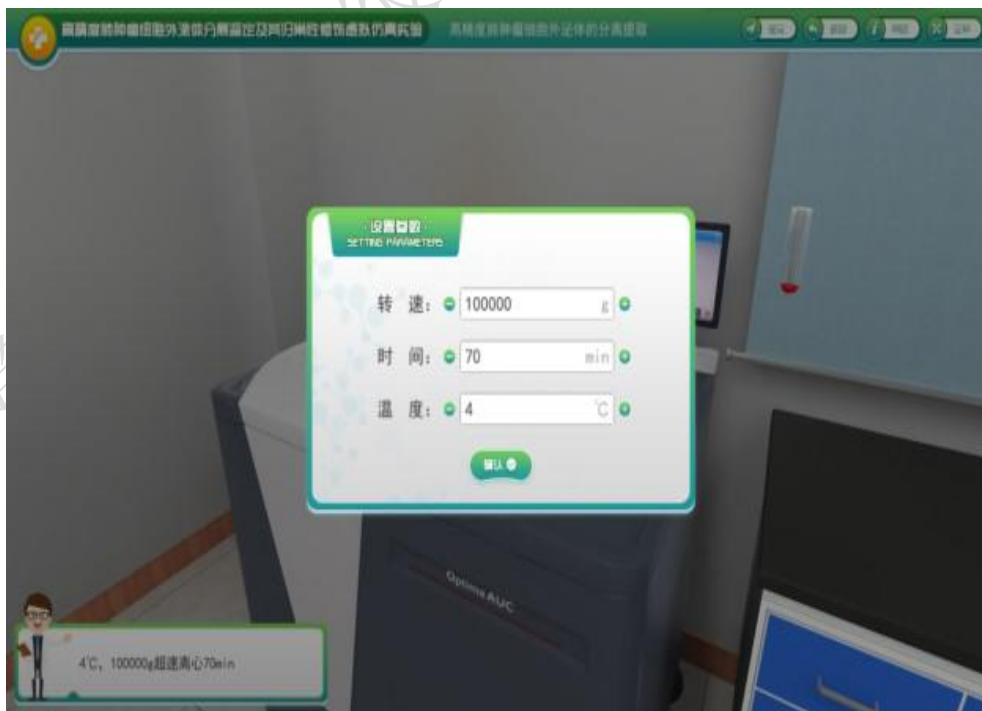


图 6

(4) 肺肿瘤细胞外泌体的鉴定

步骤 7: 高分辨率透射电镜鉴定

本实验步骤包括对透射电镜制样以及观察的步骤，交互性操作主要包括制样时对样本进行负染的时间由学生自行调节控制（如图 7），染色时间是具体染色效果的关键性因素，本实验的具体目的也主要是为了让学生更加深刻了解透射电镜鉴定外泌体的具体过程以及操作中的重难点。

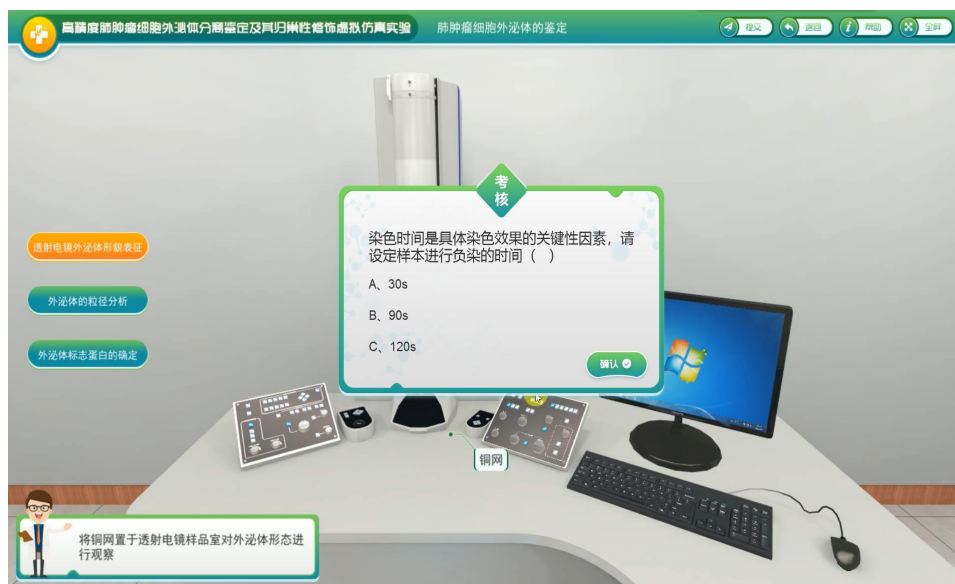


图 7

步骤 8: Western Blot 鉴定

本实验主要是使学生通过对各项参数的设定，以及各项操作步骤的具体操作来加深对这个实验的印象，由于这个实验的步骤很繁琐，所以对于每一步参数的设定比如：电泳的电压和时间的设定，封闭时间的设定，敷一抗条件以及时间的设定，敷二抗条件及时间的设定等等（如图 8）。



图 8

(5) 外泌体归巢性生物大分子 (RNA、蛋白质) 修饰

步骤 9: 外泌体的靶向修饰

本实验步骤主要由学生调节控制孵育时间（如图 9），使学生更深刻的了解该操作的具体实验原理和实验方法，使他们更深刻的了解外泌体归巢性的特性，以及靶向修饰的作用。

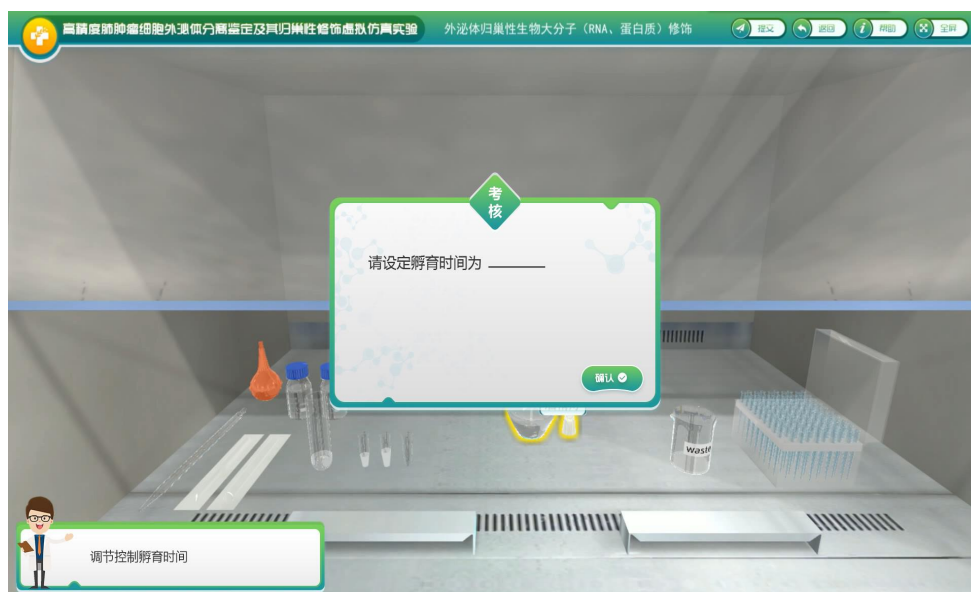


图 9

步骤 10：教师设定考核内容



图 10

步骤 11：实验总结与反思

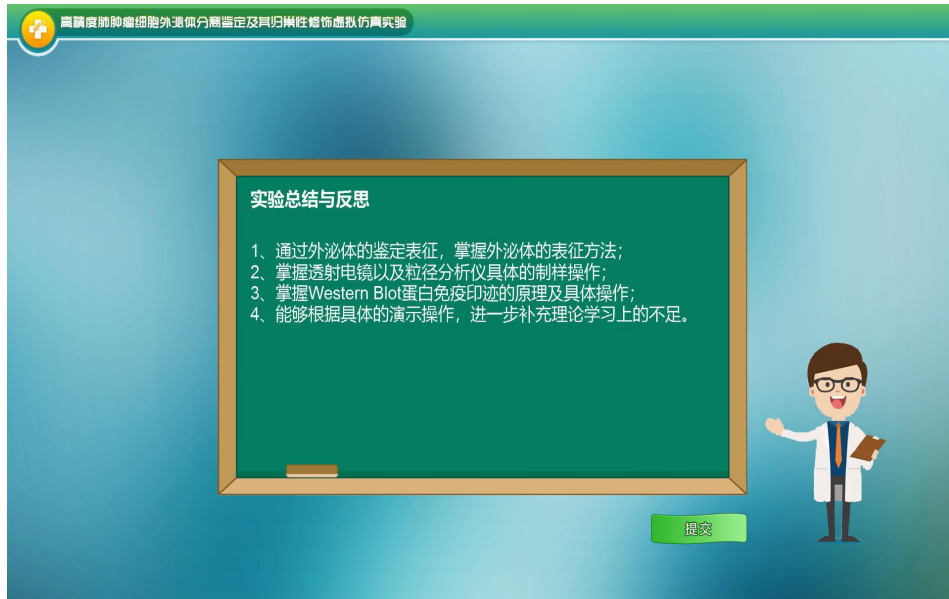


图 11

步骤 12: 查看系统自动生成的可追溯的实验过程记录

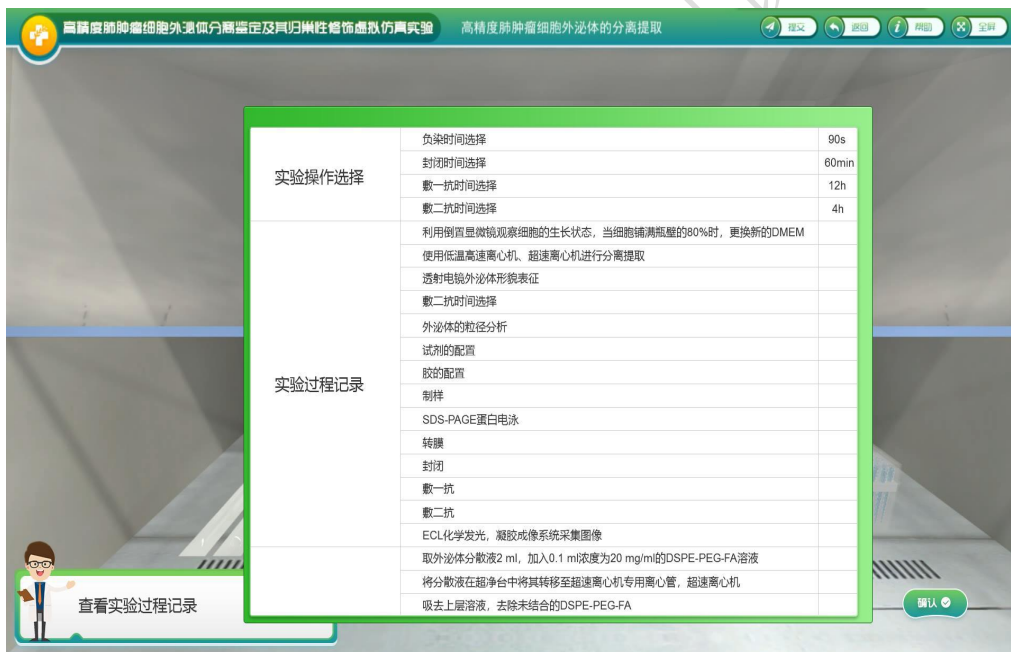


图 12

步骤 13: 填写并上传实验报告

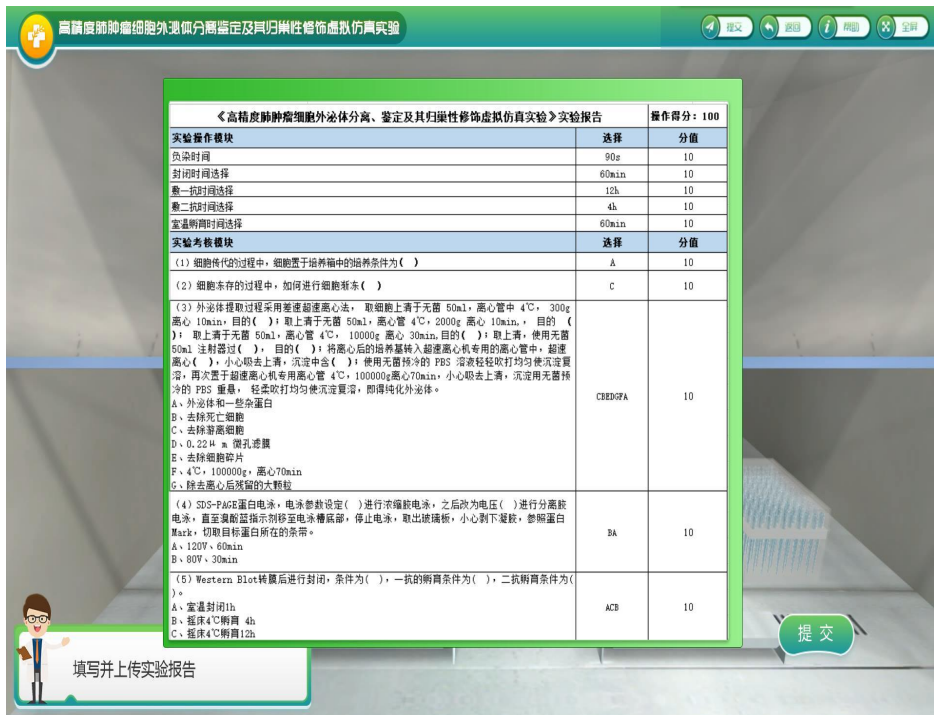


图 13

3-7 实验结果与结论 (说明在不同的实验条件和操作下可能产生的实验结果与结论)

本实验为线上虚拟仿真实验, 利用此来进行实体实验难以进行的操作, 保证让每一位学生都能在独立的实验环境下完成各自的实验, 充分理解每一步实验的操作要点, 其具体的实验结果与要求如下:

(1) 在细胞复苏实验中, 应在超净台保持无菌工作, 并且复苏细胞要遵循速溶的原则, 快速融化, 离心后培养液重悬培养, 应该在显微镜下观察到足量且细胞大小均匀, 各自分离呈圆球状的细胞形态 (如图 14)。



图 14

(2) 在细胞传代处理实验中，实验中要注意消化适度（如图 15），存留适量的细胞以传代，最后实验结果应是，留有适量的细胞，细胞形态大小均匀，各自分开，呈圆球形状；如果消化时间太短，则细胞有聚团现象，细胞后续状态不好；如果消化时间过长，细胞消化过度，细胞后续生长状态不佳。

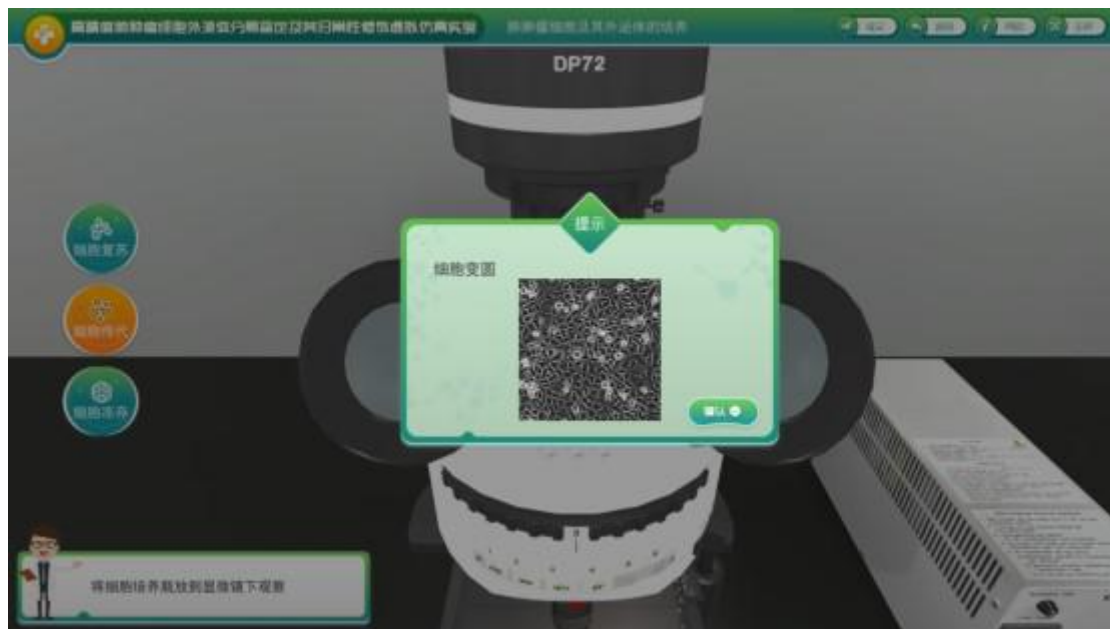


图 15

(3) 在外泌体分离实验中，最后的是实验结果是超速离心管底部有少许的沉淀，注意很微量，仔细观察。如果离心力不足则几乎没有沉淀产生。

(4) 在透射电镜观察的实验中，最终的实验结果应该是观察到明显的茶托状膜结构（如图 16），若离心速度过高，可能沉淀物质杂质很多；若离心速度不足，可能观察不到明显茶托状结构。



图 16

(5) 在纳米颗粒跟踪分析实验中，最终结果为粒径大小峰值在 100nm 左右，粒径范围大致在 30-150nm（如图 17）。如果纳米粒径过大，可能是离心力不够。

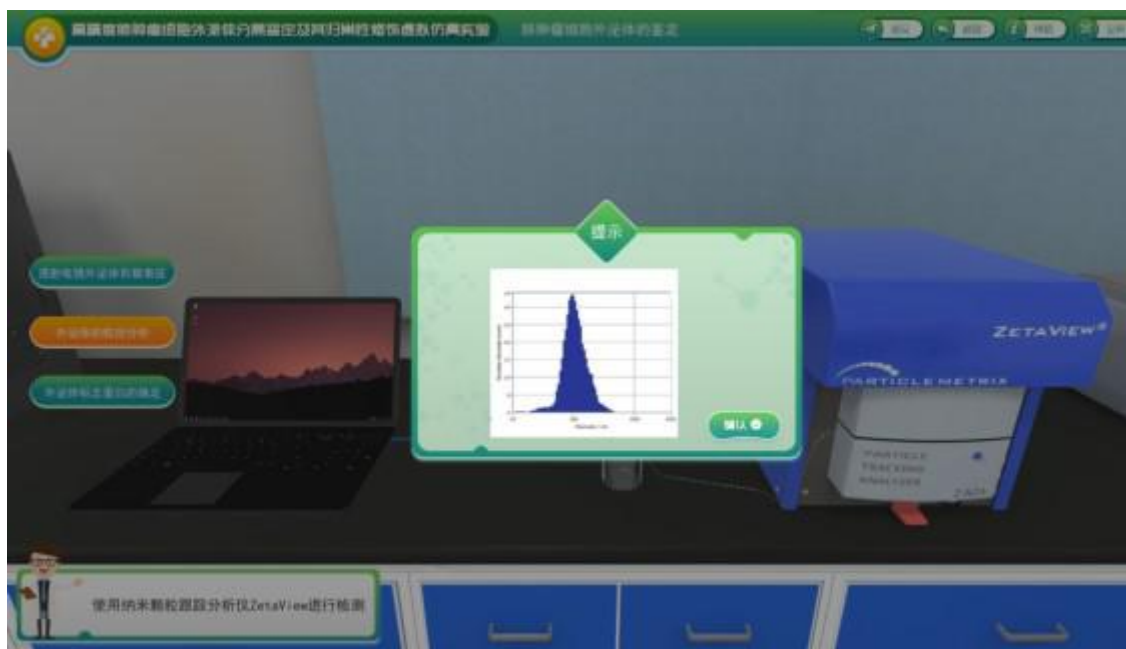


图 17

(6) 在 Western Blot 实验中，最后的实验结果为 CD9、CD63、TSG101、ALIX 条带清晰（如图 18）。如果过程出现错误，则不能出现条带。



图 18

3-8 面向学生要求

(1) 专业与年级要求

本实验项目主要面向生物工程三年级学生

(2) 基本知识和能力要求

在使用本虚拟仿真实验系统学习前，要求学生已经较系统的学习细胞生物学、分子生物学、生物化学、有机化学等专业课程的学习，已经初步掌握所涉及实验的基本理论，在专业能力方面要求学生对外泌体的形貌结构、肺肿瘤细胞与正常细胞区别、实验仪器工作原理及应用有一定深入的理解。

3-9 实验应用及共享情况

(1) 本校上线时间：2019年9月1日（上传系统日志）

(2) 已服务过的学生人数：本校177人，外校0人

(3) 附所属课程教学计划或授课提纲并填写：

纳入教学计划的专业数：1，具体专业：生物工程，

教学周期：2，学习人数：177

(4) 是否面向社会提供服务：是 否

(5) 社会开放时间：年月日

(6) 已服务过的社会学习者人数：人

4. 实验教学特色

（该虚拟仿真实验教学课程的实验设计、教学方法、评价体系等方面的特色，限800字以内）

(1) 实验设计：

通过三维仿真技术，再现了高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰实验的真实场景，还原了从肺肿瘤细胞的复苏、传代、冻存，到高精度肺肿瘤细胞外泌体的培养收集、分离提取，经过外泌体鉴定，最终对外泌体进行归巢性生物大分子（RNA、蛋白质）修饰的全过程。重点展示了利用差速离心的方式分离提取外泌体，多种途径鉴定外泌体及外泌体的靶向修饰。外

泌体的鉴定方法主要包括：透射电镜观察其形态，纳米颗粒跟踪分析仪测定其粒径大小，Western Blot 测定其标志蛋白表达情况，实现了对肺肿瘤细胞外泌体直观的认识，利用外泌体的归巢性对外泌体进行叶酸修饰，与肺肿瘤细胞表面过表达的叶酸受体特异性结合，提高外泌体的靶向性；学习者通过该项目，不仅对高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰的过程全面地了解和掌握，而且还能熟练掌握肺肿瘤细胞的培养方法并熟悉肺肿瘤细胞和正常细胞在细胞表面受体的表达上的差异。

(2) 教学方法：

高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验系统以学生为中心，学生主导实验过程，增强学生对知识的获取兴趣和能力。指导教师讲解实验原理、方法和步骤，并对整个实验过程加以指导和引导，启发学生创新意识，培养学生发现问题、解决问题的能力，调动学生学习的积极性。让学生直观观察肺肿瘤细胞及外泌体形态、掌握细胞培养、外泌体分离提取、鉴定及归巢性修饰方法。

(3) 评价体系：

高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验系统能够对参加实验学生的全过程进行记录，并能够随时进行实验指导。平台建立完善的反馈机制，对参加实验学生各方面的建议、评价与反馈信息，进行全面系统的统计分析，极大提高了虚拟仿真实验教学成绩评价的客观性和准确性，为指导教师改进和完善实验提供参考，提高教学效果。

5. 实验教学在线支持与服务

(1) 教学指导资源：教学指导书教学视频电子教材课程教案

(申报系统上传) 课件(演示文稿) 其他

(2) 实验指导资源：实验指导书操作视频知识点课件库习题库

(申报系统上传) 测试卷考试系统 其他

(3) 在线教学支持方式：热线电话实验系统即时通讯工具论坛

支持与服务群其他

(4) 2名提供在线教学服务的团队成员；1名提供在线技术支持的技术人员；教学团队保证工作日期间提供12小时/日的在线服务

6. 实验教学相关网络及安全要求描述

6-1 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）

1) 基于公有云服务器部署的系统，5M-10M 带宽 2) 基于局域网服务器部署的系统，10M-50M 带宽

(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）

100

6-2 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

Windows7 及以上

(2) 其他计算终端操作系统和版本要求

无

(3) 支持移动端：○是 ●否

6-3 用户非操作系统软件配置要求（兼容至少 2 种及以上主流浏览器）

(1) 非操作系统软件要求（支持 2 种及以上主流浏览器）

谷歌浏览器 IE 浏览器 360 浏览器 火狐浏览器 其他

(2) 需要特定插件 ○是 ●否

如勾选“是”，请填写：

插件名称：（插件全称）

插件容量： M

下载链接：

(3) 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）

火狐（Firefox）浏览器 5.0 以上版本

谷歌（Google Chrome）浏览器 55.0 以上版本

6-4 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

计算机硬件配置需求（推荐）：中央处理器：Intel® Core™ i5-8500-3.0GHz-6核 6 线程 内存：16GB 硬盘空间：500GB 图形处理器：NVIDIA® GeForce® GTX 1060 显存：4G 及以上 显示器：16:9 分辨率 1920*1080 网络带宽：50Mbps 操作系统：Windows 10 计算机硬件配置需求（最低）：中央处理器：Intel® Core™ i5-7400-3.0GHz-4 核 4 线程 内存：8GB 硬盘空间：100GB 图形处理器：NVIDIA® GeForce® GTX 960 显存：2G 及以上 显示器：16:9 分辨率 1280*720 及以上 网络带宽：10Mbps 操作系统：Windows 7

（2）其他计算终端硬件配置要求

无

6-5 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○有

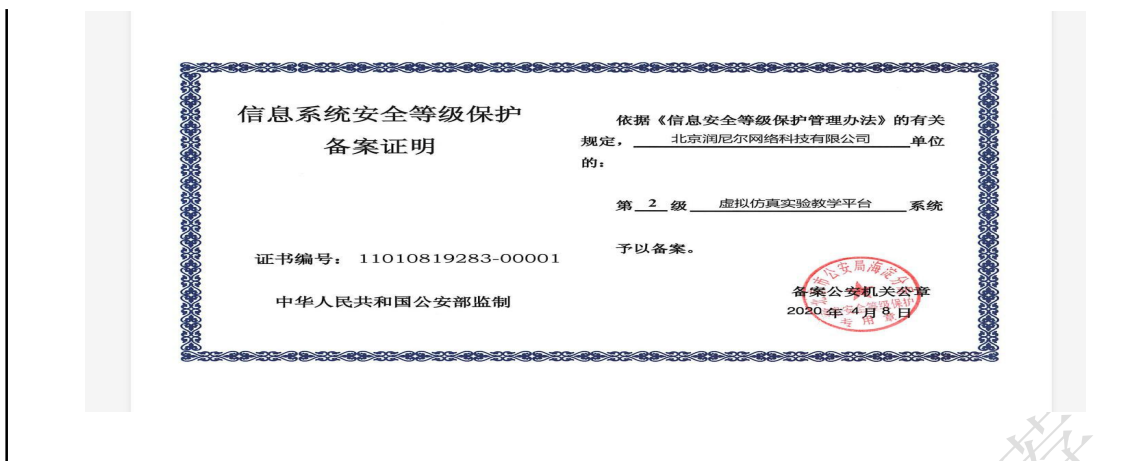
如勾选“有”，请填写其他计算终端特殊外置硬件要求：

6-6 网络安全（实验系统要求完成国家信息安全等级二级认证）

（1）证书编号：

11010819283-00001

（2）请附信息系统安全等级保护备案证明



7. 实验教育教学技术架构及主要研发技术

指标	内容
<p>系统架构图及简要说明</p>	<p>高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验的开放运行依托于开放式虚拟仿真实验教学管理平台的支撑，二者通过数据接口无缝对接，保证用户能够随时随地的通过浏览器访问该项目，并通过平台提供的面向用户的智能指导、自动批改服务功能，尽可能帮助用户实现自主的实验，加强实验项目的开放服务能力，提升开放服务效果。</p> <p>开放式虚拟仿真实验教学管理平台以计算机仿真技术、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，集实物仿真、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，是具有良好的自主性、交互性和可扩展性的虚拟实验教学平台。</p> <p>支撑项目运行的平台及项目运行的架构共分为五层，每一层都为其上层提供服务，直到完成具体虚拟实验教学环境的构建。下面将按照从下至上的顺序分别阐述各层的具体功能。</p>

(1) 数据层

高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验涉及到多种类型虚拟实验组件及数据，这里分别设置虚拟实验的基础元件库、实验课程库、典型实验库、标准答案库、规则库、实验数据、用户信息等来实现对相应数据的存放和管理。

(2) 支撑层

支撑层是虚拟仿真实验教学与开放共享平台的核心框架，是实验项目正常开放运行的基础，负责整个基础系统的运行、维护和管理。支撑平台包括以下几个功能子系统：安全管理、服务容器、数据管理、资源管理与监控、域管理、域间信息服务等。

(3) 通用服务层

通用服务层即开放式虚拟仿真实验教学管理平台，提供虚拟实验教学环境的一些通用支持组件，以使用户能够快速在虚拟实验环境完成虚拟仿真实验。通用服务包括：实验教务管理、实验教学管理、理论知识学习、实验资源管理、互动交流、实验报告管理、教学效果评价、项目开放与共享等，同时提供相应集成接口工具，以便该平台能够方便集成第三方的虚拟实验软件进入统一管理。

(4) 仿真层

仿真层主要针对该项目进行相应的器材建模、实验场景构建、虚拟仪器开发、提供通用的仿真器，最后为上层提供实验结果数据的格式化输出。

(5) 应用层

基于底层的服 务，最终高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验教学与开放共享。该框架的应用层具有良好的扩展性，实验教师可根据教学需要，利用服务层提供的各种工具和仿真层提供的相应的器材模型，设计各种典型实验实例，最后面向学校开展实验教学应用。



实验 教学	开发技术	<input type="checkbox"/> VR <input type="checkbox"/> AR <input type="checkbox"/> MR <input checked="" type="checkbox"/> 3D 仿真 <input checked="" type="checkbox"/> 二维动画 <input checked="" type="checkbox"/> HTML5 <input checked="" type="checkbox"/> 其他
	开发工具	<input checked="" type="checkbox"/> Unity3D <input checked="" type="checkbox"/> 3D Studio Max <input checked="" type="checkbox"/> Maya <input type="checkbox"/> ZBrush <input type="checkbox"/> SketchUp <input type="checkbox"/> AdobeFlash <input type="checkbox"/> UnrealDevelopment Kit <input type="checkbox"/> Animate CC <input type="checkbox"/> Blender <input checked="" type="checkbox"/> Visual Studio <input checked="" type="checkbox"/> 其他

运行环境	<p>服务器 CPU 8 核、内存 32 GB、磁盘 4000 GB、显存 4 GB、GPU 型号 至强 E7-4809V4</p> <p>操作系统 <input checked="" type="checkbox"/>Windows Server <input type="checkbox"/>Linux <input type="checkbox"/>其他</p> <p>具体版本： 数据库 <input checked="" type="checkbox"/>Mysql <input type="checkbox"/>SQL Server <input type="checkbox"/>Oracle <input type="checkbox"/>其他</p> <p>备注说明（需要其他硬件设备或服务器数量多于 1 台时请说明） 是否支持云渲染：<input type="radio"/>是 <input checked="" type="radio"/>否</p>
实验品质（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>单场景模型面数：50000 万个；贴图分辨率：1024px * 1024px；每帧渲染次数：60calls；动作反馈时间：<1000ms；显示刷新率：高于 20HzFPS；分辨率：1920ppi * 1080ppi 其他：</p>

8. 实验教学课程持续建设服务计划

（本实验教学课程今后 5 年继续向高校和社会开放服务计划及预计服务人数）

（1）课程持续建设

日期	描述
第一年	本实验教学项目将不断完善共享机制，将进一步投入虚拟仿真实验教学资源建设
第二年	将在数字媒体专业相关的教学研讨会上开展虚拟仿真实验建设项目的交流，通过专业教学人员的应用反馈进一步充实实验教学内容，完善实验教学项目。；
第三年	针对现有虚拟仿真实验系统，通过针对学生用户调查，把握学生反馈，进一步完善实验设计，提升用户体验，完善实验参与及评价系统设计，完善实验教学手册及评价标准。
第四年	完善软件系统，提升用户访问速度。
第五年	进一步完善软件系统，提高软件教学效率。

其他描述：

虚拟仿真实验项目持续性建设计划。未来 3-5 年，本项目将针对在教学和

实验过程中不断发现虚拟仿真教学平台存在的的问题，对虚拟仿真系统进行持续不断的开发和更新，进一步增强虚拟仿真教学的沉浸性、交互性、虚幻性、逼真性建设。

(2) 面向高校、社会的教学推广应用计划

日期	推广高校数	应用人数	推广行业数	应用人数
第一年	2	110	3	180
第二年	2	110	3	180
第三年	2	110	3	180
第四年	2	110	3	180
第五年	2	110	3	180

其他描述：

(1) 校外共享和推广应用计划。虚拟仿真实验教学资源将逐步全部支持网络环境的远程访问，即全部实现校外共享，面向国内高校及职业学校开放线上仿真及线下生产线培训。

(2) 校企共赢共同开发与共享。未来将进一步深入开展共享机制和体制建设，加强校企合作，共同开发，持续增加新案例，并将人文因素、环境因素、工程创新思维与工程实践能力等因素进一步植入到教学系统中。逐步面向社会各界开放线上仿真及线下生产线培训，实现校企共赢。

9. 知识产权


软件著作权登记情况	
以下填写内容须与软件著作权登记一致	
软件名称	高精度肺肿瘤细胞外泌体分离、鉴定及其归巢性修饰虚拟仿真实验软件[简称：FZLWMT]v1.0
是否与课程名称一致	<input checked="" type="radio"/> 是 <input type="radio"/> 否

每栏只填写一个著作权人，并勾选该著作权人类型。如勾选“其他”需填写具体内容；如存在多个著作权人，可自行增加著作人填写栏进行填报。

著作权人	著作权人类型
曲阜师范大学	<input checked="" type="radio"/> 课程所属学校 <input type="radio"/> 企业 <input type="radio"/> 课程负责人 <input type="radio"/> 学校团队成员 <input type="radio"/> 企业人员 <input type="radio"/> 其他
权利范围	全部权利
软件著作权登记号	2021SR0733493
如软件著作权正在申请过程中，尚未获得证书，请填写受理流水号。	
受理流水号	

10. 诚信承诺

本团队承诺：申报课程的实验教学设计具有一定的原创性，课程所属学校对本实验课程内容（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课程的一切资源）享有著作权，保证所申报的课程或其任何一部分均不会侵犯任何第三方的合法权益。

实验教学课程负责人（签字）： 

年 月 日

11. 附件材料清单

1. 课程团队成员和课程内容政治审查意见（必须提供）

（申报课程高校党委负责对本校课程团队成员以及申报课程的内容进行政审，出具政审意见并加盖党委印章；团队成员涉及多校时，各校党委分别对本校人员出具意见；非高校成员由其所在单位党组织出具意见。团队成员政审意见内容包括政治表现、是否存在违法违纪记录、师德师风、学术不端、五年内是否出现过重大教学事故等问题；课程内容审查包括价值取向是否正确，对于我国政治制度以及党的理论、路线、方针、政策等理解和表述是否准确无误，对于国家主权、领土表述及标注是否准确，等等。）

2. 课程内容学术性评价意见（必须提供）

〔由学校学术性组织（校教指委或学术委员会等），或相关部门组织的相应学科专业领域专家（不少于3名）组成的学术审查小组，经一定程序评价后出具。须由学术性组织盖章或学术审查小组全部专家签字。无统一格式要求。〕

3. 校外评价意见（可选提供）

（评价意见作为课程有关学术水平、课程质量、应用效果等某一方面的佐证性材料或补充材料，可由课程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。）

[取消确认](#)

第一批国家级