

分子实验小结

SECTION 1: 细菌基因工程

1. 质粒的提取与酶切

- **重悬**: 菌体沉淀悬浮于 **P1 溶液** (250 μ L)。
- **裂解**: 加 **P2 溶液** (250 μ L), 轻柔翻转混匀。
- **中和**: 加 **P3 溶液** (350 μ L), 翻转混匀后离心 (12,000rpm, 10min)。
- **纯化**: 上清液过 **吸附柱 CP3**, 离心纯化。
- **漂洗**: 两次 **PW 漂洗液** (含乙醇) 离心, 晾干吸附柱。
- **洗脱**: 滴加 **DEPC 水** (60 μ L), 离心收集质粒。

2. 重组质粒构建

- **反应**: 37 $^{\circ}$ C 水浴 30min。
- **电泳验证**: 酶切产物 vs 未酶切质粒 (1% 琼脂糖凝胶, 100V, 40min)。

3. PCR

4. 琼脂糖凝胶电泳

5. 胶回收

- **切胶**: 紫外下割取目标条带 (避免杂带), 胶块切碎。
- **溶解**: 加等体积 **PC 溶液**, 50 $^{\circ}$ C 水浴溶解胶块。
- **纯化**: 溶液过 **吸附柱 CB2** \rightarrow 两次 **PW 漂洗** \rightarrow 晾干 \rightarrow **DEPC 水** (30 μ L) 洗脱 DNA。
- **检测**: 微量仪测定回收片段浓度。

5. 感受态细菌转化

- 冰浴融解 **DH5 α 感受态细胞** (50 μ L)。
- 加连接产物 (20 μ L), 冰浴 30min \rightarrow **42 $^{\circ}$ C 热激 90s** \rightarrow 冰浴 2min。
- 加 **LB 培养基** (900 μ L), 37 $^{\circ}$ C 复苏 1h (200rpm)。
- 离心浓缩菌体, 涂布于 **卡那霉素 LB 平板**, 37 $^{\circ}$ C 过夜培养。

6. 培养细菌

8. 菌落PCR

9. 琼脂糖凝胶电泳

刘教授带领大家走过一遍完整的科学研究路径，完成一次完整的基因工程，培养大家的科研逻辑思维，同时将实验所需的理论知识巧妙地融入实践环节，设计成配套的思考题目，做到既增强了实验动手能力，又增强了生物技术理论知识。

SECTION 2: Western Blot

1. SDS-PAGE
2. 转膜
3. 封闭孵育

SECTION 3: 自制聚丙烯酰胺凝胶电泳

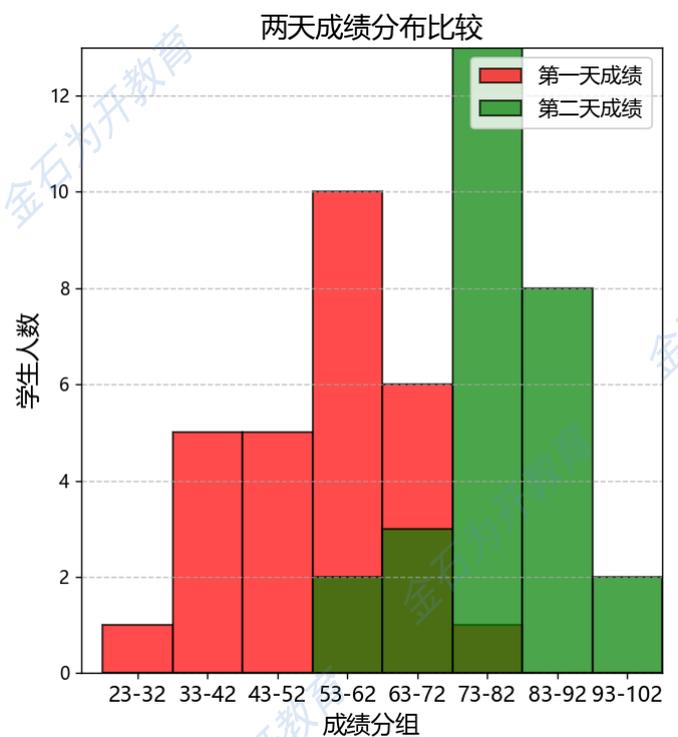
1. 制作聚丙烯酰胺凝胶
2. 点样
3. 考马斯亮蓝染色

体验去年国赛生化分子实验同款实验，提前适应考试内容

成果检验

Part 1: 成绩

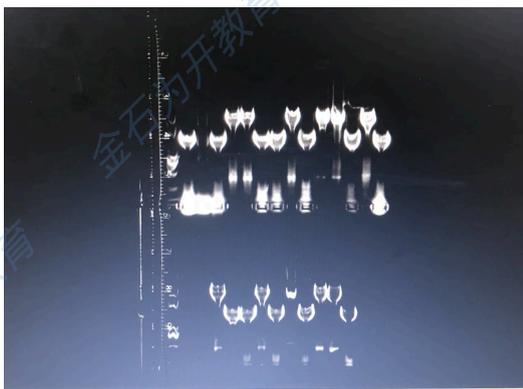
总体来看，分子生物学实验中同学们**进步显著**，第二天的成绩**显著高于**第一天的成绩



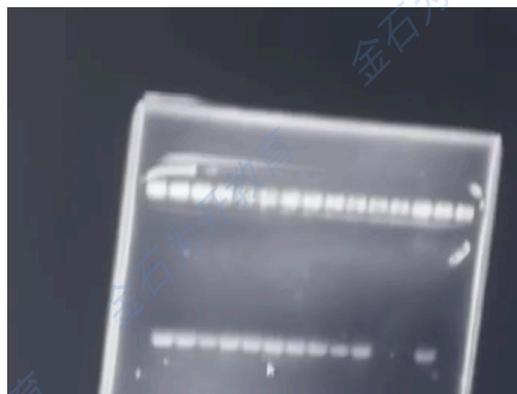
Part 2: 电泳结果

- **第一天结果：** 暴露出较多操作问题，如出现典型的“笑脸形”（边缘效应）、严重的“拖尾”现象以及明显的“引物二聚体”条带等。
- **第二天结果：** 呈现质的飞跃！获得的DNA条带干净、清晰、锐利，背景干净无杂带，符合理想实验结果标准。
- **结论：** 电泳结果的直观对比，是学员们实验操作规范性、熟练度和结果分析能力显著提升的最有力证明。

第一天



第二天



问题反馈及解决

关于有同学反映理论题目较多，作为曾参加过国赛的选手，我认为目前的理论题量设置**完全符合国赛的考核要求与风格**，拿去年举例，生化分子实验中实验操作仅占**25分**，而实验理论占到了**75分**，张老师完全是以**国赛的风格**来进行的题目命制。

有同学反馈实验等待时间过长，这其实是实验中**不可避免的等待环节**（如离心、电泳等），张老师也为大家准备了**足够量的习题**来确保每位同学都能高效、充分地利用好每一段时间。

有同学反馈缺少抽纸，记号笔等用品，**班主任老师及时采购**供同学使用。

我们会一直倾听同学们的声音，也希望同学们能够指出我们需要改进的地方，我们共同进步！

课程总结与展望：

- **整体运行：** 为期两天的分子生物学综合实验课程进展**顺利、高效**，未发生重大实验事故，基本按预设教学流程完成。
- **教学调整：** 教师团队密切关注学员进度和需求，**灵活调整实验节奏**，确保每位学员都能**跟上进度**，并在各个阶段（包括等待时间）都有明确的学习任务，保持高效学习状态。
- **学员收获：** 采访的多位学员均表示，通过这两天的密集训练，在**分子实验技术操作、问题解决能力及理论知识理解**上均有**实质性收获与提升**。
- **祝愿全体学员在后续的各学科实验课程中，持续精进，取得更大进步，再创佳绩！**