

doi:10.3969/j.issn.2095-1736.2014.03.104

# 本科生物技术综合性超大实验课程的架构与建设

莫日根, 邢万金, 王志钢, 阿拉坦高勒, 哈斯阿古拉, 苑琳,  
侯鑫, 苏慧敏, 张彦桃, 王郑, 范丽菲  
(内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021)

**摘要:** 为了培养本科生的分子生物学实验设计与操作技能, 在实践教学中实现培养本科创新人才的目标, 以用大肠杆菌发酵生产重组细菌碱性磷酸酶为案例, 通过碱性磷酸酶基因的克隆、原核表达、发酵生产、提取纯化以及酶活性检测等系列实验, 把本科的基因工程、发酵工程和生物化学3门综合性独立实验课程有机地组合成一个内容相关联的超大型综合性生物技术大实验, 进一步凸显了生物技术中以基因工程技术为核心的上游核酸操作、中游发酵生产和下游蛋白分离纯化三大技术模块的有机联系, 大大地提高了本科实验教学的综合性和研究性, 提升了实践教学水平, 取得了良好的教学效果。

**关键词:** 实验教学; 生物技术; 基因工程

中图分类号: G642.423

文献标识码: C

文章编号: 2095-1736(2014)03-0104-04

## Construction and development of an undergraduate super comprehensive experimental course of biotechnology

Morigen, XING Wan-jin, WANG Zhi-gang, Alatan Gaole, Hasi Agula, YUAN Lin,  
HOU Xin, SU Hui-min, ZHANG Yan-tao, WANG Zheng, FAN Li-fei  
(School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

**Abstract:** In order to introduce a complete technique of biotechnology into an undergraduate experimental course, the bacterial alkaline phosphatase gene was chosen as an example to be cloned and over-expressed in *Escherichia coli* cells. The alkaline phosphatase was expected to be produced in large scale through fermentation, and the subsequent product could be purified and analyzed by biochemical methods. The design organically integrated our original three individual experimental courses—gene engineering, microbial fermentation and biochemistry as a super comprehensive course of biotechnology. The course included three tightly-related, but also relatively separated substantial domains—an up-stream module for alkaline phosphatase gene manipulation, a middle-stream module for microbial fermentation of alkaline phosphatase, and a down-stream module for biochemistry of alkaline phosphatase. Here, the paper briefly reviewed the break-through in biotechnology and described the contents and practical arrangement of each module in a proper semester, establishing the necessity to set such a comprehensive course in training creative talents of biotechnology for the future.

**Keywords:** experimental teaching; biotechnology; genetic engineering

### 1 构建本科生物技术超大实验课程的必要性

为了适应生物技术的发展, 包括工院校和医学院校在内的很多高校都纷纷开设了生物技术和生物工程等专业, 但由于基因工程是现代生物技术的核心, 综合性大学的生命科学学院应该以其系统的生物学教

学, 尤其是生物化学、遗传学、基因工程及分子生物学等核心专业课的教学, 成为培养生物技术和生物工程专业创新人才的摇篮。

培养创新人才是个复杂而长期的系统工程, 不仅需要教师知识结构的更新、教学方法的变革, 更需要教

收稿日期: 2013-12-18; 修回日期: 2014-01-06

基金项目: 西部高校综合实力提升计划项目内蒙古大学生物化学系列课程教学卓越团队

作者简介: 莫日根, 博士, 教授, 蒙古族; 研究方向: DNA复制与细胞周期; E-mail: morigenm@life.imu.edu.cn;

邢万金, 博士, 教授, 汉族; 研究方向: 分子遗传学; E-mail: xwanjin@imu.edu.cn; 莫日根和邢万金同为第一作者。

学内容、教学手段和教学组织形式的与时俱进。生命科学是实验性科学,因此对于培养生命科学创新人才而言,实验教学极其重要。为了培养生物科学、生物技术和生物工程专业学生的实践能力,近年来我们进行深入的思考和大胆的尝试<sup>[3-10]</sup>,同时借鉴兄弟院校的成功经验<sup>[11-13]</sup>,从改善实验室的硬件设施到改革实验教学内容,从封闭式的课堂式小实验到全天候开放式综合性大实验,无论在教学理念、教学内容还是组织形式上都力求为学生营造创新性实验氛围,着力于培养学生的科研创新能力,取得了显著效果。但是以前教改形成的基因工程大实验、发酵工程大实验和生物化学大实验等综合性大实验虽然在实验内容上强调以科研项目的形式学习若干有联系的实验技术,教学方式上强调培养学生独立操作能力,但若干综合性大实验之间尚缺少实验内容与实验技术上的刚性联系,学生们在不同的大实验课程上学到的实验理念和操作技能不能形成一个知识链条,难以综合运用学到的知识和技能解决一个较大的科学问题或生产实践活动。这一缺陷在学生申请和完成国家或校内大学生创新性科研项目的时候尤为明显。考虑到理论课程教学之间的天然分隔与自成体系,如果实验教学与理论教学脱节,不能在实验教学中把各门理论知识融为一体,将使科学知识被置于无用之地,教学效果明显降低,甚至挫伤学生对专业知识的兴趣,成为教学的桎梏。鉴于此我们把已开设多年、运转成熟的3个独立的生物技术大实验——基因工程大实验、微生物发酵工程大实验和生物化学大实验重新定位和组合,以基因工程大实验为上游、发酵工程大实验为中游、生物化学大实验为下游技术整合成一个更大的实验教学平台,通过生产某一种有生物活性的重组蛋白为目的,用大科研项目形式构建成一个连续进行的综合性研究型“生物技术超大实验”。学生经过该门超大型综合性实验课程的训练,将系统地学习现代生物技术的实践理念,基因克隆、质粒构建、细菌发酵、蛋白提取、纯化和酶活性分析等分子生物学、微生物学和生物化学的基础实验方法及原理。该大实验不仅夯实了相关课程的基础理论知识,学习了现代分子生物学实验技术,更重要的是培养了学生的大学科意识、大项目理念、独立工作能力和科技创新能力。

## 2 本科生物技术超大实验课程的内容架构

本实验在内容上以发酵生产有生物活性的重组细菌碱性磷酸酶蛋白为最后的实验目标,用细菌碱性磷酸酶基因克隆、大肠杆菌中表达及检测、工程菌选种、发酵生产、碱性磷酸酶提取、纯化和酶活性测定等一系列实验作主线,贯穿基因工程大实验、发酵工程大实验

和生物化学大实验,重排实验课程顺序,建立以基因工程实验为核心的上游、中游和下游三个大实验模块组合的综合性生物技术实验教学平台。通过该系列课程的学习,使学生了解现代生物技术的基本内容并体验用基因工程技术生产有活性的重组蛋白的完整过程。

### 2.1 生物技术上游模块——基因工程大实验

基因工程大实验模块是整个超大实验的核心,负责给另外发酵模块制备能够表达重组碱性磷酸酶的工程菌。实验主要由PCR扩增碱性磷酸酶基因、表达载体的构建、感受态细胞的制备与转化、碱性磷酸酶的诱导表达、表达产物的电泳检测等一整套关联的实验内容组成,最终获得能够特异性大量表达重组碱性磷酸酶的大肠杆菌菌株。本模块共学习11项基因工程实验操作技术(表1)<sup>[9]</sup>,以全天候开放、教师指导、学生独立设计实验方案并独立完成实验的研究项目方式进行,共耗时约10.5d,参考学时为48。学生通过本模块的实验课程学习,将夯实基因工程的基本概念和操作原理,学习基因工程常用的核酸与蛋白操作技术。

表1 生物技术超大实验内容构架  
Table 1 The structure of super comprehensive experimental course of biotechnology

实验序号	实验内容	参考学时数
上游部分: 碱性磷酸酶基因克隆及其原核表达		
实验一	质粒 DNA 小量制备	4
实验二	质粒 DNA 的电泳鉴定	4
实验三	质粒 DNA 的酶切	4
实验四	PCR 扩增碱性磷酸酶基因	4
实验五	琼脂糖胶回收 DNA 片段	4
实验六	碱性磷酸酶基因与载体连接	4
实验七	感受态大肠杆菌的制备	4
实验八	感受态大肠杆菌的转化	4
实验九	转化菌落的筛选和鉴定	4
实验十	外源基因的诱导表达	6
实验十一	SDS-PAGE 检测蛋白表达	6
中游部分: 碱性磷酸酶的发酵生产		
实验十二	碱性磷酸酶生产菌种筛选(包括初筛和复筛)	6
实验十三	碱性磷酸酶生产发酵条件优化	6
实验十四	生物反应器的使用方法	4
实验十五	溶氧系数的测定(亚硫酸盐氧化法)	4
实验十六	接种技术、接种物的制备和种子扩大培养	4
实验十七	机械搅拌发酵罐发酵生产碱性磷酸酶	6
实验十八	发酵曲线绘制、pH 值和酶活性动态检测	6
实验十九	还原糖测定	4
下游部分: 碱性磷酸酶的纯化、鉴定和酶活性分析		
实验二十	用生物信息法预测碱性磷酸酶的结构与功能	4
实验二十一	碱性磷酸酶的提取	4
实验二十二	碱性磷酸酶的 Western 检测	4
实验二十三	碱性磷酸酶的镍柱亲和层析纯化	6
实验二十四	碱性磷酸酶的分子筛层析纯化	6
实验二十五	碱性磷酸酶的蛋白质分子量测定及检测	4
实验二十六	碱性磷酸酶活力和比活力测定	4

## 2.2 生物技术中游模块——发酵工程大实验

发酵大实验模块通过利用上游模块制备的能够表达重组碱性磷酸酶的大肠杆菌菌种,从中筛选出表达量大的菌种,测定生长曲线、摸索出最优发酵条件,发酵大量的菌体。本模块包含8个实验(表1),参考学时为40,同样以教师指导下的学生独立操作形式进行。通过本模块的实验操作,学生将夯实工程菌的筛选、发酵罐的工作和使用、发酵条件优化、溶氧系数的测定、接种技术和菌种扩大培养等一系列微生物发酵原理,并学习一些生产实践中常用的发酵技术,最终用机械搅拌发酵罐生产碱性磷酸酶。

## 2.3 生物技术下游模块——生物化学大实验

生物化学大实验模块将利用发酵实验模块发酵后的菌体,破碎后提取和纯化重组碱性磷酸酶。教学内容主要有菌体蛋白的提取、分离、纯化、鉴定和酶活性测定等典型生物化学实验。学习7种常用的蛋白质鉴定和处理相关技术(表1)的基本原理和实验操作,共32个学时。

## 3 生物技术超大实验课程的教学安排及效果

本大实验平台由上、中、下三个大实验模块构成,3个模块均以综合性大实验的形式独立运行了多年,收到了良好的教学效果。在此基础上进一步整合而成的超大实验平台在保持3个模块原有的教学效果的基础上,通过沟通3个模块之间的有机联系,进一步扩大了教学成果,让学生能够连续完整地体验用基因工程技术大规模生产重组酶的现代生物技术方案与过程,并使学生系统地学习和掌握上游基因克隆操作技术、中游发酵生产技术、下游蛋白质提取纯化和酶活性检测等方法的基本原理和实践操作,培养既懂理论又精通设计综合性实验方案并具备独立操作能力的创新人才。实现这个效果的关键在于沟通三大模块之间的联系和合理安排3个模块的开课顺序,让同一批学生按上、中、下游的顺序完成3个大实验,并分别按时完成各个模块的教学目标,即在基因工程大实验中成功制备工程菌,在发酵工程大实验中筛选到高表达菌株并成功发酵,在生化大实验中成功提取并纯化得到有活性的酶。

### 3.1 教学安排

生物技术超大实验主要由一系列生物化学与分子生物学实验组成,其核心模块基因工程大实验需要学生具备遗传学和基因工程理论知识。遗传学、基因工程和分子生物学理论课在我校分别于大学三年级上下学期开课,而中游模块涉及的微生物学和发酵工程理论课、下游模块涉及的生物化学课程在大学二年级开课(图1)。教学改革的第一问题是改变传统的实验

课排课模式。传统的实验课一般是在理论课结束后进行,或者与理论课同时进行,而超大实验平台的运行必须从基因工程大实验课开始,把在大学二年级开设的发酵工程大实验和生物化学大实验安排到大学三年级的基因工程大实验之后进行,但保留二年级生物化学实验课中关于生物大分子的经典实验。教学改革面临的另一个问题是3个综合性实验模块的进行都需要实验室全天开放。综合考虑理论课时和实验课时间进行了如下安排,大学三年级下学期开设的3个学分的基因工程理论课按每周4学时上课,在学期末能够结余4周时间进行上游模块基因工程大实验教学,在暑期为期一个月的夏季学期完成中游发酵工程大实验并储存学生得到的发酵产物,大学四年级第一学期进行下游的生物化学大实验教学(图1)。

上述实验安排的好处之一是最大可能地保证了三个模块的连续性,保持学生的实验方案的完整性、实验操作和科研思维的连贯性。好处之二是没有与其它理论课或实验课冲突。此外,本实验安排也为即将进入生物技术相关用人单位的同学进行实习实践、推免研究生到相关实验室完成毕业论文提供了技术热身准备,使学生能够把自己学过的知识和技能熟练地应用到新的科研项目中,扩大了本实验的教学效果。

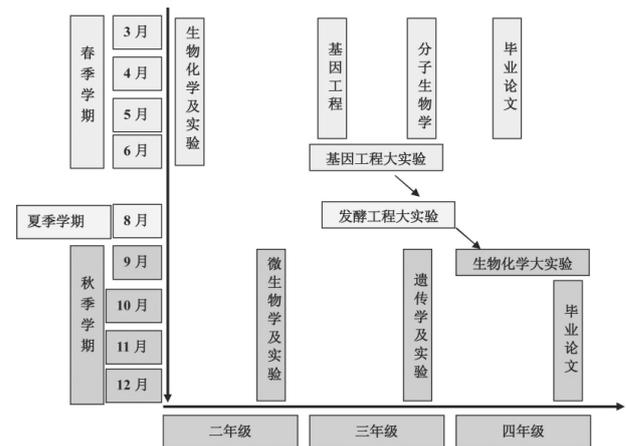


图1 本科生物技术超大实验课程教学安排以及与之内容相关的本科专业课程的时间关联

基因工程大实验、发酵工程大实验和生物化学大实验是本文介绍的“生物技术超大实验”的3个组成模块。

Fig 1 Semester arrangement of a super comprehensive experimental course of biotechnology for undergraduates and its relationship with other courses as a function of time

### 3.2 考核方式

本实验的教学内容互相关联,是一个超大实验项目,并具有上、中、下游的单向时间顺序(图1),但3个模块仍然分别在3个不同的实验室进行,因此在时空上相对独立,具体实验教学分别由各自模块的实验教

师承担,考核归各自模块独立实行。每个模块都按照科研项目形式展开,要求学生在进入实验室前提交开题报告,详细陈述立项依据和实验方案以及实验计划和预期实验结果,学生完成该模块的全部实验后提交毕业论文格式的实验论文。在3个模块全部结束后,抽取部分学生进行汇报答辩,以考察学生的学术交流能力。

### 3.3 教学效果和存在的问题

生物技术超大实验运行一年后得到了学生的普遍好评,由于3个模块在内容与时间上顺序井然,一气呵成,使学生深刻地体会到了生物技术的连贯性、综合性与研究性。由于我们鼓励学生理解实验原理、独立制定实验方案并在实践中摸索学习实验设备的使用和操作技能,给学生们提供了充分展示自己运用知识的才能的空间。每个模块都以目标导向的项目形式进行,学生有机会在规定的时间内重复某个失败的实验,在实验能提供的最大时间范围内积累经验、互相讨论、探究实验成功的秘诀和总结失败的教训。在近3个月的连续实验过程中,学生们饱尝了科学实验的艰辛和实验成功的喜悦,认识到了实验前预习和充分准备的重要性。培养了学生的科研思维和勇于探究的创新精神,更重要的是体会到了理论知识的用途,提高了学习兴趣,这一切成为学生的最大收获,也充分达到了本科实验教学改革的目的是。在这一成功整合的鼓舞下,我们正在酝酿把细胞生物学实验、细胞工程实验和植物组织培养实验整合为细胞工程超大实验平台。

但要在时间和空间上合理安排生物技术、生物工程和生物科学3个专业近200名本科生无缝衔接超大型本科实验组合仍然存在一定的难度,在细节安排上也暴露出一些问题。比如,某学生小组在某个模块的某个实验操作中未取得预期的结果,将会导致该组无法进行下一步实验,这时候就需要教师用预先保存好的实验材料救助,但由于本科生第一次进行分子生物学实验,操作失误或者实验失败的情况经常发生,所以不断救助的结果导致不少学生最后的实验结果都是源于教师保存的材料,而非自己的原创,这在一定程度上挫伤了学生的积极性,也降低了科学实验的探索性。

其次,这三个大实验模块及其相关的理论课并不是本学院每个专业的必修课。基因工程理论课、基因工程大实验课及发酵工程理论课和大实验课是生物工程和生物技术专业的必修课,但对生物科学专业是选修课;有些生物科学专业的学生逃避理论考试,只选择参加大实验但不参加基因工程和发酵工程理论课,结果成为浪费材料的“机械操作”,而不是懂得原理的“科学实验”,既不能实现实验教学的目的,也给实验

室管理和教师教学增添了负担,使得许多实验器材由于这些学生的无知而损坏。我们预想在运行成熟后作为全校公选课吸收部分其他院系的学生参与学习和体验现代生物技术,但目前的实践提醒我们在课程设置和实验管理上还需要摸索。

### 4 小结

为了达到培养高水平创新人才的教学目标,我们以全新的思路架构了生物技术超大实验课程,其内容包括基因工程、发酵工程和生物化学基本实验技术。所设计的三大模块实验尽管在教学形式和内容上彼此相对独立,但在实验目的上有必然的内在联系,在一个模块内,上一个实验为下一个实验制备材料;不同模块间,上游模块为下游模块制备实验材料,实现了循序渐进,逐步延伸和深入,确保课程的连贯性和综合性,使学生得到最大程度的综合性实验训练。新的超大实验平台进一步挖掘了原有实验教学的潜力,在不增加经费和课时投入的前提下大幅度提升了教学质量,取得了很好的教学效果。

### 参考文献:

- [1]吴乃虎. 基因工程原理(第2版) [M]. 科学出版社, 1998.
- [2]Gibson D G, Glass J I, Lartigue C, et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome [J]. *Science*, 2010, 329(5987): 52-56.
- [3]莫日根, 那万金, 哈斯阿古拉. 基因是什么? 分子遗传学教学中的体会和理解 [J]. *生物学杂志* 2012, 29(4): 92-95.
- [4]莫日根, 那万金, 王 潇. 以高水平科学研究促进分子遗传学教学 [J]. *高校生物学教学研究: 电子版* 2012, 2(1): 33-35.
- [5]那万金, 莫日根, 苏慧敏. 浅议遗传学教学改革 [J]. *生物学杂志* 2012, 29(3): 105-107.
- [6]那万金, 莫日根, 苏慧敏, 等. 遗传学双语教学改革的实践与体会 [J]. *生物学杂志* 2011, 28(4): 96-98.
- [7]那万金, 莫日根, 阿拉坦高勒, 等. 以遗传信息为主线的遗传学教学架构及与其它课程的衔接 [J]. *遗传* 2011, 33(6): 661-664.
- [8]那万金, 赵宇航, 任仕超, 等. 红色荧光蛋白 DsRed2 在大肠杆菌中的表达和观察及其在本科实验教学中的应用 [J]. *内蒙古大学学报: 自然科学版* 2008, 39(5): 548-551.
- [9]那万金, 扈庭茂. 本科基因工程大实验教学改革的实践和体会 [J]. *生物学通报* 2007, 42(2): 48-50.
- [10]王迎春, 莫日根, 王 潇. 生命科学本科科研训练体系的建设与实践 [J]. *高校生物学教学研究: 电子版*, 2011, 1(1): 13-15.
- [11]孙智杰, 李 勤, 邓玉林. 构建生命科学实验教学体系与创新人才培养 [J]. *高校生物学教学研究: 电子版*, 2012, 2(1): 43-46.
- [12]张年辉, 孟廷发. 理论性与应用性并重的“酶工程”课程建设与实践 [J]. *高校生物学教学研究: 电子版*, 2012, 2(1): 29-32.
- [13]叶伟萍, 向本琼, 王英典. 美国一流大学生物学本科专业设置的启示 [J]. *高校生物学教学研究: 电子版*, 2011, 1(1): 57-61.