

教学研究

免疫学技术在细胞生物学教学中的应用

任 华 张红锋 尹尉翰 杜 冰 江文正 钱 *

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200241)

摘要 免疫学技术在细胞生物学理论与实验课程中具有重要的应用价值, 两者的有机结合能使细胞生物学课程教学更丰富形象, 有利于教学质量的提高。目前, 免疫学技术普遍只停留于细胞生物学理论课本知识教授中, 在对学生开展的细胞实验操作课程中应用较少。如能将免疫荧光标记、流式细胞术等相关技术引入到实验教程中, 不仅能使细胞实验结果更形象生动, 更能拓宽学生知识领域与实验技能, 有利于其综合能力的培养。

关键词 细胞生物学; 免疫学技术; 理论教学; 实验课程

Immunological Techniques in Teaching Cell Biology

Ren Hua, Zhang Hongfeng, Yin Weihan, Du Bing, Jiang Wenzheng, Qian Min*

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract Immunological techniques have important values in theoretical and experimental courses of cell biology. The combination of them will make cell biology courses more vivid, and improve the teaching quality. Currently, the immunological techniques are only present in the theoretical courses of cell biology, not in the operate courses of experiments for the undergraduates. It will make the experimental courses of cell biology more diverse as we put the immunological techniques into these courses, such as immunofluorescence, flow cytometry, etc. It will be helpful to improve the ability of research gradually and broaden the field of knowledge for students. It is also beneficial to train their comprehensive abilities.

Key words cell biology; immunological technique; theoretical teaching; experimental course

细胞生物学是生命科学领域重要的课程之一, 在生物技术、生物医学、中医药学、水产学等专业都列为必修课程。细胞生物学作为一门基础课程, 涉及范围较广, 和其他的生物学课程有一定的相互联系与贯通。例如, 生物化学、微生物学、分子生物学及免疫学等。它将宏观的植物学、动物学领域与微观的微生物学、分子生物学、遗传学等相连接,

起到了桥梁学科的作用。免疫学技术同样也是生命学科领域中一门重要的基础课程, 无论在细胞生物学理论课程中还是实验教学中, 都能应用到免疫学专业的知识和实验技术。两者的有机结合能让细胞生物学教学更生动形象, 实验结果更清晰多彩。如何能将免疫学知识更好地应用到细胞生物学理论与实验教学中, 还需不断探索行之有效的教学方法。

收稿日期: 2013-09-26 接受日期: 2013-11-29

上海市教委重点课程项目资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54341039, Fax: 021-54341006, E-mail: mqian@bio.ecnu.edu.cn

Received: September 26, 2013 Accepted: November 29, 2013

This work was supported by the Program of Key Course of Shanghai Municipal Education Commission

*Corresponding author. Tel: +86-21-54341039, Fax: +86-21-54341006, E-mail: mqian@bio.ecnu.edu.cn

网络出版时间: 2014-03-03 12:19 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.03.0311.html>

1 教材中的免疫学技术

1.1 细胞结构的色彩化

近几年, 细胞生物学的教材除了内容的更新与深入外, 书本的印刷也从黑白转变为彩色版本。细胞内呈现出不同的荧光色彩, 使得细胞亚显微结构更清晰, 这便得益于免疫学中的荧光抗体标记技术。例如在细胞骨架章节, 利用微管、微丝与中间纤维是由不同特异性蛋白家族构成的特性, 使用这些特异性组成蛋白的标记抗体, 可同时在一个细胞中显示这三种细胞骨架的分布情况。在细胞有丝分裂过程中, 也可清晰看到微管(纺锤丝)的变化情况和其如何参与细胞分裂过程的。

在旧版本的教材中, 细胞内的细胞器结构往往用模式结构图或者黑白电镜图。免疫标记技术的应用, 使这些细胞器结构在光学显微镜下便可显示。利用不同细胞器内特异性的表达蛋白, 可区分显示这些细胞器在细胞内的位置与其基本形态。例如, Rab5主要定位于早期胞内体, LAMP1为溶酶体特异性膜蛋白, 高尔基器中特有的B4GALT蛋白家族。用这些蛋白的荧光标记特异性抗体, 便可使这些细胞器清晰可见。

1.2 教学中如何引入免疫学技术

细胞生物学教材中很多章节中都会有荧光标记图谱, 让枯燥的文字形象化和生动化。很多学生会好奇这些图谱是如何得到的, 随后向教师提问, 其实这中间便应用到免疫学抗体标记技术的知识。但《免疫学原理与技术》是本科生高年级的专业选修课, 通常安排在《细胞生物学》课程结束后的学期中进行教学, 学生们完全没有接触过这一专业领域的知识, 因此在讲解其中抗体标记原理的时候对任课老师的要求较高, 很难把握讲解的尺度。如果单讲解抗原抗体反应原理, 同学们会产生新的疑问, 因为他们对何为抗体和抗体是如何产生等完全没有概念。如果细细深入讲解, 会迁入大量的免疫学课程内容, 不仅喧宾夺主, 占用大量的课时, 而且往往对完全空白背景知识的学生们, 在短时间内也不能讲解清楚其中的原理。结合自身授课经验, 笔者认为在此讲解时, 可选用一张抗原(细胞特殊结构中的某一蛋白)与其荧光标记抗体结合的模式图谱, 既能直接显示抗体的基本结构, 又能让学生对抗原抗体是如何结合的一目了然。配有荧光显色后的细胞图谱, 便能使教学效果更佳, 让讲解过程更生动, 学生印象

更深刻。

2 实验课程中的免疫学技术

2.1 细胞骨架的观察

免疫学技术不仅在细胞生物学理论课本中得以体现, 同样可应用在实验课程中。比如细胞骨架的光镜观察, 通常较多学校会以植物细胞为材料, 经考马斯亮蓝R250染色后, 光镜下观察。此方法可直接看到染色后的细胞骨架网状结构, 但不能区分三种细胞骨架。在本教学组的实际教学中, 便遇到有学生追问如何分辨三种骨架蛋白, 也有学生会误认为这些较粗的网状结构为微管, 实则为微丝束结构。因此在这个实验的教学中, 完全可以引入免疫抗体标记技术, 用不同细胞骨架组成蛋白的相应特异性抗体, 标记不同颜色的荧光, 借助荧光显微镜, 便可在同一细胞中显示三种细胞骨架。在提高学生兴趣的同时, 巩固了理论教学知识。目前, 我们在细胞骨架观察的实验中, 仍旧采用考马斯亮蓝染色法, 但在实验原理与操作步骤讲解的环节, 已加入免疫荧光标记技术的拓展内容。我们选用了经典的免疫荧光直接标记法和间接标记法作为示例, 这两种方法相对简单, 未涉及太多的免疫学知识, 学生相对容易理解。讲解中展示直接法与间接法的原理示意图, 再显示最后荧光标记的细胞骨架显微镜图, 和传统的考马斯亮蓝染色结果图同时展示, 学生既能理解免疫标记技术的原理, 又能体会到这项技术的优点。在本教学组开设的细胞生物学实验的探究课程环节中, 曾有学生应用此方法观察动物细胞中的微管结构, 取得较好的实验效果。在随后的实验课程中, 我们将逐渐开展用免疫荧光标记技术观察细胞骨架的实验。

2.2 细胞凋亡的检测

细胞凋亡过程中形态学的观察和生化特征的检测已经广泛应用于生命科学各种领域的研究中。在《细胞生物学》理论课程中细胞凋亡的原理也被单独列为一章, 是重点讲解内容之一, 但在学生实验课程中并未普及细胞凋亡检测的实验操作。这一实验中应用到较多的免疫学原理和技术, 包括Annexin V/PI双染法、TUNEL法、caspase-3活性检测等方法。与直接的细胞形态学检测方法相比, 例如利用DNA染色技术——Hoechst3342、DAPI等标记法观察染色质凝集现象, 我们认为虽然在实验技术上免疫标

记较为复杂,但其荧光染色特异性高,显微观察结果清晰明了,在科研工作中更为常用。这些免疫技术检测方法与细胞凋亡的原理密切相关,例如利用细胞凋亡过程中磷脂酰丝氨酸(PS)从细胞膜内侧外翻至胞外面,可用Annexin V免疫标记法直接观察凋亡小体。如果能开展相应的本科生实验操作课程,不仅能提高他们对此章节内容学习的兴趣,更有助于他们对细胞凋亡过程的理解,同时也很好地与研究培养所需掌握的实验技术相互衔接。

2.3 流式细胞技术的应用

流式细胞技术(flow cytometry, FCM)是20世纪70年代新兴的高科技细胞研究技术,目前已发展为细胞生物学与免疫学中常用方法之一,其广泛应用于生物各专业领域的基础研究。因此在本科生细胞生物学教学中应加入这一技术的介绍与实验指导。例如,在实验课程的细胞分离技术中,往往只采用机械分离法、差速离心法与密度梯度离心法。在这些技术应用的基础上可结合免疫荧光标记技术,用流式细胞技术进一步分离分析淋巴细胞亚型。细胞周期与凋亡的检测同样可利用流式细胞技术,来区分活细胞、凋亡的细胞和坏死的细胞。在巩固了学生理论知识的基础上,增加了他们对新技术的应用技能,紧跟科学发展的前沿。

3 展望

细胞生物学的理论知识更新与技术发展都十分迅速,分子生物学、生物信息学、蛋白质组学和免疫学等技术都快速融入到细胞生物学中。免疫学技术在细胞生物学教学中的应用已十分广泛,但仍存在不足之处,尤其是在实验课程中。例如,荧光抗体的价格较昂贵、易交叉反应、容易淬灭;流式细胞仪的价格也较昂贵。这需要本科教学实验中心投入较高的财力与物力,同时对授课教师的要求也相对严格。细胞生物学作为一门专业基础课程,选课人数相对较多,对于全体学生开设相关实验课程,具

有一定的难度。笔者认为,可以在细胞生物学基础课程完成的基础上,对高年级本科生开设一门细胞免疫原理与技术选修课程,将两门专业课内容融合并深入。在控制选课人数的前提下,开展上述所提实验操作,既弥补了所需资金量大的缺点,又能提高实验课的教学质量。总之,免疫技术在细胞生物学中的应用,不仅能丰富教学内容,激发学生的兴趣,使细胞生物学与其他生命专业学科更好地融合贯通。同时,这些技术都为生命科学的前沿技术,在革新教学内容与方法的基础上,提高了细胞生物学的教学质量。

参考文献 (References)

- 1 丁明孝, 苏都莫日根, 王喜忠, 邹方东. 细胞生物学实验指南(第2版). 北京: 高等教育出版社(Ding Mingxiao, Sodmergen, Wang Xizhong, Zou Fangdong. Experiments in cell biology: A students' guide. Beijing: High education press) 2009.
- 2 田伟, 刘蓓蓓, 刘伟. 细胞生物学教学中存在的问题及改革措施. 科教导刊(Tian Wei, Liu Beibei, Liu Wei. Problems in cell biology teaching and reform measures. The Guide of Science & Education) 2013; 2(中): 113-7.
- 3 翟欢欢, 薛秀花, 张伟. 细胞生物学事件主导的医学细胞生物学教学探讨. 基础医学教育(Zhai Huanhuan, Xue Xiuhua, Zhang Wei. Basic Medical Education) 2013; 15(2): 115-6.
- 4 薛雅蓉, 庄重, 刘智慧. 设计利用现代科学仪器紧跟科学前沿的细胞生物学实验. 实验技术与管理(Xue Yarong, Zhuang Zhong, Liu Zhihui. Designing and using modern scientific instruments for cell biological experiments and following frontiers of scientific research closely. Experimental Teaching and Management) 2013; 30(6): 163-6.
- 5 张红锋. 细胞生物学实验与探究. 上海: 华东师范大学出版社(Zhang Hongfeng. Shanghai: East China Normal University press) 2012.
- 6 钱旻. 免疫学原理与技术. 北京: 高等教育出版社(Qian Min. Principles and techniques of immunology. Beijing: High education press) 2011.
- 7 Stenmark H, Vitale G, Ullrich O, Zerial M. Rabaptin-5 is a direct effector of the small GTPase Rab5 in endocytic membrane fusion. Cell 1995; 83(3): 423-32.
- 8 何大澄. 对细胞骨架教学的体会. 中国细胞生物学学报(He Dacheng. Chinese Journal of Cell Biology) 2012; 34(5): 475-6.