

教学研究

基于科研能力培养的分子生物学实验教学 改革初探——*carA*基因是否与盘基网柄菌细胞的 趋化运动有关?

高润池 吴雪 王晓燕*

(云南师范大学生命科学院, 昆明 650500)

摘要 分子生物学是一门实验性很强的学科。对于生物技术专业的本科学生来说, 实验课学习是提高实验技能和培养科研能力的重要途径。该实验教学改革引入“问题情境”教学, 以“*carA*基因是否与盘基网柄菌细胞的趋化运动有关”这一问题为导向, 利用盘基网柄菌细胞中*carA*基因的克隆为主线, 串联起基因组DNA提取、目的基因的PCR扩增、质粒转化、质粒提取等分子生物学核心技术环节, 鼓励学生自主探索, 通过实验结果来解答问题。在实践教学中, 教师通过对学生进行课前、课中和课后指导, 帮助学生逐步养成自主学习习惯和提升科研能力, 为今后从事生物学相关工作打下基础。

关键词 自主学习; 科研能力; 基因克隆; 盘基网柄菌

Reform Exploration of Molecular Biology Experimental Teaching for Improving Scientific Research Ability — Whether *carA* Gene was Related to the Chemotaxis of *Dictyostelium discoideum*?

GAO Runchi, WU Xue, WANG Xiaoyan*

(School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China)

Abstract Molecular Biology is a subject that requires lots of experimental practices. For undergraduates majoring in biotechnology, the experimental course is an essential approach to improve their experimental skills and scientific research ability. Here, the experimental teaching was reformed by introducing the problem-based learning approach, which was orientated by the problem of “whether *carA* gene was related to the chemotaxis of *Dictyostelium discoideum*”. In order to solve the problem, a variety of key technologies in Molecular Biology were used based on the cloning of *carA* gene from *Dictyostelium discoideum* cells, such as genome DNA extraction, target DNA amplification, recombinant plasmid construction, bacterial transformation and plasmid extraction. During the process of practical teaching, students were encouraged to explore the answers based on the experimental results independently. In addition, the pre-class, in-class and post-class intervention and directing by

收稿日期: 2020-12-25 接受日期: 2021-02-02

国家自然科学基金(批准号: 31601130)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18987677526, E-mail: wxy5837@163.com

Received: December 25, 2020 Accepted: February 2, 2021

This work was supported by the National Natural Foundation of China (Grant No.31601130)

*Corresponding author. Tel: +86-18987677526, E-mail: wxy5837@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5510>

teachers may help undergraduates develop the habit of autonomous learning and improve the scientific research ability gradually so as to ease the transition from school to work.

Keywords autonomous learning; scientific research ability; gene clone; *Dictyostelium discoideum*

分子生物学是一门以核酸、蛋白质等生物大分子为研究对象,通过结构与功能统一性研究,阐明细胞活动规律,最终揭示生命活动本质的学科。它也是人类由被动适应自然界转向主动改造和重组自然界的基础学科^[1]。当下,分子生物学技术飞速发展,其应用也已经广泛渗透到生命科学的各个领域,几乎已成为生命科学及其相关学科教学与科研不可或缺的部分^[2-3]。在高等师范院校,分子生物学是生物类本科生的必修课程,包括理论教学和实验教学。实验教学不仅能够帮助学生理解和验证部分理论知识,掌握基本的分子生物学实验技术,同时也是高校培养新时代教育模式下的高素质创新型科研人才的重要环节,可以说,分子生物学实验教学的好坏很大程度上决定了该门课程的教学效果^[4]。作为一线分子生物学实验课教师,在帮助学生提升实践动手能力的同时也需要注重培养学生的科研能力。

目前,许多高等师范院校常选择基因组DNA提取、质粒载体提取、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等经典的分子生物学实验技术作为本科分子生物学实验教学的主要内容。这些技术具有连贯性、综合性,甚至是紧密结合的。然而,由于条件限制等原因,导致各个实验彼此独立、少有关联。以云南师范大学生命科学学院的本科分子生物学实验教学为例:实验课用于提取基因组DNA的材料为小鼠肝脏;用于PCR的模板是人的基因组DNA;而提取的质粒也与前两者不相关,这些设计使学生对实验的意义和应用感到茫然。虽然实验教学能帮助学生熟练掌握分子生物学基本实验操作技术,提高实验技能,达到提升学生实践动手能力的培养目标,然而,学生却不能够自己构建知识体系。

为此,笔者通过将自己的科研内容引入课堂,对云南师范大学生命科学学院生物技术专业学生的分子生物学实验教学进行改革探索。通过引入“问题情境”教学,即以情境激发学生的学习兴趣,以问题作为导向,引导学生应用储备知识和搜索相关信息去解决实际问题^[5],设立“*carA*基因是否与盘基网柄菌细胞的趋化运动有关”的科学问题,以盘基网柄

菌细胞*carA*基因的克隆为主线,串联起基因组DNA提取、目的基因PCR扩增、质粒构建与转化、质粒提取等分子生物学核心技术环节(图1),并将从细胞生物学实验中习得的技术加以应用,帮助学生构建知识体系。从教学效果来看,这种以“问题”导入教学内容,学生在教师的指导下通过设计实验回答问题的教学方式,在一定程度上激发了学生的学习兴趣,提高了学生的参与度与情感投入。同时,也帮助学生逐步养成自主学习的习惯,为今后从事生物学相关工作打下了基础。

1 教学内容

1.1 通过盘基网柄菌多细胞发育实验提出科学问题

盘基网柄菌是研究多细胞发育的理想模型,当生长环境中营养缺乏时,一些盘基网柄菌细胞先定期的向胞外分泌cAMP,诱导周围的细胞逆cAMP浓度梯度发生趋化运动向“中心”聚集,最终形成多细胞结构,度过不良环境。在细胞聚集过程中,细胞膜上的cAMP受体,即cAR1通过与cAMP结合,将信号转导进入细胞,最终使细胞发生朝向高浓度cAMP的定向运动^[6-7]。由于学生已经掌握了盘基网柄菌细胞的培养技术^[8],因此,通过教师的指导后学生就能够完成“盘基网柄菌野生型细胞(wild type, WT)和*carA*缺失的突变株细胞(*car1 null*)发育”的探究实验(图2)。发育探究实验结果显示*car1 null*不能够完成多细胞的发育,甚至只停留在单细胞阶段,即*car1 null*尚未发生cAMP诱导的趋化运动。根据现象帮助学生提出科学假设,即“这种表型是否是*carA*基因缺失引起的”,为了验证这个假设,学生需要将*carA*在*car1 null*中重表达,因此也就形成了本课程的教学主线。通过这种方式引入教学内容,极大地激发了学生的学习和科研兴趣。为了帮助学生建立科研信心,教师指导学生进行文献检索,并且指导学生尝试“带着问题”去阅读文献,以及进行实验设计。

1.1.1 主要试剂 HL5培养基(40.00 g葡萄糖、40.00 g示蛋白胨、20.00 g酵母粉、3.86 g磷酸氢二钠、1.94 g磷酸二氢钾、0.12 g硫酸链霉素,水定容至4 L,

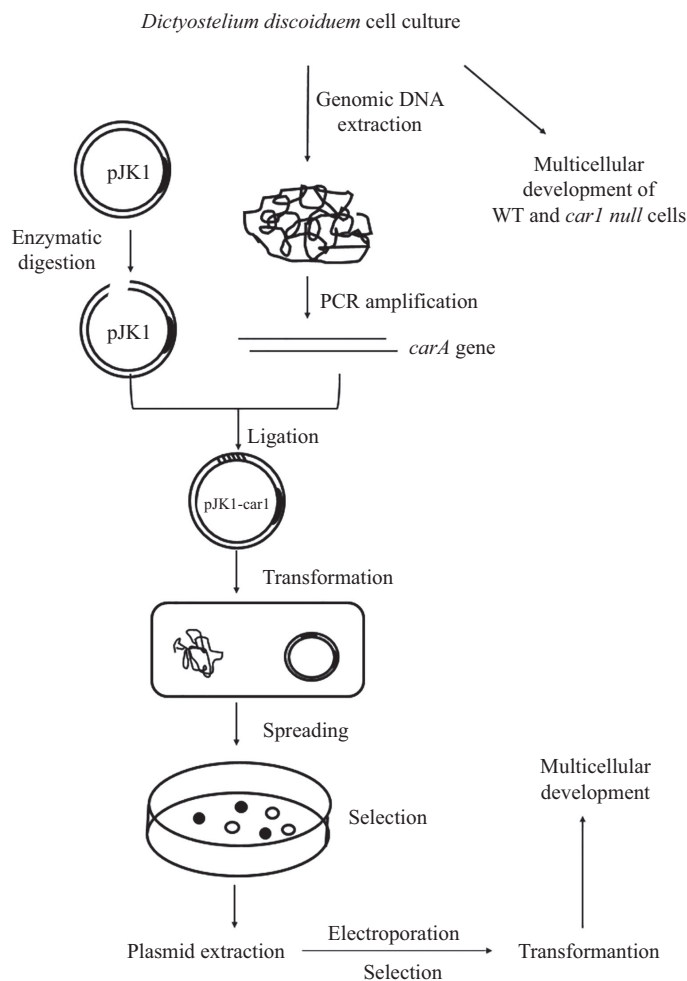


图1 实验流程图

Fig.1 Schemes of experiments

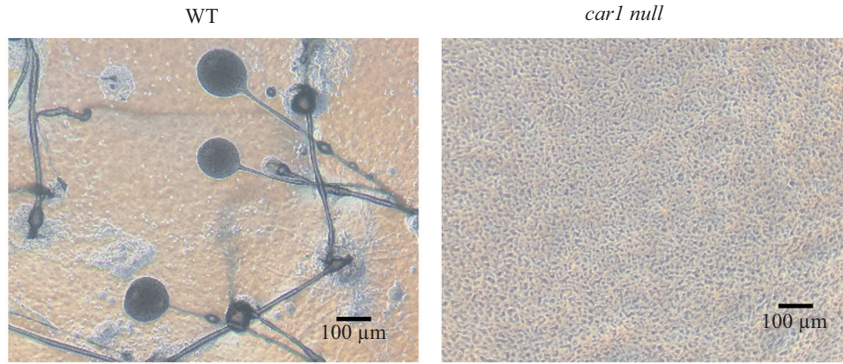
pH6.5; 121 °C灭菌30 min)、DB缓冲液(先配制10×磷酸盐缓冲液: 12.695 g磷酸氢二钠、6.803 g磷酸二氢钾, 水定容至1 L; 实验时配制新鲜的1×DB: 400 mL 10×磷酸盐缓冲液、0.8 mL 1 mol/L的氯化钙、4 mL 2 mol/L的硫酸镁, 水定容至4 L)、1.5% Agar-DB固体平板(按1.5%的比例在新鲜的1×DB缓冲液中加入琼脂粉或琼脂条, 121 °C灭菌30 min, 倒平板)。

1.1.2 实验步骤 从-80 °C冰箱里取出冻存的AX2和 $car1$ null细胞, 室温融化后在超净工作台中将全部细胞冻存液转移至装有15 mL HL5培养基的培养皿中, 22 °C复3 h或过夜, 用移液枪将液体弃去, 重新加入15 mL HL5培养基, 22 °C培养。当细胞密度达到培养皿底面覆盖率的80%左右时, 即可进行传代^[8]。经过3次传代的细胞长到指数生长期时, 用移液枪将液体弃去, 重新加入5 mL HL5培养基, 并用移液枪反复吹打贴壁的细胞, 细胞即可重悬。将重

悬细胞收集到50 mL离心管中(取适量样品进行细胞计数), 2 000 r/min离心5 min, 弃上清, 用新鲜的DB缓冲液重悬后, 再次离心, 弃上清, 最后用适量的DB重悬细胞。从悬液中取约 5×10^7 个细胞, 并转到1.5% Agar-DB固体平板上, 轻轻晃动平板, 以使细胞均匀分布在平板上, 22 °C正置1 h后, 去除残留液体, 并倒置培养24 h。用倒置显微镜可观察细胞的发育情况。

1.2 盘基网柄菌细胞基因组DNA的分离

盘基网柄菌是低等的真核生物, 不具有细胞壁结构。因此, 利用去垢剂十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)处理细胞后, 引起细胞质膜上的蛋白变性和细胞膜中脂质溶解, 最终导致细胞裂解, 释放DNA。随后用蛋白酶K酶解与DNA结合的蛋白质, 使DNA游离于溶液中。用苯酚抽提去除蛋白质成分, 最终获得基因组DNA。本实验使用的试剂较多, 学生通过对所用试剂的配制过程, 提高基本实验技能。

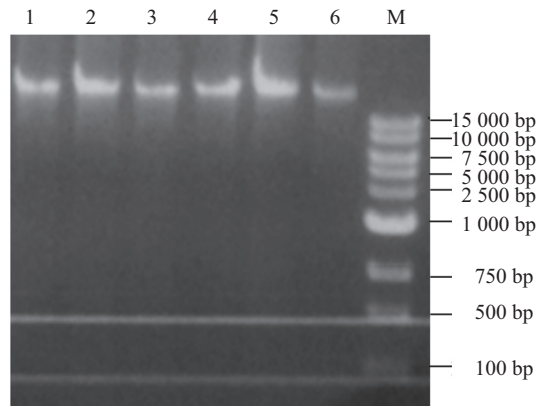


car1 null 细胞显示聚集缺陷的表型。

car1 null cells displayed an aggregation defect phenotype.

图2 盘基网柄菌野生型(WT)和*car1 null*的多细胞发育

Fig.2 Multicellular development of WT and *car1 null* *Dictyostelium discoideum* cells



M: DNA标准样; 1~6: AX2细胞的基因组DNA。

M: DNA Marker; 1-6: genome DNA of AX2 cells.

图3 盘基网柄菌基因组DNA的琼脂糖凝胶电泳

Fig.3 Agarose gel electrophoresis of genome DNA of *Dictyostelium discoideum*

1.2.1 主要试剂 DB缓冲液、RLB溶液(0.320 mol/L 蔗糖、0.010 mol/L Tris-HCl pH7.5、0.005 mol/L MgCl₂、1% Triton X-100)、缓冲液A(0.010 mol/L Tris-HCl pH7.5、0.010 mol/L EDTA)、缓冲液B(0.010 mol/L Tris-HCl pH7.5、0.7% SDS)、RNaseA、蛋白酶K。

1.2.2 实验步骤 收集大约 5×10^7 个指数生长期的盘基网柄菌细胞,并用预冷的DB缓冲液洗1次;将细胞重悬于1 mL新鲜配制的RLB溶液中,13 000 r/min、4 °C离心10 min,弃上清;沉淀物重悬于400 μL新鲜配制的缓冲液A,加入400 μL新鲜配制的缓冲液B,颠倒混匀;加入60 μL 10 mg/mL的RNaseA,轻轻颠倒混匀,30 °C放置30 min;加入60 μL 20 mg/mL的蛋白酶K,轻轻颠倒混匀,65 °C放置30 min;加入五十分之一体积的5 mol/L NaCl,颠倒混匀;将液体平均分装在2个微量离心管中,并加入等体积的酚/氯仿

抽提。13 000 r/min、室温离心10 min。小心地将上清液转移到干净的微量离心管中;加入等体积的酚/氯仿再抽提1次;用氯仿/异戊醇(V/V=24:1)混合液抽提2次;将上清液转移至新的离心管后,用2倍体积的无水乙醇沉淀DNA,4 °C放置过夜;经过过夜沉淀的DNA在4 °C、13 000 r/min条件下离心20 min;弃上清,缓慢加入1 mL的70%的乙醇,13 000 r/min条件下离心10 min,重复1次;弃上清后,将离心管放置在室温条件下使之干燥,约10 min;当管壁上的水分挥发后,加入50 μL的无菌重蒸水或者TE缓冲液,使DNA完全溶解;琼脂糖凝胶电泳监测DNA的提取质量(图3),并于4 °C保存基因组DNA。

1.3 *carA*基因的PCR扩增

聚合酶链式反应(PCR)的原理类似于DNA的天然复制过程。该技术成熟、操作简单,学生只需

要将一对*carA*基因扩增引物、盘基网柄菌基因组DNA、PCR扩增缓冲液(含镁离子), 以及DNA聚合酶混合, 并借助PCR仪就能够获得扩增产物。然而, 对于PCR扩增实验来说, 引物的设计非常关键, 因此在教学过程中, 教师要详细介绍PCR扩增引物的设计原理及常用软件。同时, PCR扩增产物的效率和质量受许多因素的影响, 在教学过程中, 要引导学生充分理解PCR反应体系中的每一个成分对扩增结果的影响, 帮助学生建立实验条件优化的观念。

1.3.1 主要试剂 宝生物PCR扩增试剂盒(TaKaRa Taq™ Version 2.0, 货号: R004A), *car1-F*: 5'-ATG GGT CTT TTA GAT GG-3', *car1-R*: 5'-TCC ACC ACC ACC ACC T-3'。

1.3.2 实验步骤 于灭菌的200 μL规格的PCR管中依次准确加入以下反应体系: 25 μL Premix Taq、2 μL *car1-F* (10 μmol/L)、2 μL *car1-R* (10 μmol/L)、1 μL DNA, 灭菌双蒸水定容至50 μL。以体系中不加DNA为对照组(如果选用其他的Taq酶, 则参照相应的说明采用相应的反应条件即可)。用移液枪轻轻混匀, 并将管壁上的液体通过瞬时离心至底部。将制备好反应体系的PCR管放入PCR扩增仪中, 设置反应条件: 94 °C 1 min; 94 °C 30 s, 47 °C 30 s, 72 °C 90 s, 30个循环; 72 °C 10 min。并用1%的琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果(图4)。

1.4 pJK1-*car1*重组质粒的转化、涂板、克隆子筛选

大肠杆菌DH5α在0 °C、CaCl₂低渗溶液中可被诱导成为通透性较大的感受态细胞, 从而便于吸收外源基因或载体。当把待转化DNA与CaCl₂法制备的感受态细胞混合时, DNA会形成抗DNA酶的羟

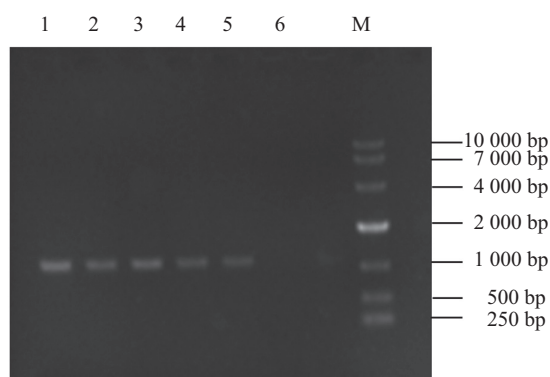
基-钙磷酸DNA复合物黏附于感受态细胞表面, 经42 °C短暂热激处理, 促进细胞吸收DNA复合物。完成转化的细胞需要在非选择性培养基中保温一段时间, 以使细胞获得的新表型得到表达, 然后将适量此细菌培养物涂布在选择性培养基上, 通过12~16 h的培养, 即可获得克隆子。

1.4.1 主要试剂 感受态细胞DH5α[购自宝生物工程(大连)有限公司, 货号9057]、LB培养基(10 g/L胰蛋白胨、5 g/L酵母粉、10 g/L氯化钠, pH7.4)、固体Amp-LB培养基(含100 μg/mL氨苄青霉素钠和1.5%琼脂)。

1.4.2 实验步骤 从-80 °C冰箱中取出100 μL的感受态细胞DH5α, 置于冰浴中10 min, 取5 μg pJK1-*car1*重组质粒与感受态细胞轻轻混合, 冰浴放置10 min后, 42 °C水浴中热激150 s, 立即取出并在冰水浴中孵育5 min。无菌条件下向转化管中加入900 μL LB液体培养基, 37 °C恒温培养1 h。取100 μL菌液于Amp-LB平板上, 用灭菌的涂布棒将菌液均匀涂布在平板上, 37 °C倒置培养12~16 h, 可长出单菌落, 即单克隆子。用灭菌牙签挑取单克隆, 在新的Amp-LB平板上划线培养单菌落。

1.5 pJK1-*car1*重组质粒的提取

质粒是存在于几乎所有细菌染色体之外的环状DNA分子, 它通常携带有染色体上所不存在的基因, 并表现出一些有用的性状, 如抗生素抗性、耐受重金属等。质粒拥有自己的复制原点, 因此, 可以不依赖于染色体而进行独立复制。由于质粒的独特性, 它成为了重要的分子工具。碱裂解法提取质粒根据共价闭合环状质粒DNA与线性染色体DNA之间在

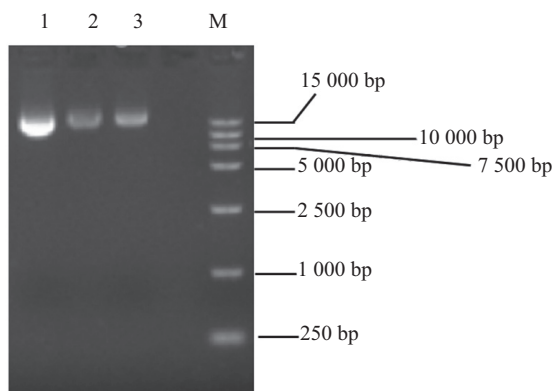


M: DNA标准样; 1~5: *carA*基因的PCR扩增条带; 6: 对照。

M: DNA Marker; 1-5: amplification of *carA* by PCR; 6: control.

图4 PCR扩增*carA*基因的琼脂糖凝胶电泳

Fig.4 Agarose gel electrophoresis of amplification *carA* gene by PCR



M: DNA标准样; 1~3: 3个克隆子中提取的质粒DNA。

M: DNA Marker; 1-3: plasmid extraction of three clones.

图5 克隆子中提取的pJK1-car1重表达质粒的琼脂糖凝胶电泳

Fig.5 Agarose gel electrophoresis of pJK1-car1 plasmid extraction from clones

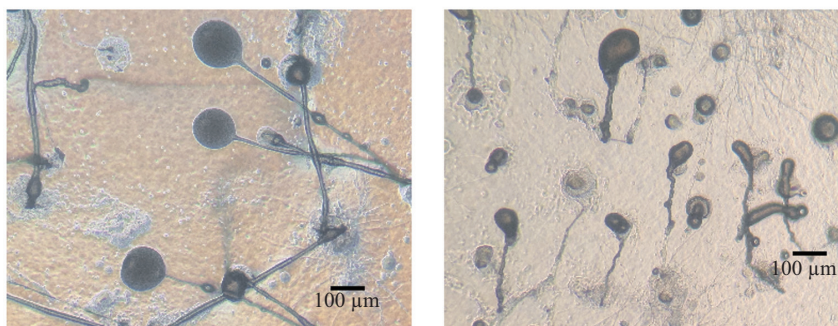


图6 盘基网柄菌野生型细胞(WT)和carA重表达细胞的多细胞发育

Fig.6 Multi-cellular development of WT and pJK1-car1/car1 null cells

拓扑学上的差异而达到分离目的。

1.5.1 主要试剂 LB培养基(同上)、液体Amp-LB培养基、QIAprep Spin Miniprep kit(货号: 27104)。

1.5.2 实验步骤 用灭菌牙签挑取固体培养基上的单菌落, 分别接种到含4 mL Amp-LB液体培养基的试管中, 37 °C恒温振荡培养16~20 h(220 r/min), 获得菌液。用1.5 mL灭菌离心管收集菌体, 然后在13 000 r/min、室温条件下离心1 min。彻底弃去上清液后, 加入300 μL P1溶液重悬菌体; 加入300 μL P2溶液迅速颠倒4~6次, 静置4 min后加入300 μL P3溶液, 迅速颠倒4~6次, 将离心管放入冰浴中静置5 min, 4 °C、13 000 r/min离心10 min。用移液枪将上清转移至预平衡的QIAGEN-TIP管中, 重力作用使液体完全流入收集管。弃液后, 用2 mL QC洗QIAGEN-TIP管2次。将QIAGEN-TIP管放入干净无菌的2 mL离心管, 并用800 μL QF洗脱DNA。在DNA溶液中加入0.7倍体积的异丙醇, 颠倒混匀, 于

4 °C、13 000 r/min离心30 min, 沉淀DNA。随后用70%乙醇洗DNA, 4 °C、13 000 r/min离心10 min。弃上清, 室温干燥DNA, 用合适的灭菌双蒸水或TE (pH8.0)溶解DNA。用0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测质粒DNA(图5)。

1.6 pJK1-car1重组质粒的电转化及发育鉴定

用电转化技术将pJK1-car1重组质粒转入car1 null中, 操作步骤详见参考文献[8]。待筛选到阳性转化子后, 进行多细胞发育实验(图6)。结果表明, 在car1 null中重表达carA基因的细胞能够完成多细胞的发育, 说明重表达细胞的趋化性得到恢复, 可以回答最初提出的科学问题。在这个过程中, 将在不同学科习得的知识和技术应用到新学科中, 有利于引导学生构建知识体系。

2 教学实践

本教学内容的学时安排具体为: 分子生物学实

验课计划36学时, 安排每周4学时, 单双周进行。具体教学中学时安排如下: 细胞培养6学时、基因组DNA提取4学时、PCR扩增4学时、质粒的热激转化及筛选4学时、质粒提取4学时、电转化4学时、多细胞发育4学时, 剩余学时进行实验室安全教育及期末考试等。实验中, 学生进行自由分组, 每个小组3~4人, 且整个学期组员固定不变。实验课考核内容包括: 预习作业(10%)、实验记录(20%)、实验结果(20%)、综合性实验报告(30%)、实验设计(20%)。在具体教学实践中, 教师在课前、课中和课后引导学生进行有目标的学习, 目的是把学生的被动接收变为主动学习。

2.1 课前引导学生进行有效的预习

预习是一种良好的学习习惯, 学生通过有效的预习, 不仅可以提高课堂听课效果, 而且还可以将被动听课变成主动听课。然而, 在学习压力较大的情况下, 学生的预习往往停留在浏览的阶段, 不能达到有效预习的目的。为此, 本教改针对每个独立的实验环节, 教师课前在泛雅学习平台上提供相关的学习资源(包括教学大纲、课件、主要参考文献等), 并发布预习作业, 学生需要结合相关学习资源及参考教材在课前完成。预习作业通常为实验的重点知识, 通过布置预习作业, 一方面帮助学生找到预习的方向, 尝试理解实验的关键知识点; 另一方面, 教师通过批阅学生的预习作业, 可以掌握学生的学习情况, 利于课堂上对学生难于理解的知识做重点讲解。学生在课前除了完成预习作业, 还需要将实验试剂的配制过程及实验流程整理好。该部分的目的是督促学生提前熟悉实验, 做到心中有数。当完成了上述两部分的作业, 学生对实验内容已经有了充分的了解, 从而达到有效预习的目的。

2.2 课中帮助学生培养科研态度

一直以来, 本科生的科研能力都是衡量和评估普通本科高校教育教学水平的一个重要指标^[9]。对于实践性很强的生物学本科生的培养而言, 实验课教学是培养学生科研能力的重要途径, 因此, 在实验课教学中, 让学生从一上手就养成良好的科研习惯, 这有助于帮助学生提升科研能力。为此, 本教学改革从实验记录、实验设计、实验结果呈现等方面来培养学生的科研诚信、科研思维以及科研能力。在具体实践教学中, 教师指导学生完善实验记录, 并“如实”记录实验的处理条件, 让学生体会科研的严

谨性。在课堂结束时, 要求学生当堂将结果写入实验记录, 指导学生进行准确的描述和适当分析。科研思维培养方面, 教师可向学生提供一些科研中真实的例子让学生讨论, 例如, 教师提供题为“将重组质粒中的信号肽进行更换的方案”的课堂讨论内容, 这一方面可以及时检验学生的学习效果, 另一方面, 可以培养学生的科研思维和科研兴趣。

2.3 课后帮助学生培养自主学习能力

自主学习能力是大学生应该具备的主要能力之一, 只有学生形成了较强的自主学习能力, 才能根据自己的学习情况, 有效利用学习资源开展学习、找到疑问, 从而完成知识和技能的内化^[10]。本次教学改革中, 教师负责指导学生理解和建立实验之间的联系, 但学生需要以学术论文形式撰写一份题为“盘基网柄菌细胞*carA*基因克隆”的实验报告。这就要求学生在课外需要对参考教材进行自主学习和整理, 尤其受课时限制不能展开的实验部分, 例如重组质粒的构建过程。基于学生对整个实验的理解和理论知识的掌握, 课外拓展部分的难度明显降低, 一定程度上增强了学生的学习自信心, 也逐渐培养了学生的学习能力。除了撰写实验报告, 学生还需要递交一份关于“*carA*基因克隆”的实验设计。实验设计和实验报告相辅相成, 以不同形式和思维方式呈现, 这种教学设计也有助于学生科研思维的训练。

3 教学成效

传统的教学模式是讲授式, 以教为中心, 注重知识的传输, 而忽视了学生的个性和能力的培养^[11]。生物学实验课教学作为培养学生科研能力的主要途径, 本教学改革的目标也是通过“问题情境”教学, 引导学生根据现象提出科学假设, 结合已有知识和新知识来回答问题, 从而构建知识体系。在整个过程中, 学生还可以获得文献搜索和阅读、实验设计、实验技术和论文撰写等与科研息息相关的能力的培养和提升。

笔者长期从事盘基网柄菌细胞趋电性和趋化性运动的研究^[12-13]。本教学设计也是基于科研反哺教学的想法, 将科研内容引入课堂, 在一定程度上调动了学生的积极性并增强了他们的使命感。然而, 在具体实施过程中, 也遇到一些困难。例如, 由于理论知识的滞后, 导致在实验初期, 学生对实验技术、原理的理解和掌握相对困难。此外, 课时安排为每

隔一周1次, 严重影响了实验的连贯性。但是, 从整个实验教学改革的效果来看, 学生对本教学改革反馈还不错, 在实验总结中, 不少同学提到本次分子生物学实验课有“终生难忘”的体验, 也有同学表示“更喜欢生物学专业”, 这些总结也反映出本教学改革的成功, 它在一定程度上激发了学生对生物学的学习兴趣, 达到了情感培养的最终目标。

参考文献 (References)

- [1] 赵运英, 徐国强, 曹春蕾, 等. 本科分子生物学课程教学的改革与效果[J]. 广东化工(ZHAO Y Y, XU G Q, CAO C L, et al. Reform and its effect of teaching molecular biology course for undergraduate students [J]. Guangdong Chemical Industry), 2015, 42(14): 234-5.
- [2] 刘冬梅, 洪权春, 朱晓琴, 等. 以学生为主体的“分子生物学实验”教学改革研究[J]. 商丘师范学院学报(LIU D M, HONG Q C, ZHU X Q, et al. Research on teaching reform of molecular biology experiment with students as the main body [J]. Journal of Shangqiu Normal University), 2019, 35(12): 102-4.
- [3] 王霞, 李昉, 梁成伟, 等. 生物工程专业“分子生物学”教学改革探讨[J]. 山东化工(WANG X, LI F, LIANG C W, et al. Discussion on teaching reform of molecular biology in bioengineering [J]. Shandong Chemical Industry), 2020, 49(15): 178-80.
- [4] 黄欣媛, 杨新河, 范红波. 浅谈本科分子生物学实验教学改革[J]. 新课程研究(HUANG X Y, YANG X H, FAN H B. Discussion on the reform of molecular biology experiment teaching [J]. New Curriculum Research), 2017(6): 97-8.
- [5] SAVERY J R, DUFFY T M. Problem based learning: an instructional model and its constructivist framework [J]. Educ Technol, 1995, 35(5): 31-8.
- [6] KLEIN P S, SUN T J, SAXE C L, et al. A chemoattractant receptor controls development in *Dictyostelium discoideum* [J]. Science, 1988, 241(4872): 1467-72.
- [7] MILNE J L, DEVREOTES P N. The surface cyclic AMP receptors, cAR1, cAR2, and cAR3, promote Ca^{2+} influx in *Dictyostelium discoideum* by a G alpha 2-independent mechanism [J]. Mol Cell Biol, 1993, 4(3): 283-92.
- [8] 高润池, 吴雪, 倪娟, 等. 将盘基网柄菌用于本科细胞生物学综合性实验教学初探——电穿孔转化绿色荧光蛋白[J]. 中国细胞生物学学报(GAO R C, WU X, NI J, et al. Preliminary study on the use of *Dictyostelium discoideum* in comprehensive undergraduate laboratory instruction in cell biology—transformation of green fluorescent protein by electroporation [J]. Chin J Cell Biol), 2020, 42(3): 493-8.
- [9] 吕书锋, 姜爱峰. 浅谈本科生物科研能力的培养与实践[J]. 课程教育研究(LÜ S F, JIANG A F. Discussion on the cultivation and practice of undergraduates' scientific research ability [J]. Course Education Research), 2020(45): 70-2.
- [10] 李文霞, 朱珊珊, 尚元东. 线上教学模式下大学生自主学习能力的实证研究[J]. 牡丹江大学学报(LI W X, ZHU S S, SHANG Y D. An empirical study on the self-regulated learning ability of college students under online teaching mode [J]. Journal of Mudanjiang University), 2020, 29(11): 91-8.
- [11] 赫杰, 史明, 聂桓, 等. 细胞生物学教学模式改革的探索与实践[J]. 中国细胞生物学学报(HE J, SHI M, NIE H, et al. Exploration and practice on the reform of teaching mode of cell biology [J]. Chin J Cell Biol), 2018, 40(3): 397-402.
- [12] GAO R, ZHANG X, SUN Y, et al. Different roles of membrane potentials in electrotaxis and chemotaxis of *dictyostelium* cells [J]. Eukaryot Cell, 2011, 10(9): 1251-6.
- [13] GAO R, JIANG X, ZHAO S, et al. A large-scale screen reveals genes that mediate electrotaxis in *Dictyostelium discoideum* [J]. Sci Signal, 2015, 8(378): ra50.