

# 细胞生物学课程实验创新模式与实践探索—— 以“细胞骨架的标记与观察综合实验的设计”为例

阎臻 杨军 彭锐 李成华 易培珊 牛孟孟\*

(生物科学国家级实验教学示范中心(四川大学), 成都 610064)

**摘要** 以学生为中心的层次化实验教学模式在细胞生物学教学改革中的探索和实践, 有助于全方位提升学生的综合素质, 在高校实验教学改革中发挥积极作用。细胞骨架的分布与定位是细胞生物学实验课程中的重要内容, 然而关于细胞骨架的标记与观察的综合性层次化实验教学设计鲜有报道。该文围绕细胞骨架的分布, 以体外培养的动物细胞为材料, 设计了“细胞骨架的标记与观察综合实验”, 实验内容涵盖了微管和微丝在细胞中的分布、细胞微管骨架的免疫标记方法、微丝骨架的荧光探针标记方法以及影响细胞骨架形态和分布的因素等多个知识点。实验项目包含了2个基础性实验“利用免疫荧光标记法观察上皮来源的人宫颈癌细胞中的微管”和“利用鬼笔环肽标记法观察上皮来源的人宫颈癌细胞中的微丝”; 1个拓展性实验“探究影响细胞骨架的因素”; 以及1个创新性实验“检测大鼠成纤维细胞(C6细胞)的细胞骨架分布”, 这4个实验构成了细胞骨架的标记与观察综合实验的层次化教学。该综合性实验的教学实践表明, 以学生为主导的实验层次化教学能够激发学生的学习兴趣, 提高学习的积极性和主动性, 提升分析问题、解决问题和综合运用知识的能力, 有助于学生创新实践能力和综合能力的培养。

**关键词** 细胞骨架; 免疫荧光; 鬼笔环肽; 实验教学; 教学改革

## Exploration on Innovative Mode and Practice of Cell Biology Experiments — Taking the Design of a Comprehensive Experiment on Labelling and Observation of the Cytoskeleton as an Example

YAN Zhen, YANG Jun, PENG Rui, LI Chenghua, YI Peishan, NIU Mengmeng\*

(National Demonstration Center for Experimental Biology Education (Sichuan University), Chengdu 610064, China)

**Abstract** The exploration and practice of student-centered hierarchical experimental teaching of cell biology experiments is conducive to improving the comprehensive quality of students, and plays a positive role in the reform of experimental teaching method in colleges and universities. The distribution and localization of cytoskeleton is an important part of the cell biology experiments, but the comprehensive experimental teaching design of cytoskeleton labelling and observation has rarely been reported. In this study, a comprehensive experiment on cytoskeleton labelling and observation were designed using cultured animal cells as materials, the contents of which covered the distribution of microtubules and microfilaments in cells, the immunolabelling technology of

收稿日期: 2023-08-04

接受日期: 2023-09-15

四川大学高等教育教学改革工程(第十期)项目(批准号: SCU10002)和四川大学实验技术研究项目(批准号: SCU1024)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13980591091, E-mail: niumm@scu.edu.cn

Received: August 4, 2023

Accepted: September 15, 2023

This work was supported by the Higher Education Teaching Reform Project of Sichuan University (Phase 10) (Grant No.SCU10002) and the Experimental Technology Research Project of Sichuan University (Grant No.SCU1024)

\*Corresponding author. Tel: +86-13980591091, E-mail: niumm@scu.edu.cn

cellular microtubules, fluorescence probe labelling of microfilament, and the factors affecting the morphology and distribution of the cell cytoskeleton. The experiment project consist of four parts: two basic experiments to observe the distribution of microtubules and microfilaments of human cervical cancer cells using immunofluorescence method or phalloidin labelling method respectively, one expansion experiment to explore the factors affecting the cytoskeleton distribution, and one innovative experiment to observe the cytoskeleton of rat mesenchymal cells (C6 cells), all of which constitute the hierarchical teaching of the comprehensive experiment in cell biology experiment course. Teaching practice of this comprehensive experiment shows that the student-centered hierarchical teaching stimulates students' interest in learning, improves their motivation and initiative in learning, enhances their ability to analyze and solve problems and apply knowledge comprehensively, playing critical roles in cultivating students' innovative and practical ability and comprehensive ability.

**Keywords** cytoskeleton; immunofluorescence; phalloidin; experiment teaching; teaching reform

作为生命科学领域重要的基础学科和前沿学科,细胞生物学在生物科学相关专业学生的知识构架中举足轻重<sup>[1]</sup>。而细胞生物学实验课程则是根据细胞生物学原理设计针对生命现象问题的实验方案,并基于所获得的数据用细胞生物学原理解释生理或病理条件下的细胞反应和功能;主要是为了巩固和加深学生对于细胞生物学理论知识的理解和应用,帮助学生应用细胞生物学的基本原理,并理解生命现象问题;训练学生分析问题、解决问题以及科学探索的能力,强化学生的实践能力从而提升学生的综合素质。

细胞生物学实验课程中的实验技能是生物学工作者生存、发展和取得创新性成果的必备技能<sup>[2]</sup>,然而现有的细胞生物学实验课程主要采用了传统的教学模式,即学生在固定的时间和地点根据任课教师的教学安排开展单一的、验证性的实验,并在课后提交相应的实验报告,然后教师进行模式化的批改和考核。这样虽然实验的成功率高,但不利于调动学生的积极性,束缚了学生的思维;而且随着细胞生物学相关领域的飞速发展,目前在这种教学模式下的细胞生物学实验课程内容较为陈旧,与理论课程知识脱节现象较明显,滞后于学科的发展现状。虽然这一模式能够帮助学生掌握部分的实验技能及其相关的理论知识,但学生通常处于被动参与实验的地位,其实验设计能力、科学创新能力和批判能力得不到应有的锻炼和提升,这种模式降低了学生学习的积极性和主观能动性。以开放创新实验为核心的综合性实验项目能够强化学生运用细胞生物学实验中的基本理论和方法分析解决问题的能力(包括自主设计实验方案、合理安排实验

进度以及科学分析实验结果等),有助于学生创新实践能力的培养<sup>[3-5]</sup>。因此,在原有基础性实验的前提下,针对细胞生物学实验课程中的综合性实验项目的教学设计与实践势在必行!

## 1 教学内容的设计与实施

### 1.1 教学内容设计

本文以“细胞骨架的分布与观察”为主题,从教学目标、知识体系、实验环节和能力素质4个方面对原有的验证性实验项目进行了整合和拓展,设计了细胞骨架的标记与观察综合实验(图1)。该综合实验包括4个板块:免疫荧光标记法观察人宫颈癌HeLa细胞中微管的分布;鬼笔环肽标记法观察人宫颈癌HeLa细胞中微丝的分布;探究影响细胞骨架分布与定位的因素的拓展性实验以及检测大鼠C6成纤维细胞的细胞骨架分布的创新性实验。该实验项目可操作性强,实验结果直观,拓展性实验能够激发学生的自主学习热情,创新性实验能够加强学生学习的主动性,进一步提升学生的综合能力。

### 1.2 教学实施

细胞骨架的标记与观察综合实验中的2个基础性实验板块共有8个学时,在课堂上完成:可以每周完成1个板块,两周完成基础性实验板块;也可以按照实验流程在1周内完成基础性实验板块。拓展性实验板块以半开放的形式在课下进行,学生根据教师提供的实验思路设计实验方案,教师进行指导和点评,并及时解答实验进行过程中的问题,重点培养学生利用实验原理和理论知识解决实验中遇到的实际问题的能力,实现学生对于细胞骨架相关知识触类旁通、举一反三的应用。创新性实验板块以开放

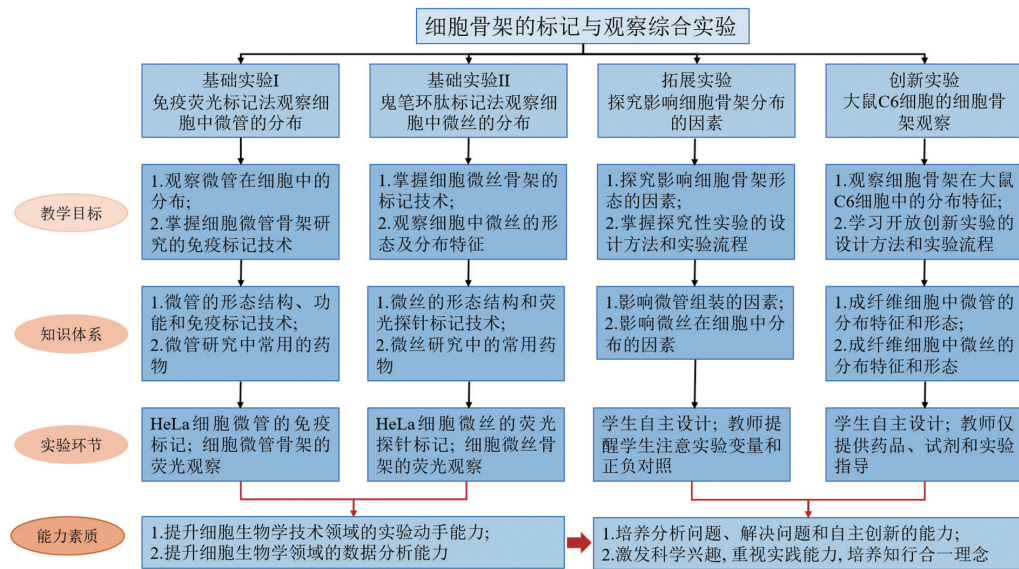


图1 细胞骨架的标记与观察综合实验设计图

Fig.1 Design of the comprehensive experiment on cytoskeleton labelling and observation

的形式在课下完成, 学生以小组为单位在实验开展之前自行查阅细胞骨架影响因素相关的文献, 自主设计观察大鼠C6成纤维细胞骨架的实验方案, 并在实验开展前进行汇报展示; 任课教师和实验教辅老师分别对各小组的方案进行指导并准备相关的仪器和药品, 各小组根据教师的意见完善实验方案后开展实验; 在实验过程中做好原始的实验记录, 并对实验结果进行科学的分析和讨论, 最后形成研究报告。

## 2 实验教学

### 2.1 实验准备

整个实验以小组为单位进行, 在实验开始之前, 将学生分为2人一小组。实验实施前, 由实验教师根据学生设计的方案提前准备实验所需的爬片细胞、试剂(包括常规试剂、抗体和药品等)、设备(细胞培养箱、生物安全柜和荧光显微镜等)和实验空间等。

### 2.2 实验过程

学生按照实验指导进行基础性实验, 在完成基础性实验之后, 教师向学生提供拓展性实验和创新性实验所需的参考资料<sup>[2,6-9]</sup>, 学生根据资料理清实验思路并设计实验方案。教师在指导过程中向学生强调实验过程中的关键操作和细节, 如细胞固定的时间和温度、通透溶液的浓度和处理时间、抗体孵育的浓度和时长、细胞松弛素等试剂的浓度和处理时长等。学生根据教师的建议修改实验方案后进行实验操作, 整个实验的流程图如图2所示, 学生在拓展

性实验和创新性实验板块中的自主性较强并处于实验设计的主导地位。

### 2.3 实验考核

本实验中的基础性实验板块要求学生掌握细胞生物学实验中细胞骨架标记技术的基本原理及方法, 学会观察染色后的细胞骨架形态及分析相应的实验现象及结果, 并以规范的格式完成实验报告。拓展性实验和创新性实验板块要求学生利用细胞骨架相关的理论知识设计实验探究影响细胞骨架形态和分布的因素, 自主设计实验方案观察不同类型细胞(大鼠C6细胞)的细胞骨架, 并以规范的格式撰写相应的包含实验背景、实验设计方案、原始记录和实验结果分析的研究报告。教师在对实验报告和研究报告进行考核的时候要求报告格式基本完整, 重点考察学生对于实验结果的分析 and 讨论。不同实验组间细胞微丝观察效果的差异是由哪些因素导致的? 细胞微丝观察过程中导致荧光淬灭的客观因素有哪些? C6细胞与HeLa细胞在形态上的差异是否与细胞内部的微丝分布有关? 此外, 教师还比较关注学生对于实验过程的总结和思考, 比如学生对于细胞微管和微丝观察过程中关键操作的分析以及实验方案的改进等。

## 3 教学探讨

### 3.1 教学效果

细胞骨架的标记与观察综合实验项目已经面



图2 细胞骨架的标记与观察综合实验的流程图

Fig.2 Flow chart of comprehensive experiment on cytoskeleton labelling and observation

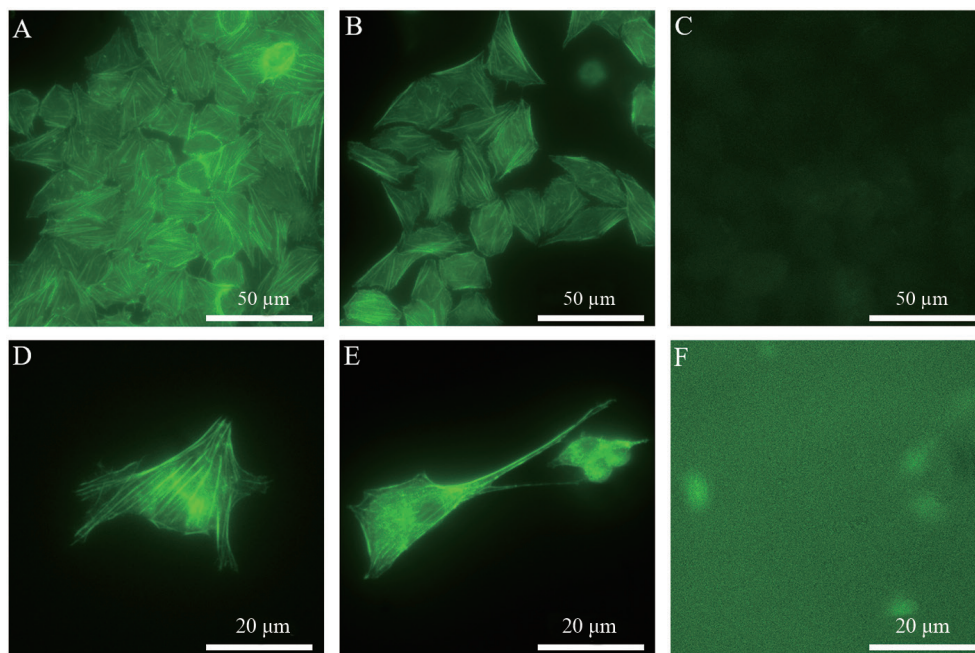
向生物科学、基础医学和计算生物学等专业的300余名本科生开设,学生在细胞骨架的标记与观察综合实验研究报告中的反馈显示,100%的学生理解了细胞内部微管、微丝和中间丝等细胞骨架分布的特点,掌握了细胞微管和微丝研究中常用的免疫标记技术和荧光探针标记技术。97.41%的学生都在2个基础性实验中观察到了微管和微丝的分布,实验结果显示在暗场中由于细胞发出的绿色荧光与黑色背景色差对比度较高,可清晰看到HeLa细胞呈梭型排列,紧贴黏着斑的细胞质内侧有大量呈束状排列的微丝(呈现绿色荧光)(图3A和图3B),而没有鬼笔环肽标记的对照组视野中则不显示HeLa细胞及其微丝形态(图3C);大鼠C6细胞呈不规则的多边形,微丝结构在边缘突起部分的分布密度较高(图3D和图3E),没有鬼笔环肽标记的对照组视野中则不显示大鼠C6细胞及其微丝形态(图3F)。89.65%的学生表示通过拓展性实验和创新性实验,锻炼了他们运用理论知识解决实验中具体问题的能力,其中的自主设计部分激发了他们的学习热情和探究科学问题的兴趣,以上结果显示本实验项目的教学效果不错。

以学生为主导的拓展性实验和创新性实验,能够充分调动学生学习的积极性,使其主动去探索不同药物/试剂对细胞骨架产生的影响从而分析影响细胞骨架分布和定位的因素;实验方案的设计、完善和实施的整个过程不仅提高了学生动手操作的能

力,而且提高了学生思考并解决实际问题的能力。实验结果良好的同学能够通过本次实验获得成就感和自信心,其学习动力和对实验教学的兴趣均能得到显著提高;实验结果不理想的同学能够在发现问题时与教师沟通,及时调整实验方案,提升基本的科研素养,养成良好的科研习惯,为后续的学习和深造奠定基础。总的来说,细胞骨架的标记与观察综合实验可操作性较强,实验内容难度适中且具有较强的灵活性,实验在实施过程中取得了良好的教学效果,学生对于教学设计和实验指导十分认可。该实验项目值得在不同层次的细胞生物学实验课程中应用和推广。

### 3.2 教学反思

**3.2.1 细胞骨架的标记与观察综合实验的特色** 本实验创新性地围绕“细胞骨架的分布与定位”主题设计了基础性实验、拓展性实验和创新性实验,这一教学设计在国内高校细胞生物学实验课程的教学改革中也具有独有的开创性。该综合性实验项目在基础性实验内容的基础上,通过选用不同株系的肿瘤细胞材料和不同的处理方式、改进现有教学内容的设计以及实验课程考核方式等,将原有的多个单一的、线性的验证性实验项目进行了全面的优化和拓展,使细胞骨架的标记与观察综合实验形成了3个教学层次——基础性实验、综合性实验和创新性实验(图4),实验内容由浅入深,环环相扣。



A、B: 鬼笔环肽染色后的HeLa细胞微丝; C: 对照组中的HeLa细胞微丝; D、E: 鬼笔环肽染色后的大鼠C6细胞微丝; F: 对照组中的大鼠C6细胞微丝。  
A,B: the FITC-phalloidin labeled microfilament in HeLa cells; C: the microfilament in control cells; D,E: the FITC-phalloidin labeled microfilament in rat C6 cells; F: the microfilament in control cells.

图3 学生的微丝标记与观察实验结果图

Fig.3 Results of microfilament labelling and observation experiment from students

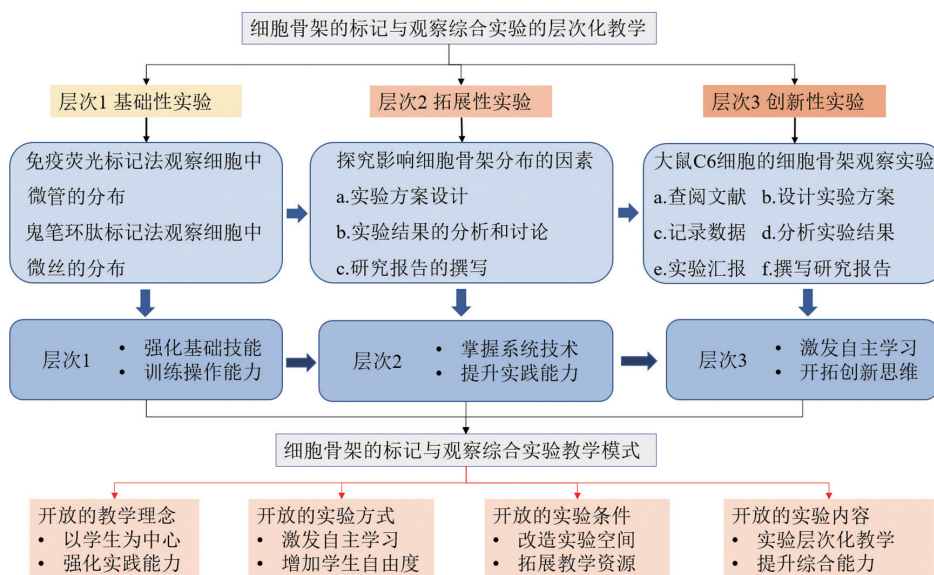


图4 细胞骨架的标记与观察综合实验的层次化教学

Fig.4 Hierarchical teaching of the comprehensive experiment on labelling and observation of cytoskeleton

在探究影响细胞骨架的因素拓展性实验和大鼠C6细胞的细胞骨架观察创新性实验中, 学生自主设计实验方案、安排实验进程, 并对实验结果进行分析和讨论。这一实践教学活能够充分调动学生学习和参与实验的积极性<sup>[10]</sup>, 进一步培养学生的

实践动手能力和分析解决问题的能力; 项目式教学方法的应用<sup>[11]</sup>、符合科研规范的实验记录与研究报告的撰写的引入<sup>[12]</sup>, 优化了原有的细胞生物学实验课程教学模式, 加深了学生对于细胞骨架相关理论知识的理解, 进一步锻炼了其运用理论知识分析解

决问题的能力,充分发挥了学生的自觉性、独立性和创造性<sup>[13]</sup>,有利于提高学生的专业素质和综合能力<sup>[14]</sup>,显著提升了实验课程的教学效果。同时,该实验项目将细胞生物学实验课程中的多个验证性实验进行了整合和拓展,形成了以开放创新实验为核心的综合性、设计性和开放创新性的层次化实验教学模式。该模式的实践不仅加强了学生对于细胞生物学实验基本方法和技术的运用,强化了学生运用细胞生物学实验中的基本理论和方法分析解决问题的能力(包括自主设计实验方案、合理安排实验进度以及科学分析实验结果等),而且有助于学生专业实践能力、创新能力和信息化应用能力的培养,助力具备专业知识和实践与创新能力的复合型人才的培养,为学生后续的科研和深造打下坚实的基础。

**3.2.2 细胞骨架的标记与观察综合实验的灵活性**

四川大学生命科学学院在每年的春季学期承担生命科学学院生物科学(拔尖班、强基计划和基地班)、计算生物学和华西基础医学与法医学院基础医学专业(拔尖班、强基计划和基地班)将近300人的细胞生物学实验教学。根据专业特点和学生背景设置不同的实验内容一直是四川大学细胞生物学实验课程的教学改革探索的重点。该实验项目是在这样的教改背景下依托四川大学实验技术立项项目探索实施的,实验内容涉及细胞免疫标记技术、荧光标记技术等实验操作。具体实施的方案是根据学生的学情背景安排的,生物科学专业学生的细胞生物学实验课程在二年级的春季学期开课,由于他们已经先修过生物化学、微生物学、动物生物学及其实验等课程,可在上课时安排综合实验的所有内容作为必修内容,使学生深入和全面地理解细胞骨架的分布与定位,在拓宽知识面的同时培养学生的综合能力;而基础医学专业学生的细胞生物学实验课程在一年级的春季学期开课,由于他们的先修课程有限,在课程安排时仅将2个基础性实验作为必修内容,根据学生自己的兴趣将拓展性实验和创新性实验设置为选修内容,最大程度地保证实验教学效果。

## 4 结语

细胞生物学实验课程是巩固和加深学生对细胞生物学课程理论知识的理解、验证细胞生物学理论并帮助学生初步掌握细胞生物学研究必需的基本

实验技能的重要依托,能够培养学生进行实验验证、实验设计和实验数据分析的能力。本实验项目针对“细胞骨架的标记与观察”这一主题,从教学设计、实验内容和实验考核3个方面进行设计和实践。项目通过基础性实验、拓展性实验和创新性实验,拓展了原有实验教学的深度和广度,形成了以学生为中心、人才培养为导向的层次化的细胞生物学实验教学模式。该模式将理论教学与实际应用相结合,将科学思维培养和实践能力训练相融合,实现了实验教学与人才培养的有机结合,进一步推动了细胞生物学实验教学的发展和相关学科的建设。层次化实验教学模式在细胞生物学教学改革中的探索和实践,有助于全方位提升学生的综合素质,契合“双一流”建设背景下高校创新型复合人才培养的目标,必将在高校实验教学改革中发挥积极作用。

## 参考文献 (References)

- [1] 丁明孝,王喜忠,张传茂,等. 细胞生物学, 5版[M]. 北京: 高等教育出版社, 2020.
- [2] 邹方东,苏都末日根,王宏英,等. 细胞生物学实验指南, 3版[M]. 北京: 高等教育出版社, 2020.
- [3] 汪超,薛冉,孙平新,等. 基于单克隆抗体制备的综合性实验设计[J]. 基础医学教育(WANG C, XUE R, SUN P X, et al. Comprehensive experimental design based on monoclonal antibody preparation [J]. Basic Medical Education), 2021, 23(6): 403-6.
- [4] 李奇志,杨业秋,夏姝,等. 动物细胞骨架微丝标记与观察综合性实验的探索[J]. 生物学通报(LI Q Z, YANG Y Q, XIA S, et al. The exploration of animal cytoskeleton microfilament labeling and observation comprehensive experiment [J]. Bulletin of Biology), 2021, 56(2): 53-7.
- [5] 李巧峡,丁兰,许欣欣,等. 以“细胞骨架组分分布于定位”为主题的细胞生物学实验课程设计探索[J]. 高校生物教学研究(电子版)(LI Q X, DING L, XU X X, et al. The study of curriculum design in undergraduate cell biology experimental teaching through the subject of the distribution and location of cytoskeleton in cell [J]. Biology Teaching in University, Electronic Edition), 2020, 10(1): 52-6.
- [6] 王宏刚,陈成彬,王春国,等. 细胞骨架观察实验的改进[J]. 实验技术与管理(WANG H G, CHEN C B, WANG C G, et al. Improvement of observation of cytoskeleton experiment [J]. Experimental Technology and Management), 2014, 31(9): 47-9.
- [7] 王敏君,刘清桂,陈费. 细胞骨架中微丝观察实验的优化探索[J]. 基础医学教育(WANG M J, LIU Q G, CHEN F. Optimization of observation experiment of microfilaments in cytoskeleton [J]. Basic Medical Education), 2022, 24(10): 750-2.
- [8] 刘珠琴,姜雪婷,徐国华,等. 细胞松弛素B和鬼笔环肽对梨花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报(LIU Z Q, JIANG X T, XU G H, et al. Effects of cytochalasin B and phalloidin on *Pyrus pyrifolia* self-incompatible pollen germination and tube growth [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica), 2008, 28(12): 2393-9.

- [9] 张文霞, 康宏, 吕玮, 等. 细胞松弛素B对山羊颞下颌关节盘细胞及细胞骨架肌动蛋白的影响[J]. 口腔医学研究 (ZHANG W X, KANG H, LÜ W, et al. Effects of cytochalasin B on function and actin cytoskeleton of goat temporomandibular joint disc cells [J]. Journal of Oral Science Research), 2016, 32(8): 775-9.
- [10] 印尤强, 王永飞, 张成武, 等. 螺旋藻应用于植物生理学综合性实验教学的探索与实践[J]. 实验科学与技术 (YIN Y Q, WANG Y F, ZHANG C W, et al. Exploration and practice of the application of *Spirulina* in comprehensive experimental teaching of plant physiology [J]. Experiment Science and Technology), 2023(1): 125-9.
- [11] 刘正杰, 董玉梅, 林春. 项目式教学法在细胞生物学实验教学中的应用[J]. 大学教育 (LIU Z J, DONG Y M, LIN C. Application of project-based teaching method in cell biology experimental teaching [J]. University Education), 2022(1): 79-81.
- [12] 张艳玲, 郭四稳. 科研方法在实验教学和创新能力培养中的应用[J]. 教育教学论坛 (ZHANG Y L, GUO S W. Research methods are applied in the experimental teaching and innovative and practical ability training [J]. Education Teaching Forum), 2016(11): 257-9.
- [13] 刘新红, 刘超, 郭嘉伦, 等. 基于科研项目的生物综合性大实验驱动学生创新能力提升的实践和探索[J]. 教育科学 (LIU X H, LIU C, GUO J L, et al. Practice and exploration of biology comprehensive grand experiment driving students' creative ability enhancement based research project [J]. Educational Sciences), 2023(5): 148-51.
- [14] 张萍, 秦敏君, 郑有丽, 等. 以能力培养为导向的细胞生物学实验课程思政建设[J]. 实验室研究与探索 (ZHANG P, QIN M J, ZHENG Y L, et al. Curriculum ideological and political education construction in cell biology experiment course oriented by ability cultivating [J]. Research and Exploration in Laboratory), 2023, 42(2): 226-30.