

教学研究

巨噬细胞吞噬实验跨学科混合式教学模式的探索与实践

李奇志* 张耀文 袁雅燕 刘亚丰 周爱文 阮晶 雷敏

(华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074)

摘要 吞噬实验是细胞生物学、免疫学和微生物学的经典实验,但当前的实验教学在内容设计上既缺乏学科之间的融合,又鲜有把虚拟实验应用在吞噬实验教学中。笔者所在教学团队以小鼠巨噬细胞系RAW264.7为实验对象,荧光标记的大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)为示踪物,探讨巨噬细胞经典活化前后细胞形态与吞噬功能的改变。根据授课学生的知识领域特点,设计以细胞生物学为主线内容,免疫学和微生物学等学科作为辅助和补充,借助线上学习平台和学院优质的虚拟实验平台,为学生提供与线下教学紧密联系的线上学习内容。同时采用传统经典课堂教学结合半开放实验教学的多元化混合式教学模式,并建立多维的考核评价体系。通过这些教学改革举措的实施,把与吞噬作用相关的细胞生物学、免疫学和微生物学等学科知识点有机地融合在一起,旨在使学生能够更深入全面地理解吞噬作用这一生命活动,有效地激发了学生创新和探索的意识,同时也拓展了实验教学模式。

关键词 细胞生物学实验; 教学改革; 巨噬细胞RAW264.7; 吞噬作用; 混合式教学

Exploration and Practice of Interdisciplinary Mixed Teaching Mode of Macrophage Phagocytosis Experiment

LI Qizhi*, ZHANG Yaowen, YUAN Yayan, LIU Yafeng, ZHOU Aiwen, RUAN Jing, LEI Min

(College of Life Sciences, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract Phagocytosis experiment is a classic experiment of cell biology, immunology and microbiology. However, the current experimental teaching rarely considers the integration of these disciplines in content design, and there are few applications of virtual experiments in the teaching of phagocytic experiments. The teaching team of the author introduced mouse macrophage line RAW264.7 as the experimental object and fluorescent labeled *Escherichia coli* BL21 (*pET-28a-mCherry*) as the tracer to explore the changes of cell morphology and phagocytic function before and after classical activation of macrophages. According to the characteristics of the knowledge field of the students, the content of cell biology is designed as the main line, and the disciplines of immunology and microbiology are used as auxiliary and supplement. With the help of online learning platform and the college's high-quality virtual experiment platform, online learning content closely related to offline teaching is provided for

收稿日期: 2024-09-03

接受日期: 2025-01-02

华中科技大学实验技术研究项目(批准号: HZKJSYJSXM2024M024)资助的课题

*通信作者。Tel: 027-87793173, E-mail: liqizhi@edu.hust.cn

Received: September 3, 2024

Accepted: January 2, 2025

This work was supported by the Huazhong University of Science and Technology Teaching Reform Project (Grant No.HZKJSYJSXM2024M024)

*Corresponding author. Tel: +86-27-87793173, E-mail: liqizhi@edu.hust.cn

students; at the same time, this team adopted the diversified mixed teaching mode combined traditional classical classroom teaching with semi-open experimental teaching, and established a multi-dimensional evaluation system. Through the implementation of these teaching reform measures, the knowledge points of cell biology, immunology, microbiology and other disciplines related to phagocytosis are organically integrated, aiming to enable students to comprehensively understand phagocytosis, which is a life activity, effectively stimulate students' awareness of innovation and exploration, and expand the experimental teaching mode.

Keywords cell biology experiment; reform of teaching; macrophage RAW264.7; phagocytosis; blended teaching

细胞吞噬作用是机体一种复杂的生物学功能, 主要由吞噬细胞如巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞等介导, 其中巨噬细胞是研究吞噬功能的主要对象^[1]。目前国内很多高校在细胞生物学、免疫学和微生物学的实验教学中有开设巨噬细胞的吞噬实验^[2-4]。但是这些实验普遍存在以下不足: 缺乏学科之间的内容交叉, 实验设计没有打破学科之间的壁垒, 实验的全局性设计得不够周全; 实验材料大部分来源于老师在课前诱导的小鼠腹腔巨噬细胞, 这于当今动物伦理建设中要求减少对实验动物的依赖, 积极践行实验动物福利的“3R”(replacement, reduction, refinement)准则不符^[5]; 鲜有将虚拟实验引入吞噬实验教学。

近几年来随着网络技术的不断发展和教育理念的持续更新, 各种教学平台和虚拟仿真技术的出现, 给细胞吞噬作用的实验教学内容与形式提供了调整与创新的空间。华中科技大学生命科学与技术学院拥有完整健全的细胞生物学虚拟实验仿真平台, 虚拟实验既有动物细胞原代和传代培养等细胞生物学核心实验内容, 也有高成本的大型仪器例如流式细胞仪、共聚焦荧光显微镜的原理和使用, 丰富的虚拟实验内容给实验教学改革提供了新的路径^[6]。学院自2014年已经在细胞生物学实验教学开展了动物细胞的胞吞作用, 积累了丰富的教学经验^[7]。近两年细胞生物学教学团队对细胞吞噬实验内容进行了更深入地改革和探索, 设计了以小鼠巨噬 RAW264.7 细胞系为实验材料, 以细胞生物学为主线, 交叉免疫学和微生物学等学科的综合设计性的实验内容。同时实施线上线下、虚实结合以及半开放式与传统教学相结合的教学模式, 鼓励学生利用所学的理论知识和实验技能、关注学科之间的交叉研究热点, 达到提高学生的学习兴趣和创新能力的目的。

1 实验原理

1.1 细胞的吞噬作用

吞噬现象最早由俄国科学家伊利亚·梅奇尼科夫(Elia MECHNIKOV)在海星幼体中发现, 启动科学家对先天免疫的研究, 他因此获得了1908年诺贝尔生理学或医学奖。吞噬是细胞摄取大于 $0.5\ \mu\text{m}$ 颗粒的过程, 也是机体内的一种防御机制。多细胞生物免疫系统中, 吞噬作用是清除病原体和细胞碎片的主要途径。吞噬作用与机体发育、炎症、组织重塑和修复、先天性和获得性免疫、细胞外和细胞内感染相关, 并参与自身免疫性和代谢紊乱等疾病防御调控等^[8]。

1.2 吞噬细胞的分类

吞噬细胞有两类: 专职吞噬细胞和非专职吞噬细胞。专职吞噬细胞包括巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞和中性粒细胞等, 它们体内和体外均具有高效吞噬能力, 巨噬细胞长期以来一直被称为凋亡细胞和外源颗粒例如细菌等的专职吞噬者^[9]。非专职吞噬细胞有上皮细胞和成纤维细胞等, 它们不是专门执行吞噬作用的细胞, 只能在某些特定条件下如在专职吞噬细胞缺失的部位发挥吞噬作用, 具有补充专职吞噬细胞防止促炎细胞内容物释放的功能^[10]。

1.3 巨噬细胞的极化

巨噬细胞在各种刺激剂的作用下, 其形态和功能均会发生明显的改变。巨噬细胞的极化是吞噬作用的一个重要概念, 目前又被称为巨噬细胞的表型转换或巨噬细胞的重编程, 指巨噬细胞在不同刺激下表现出不同的功能和表型特征^[11]。根据表型和分泌细胞因子的差异, 将巨噬细胞极化分为经典活化的巨噬细胞M1型(classically activated macrophage, CAMs or M1)和替代活化的巨噬细胞M2型(alternatively activated macrophage, AAMs or M2), 它们共同调节其所处内环境的稳态。其经典活化途径是在LPS(lipopolysaccharide)或/和干扰素 γ (interferon- γ ,

IFN- γ) 诱导下生成的, 主要功能是降解细胞内的微生物。

2 实验项目的教学设计

2.1 授课对象的选择

笔者所在的细胞生物学教学团队授课对象既有大一的医学生, 也有生命科学与技术学院大二的学生。生命学院生物技术和生物科学这两专业的学生在大学一年级已经进行了“普通生物学实验”和“生物科学与技术实验”这两门课程的完整学习, 具备一定生物技术的知识储备; 他们大学二年级上学期与细胞生物学同时开展的课程有生物化学, 下学期有微生物学、免疫学、遗传学和分子生物学。基于对学生的专业特点、学科之间学习的连贯性、专业知识积累程度的充分考虑, 本项目实验选择生命学院的大二生物技术和生物科学这两专业共有6个班180名学生作为授课对象。

2.2 实验教学目的

细胞的吞噬作用功能复杂, 内容涉及细胞生物

学、免疫学和微生物学等多个学科。该实验的目的是为学生提供整合多学科知识、技能和方法的机会, 学生能够在实验中体会到不同学科知识的融合与应用。通过完成实验项目后学生不仅能形成对吞噬活动相对完整的知识体系, 还可实现全面提升科学素养和实践能力的目标。

2.3 实验教学的重难点

实验教学的重点是巨噬细胞传代培养、吞噬物大肠杆菌 BL21(*pET-28a-mCherry*) 的准备、混合孵育的观察及数据分析解释等技术环节。教学的难点是荧光显微镜的使用、细胞极化的概念和荧光菌的选择。

2.4 学时安排

实验项目总共分为3个部分(图1)。鉴于学生在课程前段已经完成了动物细胞胰酶传代法和细胞计数的学习, 对无菌操作有一定的体会。本项目的巨噬细胞传代培养是机械传代法, 教师提前录制微课(图2)发布在教学平台, 无需再次集中课堂讲解传代方法, 因此在第一次课两学时的教学模式采取的半

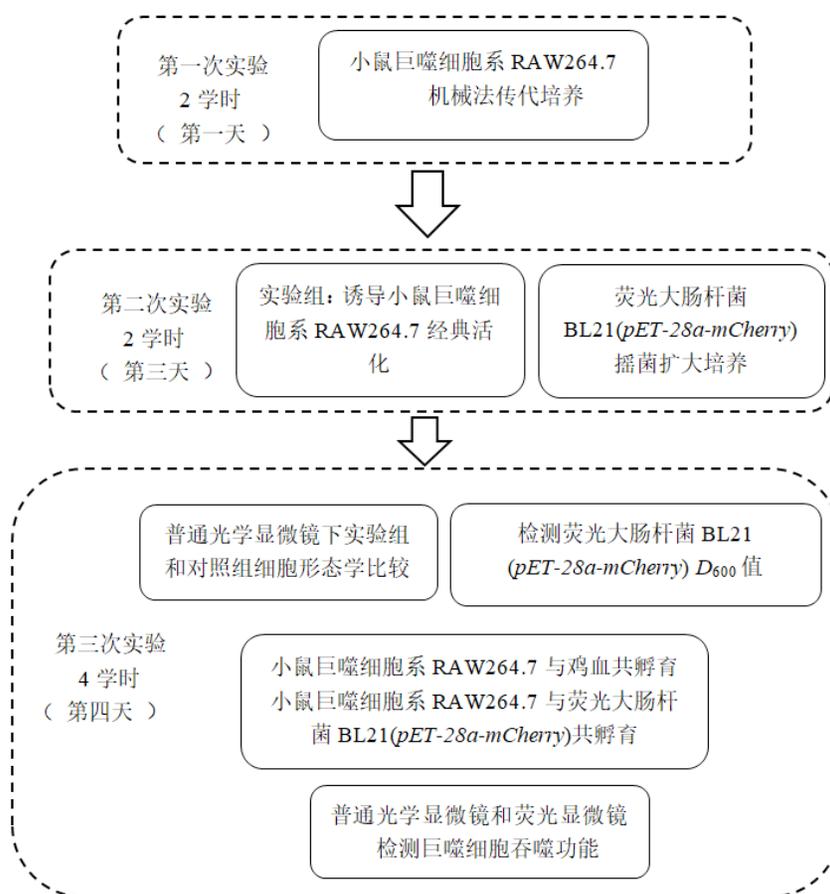


图1 实验流程图

Fig.1 Schemes of experimental processes

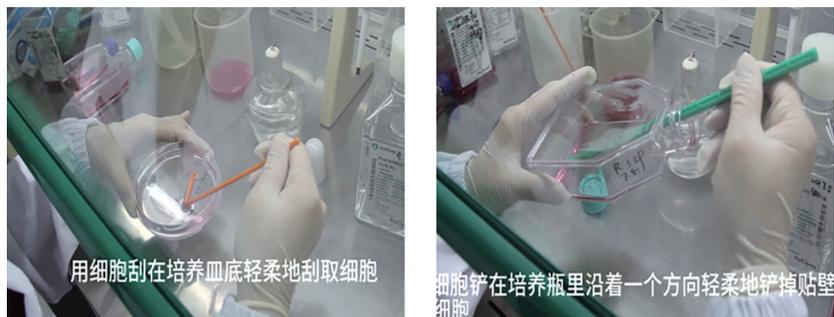


图2 教师录制的细胞机械传代法的微课视频

Fig.2 Micro-course video of cell mechanical passage method recorded by teachers

开放式实验教学来完成。学生在完成老师针对性的线上预习作业后,可以在班级的微信群或QQ群里跟老师预约实验时间进行实操。第一次实验在1~10节课的时间段都向学生开放,学生可以根据自己的时间和细胞的生长状况等灵活选择实验时间。这样避免传统实验教学中时间固定、学生被动参与的问题。学生操作时教师主要起指导和监督作用,确保实验的安全性和科学性。实验内容承上启下,后面两次实验课所用的实验材料例如细胞爬片和荧光菌都是学生自己亲自动手培养的结果。学生对实验充满了期待、也能领略到科学研究的严谨性,激发了他们学习的热情和探究科学问题的潜能。第二次实验2学时学生操作相对简单,主要由教师讲解实验原理和方法,集中解答学生的预习问题。第三次实验4学时以学生突破技术操作难点为主,例如荧光显微镜激发光滤光片的选择、维护、细菌 D 值的测定等。教师针对性地作实验操作示范、并对学生进行个性化指导。

2.5 实验材料与设备

实验所用小鼠巨噬细胞RAW264.7和荧光大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)由华中科技大学生命科学与技术学院纳米医药与生物制药系赠送;2%鸡血细胞阿氏液抗凝保存;高糖DMEM购自美国HyClone公司;荧光显微镜购自日本Nikon公司;显微互动系统购自Motic公司。

3 实验步骤

小鼠巨噬细胞RAW264.7的复苏由老师在课前准备完成。待细胞融合度达到70%左右时进行传代。

3.1 RAW264.7细胞的机械传代培养(实验一,2学时)

实验分组为2名学生一组,每位学生利用细胞铲和吸管进行细胞传代,按照 $1 \times 10^4/\text{mL}$ 的浓度接种

在新的培养皿中,并在培养皿中加入盖玻片做细胞爬片。

3.2 RAW264.7细胞的极化、大肠杆菌的培养(实验二,2学时)

学生在实验组的培养皿里加入刺激物LPS(终浓度为 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$),对照组细胞不做任何的炎性处理,将细胞培养皿重新放回细胞培养箱中继续培养24 h。

取荧光大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)菌液按照1%接种量接种于含卡那霉素的LB液体培养基中, 37°C 、200 r/min连续振荡培养16 h。

3.3 巨噬细胞与吞噬示踪物共孵育与吞噬功能检测(实验三,4学时)

取已摇好的大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)测量细菌的 D_{600} 值并调整到 D_{600} 等于0.6即可进行后续实验。

实验组和对照组细胞分别加入200 μL 2%鸡血细胞和20 μL 制备好的荧光菌液, 37°C 二氧化碳培养箱共孵育。

在30 min、60 min时间点分别取出培养箱里共孵育的培养皿,其中与鸡血共孵育的培养皿用瑞氏-吉姆萨混合染液染色,与大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)共孵育的培养皿用Hoest33258荧光染料染色,PBS洗涤后,分别用普通光学显微镜和荧光显微镜观察并计算吞噬率和吞噬指数。

4 实验结果与分析

4.1 小鼠巨噬细胞RAW264.7的诱导前后形态学的比较

机械传代法后的细胞多为圆形或卵圆形、透亮且边缘光滑的单核细胞,少数细胞为梭型(图3A);经LPS诱导后的细胞体积增大,椭圆形细胞增多,多核细胞和细胞凸起明显增多,有的细胞可见明显的伪

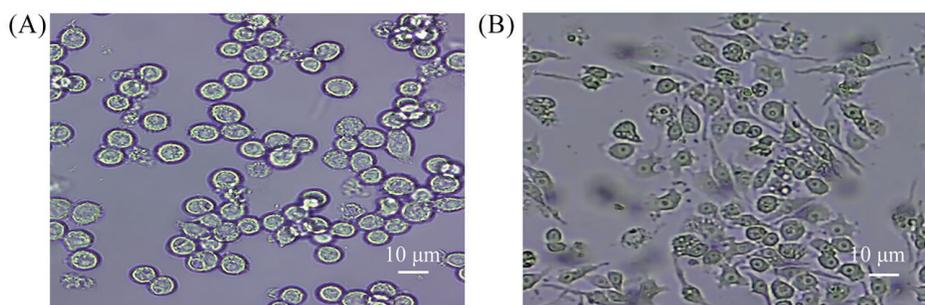
足(图3B)。这种形态的变化有助于它们更有效地吞噬和清除外来的病原体。

4.2 小鼠巨噬细胞RAW264.7诱导前后吞噬功能检测

4.2.1 小鼠巨噬细胞RAW264.7诱导前后吞噬鸡血细胞的比较 巨噬细胞与鸡血细胞共孵育30 min时即可观察到对照组和实验组均能吞噬多个鸡血细胞,活化的多核巨噬细胞通过伪足包裹鸡血细胞,也能见到一个细胞吞噬多个鸡血细胞(图4A和图4C);随着共孵育时间延长到60 min,对照组和实验组巨噬细胞吞噬鸡红细胞的数目会迅速增加(图4B和图

4D);在实验组中能够观察到一个活化的巨噬细胞吞噬几十个鸡血细胞(图5),说明活化的巨噬细胞有着很强的吞噬潜力^[12]。

4.2.2 RAW264.7细胞活化前后吞噬大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的比较 在荧光显微镜下可清晰地观察到对照组的细胞形态为规则的圆形或椭圆形,细胞大小也相对均匀,视野中细胞的形态和大小均没有显著的差异(图6A和图6B);实验组中细胞因受到LPS的刺激,细胞形态变得更为扁平或不规则,有的细胞伸出长的伪足,其吞噬的红色荧光大肠杆菌也多于对照组(图6C和图6D)。

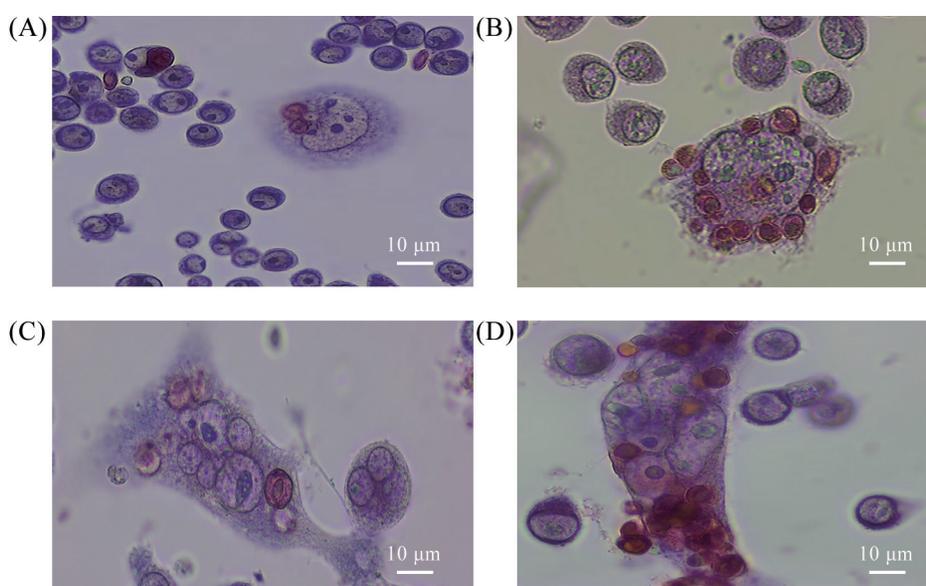


A: 不加任何处理的细胞对照组; B: 加入LPS处理的细胞实验组; 此结果为学生实验结果代表图。

A: cell control group without any treatment; B: experimental group of LPS induced activation; here just showed one representative result from students.

图3 倒置相差显微镜观察小鼠巨噬细胞RAW264.7的细胞形态

Fig.3 The cell morphology of mouse macrophage RAW264.7 was observed by inverted phase contrast microscope

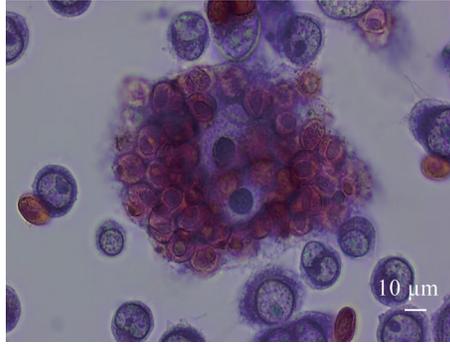


A、B: 不加任何处理的细胞对照组; C、D: LPS诱导活化的实验组; 此结果为学生实验结果代表图。

A,B: cell control group without any treatment; C,D: experimental group of LPS induced activation; here just showed one representative result from students.

图4 显微镜下观察对照组和实验组小鼠巨噬细胞RAW264.7吞噬鸡血的图像

Fig.4 The images of control group and experimental group mouse macrophage RAW264.7 engulfing chicken blood were observed under microscope

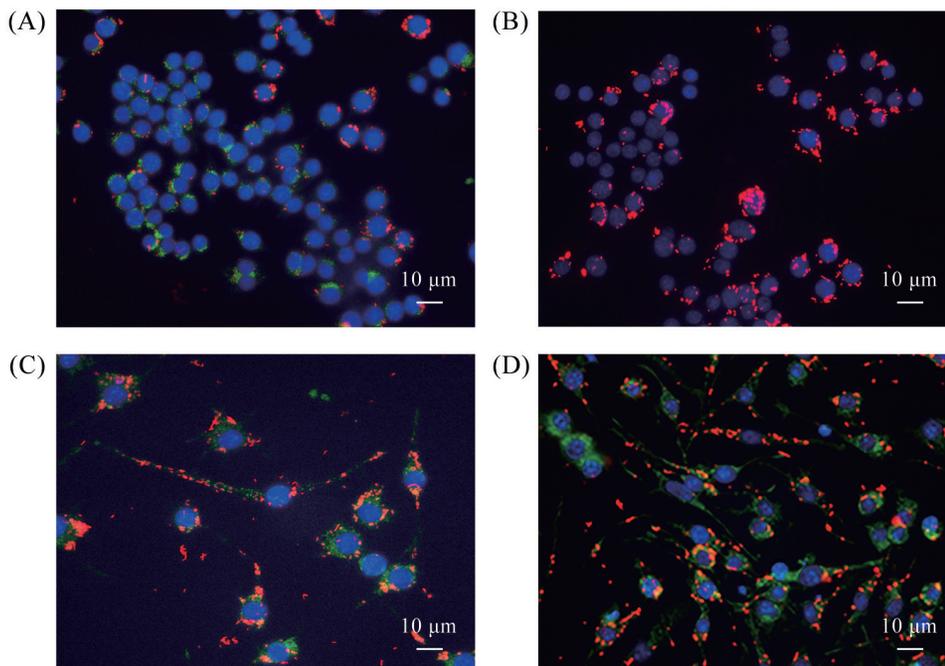


此结果为学生实验结果代表图。

Here just showed one representative result from students.

图5 显微镜下观察实验组RAW264.7巨噬细胞吞噬鸡血60 min时的图像

Fig.5 The image of the experimental group RAW264.7 macrophages engulfing chicken blood for 60 min was observed under microscope



A、B: 对照组小鼠巨噬细胞RAW264.7共孵育大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*) 30 min、60 min时的荧光图像; C、D: 实验组30 min、60 min时的荧光图像; 可以观察到实验组巨噬细胞吞噬的荧光大肠杆菌明显多于对照组; 蓝色荧光为Hoest33258标记的细胞核、红色荧光为大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*); 此结果为学生实验结果代表图。

A,B: the fluorescence images of control mouse macrophage RAW264.7 co-incubated with *E. coli* BL21 (*pET-28a-mCherry*) for 30 min and 60 min; C,D: the fluorescence images of the experimental group at 30 min and 60 min, respectively; it could be observed that macrophages in the experimental group phagocytose more fluorescent *E. coli* than the control group; blue fluorescence for Hoest33258-labeled nuclei, red fluorescence for *E. coli* BL21 (*pET-28a-mCherry*); here just showed one representative result from students.

图6 荧光显微镜下小鼠巨噬细胞RAW264.7活化前后吞噬大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的图像

Fig.6 Image of phagocytosis of *E. coli* BL21 (*pET-28a-mCherry*) by mouse macrophage RAW264.7 was observed before and after activation under fluorescence microscope

4.2.3 小鼠巨噬细胞RAW264.7吞噬鸡红细胞和荧光菌的吞噬百分率和吞噬指数 实验组巨噬细胞吞噬鸡红细胞和大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的吞噬率和吞噬指数均高于对照组,从实验组和

对照组巨噬细胞的吞噬指数可以看出,巨噬细胞对大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的吞噬数量比吞噬鸡红细胞数量大,说明巨噬细胞对大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的吞噬能力更强(表1)。

5 跨学科多元化混合式教学模式改革的探索

该实验项目在有限的学时内让大学二年级的学生从细胞传代开始操作,并诱导细胞极化,培养荧光菌,检测细胞与吞噬物共孵育和吞噬功能,内容涉及细胞生物学、免疫学和微生物学等多个学科,存在学科整合难度大、学生的跨学科知识储备不足和难以制定明确的评价标准等诸多困难。教学团队为了解决这些教学中的难点,构建了多元化的混合式教学模式(图7)。混合式教学模式是将传统的面授教育与在线网络学习相结合的一种教育模式,具有灵活性、互动性、多样性和个性化的特点^[13]。

5.1 利用线上教学平台和虚拟实验平台的功能,与线下课堂教学紧密结合

教学团队设计了具有跨学科、线上线下结合、虚拟与课堂实验相融合立体化的教学方式(图8),并选用华中科技大学电子信息与通信学院自主研发的以微信为载体无需额外平台支持的微助教作为线上教育平台。任课教师在开课两周前通过微助教发布

实验的操作视频、需要完成的虚拟实验和章节测验等教学资源,帮助学生做好线下实验知识内化的准备。学生根据自己的兴趣和薄弱点进行预习,有疑难问题可以与教师进行线上互动。教师利用学习平台能清晰地看到学生的学习情况,及时发现学生的学习盲点和难点,为教学提供有力的学情支撑,从而在线下课堂中进行有针对性的讲解和辅导。例如,教师通过微助教平台数据发现学生对吞噬率和吞噬指数讨论最多,能确定学生对这两个概念比较模糊,在线下教学中会针对性重点讲解两者的概念与意义。再如,最初课程组因为学生未学习微生物学课程,因此把荧光菌的培养确定为项目的难点,但是通过师生互动,发现学生因为有细胞生物学实验细胞培养中无菌操作的基础,细菌的摇菌培养对学生并不是难点,学生更感兴趣的是荧光菌的建立,教师及时在教学平台发布荧光菌建立的相关学习资料,以满足学生的学习兴趣。

学院虚拟实验平台是华中科技大学第一个国家级虚拟仿真实验中心,目前已经完成了110个虚拟

表1 小鼠巨噬细胞RAW264.7吞噬鸡红细胞和大肠杆菌BL21(*pET-28a-mCherry*)的吞噬百分率和吞噬指数

Table 1 Phagocytosis percentage and phagocytosis index of chicken red blood cells and *E. coli* BL21 (*pET-28a-mCherry*) by mouse macrophage RAW264.7

组别 Group	吞噬百分率/% Phagocytosis percentage /%		吞噬指数 Phagocytic index	
	30 min	60 min	30 min	60 min
对照组				
鸡红细胞	16.2±0.11	31.2±0.16	1.9	2.3
大肠杆菌BL21(<i>pET-28a-mCherry</i>)	22.4±0.25	45.6±0.19	2.5	5.4
实验组				
鸡红细胞	24.7±0.22	39.5±0.13	3.8	4.7
大肠杆菌BL21(<i>pET-28a-mCherry</i>)	49.1±0.17	65.7±0.26	5.4	7.3

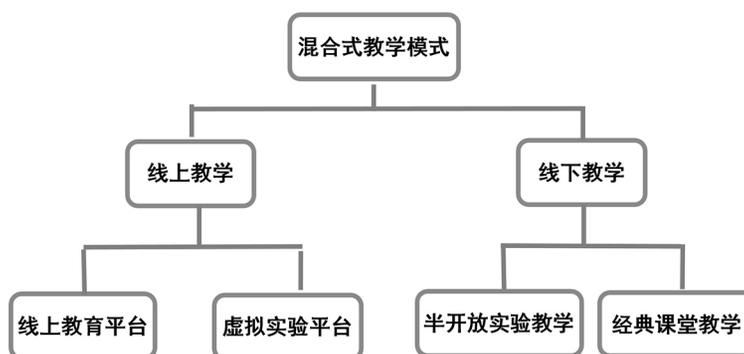


图7 混合式教学模式的框架

Fig.7 The framework of blended teaching model

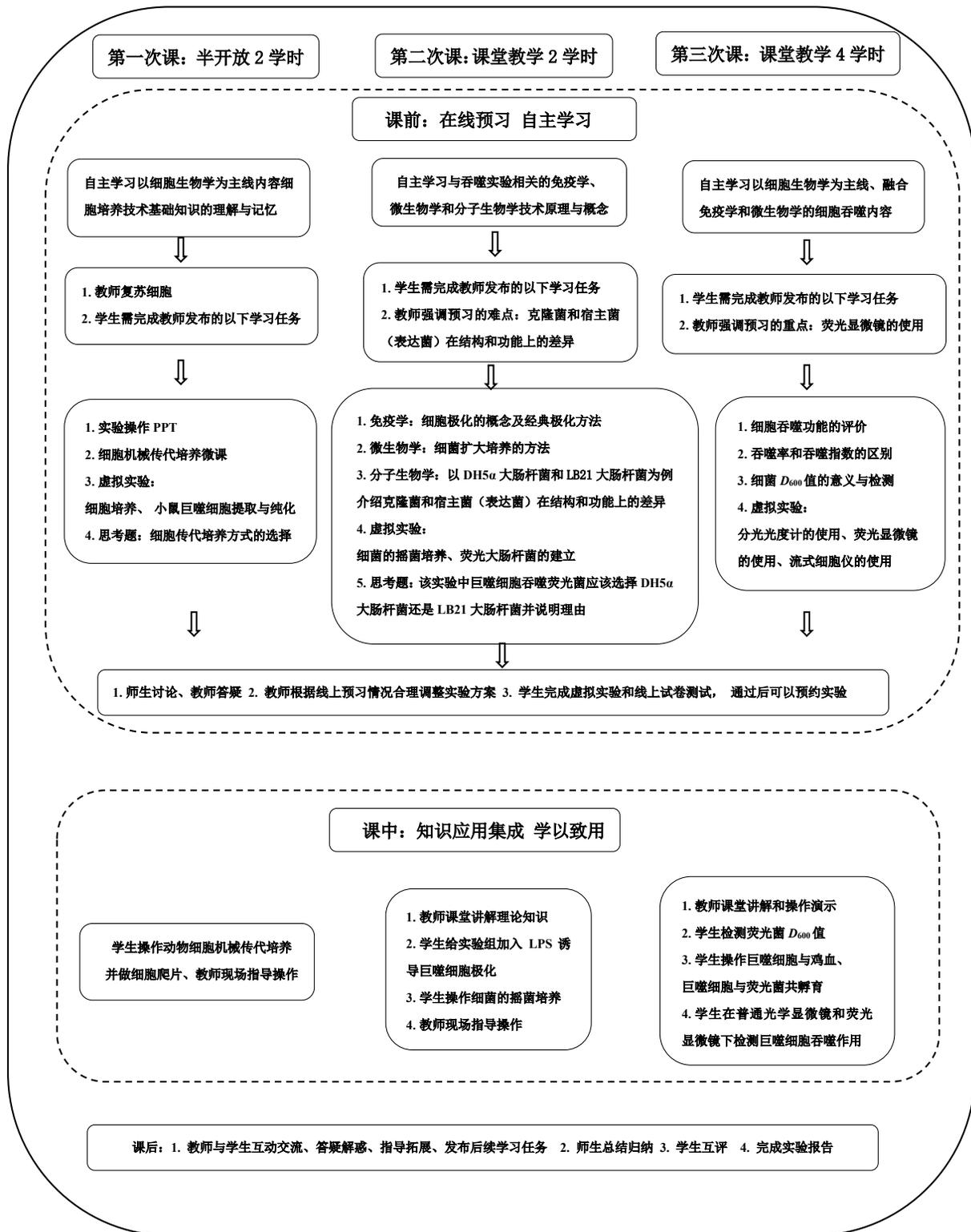


图8 基于跨学科、线上线下的混合式细胞吞噬实验教学内容和教学方式设计

Fig.8 Design of teaching content and teaching method of mixed cell phagocytosis experiment based on interdisciplinary, online and offline

实验模块和12项设计性虚拟实验建设项目。课程组充分发挥虚拟实验平台的作用,选取适合吞噬作用的实验项目在课前布置给学生(图9)。学生在虚拟实

验中既可体验实体实验没有的小鼠巨噬细胞的分离培养(图9A),也能熟悉细胞培养从实验准备到传代的全部过程,还可完整地进行倒置荧光显微镜和流

式细胞仪操作; 荧光显微镜滤光片的选择、流式细胞仪的样品上样、荧光补偿的调节和数据采集等不熟练的实验环节反复地练习(图9B和图9C)。通过这种线上学习模式, 学生在线下实验之前就沉浸式地检验了自己对实验内容的大致掌握情况。

5.2 跨学科教学内容合理布局、有机融合

为确保跨学科的教学效果, 课程组明确了细胞生物学作为该实验项目的主线学科, 根据大二学生的知识领域特点在项目实施过程中进行分层次教学, 对于项目的主线细胞生物学的内容除了强调实验的准确性和规范性外, 还要注重实验的灵活性和创新性。例如, 本实验学生用细胞刮或细胞铲对巨噬细胞RAW264.7传代, 并与胰酶消化法进行比较, 验证了巨噬细胞RAW264.7不适用胰酶消化法传代。结合线上虚拟实验, 学生能很快地理解细胞传代方法的多样性, 知晓在选择细胞传代方法时, 需要根据实验室的具体条件如细胞类型、健康状态和需求等多个因素进行适当的调整和优化。

免疫学、微生物学和分子生物学等的授课内

容与主线学科内容紧密相关, 作为补充和辅助, 要求学生注重概念的掌握。同时充分考虑学生的实际需求, 确保教学内容的实用性和前瞻性。项目的第二次实验课, 以老师集中讲授免疫学的经典活化概念并集中解答预习中普遍存在的问题为主(图8)。例如任课教师发现很多学生甚至实验准备的老师都会问到同样的问题: 在课程组或生化实验中老师提供的携带同样*mCherry*质粒的大肠杆菌, 为什么摇出来的菌液没有颜色? 为什么在激发光的照射下也不发光? 而为什么细胞生物学开展的吞噬实验我们摇出来的菌呈淡淡的粉色而且在激发光下显示耀眼的红色? 老师会在课堂上针对这些问题, 重点讲解大肠杆菌DH5 α 和大肠杆菌BL21的结构和功能特点。让学生理解大肠杆菌DH5 α 主要用于质粒克隆和保存质粒而BL21菌株主要用于表达的理论知识, 明白荧光基因表达的蛋白很容易被DH5 α 菌株的蛋白酶降解, 那么就无法观察到荧光。相比之下, 本项目所用的是表达最常用的BL21菌株, 它是蛋白酶缺陷株, 能有效避免重组表达蛋白的降解。课后老师带领学生

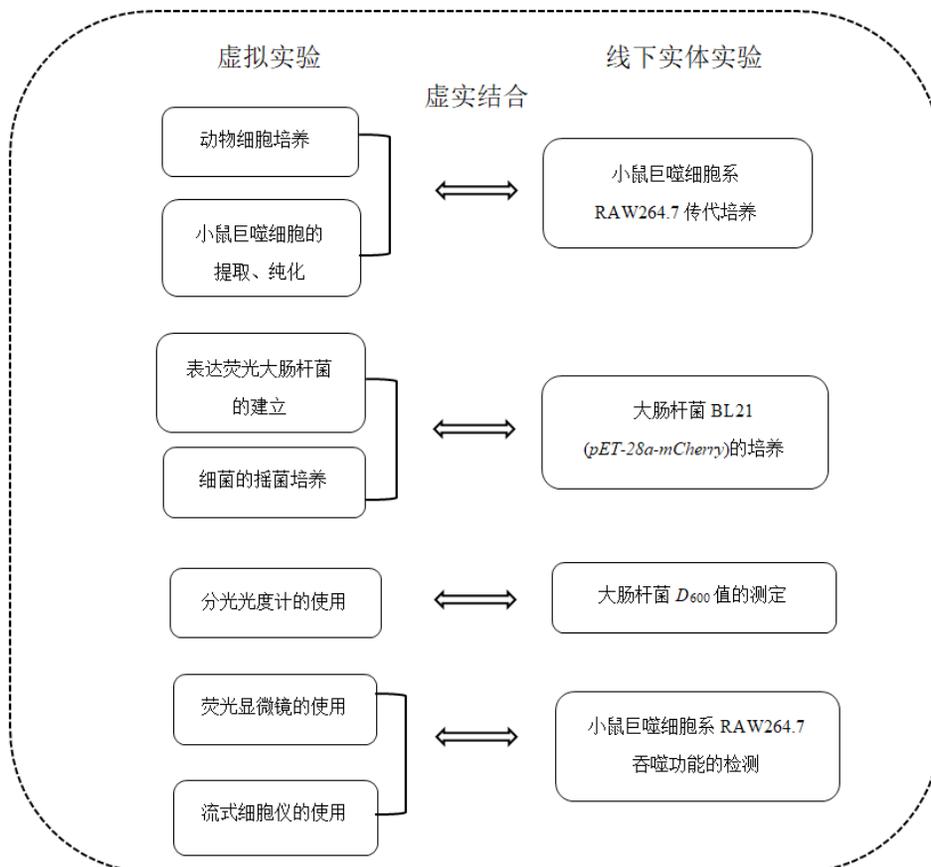
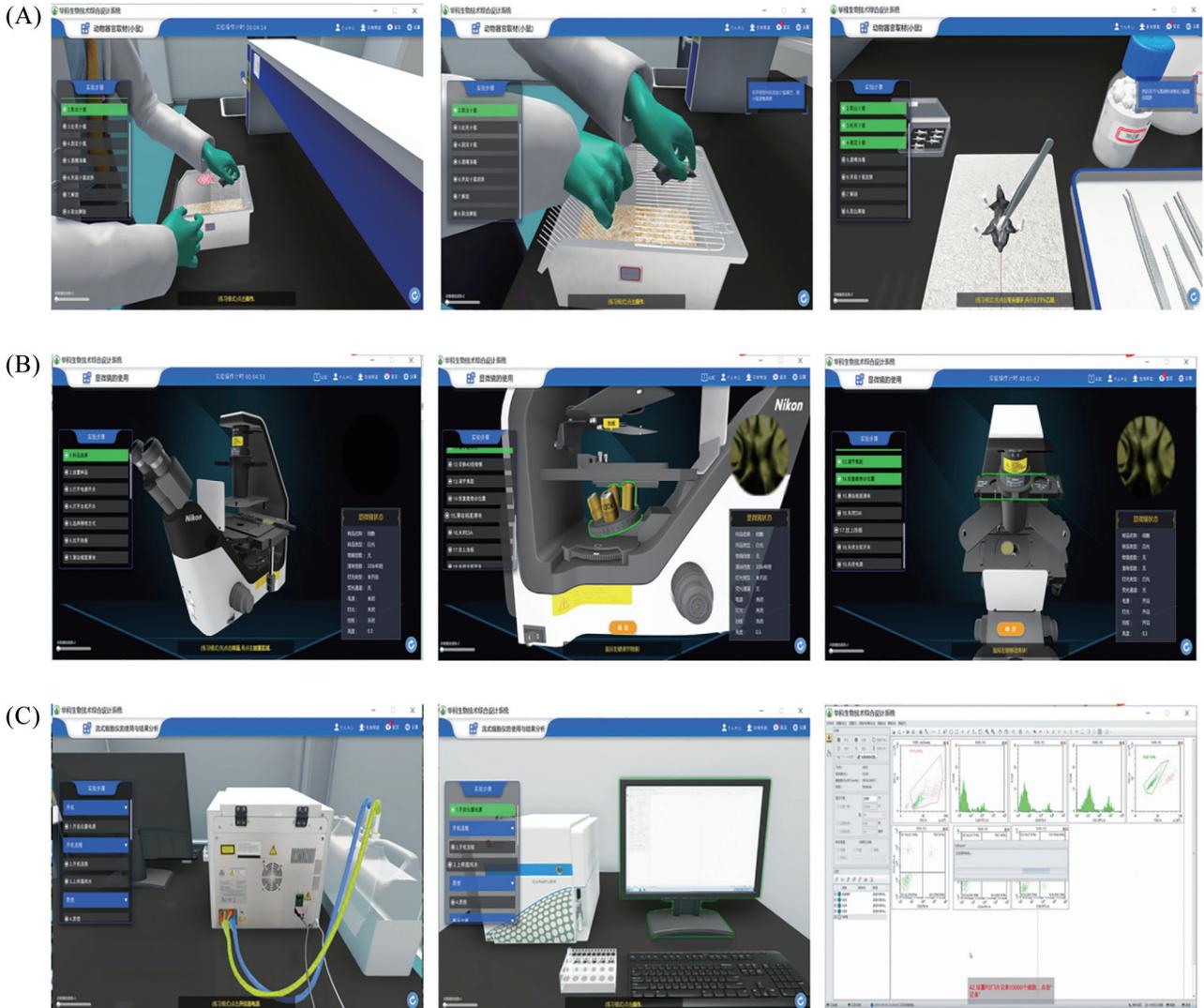


图9 虚实结合的设计思路

Fig.9 The design idea of virtual reality combination



A~C: 分别为虚拟实验平台上小鼠腹腔巨噬细胞取材过程、倒置荧光显微镜操作和流式细胞仪操作的部分截图。

A-C: partial screenshots of the mouse peritoneal macrophage sampling process, inverted fluorescence microscope operation and flow cytometry operation on the virtual experimental platform.

图10 学生在虚拟实验平台上演练虚拟实验的部分截屏

Fig.10 Part of the screenshots of the virtual experiment on the student virtual experiment platform

做细菌的生物安全处置之前,会拿出两种菌株作对比,让学生思考为什么荧光大肠杆菌BL21的粉色比刚摇出来的粉色深很多,而携带同样荧光质粒的大肠杆菌DH5 α 没有任何颜色的变化?通过这种在线下课堂针对性地讲授实验原理和方法,高效解答了学生的疑难问题,课后提出新问题,学以致用,有助于培养学生的跨学科思维能力和综合素质。教师与学生沟通的过程中发现了学生对巨噬细胞的吞噬功能的潜在兴趣很大,设计了由学生亲自用LPS诱导巨噬细胞极化,并检测极化前后形态和吞噬率的变化操作过程。在授课过程中讲述免疫学的极化概念和经典活化途径的过程,引导学生运用细胞形态

学和细胞生理活动等概念理解巨噬细胞吞噬过程中的细胞变化,包括观察经典极化后细胞体积的增大、表面皱褶的增多以及伪足的形成等,这些形态学变化有助于巨噬细胞更好地与病原体或异物接触并将其吞噬。实验使用荧光大肠杆菌作为吞噬物,相比荧光微球更易于引导学生从微生物的视角解读巨噬细胞抗菌的生物学意义。

5.3 多元评价系统的建立

实行准备性评价(20%)、形成性评价(60%)和终结性评价(20%)相结合多元的考核方式(表2)。准备性评价包含线上自主学习全过程;形成性评价贯穿整个线下教学过程,涵盖实验操作和实验素养等多

个方面; 为确保评价的客观性和公平性也保留了传统的终结性评价。这种把考核点分布于教学的全过程中, 不仅教师能够及时地了解学生的学习情况并给予实时地反馈与指导, 学生还能提高学习兴趣和创新能力。

5.4 实验的教学效果

该项目在本科实验教学中实施了两年, 见证了学生高质量地完成了全部的实验内容。在学期结束后开展对所教授的生技专业和生科专业22级180名学生的不记名调查问卷, 让学生对混合式教学模式

进行满意度评价。问卷调查结果(表3)显示: 学生认为跨学科的混合式实验教学能使他们更深入地理解实验的重难点问题, 能有效地激发他们的主动能动性和创造力, 实验中运用的技术和方法对今后的科学研究会有帮助。教师需要在线上教学工具的运用及线上教学的管理方面进一步提高。

对教学改革前后的学生(2020级和2022级)分别进行实验课成绩的比较, 统计(表4)发现: 与传统的教学相比, 跨学科混合式教学成绩在最高分、平均分和及格率上均有所提高。此结果表明, 这种教学

表2 细胞生物学实验课程评价体系

Table 2 Evaluation system of cell biology experiment course

评价类型	评价目标	评价内容	量化标准	权重
Evaluation type	Evaluation objective	Evaluation content	Quantitative criteria	Weight
准备性评价	自主学习能力	预习材料的理解	能否准确回答预习材料中的问题	5%
	学习风格和偏好	课件文献微课视频	跨学科知识点的深入思考和理解程度	5%
	知识储备和学习态度	虚拟仿真实验演练	虚拟实验的完成度	5%
	信息技术工具的运用能力	线上测试成绩		5%
过程性评价	知识的掌握	实验原理和理论知识的理解	理论知识与实验现象相结合进行分析的能力	5%
	技能操作	实验操作的规范性和准确性	实验仪器的使用、实验步骤的遵循	20%
	创新思维	跨学科知识应用	运用跨学科知识解决实验中的实际问题	10%
	实验素养	团队协作与沟通	团队中做出的贡献、提出的建设性意见、沟通能力	5%
	科学表达能力	实验报告	报告内容的条理性、语言的准确性、对实验结果的新的见解和总结	15%
终结性评价	独立思考能力和综合分析问题的能力	实验考核	闭卷考试	20%

表3 学生对跨学科和混合式教学效果的评价

Table 3 Students' evaluation of interdisciplinary and blended teaching effects

评价维度	人数(所占比例/%)		
	Number of people (proportion /%)		
	非常满意	比较满意	不满意
Evaluation dimension	Very satisfactory	Satisfactory	Dissatisfied
教学目标具体清晰, 体现了跨学科特点	174 (96.6)	6 (3.4)	0
教师跨学科教学设计内容完整, 能形成连贯的知识体系	171 (95.0)	9 (5.0)	0
教师将不同学科的内容有效地整合到混合式教学中	100	0	0
教师熟练掌握在线教学平台和工具, 为跨学科教学提供支持	164 (91.1)	16 (8.9)	0
教师提供的学习资源如微课等是否适用于学生跨学科学习	100	0	0
教师能有效管理线上教学, 确保学生积极参与	168 (93.3)	12 (6.7)	0
虚拟实验的演练对线下实验操作的技能提升	173 (96.1)	7 (3.9)	0
教师采用多元化的教学方法如案例分析等, 为学生跨学科学习提供支持	100	0	0
课堂氛围活跃、尊重包容不同的观点和想法	100	0	0
能提高学生管理时间、设定学习目标等自主学习的能力	170 (94.4)	10 (5.6)	0
学生能够运用所学的知识, 发现学科之间的联系和共同点	162 (90.0)	18 (10.0)	0
学生能够产生创造性的思考, 提出新颖的观点和解决方法	166 (92.2)	14 (7.8)	0

表4 跨学科混合式教学实验课成绩的比较

Table 4 Comparison of the scores of interdisciplinary and mixed teaching experiment courses

学生年级 Student grade	教学方式 Teaching method	平时性成绩(80%) Usual performance (80%)				结束性考试成绩(20%) Final exam results (20%)			
		最高分 Highest score	最低分 Lowest score	平均分 Average score	及格率/% Pass rate /%	最高分 Highest score	最低分 Lowest score	平均分 Average score	及格率/% Pass rate /%
2020级	线下教学 (n=177)	92	75	84	100.00	92	52	82	72.73
2022级	跨学科混 合式教学 (n=180)	94	80	88	100.00	98	73	86	100.00

模式更有利于学生对所学知识的吸收和应用。

6 结语

近年来巨噬细胞及其吞噬作用是细胞生物学等学科研究热点,国家自然科学基金委的中标数据也能说明这点。例如,2022年巨噬细胞的研究中标数达到591项,到了2024年巨噬细胞的研究中标数达到了706项位列第二^[4]。本实验项目将这一研究热点与实验教学紧密结合,实验内容注重学科之间的交叉,构建了跨学科、线上线下虚实结合、传统与半开放相结合多元的混合式教学模式。学生在实验中掌握相关实验技术的同时也加深对科学研究热点的理解和应用,有助于培养学生的科研能力和创新思维。

本实验项目使用的小鼠巨噬细胞RAW264.7,该细胞系具有巨噬细胞的独特生物学功能,例如吞噬作用、抗原递呈和免疫调节等,且培养方法简单便利,是一种理想的实验模型,并能兼顾实验动物福利3R准则。本实验项目保留了原有实验中以鸡血作为吞噬物,还增加了带有pET-28a-mCherry荧光标记的大肠杆菌BL21,红色荧光蛋白mCherry作为标记物具有标记基因小、背景低、荧光强度高和稳定性好的优点^[15]。同时项目还扩展了巨噬细胞受脂多糖刺激前后细胞形态以及吞噬作用改变的观察和检测。项目所采用的细胞培养、荧光菌的培养、细胞与吞噬物共培养和荧光显微镜的使用等这些都是生命学科常用的技术,因此实验所用的材料和技术都有一定推广的基础。实验内容相对独立又彼此相关,涵盖了多个学科,实验设计时把它们有机地串联起来,化解学科之间的界限,使学生在认识细胞吞噬活动的动态变化时,也能体会到学科内的积累和学科

之间交叉的重要性,进而提高学生学习的主动能动性和创新精神。高校可以根据自身的学情和实验条件进一步完善和丰富实验内容、拓展实验内容的广度和深度、不断探索混合式教学模式的有效方法,全面提高教学质量。

跨学科的混合式教学模式需要持续的评估和反思。由于跨学科教学需要教师具备多学科的知识,但教师往往专注于自己的专业领域;解决这一问题需要学校提供跨学科专业发展机会,鼓励不同学科教师之间进行对话和交流。线上学生自主学习存在能力差异,少部分学生难以适应或自律不足,需要教师加强这部分学生自主学习能力的培养,充分发挥学生的主观能动性。

参考文献 (References)

- [1] ROQUILLY A, MINTER N J D, VILLADANGOS J A, et al. Spatiotemporal adaptations of macrophage and dendritic cell development and function [J]. *Annu Rev Immunol*, 2022, 40: 525-57.
- [2] 蔡振明, 周泽伟, 施冬艳, 等. 以免疫应答为基础的《医学免疫学》综合实验设计及实践[J]. *中国继续医学教育(CAI Z M, ZHOU Z W, SHI D Y, et al. Design and implementation of a comprehensive experiment in medical immunology based on immune response [J]. China Continuing Medical Education)*, 2024, 16(1): 14-9.
- [3] 刘爽, 吕冬霞, 张鹏霞. 研究型教学模式在“细胞吞噬作用”实验教学中的应用[J]. *生命的化学(LIU S, LÜ D X, ZHANG P X. The application of research-oriented mode in Cell Phagocytosis experimental teaching [J]. Chemistry of Life)*, 2020, 40(5): 789-93.
- [4] 杨文, 牛宗亮, 张阳, 等. 小吞噬细胞吞噬功能测定实验中兔血的应用[J]. *实验室科学(YANG W, NIU Z L, ZHANG Y, et al. Application of rabbit blood in the experiment of determination of phagocytic function of small phagocytes [J]. Laboratory Science)*, 2023, 26(3): 28-9,33.
- [5] 刘晓宇, 卢选成, 鹿双双, 等. 推进我国实验动物福利技术的研究和应用[J]. *实验动物与比较医学(LIU X Y, LU X C, LU S S, et al. To advance the development of laboratory animal welfare*

- technology in China [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2021, 38(2): 61-6.
- [6] 李奇志, 刘亚丰, 卢群伟. 虚拟仿真实验在医学细胞生物学实验教学中的应用[J]. *基础医学与临床* (LI Q Z, LIU Y F, LU Q W. Application of virtual simulation experiment in experimental teaching of medical cell biology [J]. *Basic & Clinical Medicine*), 2019, 39(10): 1508-11.
- [7] 李奇志. 哺乳动物细胞的胞吞作用实验教学设计和探讨[J]. *中国细胞生物学学报* (LI Q Z. Design and exploration for experimental teaching on endocytosis of mammalian cells [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2015, 37(5): 709-14.
- [8] 魏秀容, 杨子江, 张秀娟. 巨噬细胞极化及其在临床疾病治疗中的潜在应用价值[J]. *生理科学进展* (WEI X R, YANG Z J, ZHANG X J. Macrophage polarization and its potential value in clinical disease treatment [J]. *Progress in Physiological Sciences*), 2024, 55(4): 296-303.
- [9] RABINOVITCH M. Professional and non-professional phagocytes: an introduction [J]. *Trends Cell Biol*, 1995, 5(3): 85-7.
- [10] SEEBERG J C, LOIBL M, MOSER F, et al. Non-professional phagocytosis: a general feature of normal tissue cells [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11875.
- [11] HOU P, FANG J, LIU Z, et al. Macrophage polarization and metabolism in atherosclerosis [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 691.
- [12] HU M, PAN Z, YANG Y, et al. Different antigen presentation tendencies of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced bone marrow-derived macrophages and peritoneal macrophages [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2012, 48(7): 434-40.
- [13] 刘鸿庆, 杨艳蓉. 高校英语课程混合式教学模式的创新发展[J]. *鄂州大学学报* (LIU H Q, YANG Y R. The innovative development of blended teaching mode of college English course [J]. *Journal of Ezhou University*), 2024, 31(2): 76-7.
- [14] 国家自然科学基金委员会. 国家自然科学基金委员会·首页·结果公布[EB/OL]. <https://www.nsf.gov.cn/publish/portal0/tab531/>.
- [15] 胡绍华, 葛佳琪, 韩琦. 表达GFP/mCherry白色念珠菌的构建及其在与巨噬细胞互作中的应用[J]. *微生物学报* (HU S H, GE J Q, HAN Q. A *Candida albicans* strain expressing GFP/mCherry: construction and application in the research on macrophage-*C. albicans* interaction [J]. *Acta Microbiologica Sinica*), 2024, 63(11): 4208-17.