

· 教学研究 ·

## 将共聚焦显微镜观测蛋白核质穿梭融入本科 细胞生物学实验的探索与实践

阎臻<sup>1,2</sup> 李邻朱<sup>2</sup> 熊莉<sup>1,2</sup> 林宏辉<sup>1,2</sup> 王婧<sup>2</sup> 张泽勇<sup>3</sup> 刘唤唤<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>生物科学国家级实验教学示范中心(四川大学), 成都 610064; <sup>2</sup>四川大学, 生命科学学院, 成都 610064;

<sup>3</sup>兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

**摘要** 大型精密仪器在支撑高校科学研究和人才培养方面发挥着重要作用, 由于专业性和运行成本等因素的制约, 大型精密仪器在本科实验教学中的应用较少, 不利于提高本科生的科研素养和创新能力。该项目将团队国家级科研项目中的创新性成果转化成功转化为以激光共聚焦显微技术为核心的本科实验教学项目, 并将该项目应用于细胞生物学实验中。该实验丰富了本科细胞生物学实验教学内容, 提升了本科实验教学的创新性和挑战性, 有利于激发学生的科研热情和科研灵感, 培养学生的独立思考能力和科研思维, 从而提高学生的综合素质, 促进生物科学的发展和创新性人才的培养。

**关键词** 大型精密仪器; 本科实验教学; 细胞生物学实验; 科研项目转化

## Exploration and Practice of Integrating Confocal Microscopy Observation of Protein Nuclear Cytoplasmic Shuttle in Undergraduate Cell Biology Experiments

YAN Zhen<sup>1,2</sup>, LI Linzhu<sup>2</sup>, XIONG Li<sup>1,2</sup>, LIN Honghui<sup>1,2</sup>, WANG Jing<sup>2</sup>, ZHANG Zeyong<sup>3</sup>, LIU Huanhuan<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>National Demonstration Center for Experimental Biology Education (Sichuan University), Chengdu 610064, China;

<sup>2</sup>College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China;

<sup>3</sup>College of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract** Large-scale precision instruments play an indispensable role in supporting scientific research and talent cultivation in universities. Due to factors such as professionalism and operational costs, application of large-scale instruments in undergraduate experimental teaching is relatively limited, which is not conducive to enhancing the scientific research literacy and innovation ability of undergraduates. This project aims to transform the innovative achievements of national scientific research into an experimental teaching project centered on laser confocal microscopy technology, and apply it to undergraduate cell biology experiments. This project not only enriches the teaching content of undergraduate cell biology experiments but also enhances the innovation and challenge of un-

收稿日期: 2025-09-16 接受日期: 2025-10-29

四川省2023年省级高等学校创新性实验项目(批准号: 6)、四川大学实验技术研究项目——创新性实验项目(批准号: SCU2023010)和2024—2026年四川省高等教育人才培养质量和教学改革项目(批准号: JG2024-0134)资助的课题

\*通信作者。Tel: 028-85990207, E-mali: liuhuanhuan85@163.com

Received: September 16, 2025 Accepted: October 29, 2025

This work was supported by the 2023 Innovative Experimental Project for Provincial Higher Education Institutions of Sichuan Province (Grant No.6), Experimental Technology Research Project-Innovative Experimental Project of Sichuan University (Grant No.SCU2023010) and 2024-2026 Sichuan Province Higher Education Talent Training Quality and Teaching Reform Project (Grant No.JG2024-0134)

\*Corresponding author. Tel: +86-28-85990207, E-mail: liuhuanhuan85@163.com

dergraduate experimental teaching, which further stimulates students' enthusiasm and inspiration for scientific research and cultivates their independent thinking ability and scientific research thinking. The practice of this project thereby have improved the quality of undergraduate students and have promoted the development of bioscience and the cultivation of innovative talents in life sciences.

**Keywords** large-scale instruments; experiment teaching; cell biology experiments; transformation of scientific projects

作为高等院校科学的研究和教学的重要硬件支持,大型精密仪器是高校提高科研水平和成果产出、培养创新性人才、增强综合能力必不可少的宝贵资源和物质基础<sup>[1-2]</sup>。高等院校大型仪器设备开放共享设备平台的建设和应用,促进了设备在跨院校和跨学科的共享,提高了设备的效益和使用频率,进一步为培养多学科交叉融合的复合型创新人才奠定了基础<sup>[3]</sup>。目前,在专人管理模式下,高等院校的大型精密仪器多数是应用于科学研究,对本科教学的促进作用还不显著<sup>[4]</sup>,再加上仪器价格昂贵、专业性强、维护与维修成本高等因素的制约,使得本科生直接使用大型精密仪器的机会少之又少,不利于培养本科生的创新意识并限制了其创新能力的提升<sup>[5]</sup>。因此,如何深度开放并将大型精密仪器应用于教学,特别是本科实验教学就显得尤为重要,是培养本科阶段综合性创新人才的重要途径之一。

细胞生物学实验是四川大学生命科学学院面向生物科学类专业二年级本科生开设的专业基础实践课程。该课程的学习能够训练学生分析和解决问题以及科学探索的能力,强化学生的实践能力从而达到提升学生综合素质的目的<sup>[6-7]</sup>。现有的细胞生物学实验课程主要以验证性实验为主,有研究显示在传统实验教学模式中,学生通常处于被动参与实验的地位<sup>[8]</sup>,实验设计能力和科学创新能力得不到应有的锻炼和提升。而且随着细胞生物学技术和手段的飞速发展,目前细胞生物学实验课程的内容与理论课知识脱节现象较明显,滞后于学科的发展现状,束缚了学生的思维。因此,如何将前沿科研成果有效地转化并应用于细胞生物学实验课程,通过实验实践切实提高学生的综合能力,已成为当前教学改革与课程体系建设中亟待解决的关键问题!本项目将国家自然科学基金面上项目“拟南芥四川生态型抗水淹胁迫主效基因位点的分子作用机制研究”<sup>[9]</sup>中的创新型成果植物低氧应答关键因子在亚细胞水平的核质穿梭转化为本科生细胞生物学实验教学项目,可

填补目前细胞生物学实验教学中关于低氧信号转导中关键蛋白核质穿梭内容的空白,有利于培养学生的创新能力和科研能力,提高学生的综合素质,促进生物科学的发展和人才的培养。

## 1 实验课程设计

### 1.1 教学目标与知识体系

本文以国家自然科学基金面上项目“拟南芥四川生态型抗水淹胁迫主效基因位点的分子作用机制研究”的创新型成果<sup>[9]</sup>为主题,从教学目标、知识体系、实验环节和能力素质四个方面开发并设计了缺氧处理观测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验(图1)。学生在该实验中以RAP2.12稳定过表达株系拟南芥为材料,通过观察低氧处理前后RAP2.12蛋白的亚细胞定位学习植物低氧应答关键因子的核质穿梭,并掌握使用激光共聚焦显微技术观察植物活体样品的方法。该实验丰富了细胞生物学实验的教学内容,提升了实验的创新型和挑战性,有利于提高学生的独立思考能力和培养学生的科研思维。

### 1.2 教学安排

(1) 实验安排。实验分为三个部分,课上的教学时间为8个学时,其中包括低氧信号转导通路的背景理论知识及实验方法的讲解(1学时),缺氧处理的操作(4学时),激光共聚焦显微镜的荧光观察(2学时)和实验结果分析与汇报(1学时)三部分。文献的查阅与缺氧处理的设计环节由学生在课下完成。

(2) 学生安排。为了保证实验教学效果和锻炼学生的团队合作精神,本实验要求2个学生一组,在实验过程中分工合作、相互讨论,共同完成RAP2.12蛋白在缺氧处理前后的亚细胞定位观察。同时,为了保证每个学生都能使用到共聚焦显微镜,要求每个学生至少制备一张拟南芥叶片下表皮细胞装片,用于激光共聚焦的上机观察。

### 1.3 实验部分

#### 1.3.1 实验准备 (1) 实验材料。本实验所用的实

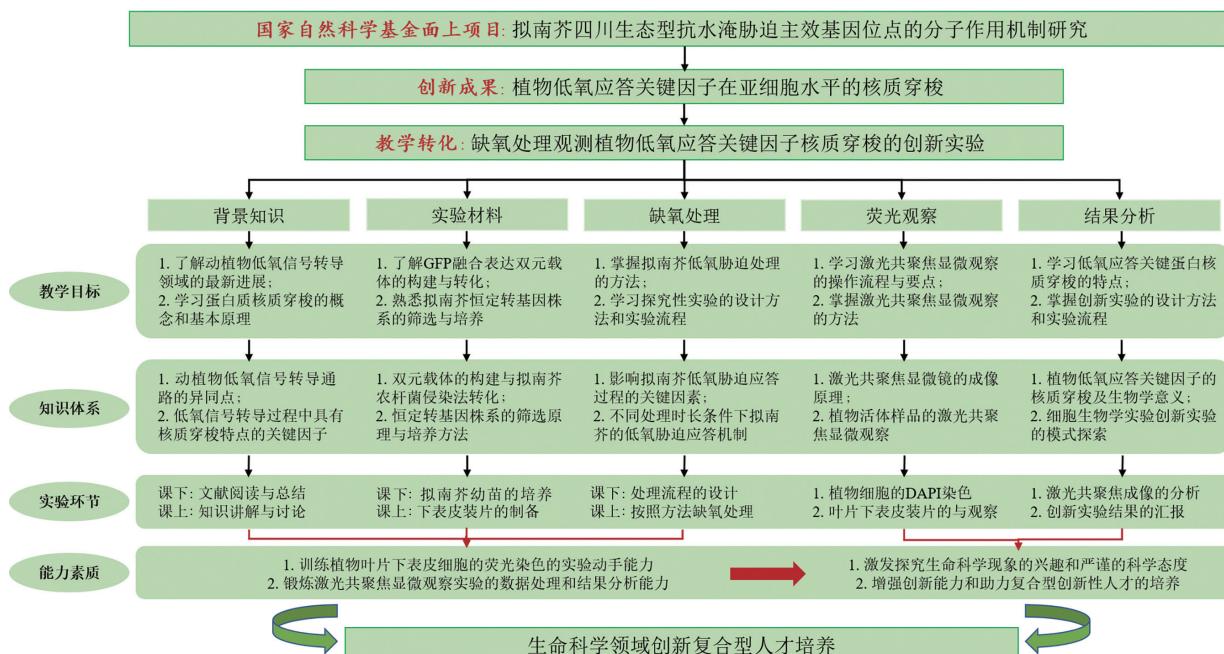


图1 缺氧处理检测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验的设计思路

Fig.1 Design of innovative experiments on nucleocytoplasmic shuttling of key regulator in plant hypoxia response

验材料为萌发21天的35S::RAP2.12-GFP超表达转基因株系拟南芥。

(2) 实验设备与物品。包括: 超分辨率共聚焦显微镜 Olympus SpinFV-COMB、泡沫箱、钢珠、载玻片、盖玻片、镊子、手套、移液器及适配枪头。

(3) 实验试剂。包括: MS固体培养基、蒸馏水、DAPI染料(上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号: C1002)、抗荧光淬灭封片液(上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号: P0126)。

**1.3.2 实验过程** (1) 缺氧处理。将生长良好的萌发21天后的拟南芥幼苗置于泡沫箱后, 向其中加入蒸馏水, 使水面淹没幼苗10 cm进行黑暗缺氧处理。然后, 将钢珠放在小培养盆中, 保证幼苗在处理时间内均处于液面以下10 cm。同时, 取生长良好的拟南芥置于泡沫箱中, 进行黑暗处理作为未缺氧处理的对照组。待处理完成后即可进行显微观察, 由于穿梭入核的RAP2.12蛋白会在缺氧处理完成后的4 h内降解, 所以应尽快观察。

(2) 激光共聚焦显微观察。将处理完成后的拟南芥莲座叶从植株上剪下并小心撕取叶片下表皮, 将其置于滴加了DAPI染色液的载玻片上, 然后用抗荧光淬灭封片液进行封片以便观察。

#### 1.4 实验考核

本实验要求学生在自行查阅文献后自主设计

缺氧处理的时长, 因此, 教师将从实验设计的科学性、实验方法的可行性、实验结果的准确性和可靠性以及实验分析的合理性等方面对实验报告和研究性报告进行考核。学生的缺氧处理时长是否合理及有无相关的文献支撑? 缺氧处理方法是否合适? 在现有的实验条件下能否正常开展? 是否在相应的缺氧处理时长下观察到了RAP2.12蛋白的核质穿梭现象? 学生能否在获得的激光共聚焦原始图像中分析到RAP2.12蛋白的亚细胞水平的变化等。

## 2 实验教学讨论

### 2.1 科研项目创新性成果应用于本科细胞生物学实验课程的教学效果

缺氧处理观测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验已在2024年春季学期面向生物科学类专业的本科生开设, 项目中植物低氧信号转导通路的背景理论知识和实验技能的讲解将帮助学生学习和掌握植物应答低氧胁迫的原理和方法; 基因克隆、GFP融合蛋白的表达和恒定转基因材料的获得, 将帮助学生建立对于植物基因功能原理和应用的初步认知, 为后续的综合性实验课程和研究生阶段的学习奠定基础; 低氧胁迫条件的摸索和探究, 有助于培养学生的自主学习能力和激发学生的科学探究热情; 通过观察低氧胁迫通路中关键蛋白亚细胞定位

的动态变化，帮助学生理解蛋白亚细胞的定位与功能之间的关系，促进学生掌握激光共聚焦显微操作的技能，从而理解和运用细胞生物学实验中的理论知识和基本方法。

学生在创新实验的实验报告中的反馈显示，100%的学生理解了植物低氧信号转导过程中关键蛋白的核质穿梭的分子机制和生物学意义，掌握了激光共聚焦显微镜的使用方法，学会了植物细胞荧光染色的实验技术。几乎所有的学生都在低氧处理3 h后的拟南芥叶片下表皮细胞中观察到了RAP2.12-GFP融合蛋白位于细胞核内，而在未经低氧处理的叶片下表皮细胞中观察到了该蛋白定位于细胞膜内侧的胞质内(图2)。不少学生表示这个实验锻炼了他们处理和分析激光共聚焦显微结果的能力，激发了他们对于植物低氧应答过程的研究兴趣，这些结果和反馈都说明本实验项目在本科细胞生物学实验课程中应用的教学效果不错。

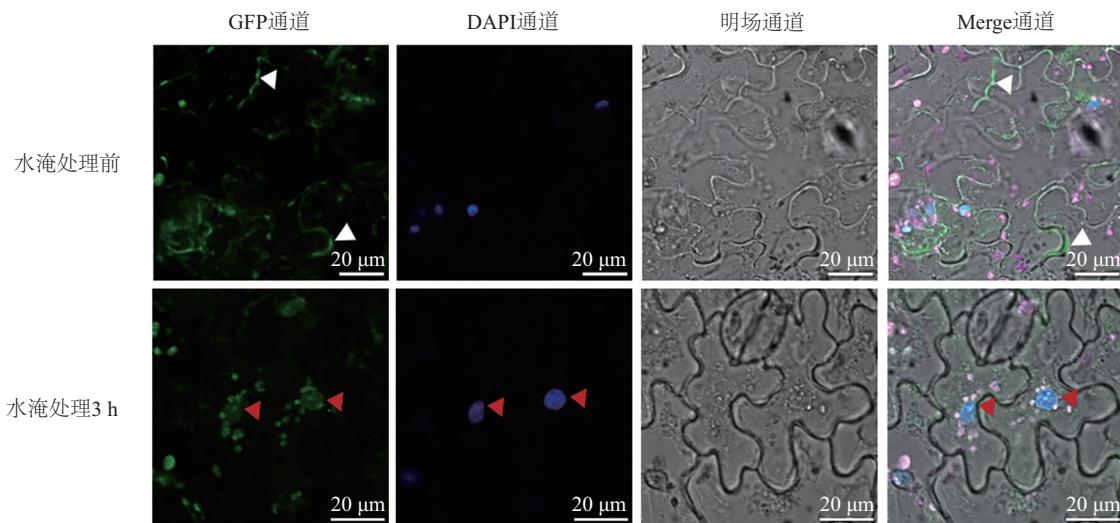
## 2.2 大型精密仪器在本科细胞生物学实验课程中的应用及效果

本实验以国家级科研项目的创新性成果为依托，首次将大型精密仪器——共聚焦显微镜应用于本科细胞生物学实验，实现了科研反哺教学，拓宽了学生的知识面，激发了学生的科学探究热情，对于学生科学思维能力和创新能力的培养具有重要意义。

通过激光共聚焦显微观察，将植物抵抗非生物胁迫相关研究的热点问题应用于细胞生物学教学中，使学生紧跟植物学科研究领域的前沿发展，实验内容兼顾了科学的研究的创新性和前瞻性，为实验教学增添了未知和探索的因素。研究显示将科研中存在的实际问题设计到教学中，能有效建立学生的批判性思维和科研思维，使学生体会到科学探究途径的多样性，这种教学模式还能够大幅度提升学生对于科学的研究的兴趣和实验探索的积极性<sup>[10-11]</sup>，促进复合型创新性人才的培养<sup>[12-14]</sup>。

## 2.3 实验项目特色与创新点

本项目将国家级的科研项目成果转化成综合性、设计性和创新性实验教学项目，并应用于四川大学本科生细胞生物学实验教学中，项目填补了目前细胞生物学实验教学中关于低氧信号转导中关键蛋白核质穿梭内容的空白，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备开创性。该实验项目的实施与应用，将有效解决细胞生物学实验教学中关于蛋白在亚细胞水平空间位置变化等内容欠缺的问题，充分调动了学生自主学习和参与实验的积极性，充分发挥了学生的自觉性、独立性和创造性，进一步培养了学生的实践动手能力和分析解决问题的能力，有助于学生专业素质和综合能力的提高，从而显著提升实验课程的教



白色箭头指示定位在细胞膜上的RAP2.12-GFP融合蛋白，红色箭头指示定位在细胞核内的RAP2.12-GFP融合蛋白。

The white arrow indicates the RAP2.12-GFP fusion protein located on the cell membrane and red arrow indicates the RAP2.12-GFP fusion protein located in the nucleus.

图2 水淹处理前后RAP2.12-GFP融合蛋白的亚细胞定位

Fig.2 The subcellular localization of RAP2.12-GFP before and after submergence treatment

学效果。

## 2.4 实验项目的可行性

2.4.1 项目实施模式 缺氧处理观测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验是作为开放创新实验开设在细胞生物学实验课程中的,一般在课程结束之前面向生物科学类专业的本科生开放,2024年和2025年春季学期选修的学生分别在10人左右。在激光共聚焦显微镜的荧光观察部分,教师先向同学们讲解和演示激光共聚焦显微镜的使用方法,然后学生轮流上机操作观察自制装片的蛋白穿梭现象。

2.4.2 项目运行成本 实验经费方面,在缺氧处理观测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验项目运行过程中主要产生的费用包括试剂耗材费用和激光共聚焦显微镜的直接成本费(实验材料费、水电费和设备折旧费),由学院的本科教学专项经费支持。人力服务方面,项目进行期间,由平台配备专业的实验技术人员和实验课程教师在场提供教学支持,包括培训学生进行基本的软件操作和样品放置、上机过程中的一对一或小组指导、监督学生严格遵守操作规程以及负责课后数据的收集与整理等。

2.4.3 项目可持续性 从“缺氧处理观测植物低氧应答关键因子核质穿梭的创新实验”在四川大学细胞生物学实验课程中的实践来看,该实验在小范围的教学中是完全可行的,但在大规模应用中也存在一定的困难。首先是硬件资源限制,部分高校尚未配备激光共聚焦显微镜,即使配备了激光共聚焦显微镜的高校也无法同时满足数十甚至上百名学生的动手需求,即便分组轮换,总机时也远远不够,而且会与科研用户的机时需求产生严重冲突。其次是教学效率,在激光共聚焦显微观察的过程中,学生真正动手操作的时间有限,对原理的理解和技术的掌握深度有待提高。但是我们可以通过“虚实结合”的混合式教学模式,引入高质量的激光共聚焦显微观察虚拟仿真实验教学项目,学生可以在电脑上模拟完整的实验流程,这解决了“做不上、做不起”的硬件限制和成本问题,让每个学生都有多次练习的机会,大大节省了教学时间和空间。同时,将典型的实验成功与失败的图像以及教师科研中的相关精彩影响整理成教学案例库,学生在进行分析练习时,可以直接使用这些高质量的数据,将学习重点放在对数据的挖掘和科学解读上。此时,实体实验的目的

不再是学习基础操作,而是验证虚拟结果、感受真实科研的复杂性和不确定性、培养解决实际问题的能力。这大大提升了实体实验的教学效率和深度。

## 3 结语

大型精密仪器作为支撑高校核心竞争力和科技创新能力的综合性平台,在多学科交叉复合型人才培养的过程中发挥着举足轻重的作用。如何充分挖掘和利用生命科学领域大型精密仪器的资源优势,并将其与生物科学本科实验教学相融合,是培养生命科学领域创新性人才的关键。本实验依托大型仪器共享平台,以教学专项经费为主要支撑,将激光共聚焦显微镜及其相关实验技术应用于本科细胞生物学实验课程中,这不仅突破了大型精密仪器在本科生培养中的局限,还将学科前沿与本科实验教学有机地融合在一起,提升了本科实验教学的创新型和挑战度,促进了生物科学的发展和创新人才的培养。同时,针对该实验在大规模推广中存在的资源限制,实际教学中可以构建“虚实结合、案例结合”的混合式教学模式,既保证了前沿技术在本科教学中的应用,又通过教学方法的创新突破了硬件资源的限制,实现了高效深度的本科实验教学体验,为同类高成本、高难度的实验在本科教学中的应用提供了可复制的思路。

## 参考文献 (References)

- [1] 雷玉珍, 王美荣, 胡胜鹏, 等. 基于高校大型仪器的创新型人才培养实践与探索[J]. 实验室科学(LEI Y Z, WANG M R, HU S P, et al. Practice and exploration of innovative talent cultivation based on the large-scale instruments in the universities [J]. Laboratory Science), 2022, 25(4): 160-3.
- [2] 田蓉. 大型精密仪器设备面向本科生培养的难点与对策研究[J]. 中国设备工程(TIAN R. Research on the difficulties and countermeasures of cultivating large precision instruments and equipment for undergraduate students [J]. China Plant Engineering), 2023, 12: 246-8.
- [3] 李震彪, 杨向东, 郑炎雄. 高校大型仪器设备开放共享工作探析[J]. 中国现代教育装备(LI Z B, YANG X D, ZHENG Y X. Exploration into the open sharing of large scale instruments and equipment in universities [J]. China Modern Educational Equipment), 2020(7): 1-4.
- [4] 潘越, 农春仕. 浅析高校大型仪器共享平台建设中的问题及思考[J]. 实验技术与管理(PAN Y, NONG C S. Analysis and consideration of problems in construction of large-scale instrument sharing platform in universities [J]. Experimental Technology and Management), 2020, 37(3): 259-61.

- [5] 李祥, 赵世杰. 开放大型精密仪器 提升大学生科技创新能力 [J]. 实验室科学(LI X, ZHAO S J. Large-scale precision instruments opened to enhance scientific and technological innovation capability of university students [J]. Laboratory Science), 2016, 19(3): 201-4.
- [6] 阎臻, 杨军, 彭锐, 等.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 [J]. 中国细胞生物学学报(YAN Z, YANG J, PENG R, et al. 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 [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2023, 45(10): 1511-7.
- [7] 阎臻, 杨军, 彭锐, 等. 荧光染色技术在细胞生物学实验中的实践与探讨[J]. 实验室研究与探索(YAN Z, YANG J, PENG R, et al. The practice and discussion of fluorescence staining technology in cell biology experiments [J]. Research and Exploration in Laboratory), 2024, 43(8): 217-23.
- [8] 李绍军, 陈坤明, 黄伟伟. 细胞生物学实验教学模式的反思与重构[J]. 黑龙江教育(高教研究与评估)(LI S J, CHEN K M, HUANG W W. Reflection and reconstruction of experimental teaching mode in cell biology [J]. Heilongjiang Education, Higher Education Research & Appraisal), 2020(5): 4-5.
- [9] LOU S L, GUO X, LIU L, et al. Allelic shift in cis-elements of RAP2.12 transcription factor underlies adaptation associated with humidity in *Arabidopsis thaliana* [J]. Science Advances, 2022, 8(18): eabn8281.
- [10] 高润池, 蒋锐达, 王晓燕. 基于科学精神的细胞生物学实验课程思政设计与实践[J]. 中国细胞生物学学报(GAO R C, JIANG R D, WANG X Y. Design and practice of cell biology experiment course based on scientific spirit cultivation of ideology and politics [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2023, 45(8): 1201-7.
- [11] 兰天宇. 科研项目与高分子化学实验相结合的实验教学模式探索[J]. 广东化工(LAN T Y. Exploration on the experimental teaching mode of the combination of scientific research projects and polymer chemistry experiments [J]. Guangdong Chemical Industry), 2020, 47(13): 176-7.
- [12] 阎臻, 杨健, 熊莉, 等. 科研项目成果在通识课程中的教学实践与探索[J]. 生物学杂志(YAN Z, YANG J, XIONG L, et al. Teaching practice and exploration of scientific research program achievements in general education courses [J]. Journal of Biology), 2024, 41(2): 126-30.
- [13] 王宏刚, 魏远, 刘巍, 等. 通识选修课开设微丝荧光观察实验的探究[J]. 生物学杂志(WANG H G, WEI Y, LIU W, et al. Research on establishment of experiment for observing of micro-filament by fluorescence labeling in general elective course [J]. Journal of Biology), 2022, 39(2): 120-1.
- [14] 冷雪, 王莹, 贾连群. 依托大型仪器共享平台反哺中医本科教学模式的探索与实践[J]. 中国中医药现代远程教育(LENG X, WANG Y, JIA L Q. Exploration and practice of undergraduate teaching mode of Chinese Medicine relying on the large -scale instrument sharing platform [J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China), 2019, 17(2): 158-60.