

·教学研究·

OBE理念下科研课题驱动的高阶细胞生物学实验 教学改革与实践

姜姗姗[#] 赵琦睿[#] 王永华^{*}

(云南大学生命科学学院, 昆明 650504)

摘要 针对传统细胞生物学实验教学中技能训练碎片化、学生参与度不足及与其真实科研情境脱节等问题, 该研究基于成果导向教育(outcome-based education, OBE)理念, 以前沿科学问题“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”为主线, 开设了一门多学科融合的高阶综合性实验课程。课程采用“科研课题-支架”式教学设计, 引导学生完整经历“课题设计-实验操作-数据整合-结果分析-报告撰写”的科研全流程, 实现由被动验证向主动探究的转变。教学实践表明, 该模式有效促进了实验教学与科研创新的深度融合, 为生命科学类高阶实验课程改革提供了可借鉴的实施路径。

关键词 OBE理念; 科研课题驱动; 高阶细胞生物学实验; 综合性实验课

Reform and Practice of Higher-Order Cell Biology Experimental Teaching Driven by Research Projects under the OBE (Outcome-Based Education) Model

JIANG Shanshan[#], ZHAO Qirui[#], WANG Yonghua^{*}

(School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650504, China)

Abstract To address the fragmented skill training, insufficient student engagement, and disconnection from authentic research contexts in traditional cell biology experimental courses, this study established an advanced, multidisciplinary, comprehensive laboratory course grounded in the OBE (outcome-based education) model, centered on the cutting-edge scientific question: the regulatory role of *C9orf72* gene knockout in exosome biogenesis and secretion. A “research project-scaffolding” instructional design was adopted to guide students through a complete research workflow, including project design, experimental operation, data integration, result interpretation, and report writing, thereby promoting a shift from passive verification to active inquiry. Practical implementation demonstrates that this model effectively fosters the deep integration of experimental teaching and research innovation, offering a practical reference for the reform of higher-order experimental courses in the life sciences.

Keywords OBE (outcome-based education) concept; research-project-driven; Higher-Order Cell Biology Experiment; comprehensive experimental course

收稿日期: 2026-01-29

接受日期: 2026-04-27

云南大学2025教育教学改革重点项目(批准号: 2025Z03)资助的课题

[#]共同第一作者^{*}通信作者。Tel: 18083843023, E-mail: yonghuaw8002@ynu.edu.cn

Received: January 29, 2026

Accepted: April 27, 2026

This work was supporting by the Key Project of Yunnan University's 2025 Education and Teaching Reform (Grant No.2025Z03)

[#]These authors contributed equally to this work^{*}Corresponding author. Tel: +86-18083843023, E-mail: yonghuaw8002@ynu.edu.cn

当前,生命科学研究正处于从表型描述向机制解析、从单一组分研究向系统网络认知转型的关键阶段。这一范式转变对科研人才的培养提出了全新的核心要求:研究者不仅需要掌握实验技术,更需要具备科学逻辑,以及整合与分析多角度数据的科研能力^[1]。在此背景下,本科阶段的细胞生物学实验教学发挥着衔接基础理论教育与前沿科研实践的桥梁作用,其教学目标应从单纯的知识验证与技能模仿,转向系统性科研思维与创新能力的早期塑造^[2]。

然而目前细胞生物学实验课教学体系普遍存在结构性不足等问题。其一,在教学内容上,多数课程仍由一系列彼此孤立的验证性实验单元构成,例如细胞培养、免疫荧光染色、Western blot等实验通常作为独立单元分散在不同教学周次中进行,各单元之间缺乏贯穿始终的科学问题作为逻辑主线。这种碎片化的技能训练,使学生难以理解各项技术在完整科研链条中的关联,无法形成解决复杂生物学问题的整体性视角^[3]。其二,“教师演示-学生模仿”的传统模式限制了学生的主动探究空间^[4]。学生专注于按步骤操作以获得预期结果,而对实验设计的原理、对照的设置、结果的变异性分析等深层科学逻辑训练不足,批判性思维与解决非预期问题的能力未能得到有效发展^[5-6]。其三,常规教学实验多使用普通小型仪器,与实际科研中广泛应用的高端设备(如活细胞成像系统、超高速离心机等)存在明显差距,导致学生在进入实验室初期面临较高的技术壁垒与畏难情绪,从学习到研究的衔接存在明显脱节^[7]。

面对上述挑战,成果导向教育(outcome-based education, OBE)理念为实验教学改革提供了清晰的理论指引。该理念以“成果导向、学生中心、持续改进”为核心原则^[8],强调教学设计方案应围绕明确的预期学习成果进行反向设计^[9-11],将教学重心从教师“教”转向学生“学”^[12-13],并通过多元评价反馈实现教学质量的持续提升^[14-15]。这一理念恰恰直击传统实验教学中“重技能训练、轻思维培养”“重知识灌输、轻主动探究”的弊端,为将细胞生物学实验从碎片化的技能验证转变为系统性的科研能力训练提供理论支撑。

基于此,本课程以OBE理念为指导,将完整的科研课题设计为核心教学内容:以“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”这一前沿

科学问题为驱动,让学生在连续7天的科研实训中完整经历科研过程;同时将高端仪器设备转化为有效教学工具,在真实科研情境中培养学生的严谨科学态度与综合实践能力。课程旨在通过系统化的科研实训,推动学生实现从“实验操作员”向“初级研究者”的角色转变,为其未来科研发展奠定坚实基础。

1 教学改革设计与理论基础

为进一步适应细胞生物学前沿发展与学生科研能力培养的双重需求,本课程目前已经连续开设三年,课程核心设计遵循“理论-实验-探索-总结”的模式,以真实科研问题为导向,强调学生在实验设计、数据采集与分析中的主体参与,强化科学思维与综合研究能力的系统训练。

1.1 课程设计理念

本课程以培养学生独立完成综合性研究课题的能力为终点目标,进行反向教学规划。其最核心的转变在于:打破原有技术模块彼此独立的组织方式,将短期集中教学的内容整体重构为围绕一个前沿科学问题(如“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”)的完整微缩科研项目。选择该课题基于两方面考虑:其一,*C9orf72*基因在细胞内具有多种重要功能,包括参与细胞内膜系统运输等^[16-17];其二,本课题组长期围绕*C9orf72*展开相关研究,因此将现有课题中的一部分设置为本课程主线。

课程实施过程中逐渐弱化教师的“支架”角色:在“知识内化与技能奠基”阶段,教师通过精讲原理与标准化示范,为学生建立稳固的操作与认知基础;进入“技术融合与问题解决”阶段,教师角色转变为协作引导者,协助学生操作共聚焦显微镜等高端设备,并鼓励学生应对实验中的非预期结果,培养其解决复杂问题的能力;最后在“成果凝练与学术表达”阶段,教师逐步撤出,学生自主完成多源数据的整合、统计分析与学术报告的撰写(图1)。课程通过“引导-协作-自主”的递进式支持体系,系统地推动学生从被动执行的操作员逐渐转变为具备独立探索与整合创新能力的初级研究者。

1.2 教学内容与科研能力对应关系

为培养学生的科研思维,本课程以真实科研课题“探究*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”为主线,将各项实验技术与核心科研能

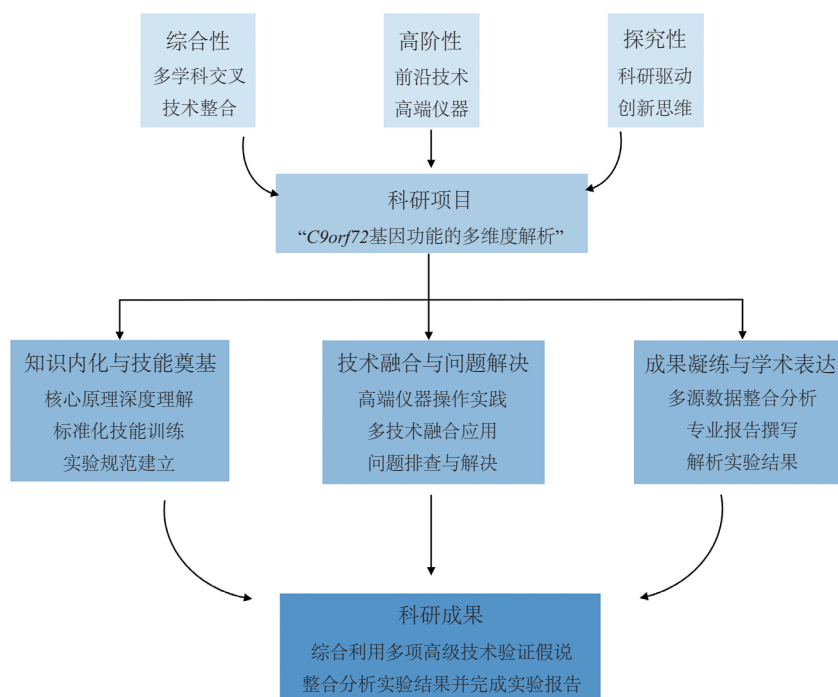


图1 课程设计示意图

Fig.1 Schematic diagram of the curriculum design

力进行关联(表1)。因此,通过本课程学生不仅可以熟练操作多台高端仪器,更重要的是融合多学科知识,加深学生对多学科知识的整合性理解,从而系统地构建起学生解决复杂生命科学问题所需的综合科研能力体系^[18]。

1.3 教学实施流程

1.3.1 学生分组与角色分配 本课程的教学对象为生命科学学院生物科学国家基础学科拔尖学生培养计划2.0基地大二下学期学生。该阶段学生已完成细胞生物学、分子生物学、遗传学及生物化学等核心专业课程的学习,具备了必要的理论基础。另外生物科学国家基础学科拔尖学生培养计划2.0基地学生整体具有较强的自主学习能力与团队意识,其中绝大多数学生以攻读硕士研究生为主要发展方向。基于该学情,本课程核心目标定位于系统提升学生的综合科研素养与创新能力。

为了课程的有序开展,我们采用研究小组制的组织形式,每组由3~4名学生构成,在实验操作时每组成员轮换承担不同实验操作角色,确保每位学生全面参与科研过程的各个环节,从而实现对其实验技能、数据分析和撰写报告等综合能力的系统性培养。

1.3.2 教学实施流程 本课程教学实施以“科研课

题”为主线,围绕“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”这一核心科学问题,设计了为期7天、循序渐进的科研能力实训流程。

(1) 第一阶段: 课前预习(课前一周)。本阶段旨在引导学生通过文献研读掌握后续教学中课题的研究背景,建立完整的科研思维框架,为后续实验操作与数据解读奠定理论基础。首先,教师提供3篇精选前沿研究论文(主要关于*C9orf72*基因功能缺失与细胞内膜运输的关系、外泌体生物发生及其释放的分子机制)。随后,要求学生在正式上课前以小组形式,归纳总结关键点。通过本阶段的课前预习,学生将带着科研问题、初步的科研设计思路进入实验室,从而为后续实验教学环节做好准备。

(2) 第二阶段: 教学材料的前期准备(第1至2天)。本阶段旨在建立课程所需的研究材料体系。首先,教师通过阐述前沿科学问题,引导学生理解整体研究框架与目标。随后,学生以小组形式开展实践。

第1天上午: 分别进行两项细胞操作。一是细胞复苏: 从液氮或 -80°C 冰箱中取出预先冻存的WT和*C9orf72* KO(图中简称C9 KO) HeLa细胞(*C9orf72* KO细胞系由课题组预先构建提供),按照标准复苏流程快速解冻并将其接种至培养皿。二是细胞传代: 将教师提前培养至适宜密度的待传代HeLa细胞

表1 实验技术与核心科研能力关联表

Table 1 Correspondence between experimental techniques and core research competencies

预期锻炼核心能力 Expected core competencies	对应实验模块 Corresponding experimental module	涉及学科领域 Related disciplines	操作的实验仪器 Instruments involved
细胞模型构建	细胞复苏、传代与培养; 质粒提取与转染 (CD63-pHluorin)	细胞生物学、分子生物学	CO ₂ 培养箱、脂质体转染系统
观察并分析细胞结构及动态过程	免疫荧光染色(CD63/LAMP1)、共聚焦显微镜成像、活细胞动态成像	细胞生物学	激光共聚焦显微镜、活细胞工作站
细胞器的分离与纯化	外泌体超速离心分离	细胞生物学	超速离心机
目标蛋白的定性与半定量分析	Western blot检测外泌体的标志蛋白水平	生物化学	蛋白电泳系统、化学发光成像仪
生物信息学分析蛋白质组学数据	外泌体蛋白质组学的样品制备与数据分析	生物化学、生物信息学	高精度质谱仪

(同样包括 WT 和 *C9orf72* KO 两种), 进行消化、计数和传代培养, 其中传代培养的分为三类: ① WT 和 *C9orf72* KO 的细胞分别传代 5 盘, 用于后续外泌体分离纯化; ② 在正常培养细胞皿中加入细胞爬片, 用于后续免疫荧光染色; ③ 将传代细胞接种于直径为 35 mm 玻璃培养皿中, 用于后续转染和活细胞成像观察。

第 1 天下午: 取出老师已提前一天准备好的质粒菌液, 利用质粒提取试剂盒, 提取 CD63-pHluorin 质粒 [一种 pH 敏感性探针, 在多泡体 (multivesicular body, MVB) 的酸性 pH 下无荧光, 但在细胞外介质的中性 pH 下发出绿色荧光], 检测质粒浓度为 650 ng/μL 和纯度 $D_{260/280}$ 值为 1.85, 质粒纯度达标, 可用于后续转染实验。

第 2 天实验操作如下。① 利用脂质体转染技术将 CD63-pHluorin 质粒导入前一天传代的 WT 和 *C9orf72* KO 细胞中, 构建荧光标记的细胞模型 (约 1 h)。② 免疫荧光染色 (标记 CD63 和 LAMP1), 将第 1 天传代培养的细胞爬片取出, 多聚甲醛 (4% PFA, pH 8.0) 室温固定 15 min。PBS 漂洗 3 遍后, 利用 0.25% Triton X-100 对细胞进行通透处理 8 min, 再用 PBS 漂洗 3 遍, 而后用 5% BSA 室温封闭 1 h, 封闭结束后加入一抗 (用 1% BSA + 0.05% Triton X-100 进行稀释, 1:200), 室温孵育 2 h。移除一抗并用 PBS 漂洗 3 遍, 加入荧光标记二抗 (用 1% BSA + 0.05% Triton X-100 进行稀释, 1:500) 室温孵育 1 h, 最后用 PBS 清洗 3 遍, 使用抗荧光淬灭封片剂 (含 DAPI) 进行封片, 以备后续显微成像等实验使用。③ 将第 1 天传代培养用于后续外泌体分离的细胞更换培养基为无外泌体血清培养基 (对应的培养基由教师提前准备好)。

在此阶段, 要求学生整理完整的实验记录本, 系统记录细胞状态、操作参数等关键信息。在该阶段重点培养学生规范、严谨的实验操作习惯与记录实验过程意识。

(3) 第三阶段: 表型观测与机制验证 (第 3 至 5 天)。在获得稳定细胞模型的基础上, 课程进入表型解析与生化验证阶段。

第 3 天进行共聚焦显微镜成像实验。首先, 教师讲解显微镜基础理论知识。随后, 教师指导学生第 2 天制备的免疫荧光染色样本进行多通道荧光成像 [用 405 nm 激光激发 DAPI; 用 488 nm 激光激发 Alexa Fluor 488 标记的 LAMP1 蛋白; 用 550 nm 激光激发花青素 3 (cyanine 3, Cy3) 标记的 CD63 蛋白], 成像过程中学生们清晰看到细胞核被 DAPI 染为蓝色, 而 CD63 阳性囊泡呈红色点状分布于细胞质, LAMP1 代表的溶酶体呈绿色点状分布。

第 4 天上午进行外泌体分离预处理。收集第 1 天传代培养的 WT 和 *C9orf72* KO 细胞的培养基上清和细胞裂解液。培养基上清液用于分离纯化外泌体, 具体步骤如下: 首先将上清 300 ×g、4 °C 离心 10 min, 去除细胞碎片; 10 000 ×g、4 °C 离心 30 min, 去除凋亡小体等较大颗粒; 上清液经 0.22 μm 滤器过滤, 进一步去除残留的大细胞器; 将样品冻存于 -80 °C, 以备后续超速离心。

第 4 天下午进行活细胞成像实验。学生将转染 CD63-pHluorin 的 WT 和 *C9orf72* KO 细胞置于配有活细胞培养装置的共聚焦显微镜载物台上, 维持 37 °C、5% CO₂ 环境, 选择合适的细胞视野, 以 488 nm 激光激发, 每 2 s 采集一帧图像, 连续拍摄 120 s, 记录 CD63-pHluorin 标记囊泡的动态行为。在成像

过程中,学生可实时观察到CD63-pHluorin标记的囊泡与质膜融合,融合瞬间出现快速扩散的绿色荧光闪光,这是由于囊泡内部酸性环境转变为胞外中性pH,导致pHluorin发荧光。

第5至6天进行外泌体分离和检测。①超速离心进行外泌体的分离与纯化,将滤液转移至超速离心管中,100 000 ×g、4 °C离心90 min,弃上清,沉淀以PBS重悬;再次100 000 ×g、4 °C离心90 min,弃上清,所得外泌体沉淀用30 μL RIPA裂解液溶解,用于后续分析。同时,采用BCA法测定WT和*C9orf72* KO细胞裂解液的蛋白浓度,根据标准曲线将二者浓度调至一致,以便后续细胞裂解液样品上样时蛋白量相等;此外,BCA测定结果也是外泌体样品的上样量参考,确保来自等量细胞的外泌体被用于比较分析。②利用Western blot检测外泌体样本,分析Alix、TSG101、CD81等外泌体标志蛋白的表达水平变化。实验操作时,学生取等量(20 μg)细胞裂解液和外泌体样品,加入上样缓冲液后于100 °C煮沸5 min;经10% SDS-PAGE凝胶电泳分离后,湿转法转至PVDF膜(300 mA、90 min);用5%脱脂奶粉室温封闭1 h;加入Alix(1:1 000)、TSG101(1:1 000)、CD81(1:1 000)一抗,4 °C孵育过夜;TBST洗涤后加入HRP标记二抗(1:5 000),室温孵育1 h;最后用ECL化学发光底物反应后,于化学发光成像仪中曝光显影。曝光后,学生在成像仪上观察到清晰蛋白条带:Alix约为95 kDa, TSG101约为45 kDa, CD81约为20 kDa。外泌体富集的小细胞外囊泡(small extracellular vesicles, sEVs)样品泳道中对应的条带清晰明亮,表明外泌体分离纯化成功。

(4) 第四阶段:数据整合、分析总结与科研成果表达(第7天)。本阶段旨在引导学生完成多源数据整合、结果解释和学术表达训练。第7天(处理数据和撰写实验报告):学生运用ImageJ/Fiji软件对获取的显微图像进行定量分析(如荧光强度测量、共定位统计)以及对Western blot检测蛋白数据进行定量统计。同时,在教师指导下分析前期已完成的蛋白质组学数据(WT和*C9orf72* KO的HeLa细胞),进行差异蛋白筛选和功能通路分析,系统解读*C9orf72*的生物学意义。各小组根据实验中获得的所有数据,撰写一份综合性实验报告。报告需包含研究背景、材料与方法、结果、讨论及参考文献等学术论文的完整模块。

通过上述的课程设置,学生不仅系统掌握了前沿实验技术,更亲身经历了从科研问题到成果呈现的科研过程,为其未来从事科学研究奠定了扎实的基础。

2 实验原理与实验目的

2.1 实验原理

本课程围绕“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”这一核心科学问题,将细胞模型构建技术、静态蛋白定位成像技术、活细胞动态观测技术与外泌体生化验证技术等四类关键实验技术有机串联为一条完整的科研证据链,使学生在真实问题情境中理解各技术模块的功能定位及其相互衔接关系。

具体而言,以脂质体转染与活细胞动态成像获得外泌体释放心事件的实时证据:将pH敏感荧光蛋白CD63-pHluorin导入WT及*C9orf72* KO细胞,在MVB与质膜融合、内容物暴露于胞外中性环境时,CD63-pHluorin出现绿色荧光闪光,从而实现对外泌体释放心事件的实时监测;以免疫荧光染色结合激光共聚焦成像获得空间分布证据:利用CD63(MVB标志物)与LAMP1(溶酶体标志物)的共定位分析,判断MVB的命运走向(溶酶体降解或外泌体分泌);以差速超速离心分离外泌体与Western blot鉴定获得生化证据:利用不同组分沉降系数差异在100 000 ×g下富集外泌体,并检测Alix、TSG101、CD81等标志蛋白的表达水平以确认分离效果;最后以蛋白质组学与生物信息学分析获得系统层面的证据:基于LC-MS/MS鉴定差异蛋白并结合KEGG通路富集,从整体层面揭示*C9orf72*缺失对外泌体蛋白组成及相关生物学通路的影响。

上述四类技术形成“动态监测-空间定位-生化验证-系统解析”的层层递进的证据链条,共同服务于同一科学问题的求解。教学设计的关键并不在于原理本身的陈述,而在于引导学生理解:为什么要用这些技术,各项技术在完整科研逻辑中如何协同,以及如何通过多源证据的整合完成一个科学假说的检验。

2.2 实验目的

依据教学目标分类,结合OBE“成果导向、学生中心”的反向设计思路,本课程从知识、技能与素养三个层次对预期学习成果进行分层设计(表2)。其

表2 基于布鲁姆教学目标分类的课程预期学习成果

Table 2 Expected learning outcomes of the course based on taxonomy of instructional objectives

目标层次(教学目标分类发) Target level (taxonomy of instructional objectives)	核心内容 Core content	预期学习成果 Expected learning outcomes
知识目标(记忆-理解)	外泌体生物发生与 <i>C9orf72</i> 功能的核心知识	掌握外泌体释放的关键机制;了解 <i>C9orf72</i> 蛋白在细胞内膜运输中的角色定位;在此基础上梳理出“科学问题-实验设计-技术实施-数据解读”这一条贯穿全课程的科研逻辑主线
技能目标(应用-分析)	关键实验技术与高端仪器的规范操作	独立完成免疫荧光染色、共聚焦与活细胞动态成像、差速超速离心分离外泌体、Western blot蛋白鉴定等操作;较为熟练地使用激光共聚焦显微镜、超速离心机等共享大型设备;借助ImageJ/Fiji、KEGG等工具对图像和蛋白质组学数据进行定量处理与功能注释
素养目标(评价-创造)	科研思维与综合学术素养	整合全部实验结果,尝试提出科学问题的解释;独立撰写综合性研究报告,并能够以学术汇报的方式陈述自己的研究结论;在协作过程中养成求真务实的态度与对数据的责任意识,从按步骤操作的执行者,逐渐成长为愿意提出问题、主动探究的初级研究者

中知识目标对应“记忆-理解”层次,技能目标对应“应用-分析”层次,素养目标对应“评价-创造”层次,三者由低到高逐级递进,共同指向学生从“实验操作员”向“初级研究者”的角色转变。

3 教学成效评估:多维证据链验证教学成果

为科学评估课程成效,本研究采用多元化的评估方法,构建包含直接证据与间接证据的“多维证据链”^[19],全面反映学生在知识、能力与素养方面的成长。

3.1 直接性评估:基于学生学术能力提升的评估

直接性评估证据来源于学生得到的实验数据,其质量直观反映了本课程目标的达成度。本课程以“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”为课程主线,学生最终提交的综合实验分析报告,是其实验技能与科学思维提高的客观凭证。

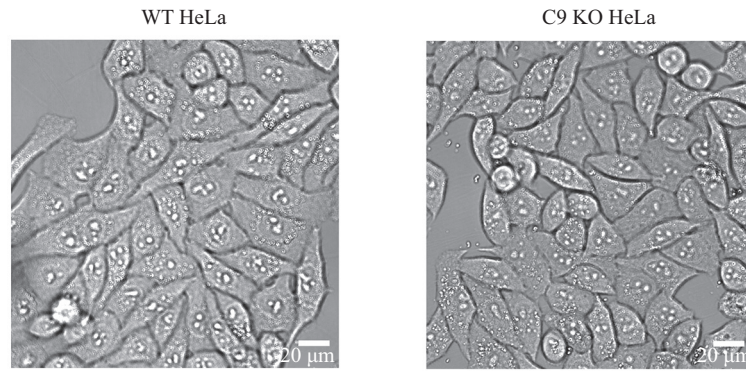
在细胞模型建立阶段,学生首先在光学显微镜下对比观察WT与*C9orf72* KO HeLa细胞的形态特征。结果显示,两种细胞在贴壁状态、细胞形态等基本表型上未见明显差异(图2),表明*C9orf72*敲除并未引起细胞整体生长状态的显著改变,由此可以排除由细胞状态差异带来的实验干扰,为后续基于相同细胞数量开展外泌体分离与定量比较提供了前提条件。对比观察也促使学生形成“先判断细胞基线状态,再进行定量实验”的严谨科研思路。

学生的技术能力首先体现于其获取的高质量原始数据。共聚焦图像清晰地显示与WT相比,*C9orf72* KO细胞系中CD63的荧光信号显著增强,且

CD63与LAMP1共定位水平抑制这一关键表型的形成(图3A~图3D),表明MVB参与形成的自噬溶酶体数量减少。同时对转染表达CD63-pHluorin的WT和*C9orf72* KO细胞进行活细胞成像。这种方法可以可视化MVB和质膜的融合事件。在100 s的成像期间,*C9orf72* KO细胞中每个细胞的CD63-pHluorin融合事件比WT细胞增加了2.17倍(图4A~图4D)。这一结果提供了直接证据,表明*C9orf72*敲除增加了与质膜融合的MVBs数量,从而促进了sEVs的分泌。该结果表明学生能规范操作高端设备并分析图像结果。在生化验证层面,Western blot结果条带清晰,并且结果显示外泌体标志物Alix、TSG101和CD81在sEVs组分中的特异性富集(图5A和图5B),有效证实了外泌体分离纯化的成功。蛋白质谱分析结果表明,*C9orf72* KO细胞系显著差异表达的蛋白与神经退行性疾病(如帕金森病和亨廷顿病等)有关(图5C和图5D)。在综合报告中,学生并未单独描述实验结果,而是将其作为逻辑链条的环节:他们能将成像观察到的共定位现象与Western blot揭示的蛋白分布变化相关联,进而推测“*C9orf72*缺失可能扰乱内吞体分选”,并提出*C9orf72*缺失可能通过介导外泌体释放,进而推动神经退行性疾病发展的科学假说。这也表明学生的科研思维已成功实现了从被动验证到主动探索的跃迁,其具备了初步的科学推理与假说构建能力。

3.2 间接性评估:基于学生反馈教学效果的评估

课程结束后,我们采用匿名问卷的方式对学生的学习体验进行横向比较。问卷按10分制计分^[11],

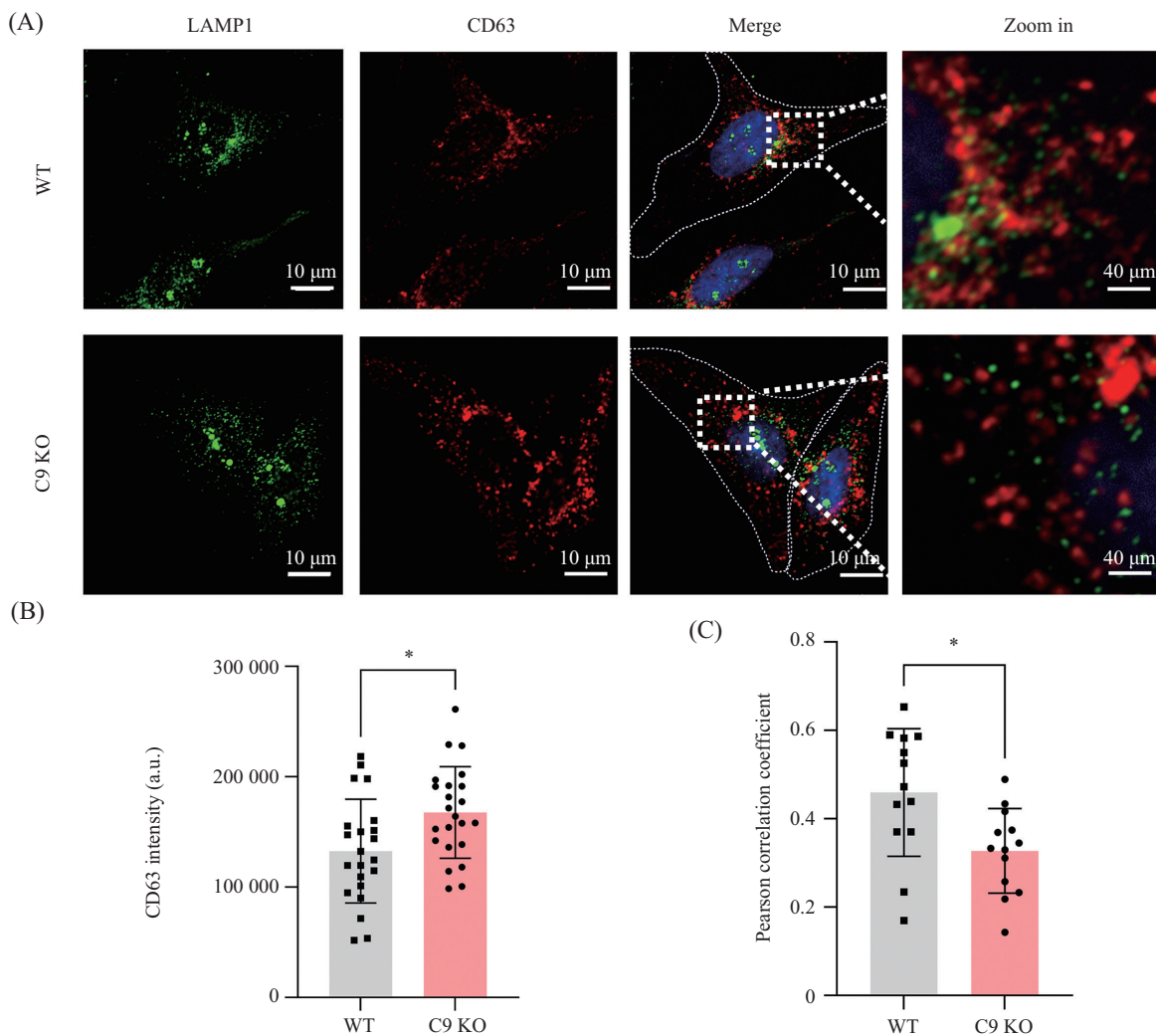


A: WT HeLa细胞; B: C9 KO HeLa细胞。两种细胞在形态与生长状态上无明显差异。此结果为学生实验结果的代表图。

A: WT HeLa cells; B: C9 KO HeLa cells. No obvious differences in morphology or growth status were observed between the two cell lines. Representative images from students' experimental results.

图2 WT与C9 KO HeLa细胞的显微形态对比

Fig.2 Morphological comparison of WT and C9 KO HeLa cells

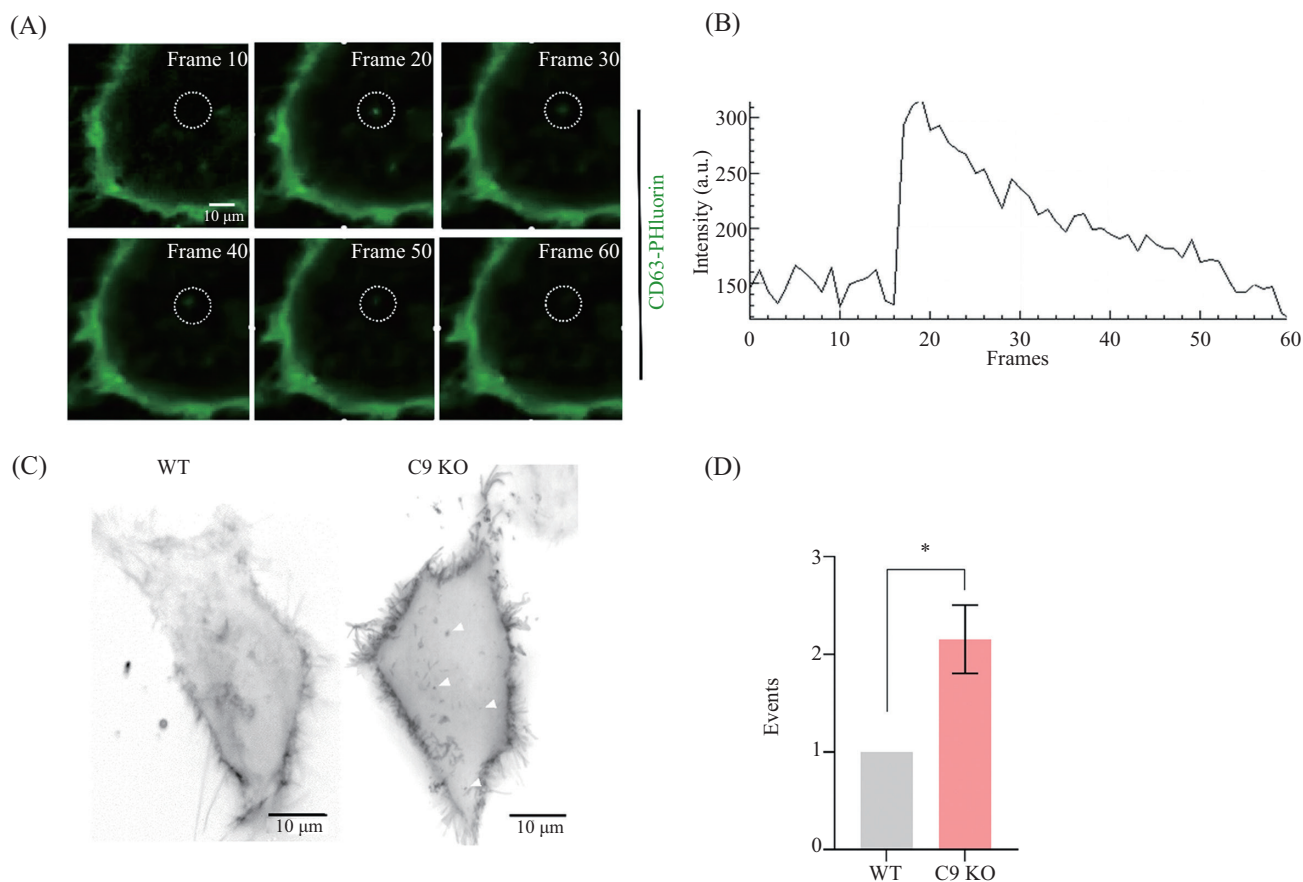


A: WT和C9 KO细胞CD63和LAMP1的免疫荧光染色结果; B: CD63的荧光强度统计图; C: CD63和LAMP1的共定位统计图。此结果为学生实验结果的代表图。* $P < 0.05$ 。

A: immunofluorescence staining of CD63 and LAMP1 in WT and C9 KO cells; B: quantification of CD63 fluorescence intensity; C: quantification of CD63 and LAMP1 co-localization. Representative images from students' experimental results. * $P < 0.05$.

图3 WT与C9 KO细胞CD63和LAMP1的免疫荧光染色结果

Fig.3 Immunofluorescence staining of CD63 and LAMP1 in WT and C9 KO cells



A: 在转染编码CD63-pHluorin的质粒的HeLa细胞中, CD63囊泡与质膜融合事件的代表性活细胞图像。B: 单个融合事件的代表性剖面, 显示CD63-pHluorin信号的振幅(Δ 强度, 任意单位)和持续时间(帧)。C: 图像显示不同时间累积的融合事件, 最长可达100 s, 箭头表示融合事件。D: 图C中WT和C9 KO细胞每细胞超过100 s的融合事件数量的定量分析。此结果为学生实验结果的代表图。* $P < 0.05$ 。

A: representative live-cell images of CD63 vesicle fusion with the plasma membrane in HeLa cells transfected with CD63-pHluorin; B: representative profile of a single fusion event showing amplitude (Δ intensity, arbitrary units) and duration (frames) of the CD63-pHluorin signal; C: time-cumulated fusion events up to 100 s (arrows indicate fusion events); D: quantification of fusion events per cell over 100 s in WT and C9 KO cells. Representative images from students' experimental results. * $P < 0.05$.

图4 WT与C9 KO细胞CD63囊泡与质膜融合事件的活细胞图像

Fig.4 Live-cell imaging of CD63 vesicle fusion with the plasma membrane in WT and C9 KO cells

包含教学满意度、教学形式有效性、教学方法新颖性、科研积极性、团队协作主动性以及技能掌握自评共六项观测指标, 对比本课程与传统实验课的教学效果, 结果如图6所示。从评分分布来看, 本课程在所有六项指标上落在9–10分高分区间的学生比例均明显高于常规实验课; 常规实验课的评分则更多集中于8–9分档, 两组的评分重心存在较清晰的错位。就前三项偏重教学设计本身的指标而言, 学生的回答普遍肯定了以真实科研课题为主线的课程方式, 而不再把实验课视为单纯的按流程操作。后三项更接近学生主观成长的指标亦呈现类似趋势: 科研积极性与技能掌握自评的提升, 提示该模式在学习动机与自我效能感层面产生了正向作用; 团队协作主动性的提高, 则与课程中小组角色轮岗、阶段

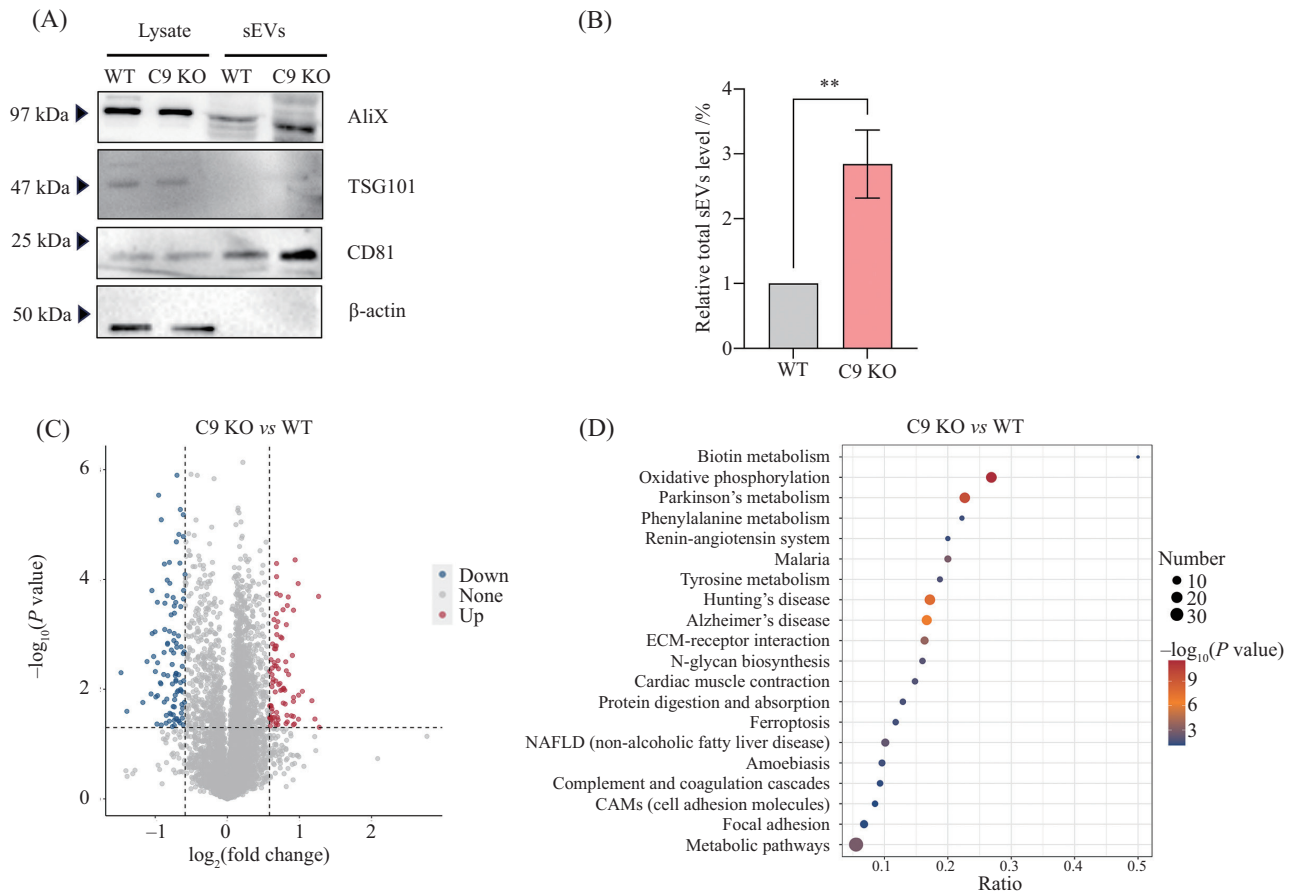
汇报等设计环节相互呼应。

上述六个维度的全面提升共同说明, 以真实科研问题为驱动、以完整科研流程为框架、以团队协作作为组织形式的实验教学, 有效支撑了学生从“被动执行者”向“主动探究者”的角色转变, 实现了本课程的预期目标。

4 总结与反思

4.1 课程总结

本次教学改革针对传统细胞生物学实验教学中内容碎片化、技能培养与科研需求脱节等共性问题, 基于OBE理念开展系统化重构, 其创新点可凝练为以下三个方面。(1) 以真实前沿课题为唯一逻辑主线重构课程内容。不同于传统实验课以“技术类



A: WT与C9 KO细胞的外泌体标志性蛋白在细胞裂解液(lysate)和外泌体(sEVs)中Western blot检测图; B: A中外泌体的统计图; C、D: WT与C9 KO HeLa细胞差异表达蛋白火山图及其KEGG通路富集分析。此结果为学生实验结果的代表图。** $P < 0.01$ 。

A: Western blot detection of exosomal marker proteins in cell lysates and exosomes (sEVs) from WT and C9 KO cells; B: quantification of exosomal markers in A; C, D: volcano plot of differentially expressed proteins and KEGG pathway enrichment analysis in WT and C9 KO HeLa cells. Representative images from students' experimental results. ** $P < 0.01$.

图5 WT与C9 KO细胞外泌体标记蛋白Western blot结果

Fig.5 Western blot analysis of exosomal marker proteins in WT and C9 KO cells

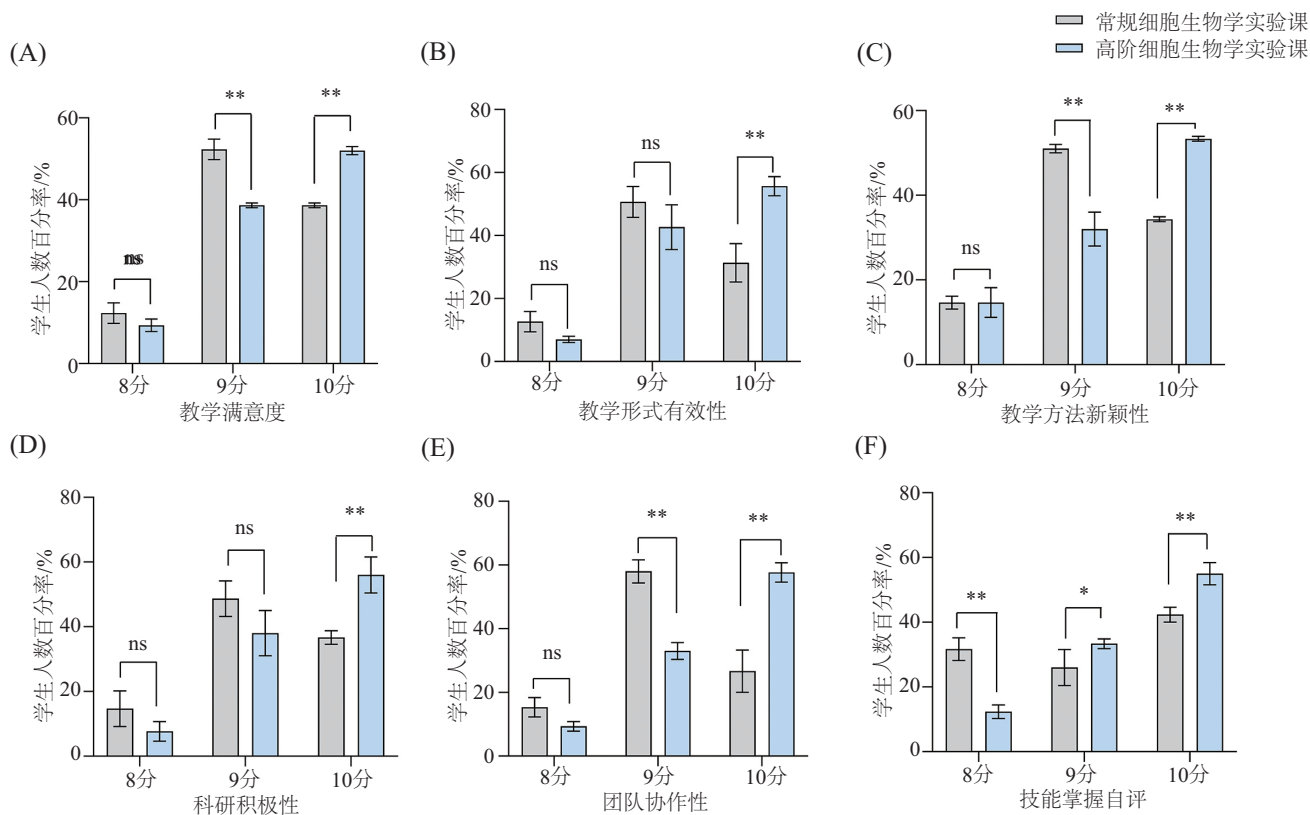
别”组织教学单元的模式,本课程则围绕“*C9orf72*基因敲除对外泌体生物发生及分泌的调控作用”这一问题展开,把分子生物学、细胞生物学、生物化学与生物信息学中的若干核心技术串联进同一研究链条,便于学生在连贯的证据线索中即可理解各项技术之间的衔接与配合。(2) 构建“引导-协作-自主”三级递进式支架教学模式。教师角色随教学阶段的推进逐步从主导者转为协作者,再到旁观者,学生主体地位随之不断提升,形成可迁移至其他高阶实验课程的通用教学支架结构,为实现学生自主学习提供了可操作方案。(3) 建立“直接证据-间接证据”相结合的多维成效评估体系。学生的原始实验数据与综合研究报告直接衡量科研能力的实际达成度,六个维度的问卷则从侧面反映学习体验和素养变化,两类证据相互印证,推动“成果导向、持续改进”的

OBE理念在评价环节落实,形成可量化、可追溯的指标。

4.2 课程反思

尽管课程取得了良好的教学效果,但在连续三年的实施过程中仍暴露出若干需要持续改进的问题,这些真实情境中的挑战对后续课程优化具有重要参考意义。

(1) 课程时间紧与实验周期长的矛盾突出。外泌体超速离心分离、蛋白质组学样品制备、Western blot等环节单步骤耗时较长,需要严格按时间节点衔接,一旦某个环节出现意外(如转染效率偏低、细胞状态不佳),便会压缩后续环节的操作与数据分析时间。在实践中我们采用教师提前准备部分关键材料(如菌液、无外泌体血清培养基)的方法,有效解决了实验耗时过长的问題,但从根本上仍需进一步



A: 教学满意度; B: 教学形式有效性; C: 教学方法新颖性; D: 科研积极性; E: 团队协作性; F: 技能掌握自评。ns表示无显著性差异; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

A: teaching satisfaction; B: effectiveness of teaching format; C: novelty of teaching approach; D: research enthusiasm; E: team collaboration; F: self-assessment of skill acquisition. ns indicates no significant difference; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

图6 比较常规细胞生物学实验课和高阶细胞生物学实验课的教学效果

Fig.6 Comparison of teaching effectiveness between the Conventional and Higher-Order Cell Biology Experiment courses

优化课程节奏, 或将部分长周期实验前置置于常规课程中完成。

(2) 学生个体差异对小组协作模式带来挑战。同一小组中学生在实验操作熟练度、数据分析能力与科研兴趣上存在明显差异, 部分动手能力较弱的学生容易在高强度实训中产生畏难情绪; 而科研兴趣较浓的学生则可能在讨论中主导话语权, 这削弱了其他成员的参与度。我们在后期通过强制性角色轮换、要求每位成员独立汇报某一技术模块等方式进行调节, 但仍需探索更精细化的分层指导策略, 以满足不同基础学生的学习需求。

(3) 高端仪器设备数量有限, 制约并行开展。激光共聚焦显微镜、超速离心机、活细胞工作站等核心设备在本院均为共享资源, 可供教学使用的时段与台次有限, 导致各小组只能轮换上机, 部分学生实际动手时间被压缩, 只能观摩完成。对此, 我们采取了“小组轮换+视频同步直播”的方式加以补充, 但设备

瓶颈仍是限制班级容量与实验深度的主要因素, 未来需要在实验平台建设与课程安排上做进一步协调。

(4) 过程性评价指标有待进一步细化。目前的教学评估主要依赖最终综合报告与问卷反馈, 对学生在实验设计讨论、非预期结果处理、团队协作贡献等关键环节的动态表现尚缺乏系统性记录与评分机制, 未来将引入同伴互评等方式, 更精准地追踪学生科研思维的成长轨迹。

4.3 展望

未来本课程将从以下方面持续改进: 一是动态更新驱动课题, 结合本课题组最新研究进展和领域前沿每1至2年更新一次课程主线科学问题, 保持课程的前沿性与吸引力; 二是优化分层教学与过程性评价, 通过学情前测、分层任务与成长记录袋, 实现对不同基础学生的精准支持与动态评估; 三是完善课程间的纵向衔接, 将周期较长的实验(如蛋白质组学样品制备、Western blot等)与后续分子生物学实

验课程形成递进式课程体系;四是推动跨校、跨学科资源共享,借助虚拟仿真与线上直播等方式打破高端设备瓶颈,促进本课程模式在更大范围内的推广与应用。

参考文献 (References)

- [1] 刘海卿, 杨建霞, 卜婷, 等. 产出导向和深度融合课程思政的细胞生物学教学探索与实践[J]. 中国细胞生物学学报(LIU H Q, YANG J X, BU T, et al. Exploration and practice on cell biology teaching with outcome-based and deep integration of ideology and politics [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2025, 47(1): 101-10.
- [2] 杨英, 卢群伟, 刘亚丰, 等. “破壁-固核-拓思”三级联动的细胞生物学教学改革与实践[J]. 高校生物学教学研究(电子版)(YANG Y, LU Q W, LIU Y F, et al. Innovation of cell biology education: breaking barriers, strengthening foundations and expanding horizons [J]. Biology Teaching in University, Electronic Edition), 2025, 15(3): 24-9.
- [3] 黄宜兵, 金志刚, 杜清, 等. 基于虚拟教研室建设提升细胞生物学实验课程质量的探索[J]. 高校生物学教学研究(电子版)(HUANG Y B, JIN Z G, DU Q, et al. Improving the quality of cell biology experimental course based on the construction of virtual teaching and research section [J]. Biology Teaching in University, Electronic Edition), 2024, 14(1): 3-9.
- [4] 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. The Reflection and reconstitution of experimental teaching mode of cytobiology [J]. Heilongjiang Education, Higher Education Research & Appraisal), 2020(5): 4-5.
- [5] 高月春. 在实验课教学中培养批判性思维[J]. 实验科学与技术(GAO Y C. Cultivation of critical thinking in experiment teaching [J]. Experiment Science and Technology), 2016, 14(3): 168-70.
- [6] 张立全, 张彦桃. 以OBE理念为导向的生物技术大实验教学实践[J]. 实验科学与技术(ZHANG L Q, ZHANG Y T. Teaching practice of biotechnology comprehensive experiment guided by OBE concept [J]. Experiment Science and Technology), 2025, 23(4): 106-12.
- [7] 陈爽. 应用型人才培养模式的实验教学改革[J]. 实验室研究与探索(CHEN S. Reform of practice teaching according to mode of applied cultivation [J]. Research and Exploration in Laboratory), 2012, 31(8): 1-3,388.
- [8] XING S P, CHEN Q X. Research and practice on achievement of curriculum objectives based on outcome-based education idea [C]//Proceedings of the First International Symposium on Management and Social Sciences (ISMSS 2019). Wuhan: ISMSS, 2019: 221-5.
- [9] 卢玉飞. OBE理念背景下开展细胞生物学课堂教学互动的探索实践[J]. 基础医学教育(LU Y F. Exploration on interactive teaching model in the course of cell biology based on the concept of OBE [J]. Basic Medical Education), 2025, 27(2): 129-33.
- [10] 王子铭, 陈勇. “融合模式, 明暗交替”: 细胞生物学课程混合式教学的设计与实践[J]. 中国细胞生物学学报(WANG Z M, CHEN Y. “Integration mode, alternating light and dark”: the design and practice of blended teaching in cell biology course [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2025, 47(4): 880-92.
- [11] 申天恩, 斯蒂文·洛克. 论成果导向的教育理念[J]. 高校教育管理(SHEN T E, LOCKE S. On outcome based educational theories [J]. Journal of Higher Education Management), 2016, 10(5): 47-51.
- [12] 李巧峡, 牛燕琴. 基于科研素养培养的细胞生物学实验教学改革探索与实践[J]. 高校生物学教学研究(电子版)(LI Q X, NIU Y Q. Exploration and practice of the teaching reform of cell biology experiment based on scientific research literacy cultivation [J]. Biology Teaching in University, Electronic Edition), 2024, 14(6): 50-6.
- [13] 苏芃, 李曼丽. 基于OBE理念构建通识教育课程教学与评估体系: 以清华大学为例[J]. 高等工程教育研究(SU F, LI M L. The construction on curriculum and teaching in general education in tsinghua case: an approach of outcome based education [J] Research in Higher Education of Engineering), 2018(2): 129-35.
- [14] 陈金峰. 基于任务驱动的分生物学综合实验的实施[J]. 高校生物学教学研究(电子版)(CHEN J F. Implementation of task-driven comprehensive experiments in molecular biology [J] Biology Teaching in University, Electronic Edition), 2021, 11(1): 51-4.
- [15] 丁磊, 丁福聚, 刘冬, 等. OBE和设计理念下科学精神思政元素融入细胞生物学实验课程教学探索[J]. 中国细胞生物学学报(DING L, DING F J, LIU D, et al. Exploration of integrating scientific spirit cultivation of ideological and political into cell biology experiment course in vision of OBE (outcome based education) and design concept [J]. Chinese Journal of Cell Biology), 2025, 47(7): 1656-67.
- [16] SHAO Q, YANG M, LIANG C, et al. *C9orf72* and *smcr8* mutant mice reveal MTORC1 activation due to impaired lysosomal degradation and exocytosis [J]. Autophagy, 2020, 16(9): 1635-50.
- [17] TANG B L. *C9orf72*'s interaction with Rab GTPases-modulation of membrane traffic and autophagy [J]. Front Cell Neurosci, 2016, 10(7): 228.
- [18] 张雪燕, 景玉宏, 张哲文, 等. OBE视角下分子医学实验课程整合与教学模式探索[J]. 生命的化学(ZHANG X Y, JING Y H, ZHANG Z W, et al. Exploration of course integration and teaching mode in Molecular Medicine Experiment based on OBE concept [J]. Chemistry of Life), 2025, 45(3): 564-70.
- [19] 余响华, 邵金华, 刘小文, 等. 成长记录袋评价法提升细胞工程课堂教学质量[J]. 生物工程学报(YU X H, SHAO J H, LIU X W, et al. Promoting teaching quality by portfolio assessment in Cell Engineering classroom [J]. Chinese Journal of Biotechnology), 2021, 37(4): 1443-9.