线上线下混合式-六环节实验教学实践与探索 ——以化学生物学实验“基于生物正交反应的蛋白质标记”为例

朱婷玉, 张晖, 章文伟, 叶德举, 李金波, 谢然*

南京大学化学化工学院, 南京 210023

摘要: 化学生物学综合实验是针对化学生物学专业高年级本科生开设的一门衔接本科-硕士教学的综合性实验课程。本文以“基于生物正交反应的蛋白质标记”科研融合型实验为例, 结合化学生物学学科特点, 将实验教学内容模块化, 探索设计线上线下混合式-六环节教学方式, 应用于本科生综合实验教学。经实践取得良好的教学效果, 为综合型实验课程教学提供了参考与借鉴。

关键词: 化学生物学综合实验; 生物正交反应; 模块化教学; 线上线下混合教学

中图分类号: G64; O6

Practice and Exploration of Laboratory Teaching Based on the Mixed Online/Offline-Six-Module Didactics-Case Study: Protein Labeling Based on Bioorthogonal Reaction

Tingyu Zhu, Hui Zhang, Wenwei Zhang, Deju Ye, Jinbo Li, Ran Xie *

School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China.

Abstract: Chemical biology comprehensive experiment is an integrative laboratory course designed for junior/senior undergraduate students, with the intention of linking undergraduate-postgraduate laboratory teaching in chemical biology. Based on the interdisciplinary feature of chemical biology, we firstly designed the laboratory teaching contents as a mixed online/offline-six-module didactics, and then applied the teaching methodology in real undergraduate laboratory course. With a decent teaching results at hand, we believe this course design will be a good paradigm for other comprehensive experimental courses.

Key Words: Chemical biology comprehensive experiment; Bioorthogonal reaction; Module teaching method; Mixed online/offline teaching

近年来, 化学学科发生了巨大的变化, 其研究范围和内涵正在急速丰富和拓展, 出现了许多全新的研究领域、研究手段和方法。化学与生命科学研究领域的交叉是目前蓬勃发展的研究领域之一^[1-4], 化学生物学的科研进展为教学实验提供了更多的实验项目转化可能, 实验教学内容与前沿知识联系愈发紧密^[5-7]。化学生物学的学科发展也离不开化学生物学专业人才培养, 北京大学于2000年在国内率先成立了化学生物学系, 清华大学也于2003年设立了化学生物学基础科学班, 南京大学于2018年成立化学生物学学科, 2019年开设化学生物学综合实验课程。该课程是在化学一级学科层面上针对高年级本科生开设的一门由科研成果转化而成、涵盖化学生物学基本内容的综合性实验课程。

收稿: 2021-09-10; 录用: 2021-09-16; 网络发表: 2021-11-09

*通讯作者, Email: ranxie@nju.edu.cn

基金资助: 南京大学 2021 年本科教育教学改革项目; 2021 年基础学科拔尖学生培养计划 2.0 课题

课程旨在进一步强化学生的化学与生物基础理论知识和实验技能,综合学习和应用包括合成、分离、结构表征、理化性能测试、细菌及细胞培养等化学生物学经典技术在内的多种实验技术方法,从而促进学生知识结构、能力结构和综合素质的全面提高。

传统实验教学在培养学生基本技能、基础知识、基本能力方面发挥了重要作用,但存在以下局限性:教学时间和空间受限,实验内容与实际科研存在脱节,验证性实验偏多等^[8,9]。与此同时,新时代学生思想多元化明显,习惯网络社交,适应网络学习。同时受疫情影响,线上教学呈现井喷式发展^[10-13]。以上因素表明,后疫情时代充分利用线上线下混合式教学进行实验教学过程管理,是实验教学的必由之路。基于此,本文以“基于生物正交反应的蛋白质标记”为例,探索了基于模块化的实验内容设计及线上线下混合式-六环节教学模式,设计构建了模块化的实验内容,利用优质教学资源 and 平台,耦合在线资源与线下教学,联通课堂内外,使实验教学不受时间和空间限制。实践结果表明,师生参与度较高及教学反馈结果优秀,能够达成实验课程目的,提升实验教学质量。

1 实验内容模块化

化学生物学综合实验课程共开设1次绪论课、1次“科研论文写作方法介绍及分析测试仪器培训”讲座、1个线上虚拟仿真实验项目和5个线下综合性实验项目。为了保证实验可操作性和实验教学安全,满足教学时间安排,符合教学实验教授新知识、新技术的要求,我们选择合适的时间节点,提炼基础知识点和技术,分模块覆盖知识点,将操作步骤连续性强的科研实验转化为总时长24小时(每次8小时,分三次课进行)的教学实验。实验项目基本覆盖了化学生物学近年来的经典代表性方法,结合线上线下混合式-六环节教学模式,帮助学生掌握利用化学工具解决生物学问题的研究方法与技术,培养学生的实验动手能力、团队协作精神和基本科研素养,为后续开展科研活动打下良好的基础。

以“基于生物正交反应的蛋白质标记”实验(5个线下综合性实验项目之一)为例。生物正交反应是指能够在活细胞或组织中发生且干扰生物自身生理活动的一类化学反应,是化学生物学研究领域中的经典反应,也是科学研究的重要工具^[14,15]。“基于生物正交反应的蛋白质标记”实验按照蛋白质修饰、胶内荧光成像、蛋白免疫印迹(Western blot)三个实验模块进行,如表1所示。模块一中,基于蛋白修饰方法、生物正交反应、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量分析等知识点,设计赖氨酸侧链修饰的蛋白质标记及蛋白超滤纯化方法、BCA试剂盒测定蛋白浓度、通过环张力诱导的1,3-偶极环加成反应

表1 生物正交反应的蛋白质标记实验内容

模块	知识点/技术	课程内容
模块一: 生物正交反应对蛋白进行荧光基团或生物素修饰	蛋白修饰的方法	1) 实验原理、安全注意事项讲解
	生物正交反应	2) 基于赖氨酸的蛋白质标记及超滤纯化处理
	二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量分析	3) BCA法蛋白质定量分析
		4) 基于生物正交反应的荧光基团、生物素基团修饰
		5) 制备聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)样品
模块二: 胶内荧光成像检测蛋白质的荧光基团标记	聚丙烯酰胺凝胶电泳	1) SDS-PAGE、对照实验等实验原理讲解
	对照实验的意义和实际运用	2) 配制2块丙烯酰胺凝胶
		3) SDS-PAGE分离荧光基团修饰蛋白
		4) 荧光条带胶内成像、考马斯亮蓝染色成像
模块三: Western blot检测蛋白质的生物素基团标记	蛋白质免疫印迹技术	1) SDS-PAGE分离生物素基团修饰蛋白
		2) Western blot检测生物素基团修饰蛋白
		3) 教学立方在线测试(主观题)、师生讨论

(SPAAC反应)在模型蛋白——牛血清蛋白(BSA)上引入荧光基团、生物素(biotin)等实验内容。模块二中, 基于聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分子筛效应和浓缩效应、对照实验等知识点, 设计聚丙烯酰胺凝胶电泳分离荧光基团修饰蛋白、考马斯亮蓝染色成像等实验内容。模块三中, 基于蛋白免疫印迹技术, 设计聚丙烯酰胺凝胶电泳分离生物素修饰的蛋白、进行蛋白免疫印迹湿转检测等实验内容。

实验模块内容层层递进, 以牛血清蛋白和溶菌酶(Lysozyme)为模型蛋白, 采用化学修饰方法对蛋白质进行非特异性的荧光团(Cy5/FAM)标记和生物素标记, 并通过胶内荧光成像、考马斯亮蓝染色、蛋白质免疫印迹技术三种实验方法进行验证, 同步进行对照实验。最终达到通过该实验了解先进的蛋白质修饰的方法; 了解生物正交反应的特点、类型及其在化学生物学研究中的应用; 掌握SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳及蛋白质免疫印记技术的相关实验原理及操作等。

2 线上线下混合式-六环节教学设计

传统线下授课的实验安排通常包括课前预习、课堂实验、课后写报告三阶段。三阶段实验教学中通常学生预习以抄写教材为主, 对实验背景了解较少; 实验过程中按部就班, 对实验内容缺乏思考; 实验后仍然存在较多的理论疑惑, 仅仅提交简单的实验报告难以获得良好的学习效果。为了让学生掌握实验主要知识、技能, 减少实验过程中的失误, 巩固反思学习内容, 提升动手能力和科学素养, 我们在合理利用网络教学资源及教学管理平台的基础上, 将传统三阶段教学细化为6个教学环节, 依次为: 绪论导入、课前预习、课程实验、实验报告、科学演讲、成绩评定, 即线上线下混合式-六环节教学模式, 如表2所示。通过在腾讯会议、教学立方、作业系统、实验室等线上线下混合平台展开教学活动, 其核心仍然是学生实际操作的线下实验, 但实验前后的辅助环节变得更为灵活多样。通过探索式、问题式、启发式、讨论式等多种教学形式加强师生互动, 鼓励学生去思考讨论, 从而提升学生科学研究所应具备的基本素养, 如信息收集、团队合作、数据分析、科学演讲等。

表2 线上线下混合式-六环节教学模式

教学环节	使用平台	学生	教师	关键点
1) 绪论导入	腾讯会议	了解实验研究方向, 提出问题	介绍课程教师、实验项目、课程运行模式及课程要求	师生互动, 引导学生进一步了解实验
2) 课前预习	教学立方	预习讲义、仪器使用说明、完成练习题、预习报告	查看课前习题完成情况, 针对学生薄弱知识点加强引导	要求学生进行文献调研整理、探索实验, 激发实验兴趣
3) 课程实验	实验室、教学立方	实验防护、理解实验内容、提问、进行实验	实验安全及仪器安全事项、讲解实验理论知识、指导实验	安全承诺书、引导讨论团队协作
4) 实验报告	作业系统、腾讯会议	按要求提交实验报告	批改实验报告	实验报告评讲
5) 科学演讲	教室	根据实验分组汇报	听取汇报并提问, 给出指导意见	科学演讲及科学交流
6) 成绩评定	教学立方、线下	完成各项练习、问卷	根据学生实验操作、思考讨论等各项表现定量评分	全过程考核+多元化评价

2.1 绪论导入

绪论课是整个课程的引子, 引领学生去了解课程目标、内容、要求、流程, 明白实验需要做什么, 通过实验预期能收获什么。我们在课程第一周安排绪论导入, 包含课程目标、课程内容、授课安排、课程要求、课程平台等介绍, 如图1所示。基于线上“教学立方”平台和线下课堂的混合式教学管理模式, 构建了化学与生物学理论知识融合体系和技术手段训练体系, 引导学生按照课程安排及课程要求, 高效利用课程工具, 完成实验内容, 达到课程目标。

图1 绪论课内容示意图

2.2 课前预习

课前预习是做好课堂实验的前提。我们充分利用线上平台“教学立方”，上线实验讲义、拓展阅读材料、在线仪器使用说明、预习题目和开放性思考题等电子资源，丰富实验课前预习内容，确保课前预习不受时间、空间限制，牢抓输入和输出，有效保证课前预习效果。课前预习环节可进一步分为：资料阅读、线上答题、线下预习报告。

资料阅读：要求学生实验前阅读资料、线上答题，最终完成纸质版预习报告。在教学立方在线学习丰富的课堂资源，引发实验研究兴趣。

线上答题：考查学生对电子资源的吸收理解程度，在线完成预习客观题，平台实现自动批改和统计分析，教师可根据答题情况了解学生对理论知识的掌握程度，主动调整实验教学的侧重点，夯实薄弱知识点。以“基于生物正交反应的蛋白质标记”预习题为例，学生线上完成7道预习题，教学立方自动生成成绩分析，如图2a所示，“第七题：*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化酯与牛血清蛋白和溶菌酶偶联的基团是什么？”错误率较高，教师在课堂上可据此针对性讲解蛋白质修饰原理；如图2b所示，经过查阅资料和再次练习，88%学生可以获得8分以上的预习成绩，表明预习练习有利于学生掌握实验背景和原理，实现预习过程的有效质量控制。

图2 教学立方课前练习成绩分析

(a) 题目正确率分析; (b) 学生成绩分布(学生人数: 17人)

线下预习报告：学生经过自主学习后手写预习报告，要求简要描述实验原理；采用示意图或者流程图形式描述实验涉及的主要步骤，结合教学课外资源或其他资源对实验中涉及的仪器进行背景知识调研，明确实验中仪器使用方法与注意事项；根据实验需要，设计数据记录图表；列举预习中疑难问题，在实验课上提问。这一过程有效杜绝了学生誊写预习报告，即“动笔不动脑”，为下一环节——课程实验打下坚实的课前预习基础。

2.3 课程实验

课程实验是实验教学的核心环节。在传统的教师讲授和学生实验的基础上，增加了预习答疑、安全承诺、难点示范、分组实验、当堂小测等教学活动，采用丰富灵活的教学过程，保质保量安全完成实验内容。

以“基于生物正交的蛋白质标记”模块内容为例。第一次课对应实验模块一的内容。教师首先讲解实验背景和原理，从蛋白修饰可以监测蛋白质的动态变化、辅助抗体检测、蛋白纯化等应用出发，引出蛋白质修饰策略的多样性；从列举化学修饰、荧光标记、生物素标记等修饰策略，收束至对化学修饰——生物正交化学优缺点的探讨；逐层深入，最终落脚于基于生物正交的蛋白质标记这一实验主题；随后介绍生物正交反应选择性高、反应速率快、生物相容性好等特点，辅助介绍蛋白定量分析方法，引出实验操作技术中的具体内容。教师讲解结束后，学生根据预习情况提出疑问，教师进行简要回答。在实验开始前，进行针对当天实验内容的专项安全教育，师生共同签署实验室安全承诺书，明确实验安全注意事项，加强对实验安全培训的落实。实验开始后，教师在理论难点及操作难点上适当引导，促进实验过程中的师生互动。

第二次课和第三次课分别为模块二和模块三的内容。教师讲解并比较考马斯亮蓝染色、胶内荧光成像、免疫印迹检测技术等蛋白质检测技术的基本原理、实验操作和注意事项。学生依照实验计划进行实验及数据采集、记录。其中部分实验内容通过分组进行，有效增强学生分工协作、思考讨论能力。在实验完成后，学生结合实验现象及结果进行思考题讨论，完成教学立方课堂小测。例如问题：“分析蛋白修饰实验中设置对照实验的作用？”，教师通过举例其中一个对照组与实验组的比较过程，引导学生积极思考还有哪些对照组？其作用是什么？鼓励学生主动思考对照实验的作用，最终获得感性认识：与进行实验的对象进行对照，减少实验中不确定因素带来的影响，从而正确显示实际实验结果。实验结束后，倡导学生分析讨论不同的实验现象，分享研究体会，进一步贴近实际科研过程的同时，也为下一环节——实验报告的撰写提供分析讨论基础。

2.4 实验报告

实验报告与实验操作同等重要。做到有据可查，记录规范，是科研人员理应养成的良好行为习惯。根据实验项目科研融合型的特点，本课程的实验报告要求学生采用论文形式进行书写和提交。我们以美国化学会ACS论文投稿模板作为蓝本，对于标题、摘要、正文组成、结论、参考文献等内容进行了详细的规定，突出强调对实验结果的分析讨论，将实验内容和结果讨论整合为一篇标准的论文。同时在课程前期和后期分别开设科技论文写作、实验报告评讲两次专题讲座，介绍论文的写作结构、描述分析方法、常见误区等等，提高实验报告的规范性和整体质量，同时贴近实际、评讲实验报告中学生出现的问题，形成优秀报告范例。通过写作讲座和报告评讲双管齐下，有效培养学生科研写作、科学思考的能力。

2.5 科学演讲

科学演讲在科学研究中是向导师汇报、与同仁探讨的利器。本科实验教学中却很少涉及科学演讲的训练。我们在课程最后一周安排科技论文报告，要求学生以小组为单位，选取学期中某一实验项目进行实验PPT汇报。学生在完成实验的基础上温故知新，再次查阅文献充实实验背景，探索实验原理，对比分析组内几位同学的实验结果，获得多次实验重复下的统一结论。PPT准备过程则促进了组内学生的思想碰撞与专题研讨，最终完成PPT制作和汇报，锻炼和提升了科学演讲的能力。同时通过学生互评，提升分析比较能力，加强对实验内容的理解和掌握。实验指导教师针对学生汇报给出

了规范、具体、中肯的意见,通过评分量表对演讲中的内容、视效、语言表达、时间控制等具体细节进行客观评价,进一步强化实验教学效果。与传统提交实验报告的方式相比,师生、生生面对面的交流汇报可以形成良好的教学相长氛围,拓展学生对化学生物学更深层次的认识,较大幅度地提高学生分析和解决问题的能力,有助于创新意识的培养。

2.6 成绩评定

基于提升学生在教学各环节的能动性和积极性,同时对学生能力进行综合评价这一初衷,我们建立了全过程、多元化的考核评价体系。在课前预习、实验操作、数据分析处理等过程设定测试题、实验观察、报告评改等评价点,注重过程考核,弱化对实验结果的具体考评,强化对实验内容分析解释,考核学生分析数据、论证结果的科学思辨能力。采取线上教学立方考核和线下师生评价、学生互评的多元化考核方式。最终实验成绩构成比例为:预习(预习报告10%+课前练习5%),纪律安全(10%),实验(实验操作25%+小测5%),实验报告(25%),实验结果思考创新(15%),科学演讲(5%)。脱离“实验报告决定一切”的原有评价体系,更为客观地评估学生的科学研究能力。

3 教学效果评价

通过模块化教学设计及线上线下混合式-六环节教学模式并用,学生能够较好地掌握实验技能和理论知识,在实验操作、数据分析、问题讨论、论文撰写、科学演讲等方面得到较多的锻炼与提高。我们积极开展线上课程评估问卷调查,从教学方法、课程评价、总体评估等方面匿名收集学生对于实验教学质量的反馈。“基于生物正交反应的蛋白质标记”调查结果(表3)显示,90%以上的学生对实验教学满意度较高。较多的学生反映本实验系统地训练了蛋白质相关操作技术,如制胶跑胶、蛋白质定量、蛋白质免疫印迹技术等;实验对照组的设置能够帮助更好地分析实验现象;对生物正交反应这一化学生物学概念有了比较清楚的认识。同时,针对部分学生提出的实验时间安排不够合理等意见及希望增加其他前沿研究内容等建议,教学团队也将持续优化实验课程内容与教学时间安排,提升实验课程教学质量。

表3 实验问卷调查汇总

实验教学评价		非常同意	基本同意	感觉一般	不太同意	强烈反对
教学方法评价	1. 教师成功引起了我对这节实验课的兴趣	56%	41%	3%	—	—
	2. 教师的时间掌控和课堂节奏还算不错	74%	23%	3%	—	—
	3. 教师对实验都进行了认真的准备	85%	12%	3%	—	—
	4. 教师能够调动课堂气氛并回答疑问	82%	15%	—	—	—
	5. 教师展现出了专业知识与能力	85%	15%	—	—	—
	6. 教师表达能力优秀,我能够听懂所有内容	82%	18%	—	—	—
课程评价	1. 课程内容充分且实用	79%	21%	—	—	—
	2. 课程结构、时间安排合理	65%	20%	9%	6%	—
	3. 课程难度适中,容易接受	85%	15%	—	—	—
	4. 课程中安排的活动能够帮助理解内容	91%	9%	—	—	—
	5. 课件清晰明确,无明显问题	88%	12%	—	—	—
	6. 课程让我学习到了一些新知识和/或新技术	91%	6%	3%	—	—
总体评估	1. 我认为这堂课值得上	79%	18%	3%	—	—
	2. 我会将这门课程推荐给其他人	74%	23%	3%	—	—
	3. 我对自己在这堂课上的收获表示满意	82%	18%	—	—	—

4 结语

后疫情时代,实验课程采用线上线下混合式-六环节教学模式开展实验课程教学,一定程度上缓解了实验教学的客观局限性,符合实验教学与时俱进的总体目标。基于模块化课程设计,将传统三阶段实验教学方法细分改善为线上线下混合式-六环节教学模式,解决了传统实验教学活动中的教学时间有限和过程评价难的问题,明显提升“教与学”的互动效率。该模式适合于综合实验教学,也可供基础实验教学参考借鉴。学生能够在获取一定时间自由度的基础之上,通过线上学习获得必要的知识与技能,通过实操实验掌握化学生物学的部分前沿主要研究方法和基本实验技能,以及部分化学生物学前沿研究的实验操作技能,综合提高学生的文献信息收集整理、实验动手、分析解决问题、论文演讲报告的能力,培养团队协作精神、科学创新意识。但化学生物学综合实验线上线下混合式-六环节教学模式仍处于探索实践阶段,在今后的教学实践中,我们仍需要加强课程内容设计,探索教学方法改革,切实提高学生综合实验能力,培养学生在化学和生命科学交叉领域的跨界实践能力。

参 考 文 献

- [1] 徐光宪. 化学通报, **2003**, No. 1, 3.
- [2] Xiao, X.; Wang, X.; Gao, H.; Chen, X.; Li, J.; Zhang, Y. *Chem. Asian J.* **2018**, 13, 3845.
- [3] Yang, R.; Wong, Y. H.; Nguyen, G. K. T.; Tam, J. P.; Lescar, J.; Wu, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139 (15), 5351.
- [4] Chen, Y.; Zhu, C.; Yang, Z.; Chen, J.; He, Y.; Jiao, Y.; He, W.; Qiu, L.; Cen, J.; Guo, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 1688.
- [5] Franziska, K.; George, M. *J. Chem. Educ.* **2020**, 97, 2091.
- [6] 刘扬. 大学化学, **2019**, 34 (10), 110.
- [7] 刘扬. 大学化学, **2019**, 34 (4), 16.
- [8] 淳远, 高卫, 杨金月. 大学化学, **2017**, 35 (7), 33.
- [9] 宿艳, 张永策, 潘玉珍, 杨成, 王雪, 黎原, 姜文凤. 大学化学, **2021**, 36 (9), 2102032.
- [10] 夏炎, 杨亚非. 大学化学, **2020**, 35 (5), 7.
- [11] 章文伟, 吕炜, 黄伟. 大学化学, **2020**, 35 (5), 209.
- [12] 郭玉鹏, 赵岩, 高焱, 高娜, 李根. 大学化学, **2020**, 35 (5), 217.
- [13] 赵蕾, 朱婷玉, 周爱东. 大学化学, **2020**, 35 (5), 244.
- [14] Li, J.; Kong, H.; Huang, L.; Cheng, B.; Qin, K.; Zheng, M.; Yan, Z.; Zhang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140 (44), 14542.
- [15] Saxon, E.; Bertozzi, C. R. *Science* **2000**, 287 (5460), 2007.