

•教育专题•

doi: 10.3866/PKU.DXHX201905047

www.dxhx.pku.edu.cn

化学拔尖学生培养课程 ——化学生物学实验课程建设与实践

刘扬*

清华大学化学系, 北京 100084

摘要: 清华大学“学堂人才”培养试验计划探索拔尖创新人才的培养。“学堂计划”不仅支持高水平课程建设、研究项目及学术讲座,更积极推动面向国内外的开放和交流。作为“学堂”培养计划所支持创建的实验课程,“化学生物学实验”积极探索以现有教材为基础的内容拓展以及以学科研究热点为基础的新课件开发,从而应对科研的不断发展对实验教学带来的挑战。本文主要介绍化学生物学实验课程的设计、实践与教学体会。

关键词: 化学生物学实验; 教学实践; 课程设计

中图分类号: G64; O6

Construction and Teaching Practice of Chemical Biology Laboratory for Top Talent Training Majored in Chemistry

LIU Yang *

Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, P. R. China.

Abstract: Tsinghua Xuetang Program is designed to explore appropriate projects, courses, and seminars for cultivation of top talents to promote worldwide openness and cultural exchanges. Supported by the program, chemical biology laboratory actively extends the scope of the current experiments and develops new protocols to integrate chemical biology research and undergraduate educational activities. This work mainly introduces the curriculum design, implementation and the teaching experience of chemical biology laboratory.

Key Words: Chemical biology laboratory; Teaching practice; Curriculum design

清华大学“学堂人才”培养试验计划(简称“学堂计划”)是在深入贯彻国家对于提高高等教育质量的要求,满足对培养拔尖创新人才的需要而建立推出的。2009年教育部启动“基础学科拔尖学生培养试验计划”。在中组部和教育部的指导支持下,清华大学以“学堂计划”为载体,承载建立了数学班、物理班、化学班、生命科学班、计算机科学实验班、钱学森力学班、世文班等,并以清华大学标志性建筑之一的“清华学堂”命名。参与计划的各班各具特色,模式各异,百家争鸣。“化学学堂班”旨在培养基础扎实并对化学研究有浓厚兴趣、追求卓越、勇于在科研道路上开拓创新的学生。为践行“自强不息、厚德载物”的校训,培养学生成为新时代化学研究道路上的领跑者,首席教授张希院士、王训教授先后带领学堂班成员探索、践行多样化的人才培养。比如,每周三晚固定办办学堂班会,内容涉及前沿专题报告、海外学习汇报、选课指导等;建设化学生物学、高分子

收稿: 2019-05-16; 录用: 2019-07-01; 网络发表: 2019-07-09

*通讯作者, Email: yliu442@tsinghua.edu.cn

基金资助: 清华大学基础学科拔尖学生培养实验计划(学堂班); 清华大学2017年秋本科教学改革项目; 北京市大学生科学研究与创业行动计划(201810003B018); 清华大学第四届实验室创新基金

化学、计算化学等实验室；设立“创新研究计划”；开设探索性的实验课程等。在本文中，笔者将重点介绍作为“学堂计划”所支持创建的化学生物学实验课程的建设，特别是如何根据化学生物学的学科特点，在课程实施过程中衔接学科前沿与实践教学，建设具有挑战性的实验课程。

1 化学生物学实验

化学生物学是一门化学与生物学、医学等高度交叉结合的学科。科学家利用外源物质一氧化氮(NO)来研究小鼠是如何反应的思维策略奠定了化学生物学的基础，也由此诞生了 1998 年诺贝尔生理学或医学奖^[1]。在随后的 20 多年时间里，化学与生物学、医药的交叉和融合使得我们可运用化学特色的技术方法，在分子水平上研究复杂生命过程。同时，也通过化学在生物、医学中的应用进一步促进化学学科的发展。在此多学科融合应用的背景之下，化学生物学实验课程探索将多种实验技术综合运用到实验教学中，课程内容强调了对学生知识体系的拓宽及相关实验技术能力的培养，尽可能涵盖前沿研究在学科各方向的代表性工作，如生物大分子的固相合成与质谱鉴定，天然及非天然蛋白质的合成、表达与活性分析，DNA-DNA 及小分子-蛋白质的点击化学反应等^[2]。每个实验都包括背景介绍、实验设计、操作步骤、分析讨论及思考与总结五部分内容。然而，随着化学及生命科学领域的快速发展，如何将相关内容的研究进展以及新涌现的前沿热点持续不断地融入到实验教学体系中，如何及时将研究成果转化为实验教学内容，为课程教学团队提出了新的挑战。

2 挑战性课程建设

为了更好地应对挑战，课程团队成员在如何更好地衔接前沿研究与课堂教学、延展相关化学生物学实验技术的广度与深度、拓宽学生的知识面等方面进行了一些探索与尝试。我们从国内外专业性的期刊文章入手，主要调研了国内外大学、研究所化学生物学实验课的课程设置^[3-5]，融入“科学实践与发现、合作学习、方法改进”的课程实践理念，设计适合学生水平、课程时间的实验内容和操作步骤。实践证明，实验内容可以只是前沿研究的一部分而非全部，而小容量课堂(面向学堂班高年级学生)更利于改进实验内容，同步教学与科研^[6]。接下来，笔者将从以下三方面对课程建设加以具体介绍。

2.1 以教材为基础的内容拓展

从现有实验设计出发，积极地探讨以教材为基础，将相关方向的新技术或者新内容融入到实验中。这样做的目的是使得学生通过完成这个实验，了解相关方向代表性工作的进展。而由于有教材内容的铺垫，学生能够顺利地接受新知识，从而延展实验技术的深度。以此为出发点，我们所进行的实验设计包括以下几个方面。

2.1.1 修饰组蛋白多肽的合成与检测

蛋白质翻译后修饰是细胞进行复制转录、蛋白降解、信号转导等生命过程的关键调控因素之一。组蛋白修饰(histone modification)是指组蛋白在相关酶的共同作用下发生甲基化、磷酸化、泛素化、酰基化等修饰的过程。在真核生物细胞核中，组蛋白上多种不同修饰之间是如何 cross-talk 从而调控细胞功能是研究的热点之一。由于命题的前沿性和时效性，与蛋白质翻译后修饰相关的实验内容尚未在现有的实验教学中涉及，因此，我们设计将翻译后修饰-赖氨酸乙酰化修饰的相关命题内容引入到实验中。赖氨酸乙酰化(Kac)是组蛋白上已发现的多种修饰之一，受到组蛋白乙酰转移酶(HAT)和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)的共同调控。我们以现有实验“生物大分子的固相合成”为基础，将组蛋白翻译后修饰与分析的内容引入教学(图 1)。通过固相合成乙酰化修饰的组蛋白多肽，发展新的实验课件，将蛋白质翻译后修饰这一个挑战性命题应用于实验教学，从而使实验教学与学科前沿更好地衔接，为本科生今后进入研究生阶段学习打下良好的基础。

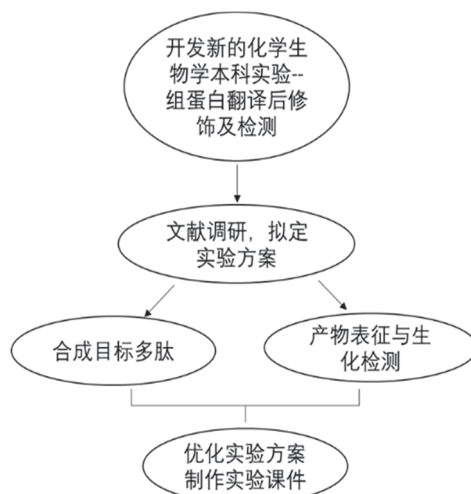


图1 蛋白质翻译后修饰实验课件设计

2.1.2 泛素探针表征去泛素化酶抑制剂活性

在“蛋白质连接反应与蛋白质半合成”实验中,学生通过内含肽蛋白自剪切原理获取泛素(Ub)-酰肼蛋白 Ub(1-75)-NHNH₂,再利用表达蛋白连接技术将生物表达蛋白与化学合成的 Glycine-AMC 进行连接,从而得到目标蛋白质 Ub-AMC。作为检测去泛素化酶(DUB)活性的分子工具,Ub-AMC 能够被 DUBs 水解,产生与 DUBs 活性相关的荧光信号 AMC,从而可以被应用于 DUBs 抑制剂的高通量筛选^[7,8]。现有教材中,学生在完成 Ub-AMC 底物合成后,会运用泛素羧基端水解酶(UCH)及酶标仪来对所合成产物 Ub-AMC 的活性进行鉴定^[9]。通过查阅相关 DUB 抑制剂,我们设计加入针对 UCH 的商品化抑制剂 TCID^[10],比较在相同抑制剂浓度下,TCID 与广谱 DUB 抑制剂 PR619^[11]对 Ub-AMC 的活性影响(表 1)。学生利用自己所合成的泛素探针表征 DUB 抑制剂,可以更好地理解去泛素化酶的工作原理,从而衔接科研进展与实验教学。

表1 去泛素化酶抑制剂

抑制剂	功能	结构式	产物活性表征
PR-619[(2,6-diamino-5-thiocyanatopyridin-3-yl)thiocyanate]	非选择性的可逆抑制剂, EC50 为 1–20 μmol·L ⁻¹		
TCID	对泛素 C-末端水解酶 L3 (UCH-L3)有高选择性。IC50 为 0.6 μmol·L ⁻¹		

2.1.3 蛋白质聚集与小分子抑制剂

蛋白质是生命活动的承担者,解析蛋白质的结构或与其与外源物质相互作用后的构象变化是阐明蛋白质功能的基础。错误的蛋白质构象改变可引起很多的疾病。以阿尔兹海默症(AD)为例,胰岛淀粉样多肽(Amylin)是一个具有 α 螺旋结构的寡聚体,寡聚体之间通过分子间疏水片段相互作用,形成具有大量 β 片层结构的蛋白淀粉样聚集。Amylin 异常聚集所形成难溶的蛋白质纤维,与糖尿病的

发生密切相关。因此, 聚集抑制剂的使用可以为疾病治疗提供重要的线索。在“蛋白质聚集及小分子对其抑制作用”实验中, 学生通过运用硫代黄素(ThT)荧光分析法探究 Amylin 的聚集行为, 以及研究芳香类小分子抑制剂酚红是如何调控聚集作用的。动力学实验的特点之一是需要一定的时间来完整地记录聚集行为的产生及抑制过程。为了充分利用课堂时间, 我们 1) 设计构建不同 Amylin 蛋白截短体或者突变体, 比较不同截短体, 以及对聚集起关键作用的氨基酸(苯丙氨酸)的突变^[12-14]对蛋白质功能的影响, 从而对外源调控异常聚集行为发生的机制加以验证, 加深学生对结构与功能相关性的理解, 做到知其然, 更知其所以然; 2) 将 PyMOL 这一类三维分子结构展示软件应用于教学中来(图 2)。PyMOL 作为结构生物学常用的软件, 已经广泛用于国内外的相关实验课程教学^[15,16]。学生可以通过在官方网站免费下载教育版 Edu-PyMOL 软件进行学习, 从而更形象化地认知结构对功能的影响。

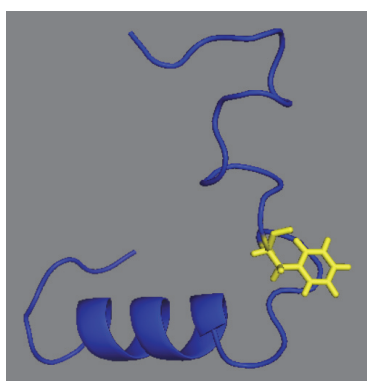


图 2 Amylin (PDB 5mgq)结构示意图

黄色标记的氨基酸为苯丙氨酸

电子版为彩图

2.2 以学科研究热点为基础的新课件开发

以实验室的现有仪器设备为基础, 参考当前研究热点, 设计开发适应于本科教学的实验课件, 拓宽课程内容的广度。

CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)是原核生物基因组内的一段重复序列。CRISPR-Cas9 作为一种简单高效的新型基因编辑手段, 利用短 RNA (guide RNA)来引导核酸酶(Cas9)到达 DNA 靶点, 并对目标靶点进行特异性的切割, 从而抵抗外源 DNA 的入侵, 实现靶向基因敲除, 起到免疫防御的目的^[17,18]。作为当前热门的基因编辑技术, 将其完整地呈现在教学实验中, 会受到环境、时间、仪器设备以及学生操作熟练度等多方面的限制。因此, 我们设计将其中的一部分内容引入实验教学, 通过体外酶切实验使得学生认知 CRISPR-Cas9 的切割原理及切割方式^[19]。同时, 对于在实验中需要注意的问题, 例如, 是使用琼脂糖胶还是聚丙烯酰胺凝胶、如何设置可信的对照组、样品的上样顺序、平行实验的重复性等, 也需要学生在实验过程中积极思考。而通过完成课后设置的文献阅读, 回答具有挑战性的思考题, 可使学生更清楚地了解基因编辑技术的历史、现状与发展。接下来, 我们还希望通过设计 CRISPR 剪切 DNA 细胞实验, 从而使学生从体外以及体内实验两个方面, 更好地理解 Cas9 基因编辑技术。

在拓宽实验内容方面, 我们还以 2015 年诺贝尔化学奖在 DNA 修复机制上的研究为出发点, 融合已发表的成熟技术, 尝试通过 DNA 测序分析仪来分析不同聚合酶结构对其修复损伤 DNA 功能的影响^[20,21]。DNA 修复概念的引入也可以适时地与 CRISPR 实验相联系, 拓宽学生对 Cas9 实验中 HR (同源重组)、NHEJ (非同源末端连接)机制与 DNA 修复实验中 TLS (跨损伤 DNA 合成)机制研究领域的了解。

2.3 现有实验步骤的调整及优化

在“蛋白质的半合成与酶活性检测”实验中,通过增加实验考查点,利用 ESI-MS 鉴定中间产物的形成,使学生对自己的实验进程更为了解,利于分析实验结果,并找出实验不理想的原因^[16]。在“小分子与蛋白质的点击化学”实验中,反应体系中存在过量荧光小分子。若不经脱除而直接跑胶,则极大影响电泳鉴定结果。我们通过引入适合的超滤管纯化连接产物,从而得到清晰的凝胶检测结果。

3 结语

践行“学堂计划”培养拔尖创新人才的理念,需要根据课程特点,探索将学科发展与实践教学相融合,不断优化设计实验课程^[22],使得课程具有挑战性。通过延展、优化现有教材,加强实验课程的综合性,从而拓宽实验技术的深度;而将研究型实验的主要内容提炼、整合,融入本科实验的教学,开发新的实验课件,又在拓宽学生在化学与生物学、医学等多门跨学科交叉领域的知识积累,激发学生对交叉学科领域的兴趣方面做出了努力,从而为培养拔尖创新人才奠定基础。

致谢:感谢清华大学化学系刘磊教授、向宇副教授、陈永湘副教授对课程建设的支持与帮助。

参 考 文 献

- [1] 中国学科发展战略——化学生物学/中国科学院. 北京: 科学出版社. 2015: 1-43.
- [2] 刘磊, 陈鹏, 李宜明, 田长麟, 赵劲, 石景, 李笑宇, 陈永湘, 向宇, 刘冬生. 化学生物学实验, 合肥: 中国科技大学出版社, 2015: 1-70.
- [3] Van Dyke, A. R.; Gatazka, D. H.; Hanania, M. M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13* (1), 26.
- [4] 陈玉清. 大学化学, **2019**, *34* (1), 18.
- [5] 王骊丽, 申烨华, 杨科武. 大学化学, **2013**, *28* (2), 36.
- [6] 张荣兰, 杨维兴, 王骊丽, 申烨华, 赵建社. 大学化学, **2016**, *31* (3), 23.
- [7] Gopinath, P.; Ohayon, S.; Nawatha, M.; Brik, A. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (15), 4171.
- [8] 刘扬. 大学化学, **2019**, *34* (7), 60.
- [9] 刘扬. 大学化学, **2017**, *32* (7), 68.
- [10] Liu, Y.; Lashuel, H. A.; Choi, S.; Xing, X.; Case, A.; Ni, J.; Yeh, L. A.; Cuny, G. D.; Stein, R. L.; Lansbury, P. T., Jr. *Chem. Biol.* **2003**, *10* (9), 837.
- [11] Altun, M.; Kramer, H. B.; Willems, L. I.; McDermott, J. L.; Leach, C. A.; Goldenberg, S. J.; Kumar, K. G.; Konietzny, R.; Fischer, R.; Kogan, E. *et al. Chem. Biol.* **2011**, *18* (11), 1401.
- [12] Wiltzius, J. J.; Sievers, S. A.; Sawaya, M. R.; Cascio, D.; Popov, D.; Riekel, C.; Eisenberg, D. *Protein Sci.* **2008**, *17* (9), 1467.
- [13] Ma, Z.; Westermark, G. T.; Sakagashira, S.; Sanke, T.; Gustavsson, A.; Sakamoto, H.; Engstrom, U.; Nanjo, K.; Westermark, P. *Amyloid.* **2001**, *8* (4), 242.
- [14] Goldsby, C.; Goldie, K.; Pellaud, J.; Seelig, J.; Frey, P.; Muller, S. A.; Kistler, J.; Cooper, G. J.; Aeby, U. *J. Struct. Biol.* **2000**, *130* (2-3), 352.
- [15] McLaughlin, K. J. *J. Chem. Educ.* **2017**, *94* (7), 903.
- [16] 刘扬. 大学化学, **2019**, *34* (4), 16.
- [17] Cong, L.; Ran, F. A.; Cox, D.; Lin, S.; Barretto, R.; Habib, N.; Hsu, P. D.; Wu, X.; Jiang, W.; Marraffini, L. A.; Zhang, F. *Science* **2013**, *339* (6121), 819.
- [18] Mali, P.; Yang, L.; Esvelt, K. M.; Aach, J.; Guell, M.; DiCarlo, J. E.; Norville, J. E.; Church, G. M. *Science* **2013**, *339* (6121), 823.
- [19] Doudna, J. A.; Charpentier, E. *Science* **2014**, *346* (6213), 1258096.
- [20] 刘扬. 大学化学, **2017**, *32* (8), 42.
- [21] Liu, Y.; Yang, Y.; Tang, T. S.; Zhang, H.; Wang, Z.; Friedberg, E.; Yang, W.; Guo, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111* (5), 1789.
- [22] 戴可, 梁华, 黄鹤燕, 胡海龙, 霍冀川. 大学化学, **2019**, *34* (4), 6.