

化学“101计划”——化学生物学实验课程的建设

冯天宇, 贾桂芳, 邹鹏, 黄军, 吕占霞, 高珍*, 王初*

北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871

摘要: 介绍了化学“101计划”核心课程之一“化学生物学实验”的建设情况。针对化学生物学学科的交叉特色、实验课程在学科研究中的重要作用和化学“101计划”的建设目标, 本文分别从课程建设思路、教材内容及编写特色等方面进行了梳理和总结。

关键词: 化学“101计划”; 化学生物学实验; 课程; 教材

中图分类号: G64; O6

Construction of the Chemistry Biology Experiment Course in the Chemistry “101 Program”

Tianyu Feng, Guifang Jia, Peng Zou, Jun Huang, Zhanxia Lü, Zhen Gao*, Chu Wang*

College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China.

Abstract: This paper presents the construction of the “Chemical Biology Experiment”, a core course within the Chemistry “101 Program”. Highlighting the interdisciplinary characteristics of chemical biology, the critical importance of laboratory courses in advancing interdisciplinary research, and the overarching goals of the Chemistry “101 Program”, this paper systematically summarizes and introduces the course development philosophy, the textbook content, and the features of its compilation.

Key Words: Chemistry “101 Program”; Chemical biology experiment; Course; Textbook

化学生物学是一门化学、生物学与医学交叉的新兴学科, 从出现至今仅有三十多年的历史, 在全球范围内蓬勃发展并已成为前沿交叉学科的典型代表^[1,2]。化学生物学以研究复杂生命体系的生物学问题为主要目标, 尝试利用化学特色的技术与方法, 设计、发展和操作新的分子工具, 系统性地探索生物系统的结构、功能和相互作用, 从而揭示生命系统的奥秘^[3]。化学生物学的发展为人们理解生物体系内分子的作用机制提供了全新的视角, 并在药物开发、转化医学、生物技术开发等领域起到了极为重要的推动作用^[4]。

在化学生物学的研究中, 实验占据着不可替代的核心地位, 它不仅提供了理论模型的验证依据, 也是开发新型药物、探索生命机制和实现产业转化的必要手段。由于化学生物学实验研究往往需要综合运用多个学科(包括合成化学、分子生物学和细胞生物学等)的知识和技术, 因此除了学习基本的化学和生物学实验操作外, 进行系统的化学生物学实验培训或开展化学生物学实验课程也逐渐成为近年来相关专业大学生培养方案的重要组成部分^[5-7]。随着化学“101计划”的启动和开展, 我们认识到目前国内高校开展的化学生物学实验课程在学时、教学内容和侧重方向等方面不一而足, 这

收稿: 2024-09-03; 录用: 2024-09-10; 网络发表: 2024-09-24

*通讯作者, Emails: gaozhen@pku.edu.cn (高珍); chuwang@pku.edu.cn (王初)

基金资助: 高等教育质量保障专项(化学“101计划”专项)

提醒我们需要汇总和整理来自不同高校的实验内容、实验教案, 并进行教学研讨和课堂教学能力提升, 以便为国内高校化学生物学实验课程的开展提供可靠的、系统性的参考。下面将从化学生物学实验课程的建设与教材编写两个方面进行介绍。

1 化学生物学实验课程的建设思路

1.1 课程定位和教学目标

“化学生物学实验”课程定位于培养化学类专业本科生对化学生物学这一新兴学科的兴趣和了解, 训练学生初步掌握化学生物学研究中常用的相关技术和方法(特别是生物学方面的技术和方法), 为学生提供一个深入理解和探索化学生物学领域的机会, 通过实际实验和实践活动培养其实验技能和科学思维能力。通过本课程的学习, 培养学生成为具备扎实的实验技能和科学素养的专业人才, 激发学生对交叉科学的兴趣, 并为其在相关研究领域取得成功提供坚实的支持。课程的整体教学目标包括:

(1) 培养学生的实验技能: 化学生物学实验课程旨在通过实验教学来培养化学专业本科生的基本生物学实验技能。学生将掌握分子生物学、生物化学和细胞生物学的基本实验技能。通过接触和使用最新的化学生物学实验技术和仪器, 学习了解不同类型的具有鲜明化学生物学特色的实验策略和方法。

(2) 配合理论课程学习: 本实验课程注重将学生在化学生物学理论课程中学习到的知识与实际化学生物学实验操作有机结合。学生将通过实验课的学习, 夯实理论课上学习到的关键知识点, 进一步加深理解通过化学手段和技术探索生命过程这一化学生物学学科发展理念, 提升对实际科学问题的解决能力。

(3) 加强团队合作能力: 鼓励学生间彼此合作, 共同解决复杂的实验问题, 有助于培养团队合作和沟通能力, 为他们未来的学术研究和职业发展打下坚实的基础。同时在实验课程中, 学生将学习并遵守伦理规范和实验室安全准则, 以确保实验过程的安全性和可持续性。

1.2 课程建设特色

化学生物学实验课程在建设过程中注重与理论课程的有机融合, 并提倡每所高校根据学校学院的特色、学生的基础和培养要求等, 建设个性化的课程体系。

(1) 在教学内容方面, 提升实验教学内容的完整性和连贯性, 给学生以系统科研实践的感受。在与理论课内容相互契合并密切联动、能够使学生掌握基础化学生物学相关操作技能的基础上, 不是简单罗列实验项目或流水作业, 而是设计一些能够承上启下的知识点, 使整体教学内容能够有机地串联和结合起来。通过调整实验顺序和优化实验内容, 学生们在做完整个学期的实验后, 会感觉自己像做了一个完整的研究项目一样, 既熟悉和掌握了化学生物学研究的基本实验技能, 又加深了对化学生物学科研的整体认知。将在基础实验模块基础上增设前沿综合实验项目, 分别来自各参与高校提供的特色实验, 不仅可以融合贯通使用之前学习过的基础实验技能, 还可以进一步开阔学生的视野, 让他们了解化学生物学发展的前沿方向。

(2) 在教学形式方面, 注重启发式、探索式教学方式, 更注重讨论和思考过程。传统的实验教学模式多为验证型的方式, 注重培养学生基本实验技能, 大多遵循非常成熟的实验流程, 对实验结果有明确的预期。相比之下, 启发性和探索性的实验教学方式以某一实验现象或实际问题为导向, 强调学生们通过所学的理论和实验知识自己设计实验方案, 并实际动手探索获得结论。当学生在实验过程中遇到疑惑和难关时, 不是直接告知其解决方案, 而是引导他细致观察并思考问题的来源, 并与其讨论哪种方案更合理。对于实验结果, 不以实验结果的成败好坏定分数, 而是组织学生们分享经验教训并积极讨论, 以学生是否能够利用学习到的技能用于解决实际问题作为教学效果的评价标准。这种启发式、探索式实验教学将会兼顾基本实验技能的锻炼和创新性思维的培养, 更接近真实的实验室科研场景, 也能更好地激发和保护学生的学习兴趣和热情。

以上兼顾了基础和前沿的教学内容、多层次的实验教学模式，将会更好地引导学生们建立创新性的逻辑思维，锻炼和提高基础实验技能，促进学生之间的分享和讨论，使他们学有所得、学有所用。

2 化学生物学实验教材的编写

2.1 教材框架

根据课程建设理念，在编写教材的过程中采用由浅入深的原则，根据实验所涉猎的研究领域，汇编收纳了与化学生物学紧密相关的26项实验范例，分为基础实验和前沿实验两个部分，共三个模块，分别为“基础分子生化实验”“基础细胞生物学实验”和“前沿综合化生实验”(见图1)。其中，基础分子生化实验模块着重介绍质粒构建、细菌转化、蛋白表达纯化及蛋白质分子量质谱检测等基本分子生物学和生物化学实验技术；基础细胞生物学实验模块涵盖了细胞培养、细胞活力检测、细胞转染、定量PCR (Polymerase Chain Reaction, 聚合酶链式反应)和免疫印迹等细胞实验技术。在两个基础模块实验中，教材中分别设计了非天然氨基酸插入、生物正交点击化学等具有鲜明化学生物学特色的实验内容。前沿综合化生生物实验模块包括参与“化学101计划”化学生物学实验课程建设的各高校提供的特色实验，目前涵盖基于活性的蛋白质分析、蛋白相互作用捕捉、荧光探针、细胞递送、基因编辑、核酸适配体、蛋白酶活检测、核酸损伤和交联监测、抗菌化合物筛选等内容，未来还有待进一步扩充和拓展。这些前沿化学生物学实验旨在进一步拓展学生的实验技能和科学视野，培养学生解决复杂科学问题的能力，激发他们对化学生物学这一交叉学科的兴趣。

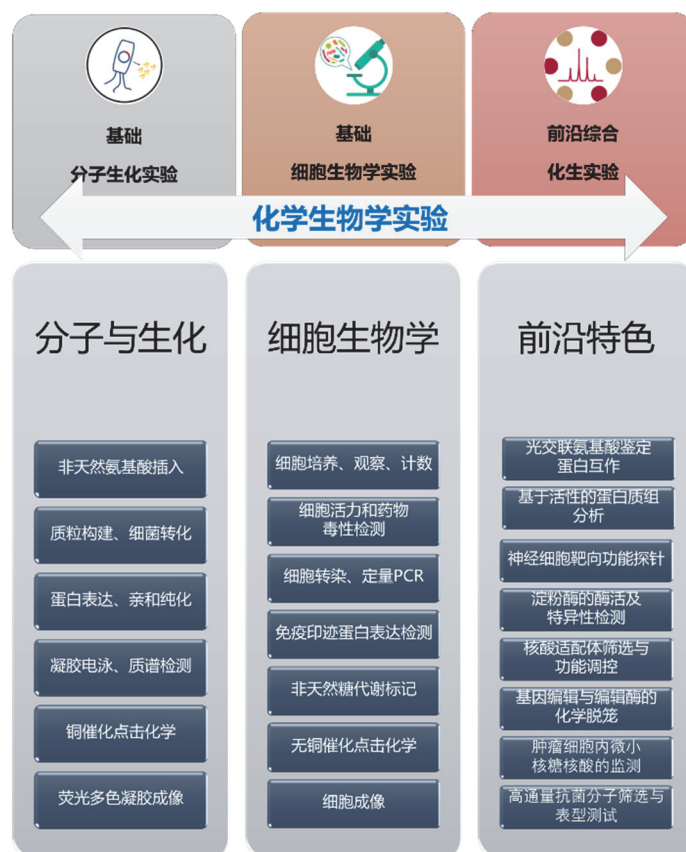


图1 化学生物学实验教材模块

对于每项实验，均详细介绍了相关的化学生物学背景知识、实验设计原理、实验所需的材料和仪器、实验操作步骤、建议时长和实验安排，以便于读者参考学习并进行操作实践。部分实验章节

的背景和原理中包含了相关领域的前沿研究进展,以帮助读者拓宽视野,了解学科发展的新趋势。为帮助读者深入理解实验内容,巩固背景知识,并做到“行知合一”,每个实验都编入了思考题和参考文献,供读者思考和学习。本教材可作为高等学校化学、生物学、医学和前沿交叉类专业的实验课教材,也可供相关专业师生及科研人员参考使用。

2.2 教材内容和知识点

2.2.1 基础分子生化实验模块

基础分子生化实验模块在传统分子克隆、蛋白表达纯化的基础上,融合了非天然氨基酸插入蛋白表达和点击化学等经典化学生物学实验技能。以含非天然氨基酸的绿色荧光蛋白为主线,从分子克隆到蛋白表达,从蛋白质的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和蛋白质谱表征到点击化学标记的多色荧光凝胶成像,四个实验内容前后紧密连接、互为一体。本实验模块旨在通过实践操作,不仅使学生深入掌握基础分子生物学实验操作方法,同时也学会化学生物学实验技能。

本教材中的基础分子生化实验模块主要包括4个实验,9个知识点,建议教学32学时,具体内容和学时分配见表1。通过这些实验,学生将掌握基础分子生物学实验操作技能,如基因克隆和突变、PCR、DNA纯化与跑胶、蛋白表达与纯化、蛋白质的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳等,同时还能熟练掌握化学生物学实验技能和基础理论,如含非天然氨基酸蛋白的表达与分析检测、点击化学等。

表1 基础分子生化实验模块相关教学内容

模块	实验项目 序号	实验项目 名称	知识点 名称	主要内容	教学目标	参考 学时	总 学时
基础分子生化实验	实验一	克隆构建绿色荧光蛋白及突变体的表达质粒	绿色荧光蛋白质粒构建	构建能表达绿色荧光蛋白(GFP)的质粒,使用PCR扩增、限制性酶切割和连接酶连接,将GFP基因克隆插入到质粒中,掌握PCR、限制性酶切割、连接等方法(A)	理解分子克隆的基本原理,学习并掌握基因克隆的基本步骤	3	32
			细菌转化	用钙离子处理细菌,使其处于能够吸收外源DNA的状态,通过热脉冲让质粒进入细菌(A)	学习并掌握细菌转化的基本步骤,理解基因如何在微生物中表达	2	
			表达纯化含非天然氨基酸的绿色荧光蛋白	非天然氨基酸插入	引入可以识别带有生物正交基团的非天然氨基酸PABK的特殊的tRNA和氨酰基合成酶质粒,也转入细菌,并在绿色荧光蛋白待插入PABK的位点引入琥珀终止密码子(A)	理解蛋白质化学的基本原理,学习并掌握蛋白质工程的基本步骤,如引入非天然氨基酸、突变等	
		绿色荧光蛋白诱导表达	将带有生物正交基团的非天然氨基酸PABK加入到细菌培养基,添加诱导剂(如IPTG)来实现GFP的表达并进行监测和定量(A)	学习并掌握蛋白质诱导表达的基本步骤,掌握定量蛋白质表达的方法	4		
		镍柱亲和纯化	利用镍柱亲和纯化带有非天然氨基酸PABK插入的GFP,对获取的蛋白质浓度进行定量(A)	理解蛋白质纯化的基本原理,学习并掌握蛋白质纯化的基本步骤	4		
	实验三	分析表征含非天然氨基酸的绿色荧光蛋白	绿色荧光蛋白凝胶电泳	通过凝胶电泳SDS-PAGE检测和分析蛋白质的分子量和大小,用这种方法确认GFP的质量和纯度,检测非天然氨基酸PABK是否成功插入。(A)	掌握凝胶电泳的基本操作和技术,理解这项技术如何用于蛋白质的分析	4	

(待续)

(续表1)

模块	实验项目 序号	实验项目 名称	知识点 名称	主要内容	教学目标	参考 学时	总 学时
基础 分子 生化 实验	实验三	分析表征含非天然氨基酸的绿色荧光蛋白	绿色荧光蛋白质谱检测	通过LC-MS质谱测定更精确的蛋白质质量, 用这种方法确认GFP的质量和纯度, 检测非天然氨基酸PABK是否成功插入 (A)	掌握质谱的基本操作和技术, 理解这项技术如何用于蛋白质的分析	4	32
	实验四	化学标记含非天然氨基酸的绿色荧光蛋白	绿色荧光蛋白白点击化学偶联荧光基团	利用经典的铜催化的炔基叠氮点击化学反应在GFP蛋白质上引入荧光基团或其他功能基团 (A)	了解和掌握铜催化炔基叠氮点击化学的基本原理和操作	4	
			多色荧光凝胶成像	通过多色荧光凝胶成像技术同时观察GFP本身的荧光和通过点击化学引入的荧光基团 (A)	理解荧光成像的基本原理, 掌握荧光成像的基本操作和技术	4	

2.2.2 基础细胞生物学实验模块

基础细胞生物学实验模块旨在通过实践操作, 使学生深入掌握利用化学工具和技术探究生物分子在细胞中功能的方法。一方面, 化学生物学为细胞生物学研究提供了关键技术手段, 例如通过荧光探针标记细胞内分子, 实现对细胞内动态过程的实时观察, 或通过化学探针标记和检测特定的蛋白质或核酸, 解析细胞信号传导和代谢途径。另一方面, 细胞生物学实验为化学生物学的工具和方法提供了丰富的应用场景。例如, 通过在活细胞环境中进行实验, 可以揭示化学分子在细胞内的作用机制, 并评估化学探针、分子标记和小分子药物的特异性、稳定性及功能。

本教材中的基础细胞生物学实验模块主要包括4个实验, 12个知识点, 建议教学32学时, 具体内容和学时分配见表2。此外, 实验课程还旨在培养学生的科学思维、实验设计与分析能力, 深化他们对化学生物学理论的理解与应用, 为未来的科研和专业发展奠定坚实的基础。

表2 基础细胞生物学实验模块相关教学内容

模块	实验项目 序号	实验项目 名称	知识点 名称	主要内容	教学目标	参考 学时	总 学时
基础 细胞 生物 学实 验	实验五	细胞培养 与免疫荧 光成像	细胞培养	学习如何培养细胞, 包括细胞株的选择、培养基的配制 (A)	掌握细胞培养的基本技术	2	32
			细胞形态 观察	学习如何通过显微镜观察细胞的形态变化, 以及如何通过图像分析技术对细胞状态进行评估, 如相差显微镜、荧光显微镜的使用 (A)	掌握细胞形态观察的基本技术, 了解细胞形态与细胞功能的关系	2	
			细胞传代	在保持细胞特性的情况下进行细胞的传代, 包括传代方法的选择、细胞的接种密度等(如胰蛋白酶消化法、胶原酶消化法等) (A)	掌握细胞传代的基本技术	2	
			细胞计数	学习如何通过直接计数、间接计数等不同的方法对细胞进行计数, 如血球计数板法、流式细胞仪法等 (A)	掌握细胞计数的各种方法	2	
	实验六	细胞中基因表达的 定量检测	外源基因 细胞转染	学习如何将外源基因导入到细胞中, 包括基因转染方法的选择、转染试剂的优化等 (A)	掌握基因转染的基本技术, 了解不同基因转染方法的优缺点	2	

(待续)

(续表2)

模块	实验项目 目序号	实验项目名称	知识点 名称	主要内容	教学目标	参考 学时	总 学时
基础 细胞 生物 学实 验	实验六	细胞中基 因表达的 定量检测	qPCR 转 录本检测	通过qPCR技术检测基因的转录本水平, 如引 物设计、PCR条件优化等 (A)	掌握qPCR的基本技术, 了解 qPCR在基因表达研究中的应用	3	32
			免疫印迹 蛋白检测	通过免疫印迹技术检测转入基因表达蛋白质的 情况, 包括蛋白质组的提取、电泳、转膜、封 闭、抗体孵育和化学发光显色等技术操作 (A)	掌握免疫印迹的基本技术, 了 解免疫印迹在蛋白质研究中的 应用	3	
			细胞活力 和药物毒 性检测	细胞活力 检测	学习如何通过不同的细胞生物学方法检测细胞 的活力, 如中性红法等 (A)	掌握细胞活力检测的基本技术	
			细胞药物 毒性检测	学习如何通过不同的细胞生物学方法检测药物 对细胞的毒性, 如 MTT 法等 (A)	了解药物对细胞的毒性作用	4	
实验八	点击化学 与细胞 成像	非天然糖 代谢标记	非天然糖 代谢标记	学习如何通过非天然糖代谢标记技术对细胞进 行代谢标记 (A)	了解非天然糖代谢标记的基本 原理和方法	3	
			无铜催化 点击化学	利用经典的环张力驱动的非铜催化点击化学反 应将特定荧光基团偶联到带有糖基化修饰的蛋 白上, 掌握无铜催化点击化学的基本原理和方 法 (A)	了解无铜催化点击化学在生物 医学研究中的应用	3	
			细胞成像	通过成像技术观察细胞表面聚糖的荧光信号, 掌握如共聚焦显微镜等成像技术 (A)	掌握各种细胞成像技术的基本 原理和方法, 了解不同成像技 术在细胞生物学研究中的应用	2	

2.2.3 前沿综合化生实验模块

前沿综合化生实验模块汇总了与化学生物学前沿研究方向密切相关的特色实验, 由参与教材建设的各高校所提供的资料整合而成。该部分的实验操作以基础分子生化实验模块和基础细胞生物学实验模块所涉及的实验技能为基石, 针对现实性的科学问题和应用场景开展教学, 并融合了新的实验方法, 如生物大分子质谱的样品制备、基因编辑、荧光探针的合成和酶活检测等, 实验之间交互补充, 基本覆盖了目前国内各高校化学生物学教学实验教学中的特色内容。本模块旨在拓展学生的知识和技能, 除了巩固基础模块所学实验技能, 还希望激发他们对化学生物学这一交叉学科的兴趣, 培养他们解决复杂科学问题的能力。

本教材中的前沿综合化生实验模块涵盖了基于活性的蛋白质分析、蛋白相互作用捕捉、荧光探针、细胞递送、基因编辑、核酸适配体、蛋白酶活检测、核酸损伤和交联监测、抗菌化合物筛选等内容, 未来还有待进一步扩充和拓展。主要包括18个实验, 31个知识点, 建议教学144学时, 具体内容和学时分配见表3。通过这些实验, 学生可以将基础分子生物学实验和基础细胞生物学模块的实验操作技能(如分子克隆、核酸与蛋白质的凝胶电泳、细胞培养与成像、点击化学反应等)投入应用, 进一步了解化学生物学研究所涉及的科学问题, 将理论知识与实际操作融会贯通; 除此之外, 学生还可以接触新的实验材料和实验设备, 并学习与此相关的新操作, 如抗菌或抗肿瘤化合物的表征、核酸大分子的合成与评估、非天然氨基酸的光交联反应和基于生物大分子质谱的蛋白质组分析等, 为他们未来的科研和职业道路奠定坚实的基础。

表3 前沿综合化生实验模块相关教学内容

模块	实验项目序号	实验项目名称	知识点名称	主要内容	教学目标	参考学时	总学时
前沿综合实验	实验九	利用光交联非天然氨基酸鉴定蛋白-蛋白相互作用	光交联非天然氨基酸鉴定蛋白-蛋白相互作用	通过在蛋白质中引入可光交联的非天然氨基酸,从而捕捉到目标蛋白与周围蛋白质间的相互作用。学习光交联捕捉蛋白-蛋白相互作用的实验设计并掌握相关实验方法 (C)	掌握如何利用这项技术来研究蛋白质相互作用网络和生物大分子的结构功能关系,以及了解如何在分子生物学和化学生物学等领域应用这项技术	5	48
			胶内酶切质谱样品的制备	学习蛋白质胶内酶切操作流程,包括凝胶脱色、二硫键打开和封闭、蛋白酶切及肽段提取等 (C)	掌握蛋白一维电泳分离后胶内酶切质谱样品的制备方法和相关原理	5	
			质谱鉴定蛋白质	学习利用自下而上的生物大分子质谱方法鉴定蛋白质,通过质谱鉴定分析光交联法所捕获的互作蛋白 (C)	了解通过生物大分子质谱鉴定蛋白质的基本原理及流程	6	
实验十	丝氨酸蛋白酶的活性标记和定量蛋白质组学分析	基于活性的探针标记	利用活性小分子探针靶向丝氨酸水解酶活性中心,从而在蛋白质组中鉴定具有活性的丝氨酸水解酶 (C)	了解基于活性的蛋白质分析技术 (ABPP)的概念	4	4	
		ABPP 荧光凝胶成像	学习如何对ABPP标记的样品进行荧光凝胶成像,并与考马斯亮蓝染色结果对比,分析和解释ABPP标记实验结果 (C)	通过荧光成像的方式理解并熟悉基于活性的蛋白质组分析技术的操作	4		
		同位素标记蛋白质组的定量分析	通过生物大分子质谱方法对同位素标记的蛋白质组进行定量分析,学习内容包括同位素标记蛋白质组的小分子探针标记、蛋白质甲氯沉淀及生物素-亲和素富集等 (C)	了解SILAC标记蛋白质组的原理及应用场景,及基于定量质谱技术的ABPP实验所涉及的操作	8		
实验十一	淀粉酶的活性及米氏常数的测定	淀粉酶活性和特异性	学习酶促反应的生物化学原理,以淀粉酶为例验证酶对底物的高反应性和特异性。(C)	了解酶活性的定义及其反应特异性	2	3	
		淀粉酶的分离提取	学习从生物样本中提取淀粉酶的操作 (C)	掌握淀粉酶的分离提取方法	3		
		酶活性的测定方法	通过分光光度计测定法,学习淀粉酶酶活的测定方法和米氏常数的计算 (C)	掌握 α -淀粉酶和 β -淀粉酶的酶活测定方法;掌握米氏常数的测定方法;掌握分光光度计测定酶活的原理和使用方法	3		
实验十二	基于化学响应框架载体的细胞递送和光动力杀伤	金属-有机框架材料	学习金属-有机框架材料(MOFs)的合成和纯化,并掌握其理化性质及其在生物领域获得应用的原理和优势 (C)	了解金属-有机框架材料的生物应用,掌握其制备和纯化方法	2	3	
		基于 MOFs 的细胞递送	学习利用金属-有机框架材料(MOFs)将蛋白质递送至细胞的操作方法及蛋白质负载效率和响应性能的分析 (C)	了解蛋白质的细胞递送策略,并掌握基于化学响应框架载体的细胞递送原理和方法	3		
		细胞光动力杀伤	通过光诱导生成活性物种杀伤肿瘤细胞,学习光动力治疗的原理,包括掌握细胞活力测定方法及杀伤效率分析 (C)	掌握光动力杀伤肿瘤细胞的原理和方法	3		

(待续)

(续表3)

模块	实验项目序号	实验项目名称	知识点名称	主要内容	教学目标	参考学时	总学时
前沿综合实验	实验十三	蛋白质基神经细胞靶向标记与修饰	神经细胞的成像	学习利用共聚焦显微镜对神经细胞进行成像, 观察其结构 (C)	掌握共聚焦显微镜对神经细胞成像的原理和细胞结构观察方法	2	44
			神经细胞靶向功能探针	学习利用共价修饰的方式将靶向神经细胞的蛋白修饰上荧光基团, 成为荧光探针 (C)	掌握化学修饰制备功能探针的方法	2	
			神经细胞靶向蛋白标记	学习利用特异性靶向神经细胞的蛋白对神经细胞进行标记的方法 (C)	掌握基于蛋白的细胞靶向标记技术	2	
			光引发原位聚合修饰	利用II型光敏剂二氢卟吩e6 (Ce6)和聚合物单体3,3'-二氨基联苯胺(DAB), 通过光引发原位聚合反应形成神经细胞膜上的聚合物修饰 (C)	掌握光引发原位聚合修饰的原理和方法	2	
实验十四	肿瘤相关成熟microRNA的细胞内监测	DNA分子筛	使用Nanodrop对DNA链进行浓度测定, 组装DNA分子筛并进行表征, 测试DNA分子筛探针的响应性能 (C)	掌握核酸的浓度测量方法, 学习了解DNA自组装技术	8	8	
		微小核糖核酸(miRNA)	学习微小核糖核酸的基本概念, 并利用DNA分子筛探针监测肿瘤相关成熟miRNA (C)	了解miRNA背景知识、miRNA生物成像和药物疗效评估方法	8		
实验十五	蛋白中总巯基的荧光标记以及活细胞成像	硫醇类分子探针的标记和荧光成像	利用Naph-EA-Mal中马来酰亚胺结构与蛋白质半胱氨酸硫醇结构发生迈克尔加成反应、反应后能释放荧光这两个特性, 实现对活细胞中总巯基的荧光标记 (C)	从化学层面理解硫醇类探针的工作原理, 学会使用探针进行标记并利用荧光成像观测	8	8	
实验十六	化学分子诱导的核酸损伤与检测	化学分子诱导的核酸交联	了解化学分子诱导核酸交联产生损伤的原理及评估方式, 以邻苯二酚类化合物产生活性中间体为例进行核酸损伤处理和表征 (C)	掌握核酸交联的基本知识、生物学意义及其基本表征方法	4	4	
实验十七	化学调控CRISPR-Cas9系统与基因编辑研究	基因编辑	利用guideRNA能够精确识别目标DNA序列、引导Cas9酶或其他类似的核酸酶切割特定DNA位点等特性, 实现对特定基因的灵活编辑 (C)	了解基因编辑的发展, 学习基因编辑的方法	4	4	
		基因编辑酶的化学脱笼	利用2-(叠氮甲基)烟酰胺基咪唑对guide RNA的笼化修饰以及施陶丁格还原反应造成的脱笼效果, 实现对CRISPR-Cas9系统的“开关”调控 (C)	学习CRISPR-Cas系统工作原理, 探索如何通过化学小分子修饰guide RNA来调控CRISPR-Cas系统	4		
实验十八	邻苯二酚类化合物作为DNA交联剂的生物活性研究	单细胞电泳	通过单细胞凝胶电泳实验(又称为彗星实验), 可以观察受损的DNA与未受损的DNA在迁移速率上的差异, 从而高灵敏度地检测单细胞DNA损伤情况 (C)	掌握单细胞电泳实验的原理和用途及实验操作方法	4	52	
实验十九	核酸适体-药物偶联物制备及细胞毒性分析	核酸适体-药物偶联物	通过环张力驱动的点击化学反应合成制备核酸适体-喜树碱偶联物, 并分析纯化后的偶联物在细胞中的毒性 (C)	掌握核酸适体-药物偶联物设计、制备以及应用	8	8	

(待续)

(续表3)

模块	实验项目 目序号	实验项目名称	知识点名称	主要内容	教学目标	参考学时	总学时
前沿综合实验	实验二十	DNA的固相合成及其热稳定性探究	DNA固相合成	掌握基于寡核苷酸合成的亚磷酸酰胺方法, 使用自动合成仪合成DNA片段, 并使用尺寸排阻色谱对其进行分离纯化, 使用Nanodrop测定纯化后的浓度。同时, 使用紫外分光光度法绘制解链曲线, 从而计算解链温度 (C)	掌握DNA化学合成方法及其相关基本操作、DNA杂交的基本原理以及DNA解链温度的测定方法	8	52
	实验二十一	G-四链体的过氧化物酶活性测定	G-四链体DNA酶	学习G-四链体的结构和功能, 通过酶标仪测定酶Hemin与底物G-四链体的结合解离常数 (C)	了解G-四链体的结构与功能, 掌握酶标仪的使用方法以及酶与底物结合解离常数的测定方法	8	
	实验二十二	核酸适体调控凝血酶活性的抑制实验	核酸适体	学习核酸适体的概念以及筛选原理, 使用生色法测定核酸适体对凝血酶活性抑制的IC50以及核酸适体互补cDNA对抑制效果的调控作用 (C)	了解核酸适体的基本信息、性质和功能; 掌握核酸适体对酶活性的抑制原理及调控作用, 掌握酶活性抑制的IC50的测定方法	8	
	实验二十三	新型溶酶体荧光探针的设计、合成与评估	溶酶体荧光探针	学习设计并合成一类新型罗丹明B衍生物作为高效溶酶体标记探针, 测定其荧光发射光谱, 使用探针标记细胞溶酶体进行染色和表征 (C)	掌握高效溶酶体标记探针的合成及评估方法; 掌握细胞溶酶体荧光染色原理和实验技能	8	
	实验二十四	最小抑菌浓度及细菌耐药性进化测定	抗菌表型测试	利用化合物的最小抑菌浓度(MIC)测试和棋盘协同实验, 研究抗菌药物的表型, 并评估细菌对抗菌分子产生耐药性进化的速度 (C)	了解细菌化学生物学领域的前沿研究, 学习抗菌药物性能表征的原理	2	
	实验二十五	抗菌分子的作用机制研究	抗菌分子的作用机制	利用等温滴定量热法(ITC)、DNA竞争性置换、酶活性抑制测定和细胞膜渗透性测试等技术, 探究抗菌药物详细的作用机制 (C)	通过全细菌层面的功能干扰实验, 深入理解不同类型抗生作用机制	3	
实验二十六	小型化合物库对革兰氏阴性菌的增敏抗菌筛选	高通量抗菌分子筛选	通过基于表型和基于靶标的筛选, 利用小型非抗生素药物库进行增敏抗菌表型的筛选, 探索潜在的“老药新用”价值 (C)	了解高通量抗菌分子筛选流程, 学习抗菌表型测试方法	3		

藉由化学“101计划”执行的契机, 多所高校的专家学者和优秀教师们得以被组织在一起, 相互交流教学情况, 分享讨论教学经验。并以自己多年来教学的实验内容为基础, 编写实验教材。在之后的文章中, 笔者将对课程建设团队、课堂能力提升等情况进行更详细的介绍。

参 考 文 献

- [1] 申泮文. 化学生物学与生物技术. 北京: 科学出版社, 2005.
- [2] 吴厚铭. 化学进展, 2000, No. 4, 423.
- [3] 王成, 谭大治, 胡筋, 李艳梅. 大学化学, 2008, 23 (5), 63.
- [4] Waldmann, H.; Janning, P. *Chemical Biology: A Practical Course*. 方唯硕, 赵颖, 肖志艳, 译. 化学生物学实验教程. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [5] 王骊丽, 申烨华, 杨科武. 大学化学, 2013, 28 (2), 36.
- [6] 刘扬. 大学化学, 2017, 32 (7), 68.
- [7] 陈玉清, 邵文尧, 颜晓梅. 实验技术与管理, 2018, No. 5, 250.