



植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验

韩青, 张大伟*

(四川大学生物科学国家级实验教学示范中心, 成都 610065)

摘要: 为实现实验教学数字化建设与生物学拔尖创新人才培养的有效融合, 解决植物蛋白的亚细胞定位观察传统实验存在的实验成本高、精密仪器台套数不够、学生动手能力不足等问题, 利用虚拟仿真技术开发了中英双语教学的植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验。该虚拟实验教学资源涵盖了拟南芥原生质体的制备、聚乙二醇介导的原生质体转化、荧光显微镜观察分析荧光蛋白定位等实验内容, 打造了场景化、沉浸式与交互式相结合的实验教学新模式。通过在本科实验教学中的应用, 加深了学生对蛋白质功能研究实验技术的认识, 完善了普通生物学实验课程体系, 实现了科研实训与实验教学的融合, 培养了学生的创新能力、科研素养和国际竞争力, 是传统实验教学的有效补充。

关键词: 实验教学; 虚拟仿真; 亚细胞定位; 原生质体

中图分类号: Q1 **文献标志码:** A **DOI:** 10.12179/1672-4550.20230464

Virtual Simulation Experiment of Subcellular Localization Observation of Plant Protein

HAN Qing, ZHANG Dawei*

(National Demonstration Center for Experimental Biology Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to realize the effective integration of the digital construction of experimental teaching and the cultivation of top innovative talents in biology, and solve the problems of the traditional experiment of the subcellular localization observation of plant protein, such as high experiment cost, insufficient number of precision instrument sets and insufficient practical ability of students, the virtual simulation technology is used to develop the virtual simulation experiment of subcellular localization observation of plant protein in Chinese and English bilingual teaching. This virtual experimental teaching resource covers the preparation of Arabidopsis protoplast, protoplast transformation mediated by polyethylene glycol, fluorescence microscope observation and analysis of fluorescent protein localization and other experimental contents, creating a new experimental teaching model that combines scene, immersion and interaction. Through its application in undergraduate experimental teaching, it deepens students' understanding of the protein function research experimental technology, improves the curriculum system of the general biology experiment, realizes the integration of scientific research practical training and experimental teaching, and cultivates students' innovative ability, scientific research accomplishment and international competitiveness, which is an effective supplement to the traditional experimental teaching.

Key words: experiment teaching; virtual simulation; subcellular localization; protoplast

真核细胞由存在于不同细胞器中的数千种蛋白质组成的复杂网络构成, 不同蛋白质能够在各细胞器中行使其信号转导、囊泡运输和膜相互作用等生物学功能, 从而确保真核细胞内不同生化反应的有序高效发生^[1-2]。因此, 确定蛋白质的亚

细胞定位对于了解其在细胞内的生化功能和活性至关重要。荧光融合蛋白定位法在研究生生命体活细胞中蛋白质亚细胞定位中得到广泛应用, 可以利用其荧光特性和稳定性的绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 与不同的目标蛋白相融

收稿日期: 2023-09-28; 修回日期: 2024-04-22

基金项目: 四川省 2021—2023 年高等教育人才培养质量与教学改革项目 (JG2021-116); 四川大学高等教育教学改革工程 (第十期) 研究项目 (SCU10064)。

作者简介: 韩青 (1995-), 女, 博士, 中级实验师, 主要从事生物科学和植物分类学实验方面的教学和研究。

* 通信作者: 张大伟 (1985-), 男, 博士, 教授, 主要从事植物生理与分子生物学方面的研究。E-mail: zhdawei@scu.edu.cn

合,再通过聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)介导的原生质体瞬时表达来检测蛋白质亚细胞定位,具有快速高效的特点^[3-4]。

普通生物学实验是四川大学生命科学学院生物科学专业(拔尖班和强基班)的一门专业基础实践课,植物蛋白的亚细胞定位是该门课程的重要教学内容。但在实际实验教学过程中,由于植物蛋白的亚细胞定位观察实验需要价格昂贵的实验试剂和荧光显微镜等精密实验设备,而且要求实验者具有较强的动手能力,因此该实验难以在生物学相关专业的学生中普及开展,高级科研技术与实验教学不能有效融合,影响了实验教学内容的完整性和系统性^[5]。

四川大学生物学基础学科拔尖计划和强基计划的实施在培养生物学领域拔尖创新人才中取得了一定成效^[6],但是在实践教学过程中,发现学生的科研技能和创新潜能仍有不足,如何通过实验教学改革提升学生的综合科研水平还有待探索。近年来,在信息化时代背景下,虚拟仿真技术与实验教学的融合对于推动实验教学改革和提升高等学校拔尖学生培养质量至关重要^[7-8]。虚拟仿真技术能够模拟真实实验室场景,将昂贵精密的实验设备、实验试剂及材料等虚拟化,突破了时空限制,具有沉浸性、安全性、多感知性等优点^[9-10]。为了让学生更好地学习原生质体转化技术和荧光显微镜技术,我们将虚拟仿真技术与实验教学相融合^[11],设计开发了中英双语版本“植物蛋白的亚细胞定位观察”虚拟仿真实验教学项目。该项目将植物蛋白亚细胞定位观察实验的整个实验空间和实验器材构建成3D虚拟模型,只需联网,学生便可以角色漫游的形式进入虚拟实验场景,操作虚拟实验仪器来完成平时难以接触到的高难度实验,有效解决了实验成本高、精密仪器台套数不够、学生动手能力不足等问题,切实提高了实验教学成效和拔尖学生培养质量^[12]。

1 建设理念与教学目标

从生物学拔尖学生培养的实际需求出发,教学团队秉承“创新教育模式,培养一流人才”的理念,采用“以问题为导向,任务驱动”的教学方式,依托四川大学国家级生物科学实验教学示范中心和四川大学生物科学虚拟仿真实验教学中

心,构建了植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验教学资源。

该教学资源采用了主流的WebGL、3D仿真、3D动画、3D建模、人机交互等技术,利用Unity3D、3D Studio Max、Maya、Visual Studio等开发工具^[9],涵盖了原生质体的制备、PEG介导原生质体的转化、荧光显微镜的使用以及荧光蛋白定位观察分析等关键技术^[13-15]。本虚拟实验项目的教学目标主要包含以下4点。

1) 学习植物蛋白亚细胞定位和植物原生质体分离与转化的实验原理;了解荧光显微镜的内部结构和光学通路,掌握其成像及工作原理。

2) 学习并掌握研究蛋白亚细胞定位的基本实验技术,包括所需酶解液的规范制备、拟南芥原生质体的分离、GFP荧光融合蛋白转化原生质体以及荧光蛋白的定位分析等,使学生对细胞与蛋白质之间的关系有一个更好的理解。

3) 学习并掌握荧光显微镜的使用及维护方法,理解基础科研中实验操作规范和实验设计的重要性。

4) 培养学生利用蛋白亚细胞定位技术研究未知蛋白功能的科研创新能力,锻炼学生的动手操作能力,促进学生理论与实践结合能力,提升学生科研素养和国际竞争力。

2 虚拟仿真实验设计流程与操作内容

2.1 实验设计流程

整个虚拟仿真实验流程分为实验预习、实验操作和实验评价3个模块,各个教学模块紧密衔接,如图1所示。实验预习模块主要是让学生熟悉实验对象和实验器材,学习并掌握蛋白质亚细胞定位、植物原生质体转化、载体构建以及荧光显微镜工作的原理。实验操作模块包括溶液的制备与原生质体的分离、PEG介导原生质体的转化和荧光显微镜观察并分析蛋白亚细胞定位3个部分,学生利用虚拟身份进入虚拟实验室进行交互式、沉浸式实验模拟操作^[15],掌握植物原生质体分离与转化以及荧光蛋白定位分析等实验高级技术。实验评价模块主要针对实验相关知识点,在实验过程中设置单选题和多选题进行考核并组织线下实验讨论,及时了解学生学习情况,并根据学生反馈意见对实验项目进行改进与更新。



图 1 植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验设计流程

2.2 实验操作内容

2.2.1 实验所需溶液的配制

学生登录账号进入实验初始界面如图 2 所示, 完成实验预习模块后进入模拟操作环节。学生以第一视角进入虚拟实验室, 按照实验室规范要求穿戴实验服和手套, 然后进行原生质体制备与转化所需的纤维素酶解液等各种溶液的配制。溶液配置前需要学习天平的调节和使用, 如图 3 所示, 天平底部具有调节高低的 4 个旋钮, 分别对应 A、B、C、D, 学生需点击 4 个调节旋钮, 按要求滑动鼠标将水平仪的圆球位置调节到中间位置, 使水平仪完成平衡, 才能进行药品称量和溶液的配制。称量过程中通过设置多选题加深学生对所配试剂所需药品的印象。

2.2.2 拟南茶叶肉原生质体制备过程

本实验以恒温培养的拟南芥为实验材料, 学生进入虚拟恒温培养室后, 需点击选取生长良好、抽薹之前的拟南芥盆栽进行原生质体制备实验, 如图 4 所示。点击刀片切取拟南芥叶片中间部分, 切成合适宽度的叶条, 用于制备原生质体。将切好的叶条置于预先配置好的酶解液中, 并用镊子使叶条完全浸入酶解液。将含有酶解液的培养盘放入真空泵中, 黑暗条件下抽真空处理, 如图 5 所示, 然后置于恒温摇床上进行酶解约 3 h, 当酶解液变绿时轻轻摇晃培养皿促使原生质体释放出来。用移液器取适量酶解液到载玻片, 荧光显微镜下检查溶液中是否存在足量且完整的拟南茶叶肉原生质体。

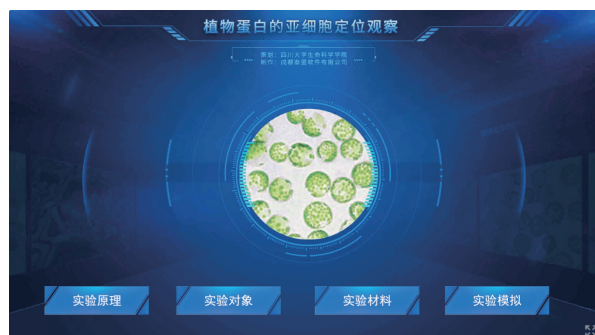


图 2 初始实验界面

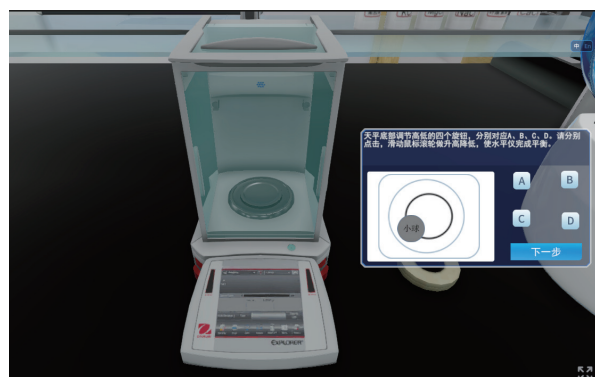


图 3 称量天平调节界面



图 4 拟南芥选取界面

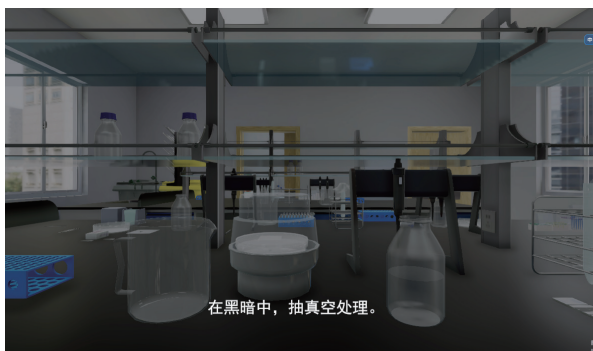


图5 抽真空处理实验界面

2.2.3 PEG 介导 GFP 荧光蛋白转化原生质体

点击移液器吸取已预冷的 W5 溶液到装有原生质体溶液的培养盘中,小心吸取混匀的溶液并注入套有尼龙膜的离心管中,如图 6 所示。点击离心机,设置好温度和离心力,离心并去除上清液,如图 7 所示。向离心管中加入 W5 溶液,重复离心并去除上清液。将单分支酰基甘油(monoacylglycerol, MMG)溶液加入样品管中,点击移液器吸取适量 GFP 标签融合质粒至离心管底部,再加入适量原生质体,最后加入适量 PEG 溶液,等待 15 min,转化反应完毕。点击闪烁的移液器,吸取适量 W5 溶液加入样品管内,轻柔摇晃离心管使其混合,终止转化反应。点击离心机,设置好温度和离心力,重复离心两次后去除上清液。最后用适量 WI 溶液重悬样品并转移至培养皿上,室温下培养原生质体约 18 h。

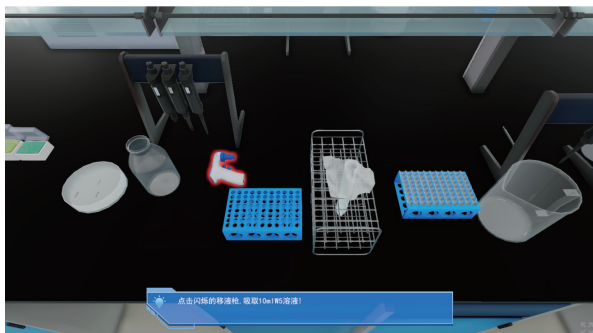


图6 原生质体分离及转化实验界面

2.2.4 荧光蛋白的定位观察与分析

拿起培养皿,走进荧光显微镜室,注意需要关闭室内灯光以及遮蔽外来光线。开启荧光显微镜电源开关后,点击显微镜相对应的旋钮,滑动鼠标滚轮可转动旋钮,由低倍镜到高倍镜,选好焦距、视野后,观察 GFP 绿色荧光蛋白的定位如图 8 所示,过程中穿插选择题来巩固显微镜的使用及维护方法等知识。为使学生更好地理解荧光

显微镜工作原理,项目采用三维动画展示荧光显微镜内部结构和光学通路,同时给出显微镜下核定位蛋白荧光图,帮助学生认识和分析,至此实验结束。

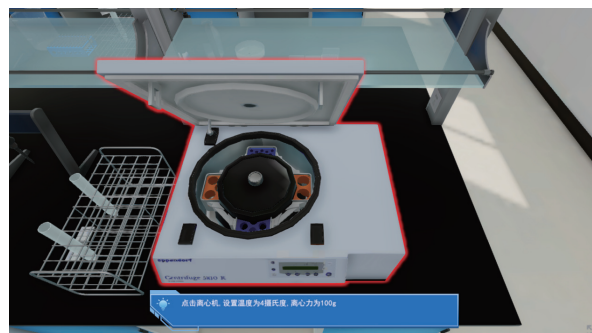


图7 离心机调节实验界面

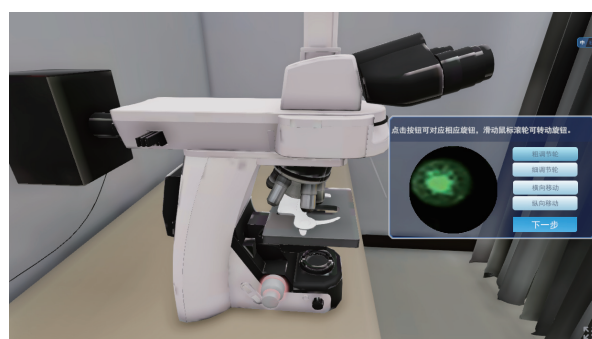


图8 荧光显微镜观察荧光蛋白实验界面

3 虚拟仿真实验项目教学实施过程

3.1 实验项目的教学应用

“植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验”项目于 2019 年 9 月初步建成,于 2019 年 12 月上旬上线于“四川大学生物科学与技术虚拟仿真实验教学中心”门户网站,并在 2020—2022 年秋季生物科学专业(拔尖班和强基班)的“普通生物学实验”课程中使用,已纳入该课程教学大纲,同时也可供本校生物技术、生态学、计算生物学以及医学相关专业本科二年级及以上学生使用学习。本项目依托平台已经与武汉大学、浙江大学、山东大学等 14 所高校签订了资源共享协议,并通过使用反馈对项目进行升级完善,力争做到更大范围的资源共享。

3.2 实验教学评价考核

学生实验教学评价考核方式智能化。学生通过学号登录植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验软件进行虚拟实验操作,考核主要以是否触发“错误操作提醒”和过程中设置的题目来控制

实验进度。整个实验模拟过程中一共穿插了 16 道单选题和 3 道多选题, 学生实时作答获得相应分数, 系统自动统计并给出最终的模拟操作成绩。教师端可查看学生成绩以及学生易错题, 结合线下课堂对易错题进行讲解并与学生展开讨论, 充分了解学生对实验的整体掌握情况。

3.3 实验教学效果分析

“植物蛋白的亚细胞定位观察”虚拟实验教学资源的开发, 丰富了普通生物学实验课程中蛋白功能研究的实验内容, 完善了四川大学生命科学学院虚实结合的生物学科实验教学体系, 有效提升了课程教学的高阶性和挑战性^[16]。

学生普遍反映该虚拟仿真实验交互性强、趣味性高、体验感好, 能够有效激发他们的学习兴趣, 使他们获得真实生动的学习体验。该虚拟仿真实验的教学效果良好, 学生通过实验了解和掌握了蛋白亚细胞定位观察的原理及核心实验技术。经过理论学习、虚拟实验操作、结果分析及实验报告撰写等, 使学生得到系统锻炼, 培养了学生的学习自主性和独立思考能力, 拓宽了学生的国际化视野, 激发了学生的探索欲望和创新潜能, 全面提升了学生的科研素养和科研能力。

针对 2022 级生物科学专业(拔尖班和强基班)的 37 名学生, 进行了植物蛋白亚细胞定位观察虚拟仿真实验课程的满意度问卷调查。调查结果和反馈意见显示, 有 91.89% 的学生认为植物蛋白的亚细胞定位实验仿真度高, 能够有效帮助学习相关的实验原理和知识内容, 超过一半的学生认为自身科研素质和理论与实践结合的能力得到了提高, 说明该虚拟仿真实验在学生中的认可度较高。

3.4 项目维护与更新状况

在项目建设过程中, 我们会根据学生反馈意见对项目进行优化升级。本项目已根据学生培养要求和学生建议, 于 2023 年升级了英文版本, 学生在虚拟实验过程中可随时点击实验界面右上角的切换按钮, 切换中英文模式。通过双语教学加强学生对英语专业词汇的学习运用, 提高了学生英语阅读与交流能力, 提升了学生国际竞争力。后期我们还将根据学生反馈与意见对项目进行调整更新, 实现教学资源的可持续利用和发展。

3.5 项目的推广思考

本项目以模式植物拟南芥为材料, 对植物蛋白亚细胞定位观察全过程进行模拟仿真, 但可用于亚细胞定位观察的植物材料还有很多, 如重要

的农业经济作物烟草、玉米、水稻等^[13-14]。

本项目涵盖蛋白亚细胞定位观察的相关实验方法和技术, 包括酶解分离法、PEG 介导法、荧光显微镜技术等, 同样适用于拟南芥以外的其他植物细胞的研究^[13-14]。不同的植物材料只在原生质体制备和转化的一些具体条件和参数上存在差异, 如酶解液组分和用量、酶解时间、PEG 浓度等, 但总体的实验流程和关键步骤是相同的, 只需针对不同植物细胞特性进行适当的优化即可。因此, 本项目可为不同植物蛋白亚细胞定位研究提供完整的实验设计思路和流程展示, 同时还可以在现有项目基础上进一步改进实验流程, 通过整合其他植物模型, 针对不同植物的原生质体分离和转化过程, 设计相对应的实验条件和参数供学生分析选择, 开发出适用于更多植物的专用模块, 提高该虚拟教学项目的通用性和实用性。

综上所述, 本项目具有较强的可扩展性, 将其推广到水稻、烟草等其他植物细胞是完全可行的。项目的改进和完善不仅可以提升生物学实验教学的质量和效果, 也能为其他高校生物学相关专业学生和科研人员开展植物重要功能蛋白研究提供有价值的服务和支持。

4 虚拟仿真实验特色与创新

4.1 虚拟仿真技术融入实验教学, 完善了普通生物学实验课程体系

将虚拟仿真技术与实验教学相结合, 由相关实验室提供实验项目所需的具体技术信息和场景, 利用计算机虚拟仿真技术和网络技术, 模拟了植物蛋白亚细胞定位观察全过程。模拟过程中设置了多个交互实验操作环节, 使学生身临其境地体验科研工作者通过蛋白亚细胞定位技术研究蛋白功能的实际过程, 使学生对细胞与生物大分子蛋白质之间的关系有一个更好的理解, 同时掌握研究蛋白调控功能的基本实验原理及关键技术。该虚拟仿真实验在本科生实验课程中的开展, 解决了传统实验成本高、精密仪器台套数不够、学生动手能力不足等问题, 丰富了教学资源, 完善了普通生物学实验课程体系。

4.2 打破时空限制, 实现科教融合, 提升学生科研素养

基本实验技能是培养生物学本科生的必修环节, 拔尖人才培养应与基础科研训练相同步, 可增加学生接触科研过程的机会, 提升实验设计、

实验操作、发现和解决科学问题等能力。虽然本科生假期可走进实验室参观学习,但对于一些价格昂贵、操作复杂的科研训练,缺少动手的机会,学生难以接触到基础研究中常用的高级实验技术,缺少对科研过程的直观体验,不利于科研素养和动手能力的提升。虚拟实验打破时空限制,学生可随时随地进行实验,实验流程可反复操作,简单易上手,对教师和学生来说都是全新教学体验。学生是虚拟实验的参与者,在虚拟环境中自主学习相关知识点和完成各项实验任务,将理论知识和科研实践结合起来,弥补了学生进行高级精密仪器操作的不足,实现系统完整的科研过程培养,全面提升了学生的科研素养。

4.3 进阶式教学内容,是传统实验教学的有效补充,激发学生创新潜能

本实验项目由多个实验组成,从简单的载体构建技术到更高阶的原生质体制备与转化技术和荧光显微镜技术,实验内容环环相扣,层层递进,每个环节都可能决定了最终实验的成败,使学生能够更加理解基础科研中实验操作规范和实验设计的重要性。将传统实验教学与植物蛋白亚细胞定位观察虚拟仿真科研训练相结合,让学生在短时间内打破科研实训条件的各种限制,弥补了传统实验教学的不足。通过进阶式实验内容的学习,使学生明白研究蛋白质亚细胞定位技术在研究蛋白功能中的重要性,提高学生探索未知蛋白定位及其生化功能的兴趣,激发了学生科研创新潜能。

5 结束语

植物蛋白的亚细胞定位观察虚拟仿真实验,利用虚拟仿真技术构建了集实验模拟和教学测评为一体的全过程仿真实验场景,解决了“普通生物学实验”课程中开展植物蛋白亚细胞定位观察实验存在的实验成本高、精密仪器台套数不够、学生动手能力不足等问题。实验突破时空限制,学生可随时随地登录学习,逼真的实验环境和沉浸式交互操作给师生带来了全新的实验教学体验。通过问题式和情景式教学,激发学生学习兴趣,加深了学生对蛋白质功能研究实验技术的认识,实现科研实训与实验教学的有效融合,是传统实验教学的延伸与拓展。该虚拟实验在本科实验教学中取得了良好的教学效果,培养了学生的创新能力、科研素养和国际竞争力,推动了普通

生物学实验教学的发展和相关学科的建设,也为生物学拔尖创新人才培养提供了全新教学模式。此外,该虚拟实验教学项目支持资源开放共享,能够为其他高校生物学相关专业学生和科研人员提供指导,对各高校推动虚拟仿真技术与实验教学相融合的教学改革具有积极辐射作用。

参考文献

- [1] GUO Y, BAO Z R, DENG Y L, et al. Protein subcellular localization and functional studies in horticultural research: problems, solutions, and new approaches[J]. Horticulture Research, 2022, 10(2): 271.
- [2] 未丽, 刘建利. 植物蛋白质亚细胞定位相关研究概述[J]. 植物科学学报, 2021, 39(1): 93-101.
- [3] 赖叶林, 贺莹, 李欣欣, 等. 一种植物原生质体分离与瞬时转化的方法[J]. 植物生理学报, 2020, 56(4): 895-903.
- [4] WU J Z, LIU Q, GENG X S, et al. Highly efficient mesophyll protoplast isolation and PEG-mediated transient gene expression for rapid and large-scale gene characterization in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. BMC Biotechnology, 2017, 17(1): 1-8.
- [5] 逯行, 朱陶, 徐晶晶, 等. 高校虚拟仿真实验教学的基本问题与趋势[J]. 现代教育技术, 2021, 31(12): 61-68.
- [6] 魏伟, 许小娟, 赵云. 生物学拔尖学生科研能力培养机制的构建[J]. 高校生物学教学研究(电子版), 2022, 12(1): 10-14.
- [7] 熊宏齐. 虚拟仿真实验教学助推理论教学与实验教学的融合改革与创新[J]. 实验技术与管理, 2020, 37(5): 1-4.
- [8] 李亚琳, 李丹. 虚拟仿真技术在生物实验教学中的应用[J]. 大众科技, 2022, 24(10): 152-155.
- [9] 张春明, 杨天鸿. 虚拟仿真教学实验中心教与学互动设计与实现[J]. 实验科学与技术, 2021, 19(4): 68-74.
- [10] 王甜, 孙群, 王茂林, 等. 虚拟工厂实训平台在企业综合实训中的应用[J]. 实验技术与管理, 2016, 33(8): 110-114.
- [11] 樊佳, 林宏辉, 王茂林, 等. 放射性同位素标记抗体虚拟实验资源建设的探索[J]. 实验室科学, 2020, 23(5): 32-36.
- [12] 刘嘉南, 毛继泽, 何建, 等. 虚拟仿真实验教学可持续发展体系构建研究[J]. 中国现代教育装备, 2022(23): 20-23.
- [13] 李悦, 宋慧云, 王志, 等. 植物原生质体分离与瞬时表达体系研究进展[J]. 植物生理学报, 2023, 59(1): 21-32.
- [14] 李婧瑶, 刘龙飏, 丁兵, 等. 植物原生质体分离及培养研究进展[J]. 分子植物育种, 2023, 21(2): 620-632.
- [15] 阎臻, 杨军, 彭锐, 等. 电子显微镜虚拟仿真实验的建设与应用[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(10): 1935-1943.
- [16] 张芹, 岳大光, 刘文杰, 等. “两性一度”框架下的实践课程混合式教学改革研究[J]. 实验科学与技术, 2022, 20(4): 42-46.