

“水产动物细胞工程基础实验”教学模式的探讨

王敏^(✉), 汤蓉, 付思思, 刘学芹

华中农业大学水产学院, 武汉, 430070

摘要: 本文介绍了“水产动物细胞工程基础实验”的教学设计与教学实践, 旨在为水产专业的相关课程教学提供参考, 并探讨水产专业开设细胞工程课程教学的效果及潜在意义。

关键词: 细胞工程, 细胞培养, 实验教学, 水产动物

Investigation and Discussion on the Teaching Model of Basic Experiment of Aquatic Animal Cell Engineering for Undergraduate

WANG Min^(✉), TANG Rong, FU Si-si, LIU Xue-qin

Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

动物细胞工程是以动物细胞为基本单位, 在体外进行培养、繁殖和人为操作, 使细胞产生某些人们所需要的生物学特性, 从而达到改良品质, 加速繁殖动物个体或获得有用品系的目的。动物细胞工程包括动物细胞培养、动物细胞融合、单克隆抗体的制备、试管动物和胚胎移植。其中动物细胞培养是动物细胞工程的基础技术, 如果该技术掌握不成熟, 细胞工程的所有工作就无法进行, 所以, “动物细胞工程基础实验”教学, 就是旨在严格训练动物细胞培养技术的实验教学。

水产动物细胞工程基础实验教学是以鱼类等水产动物为实验材料, 根据鱼类等水产动物体内所需的环境条件, 进行的体外细胞培养, 并在此基础上, 进行鱼类细胞的应用性实验。该教学为严格的基本训练教学。

本课程是在原科研项目“水产动物细胞系的引进

与利用”工作的基础上, 参考相关大学开设的“细胞工程”课, 结合本细胞培养实验室目前的条件, 对水产专业本科生开设的“水产动物细胞工程基础实验”创新实验教学, 取得了很好的效果。本课程的教学目的是: 通过该课的学习与严格操作训练, 使水产专业的学生能够熟练掌握动物细胞培养的全套实验技术, 了解该技术的应用, 并可利用该技术, 参与相关的科研工作, 对提高水产专业大学生实验操作技能, 提升专业综合素质以及适应社会变化的综合能力, 起到积极的作用。

动物细胞工程课程主要在医学专业、生物工程专业开设较多, 有一些教学研究报道^[1-5]; 在水产类大学开设此课的有中国海洋大学生命科技学院及上海海洋大学生命科技学院, 主要内容是鱼类细胞工程, 网站上也有相应的教学大纲。而水产类专业开设细胞工程(或细胞培养)课, 国内为数不多, 相关教学研究报道极少, 主要是因为教学条件及严格的无菌操作要求所限制。本文主要探讨对水产专业本科生人数较多, 设备有限的条件下, 开设“动物细胞培养”的教学设计与教学方法, 旨在为相关

收稿日期: 2013-11-15; 修回日期: 2013-12-05

基金项目: 华中农业大学教学改革基金

通讯作者: 王敏, E-mail: wangmin@mail.hzau.edu.cn

院校或专业的细胞培养课程提供参考模式与经验交流，并进一步探讨水产专业开设细胞工程课程教学的潜在意义。

1 实验室教学条件与教学计划

1.1 实验室及仪器设备

华中农业大学水产学院“水生动物细胞培养研究实验室”是在相关科研工作的基础上建立，是一个与细胞培养相关的教学与研究开放实验室，可上课面积为 128 m²。仪器设备多由科研工作所购置，包括配备 3 台超净工作台，3 个电动加样枪等无菌操作设备；此外还有 2 台倒置生物显微镜，3 台生化培养箱等细胞培养所需的基本设备。

1.2 实验教师队伍

本课程组的教师主要为动物细胞生物学专业、动物病毒专业、动物遗传育种专业毕业的博士，主要从事细胞原代培养、细胞病毒学、细胞毒理学方面的研究；又聘请美国夏威夷大学公共健康与卫生实验室动物病毒研究方向的 Yuan Lu 教授作为技术顾问。

1.3 实验内容设计

鉴于本院教师目前的科研基础与水产学院学生的生物学基础，以及教学要求的学时学分数等，设计了 6 个实验内容，总学时为 30：培养器皿的洗涤与灭菌；培养用液的配制与除菌；贴壁细胞的传代培养；鱼类原代细胞的制备与培养（组织块法）；细胞的冻存与复苏；病毒感染细胞、病毒的增殖与收集保存。全部实验设计均以基础训练为主，包括从实验准备到实验结果的全过程，并辅加了“病毒感染、增殖与收集保存”基本应用性实验。

1.4 实验教材

围绕设计的六个实验内容，根据我们细胞培养技术相关的科研经验，以及水产本科生的专业基础和实验动手能力，结合细胞培养实验的特点与实验室条件，我们编写了非常详细而具体的实验操作手册，通过 2 年的教学实践与修改完善，形成了规范地、可供本校动物科学、生物科学、水产等专业使用的细胞培养实验教材。

1.5 实验示范视频

本课程组在 2 年的“水生生物细胞工程技术”研究生实验教学，“动物细胞工程基础综合实验”及“鱼类细胞毒理学”本科生创新实验教学中，拍摄和制作了“鱼类细胞培养技术”实验操作示范视频，视频中包括上述 6 个实验内容。教学中以 PPT 课件讲解与播放视频相结合，可使学生对实验原理、实验过程、注意事项以及细节问题加深印象，起到主动思考、动手能力增强、实验进展顺利的效果。

1.6 实验材料

细胞的传代培养、冷冻与复苏、病毒感染与收集等连续实验的材料，均采用本实验室的鱼类细胞 CCO（斑点叉尾鮰卵巢细胞系，80 多代）和 BB（棕色大头鲢躯干细胞系，100 代以上）；细胞的原代培养材料，采用市场购买的锦鲤鱼；其实验方法采用陆生动物细胞培养技术，模拟锦鲤等温带鱼类生长所需的温度条件，进行体外细胞培养。

2 教学过程

2.1 合理确定开课时间与选课学生

开课时间是根据培养细胞生长健康旺盛的季节 10—11 月，考虑到细胞培养实验过程的连续性，以及不使学生与其他选修课程冲突，选定集中上课的时间为周六、周日，并为白天全天上课。

经全校学生选课和老师的要求双向选择，确定了上课的学生为 24~30 人。其中水产专业（水产养殖与水簇科学）的学生占 1/2，多数为具备一定专业基础的大二学生。其他专业选课的有动物科学、动物医学、生物科学、生物工程，基本为有一定生物学基础训练的大一学生。

2.2 保证有序的实验过程

细胞培养工作是连续的，需要每天观察生长的细胞，根据细胞生长情况进行传代或者冻存保种等工作。由于教学大纲中实验内容的设计限定为 6 个（30 学时），学生集中上课时间只能为 6 次。为了有序地集中上课以及课后连续的进行实验，我们采取的上课方法是：集中讲课，分批分组实验，分组指导。

集中讲课，就是每次上课时先集中讲解原理、观看操作视频，提示注意事项。

分批分组实验，就是将学生分为上、下午各一批，每批学生中4人为1组。即每批3~4组。若有后补的学生，可在此基础上调整。具体操作如下：

(1) **培养用液的配制与除菌实验**：以全班6组为例，2组配2套培养基，其他4组配制4套消化试剂，即各组配制1套用液，然后按组别上超净台，过滤（除菌）自己组需要的培养基，人人动手与动脑（而非一人演示大家看）。实验后各组有一套细胞培养的无菌试剂。

(2) **鱼类细胞的传代培养实验**：传代培养采取分组有序的教学方式，每组（4人）共用1个超净台，细胞1瓶接种2瓶，2天后2瓶接种4瓶，如此接种，最后每人培养传代1瓶细胞，并保证细胞长好。

细胞的传代培养需要每天观察细胞，根据细胞生长状况做传代处理，为了不影響该开放实验室其他老师和研究生日常的细胞培养相关科研工作，我们采取的办法是课后预约实验，让上课的学生在每天规定的时间内，以小组为单位分批来观察细胞的生长情况，并根据细胞的生长状态，做传代处理（2~3天传代1次），以此连续做下去。

(3) **鱼类细胞的冻存与复苏实验**：当细胞连续培养2周后，到“细胞冻存”实验课时，学生们即将自己培养2周的细胞一部分进行冷冻保存，一部分用做病毒感染、细胞计数、细胞毒理等实验。整个实验计划周密、安排有序，通过传代和增殖细胞，可使得每个学生冻存一瓶细胞，并进行复苏检测。

(4) **鱼类细胞的原代培养实验**：以组为例，解剖4~5尾幼鱼（保证每人有1尾鱼做），取所有鱼的肌肉、鳍条、肝脏、鳃4种组织，合并所有的同类组织，然后分别进行各组织的贴壁细胞培养实验，每人操作1种组织。原代培养也需要学生每天按组别预约来实验室观察细胞生长状况并拍照，或进行细胞维护的处理。一般是每组自行安排一个“值日”来处理。

(5) **器皿的洗涤、包装与高压灭菌实验**：一般在每次实验结束时，按组别安排学生清洗自己用过的器皿，包装与高压灭菌，这样可不占用课堂实验时间。

(6) **教师指导**，每批实验中，由2名教师和1名研究生，3人指导3~4个组的实验，即每名指导教师负责1个超净台小组的无菌实验。

2.3 考核方式

考核方式主要看实验结果，若细胞无污染，生长好，利用细胞做其他综合实验取得理想的结果等才能及格。总评成绩中，平时成绩占40%，要求学生认真回忆实验的步骤和注意事项，尤其是操作中的细节问题，写出实验报告；考核成绩占60%，要求以论文的格式写技术总结报告。技术总结报告，有的学期是根据实验结果和数据写小论文，有的学期是要求学生自己编写规范的实验指导手册。

3 学生收获

通过该课的学习，学生的操作能力有了很大提高，并对科研方法有了初步的认识。

3.1 操作能力的提高

通过实验，锻炼学生的动手能力，熟练地掌握细胞培养基础实验的全套技术，掌握实验室的无菌操作技术，了解细胞培养的应用和细胞培养实验室的基础条件，并具备独立设计细胞培养实验的一般能力，以及协助教师进行相关科研的能力。

3.2 对科研的初步了解

通过实验和撰写实验报告，使学生对实验过程加深印象；通过写考核小论文，了解查阅科技文献的一般方法，锻炼思维能力，为将来做本科论文或研究生论文奠定一定的基础；也使学生对撰写发表论文以及将来写工作技术总结报告有初步的认识，学生们兴趣很高，反映很好。

3.3 后期应用效果

本实验教学进行时，已经有部分水产专业的学生加入了老师的相关科研工作；动物科学、动物医学、生物科学、生物工程专业的部分学生是带着科研任务来学习操作的；我们也主动地向水产专业的相关科研课题的老师推荐经过培训的学生。经过培训的学生，具备实验室操作能力及无菌操作的技能，为下阶段的学习以及后来的各项工作打下良好的基础。

本课程开设以来，学生报选的人数逐年增多，第一年为26人，第二年报名的为40人，经双向选择确定为32人，在本课程的基础上，课程组的相关老师继而

又开设了“水产细胞毒理”等细胞系应用的创新实验课程。近年来水产学院参加细胞培养相关科研的学生明显增多，促进了学院的科研工作以及研究生教学。

4 体会、问题与讨论

细胞培养需要无菌条件，适合于少数人（2~3人）做实验，要求实验室清洁、干燥，操作人员安静、仔细，以确保细胞不受污染。对于人数为20人以上的本科生教学实验（特别是水产养殖专业的学生生物学基础相对较弱），在无菌操作仪器设备有限的情况下，我们能够顺利地开好课，主要是实验课的课前设计很重要，必须根据实验内容与要求，实验人数与无菌设备数量等情况预先设计好实验过程，做好组织与分工，以确保实验能有序而顺利进行，并取得良好的实验结果。

选修课学时数有规定不超过30，该课程内容中的应用性实验不能多，否则就超过了30学时，该课只能为基础训练，还没有正式涉及“工程”。鉴于目前水产学院的科研方向和基础，我们设计了病毒感染与病毒收集实验、染色体制作实验，取得了非常好的实验结果。将来随着本院学科的发展，还会根据具体情况，在现有学时的情况下，调整或增设其他综合应用性实验内容，比如让学生按组别自己选题，自己设计，进行综合应用性实验，让学生整理课堂的实验结果，投稿发表科研简报，有助于提升大二学生的思维能力。

鱼类细胞的原代培养是较难的技术，本课程中的“锦鲤原代培养细胞的制备”，在营养物（培养液）一般的条件下，该鱼的鳍条细胞一次性培养出来，按1人1组做原代培养的成功率为96%，并能传代1~2代，这与指导教师的认真、学生的基础及学习兴趣有很大的关系。

“水产动物细胞工程基础实验”虽然是针对水产专业，但是其技术是借鉴于动物细胞工程，其培养环境是依据水产动物的体内需要，而且该课是以基础训练为

主，所以引起了动物、生物等相关专业学生的选课兴趣。在老师选择修课对象时，考虑了专业优势互补，主要选择本院水产专业大二的学生，因为大二学生有一定的专业基础；其次选择了动物和生物相关专业的大一学生，因为他们的生物学基础训练较硬，实验操作仔细规范，还可影响和带动水产专业的学生，取得很好的教学效果。

在教学中，我们对掌握该技术的应用，提高综合素质，提高适应社会变化的能力等方面对学生（特别是对水产专业的学生）进行了潜意识的引导，使得学生产生了浓厚的学习兴趣，做实验很主动。在平时撰写实验报告时，我们要求学生不按任何格式，主要回忆与总结实验步骤；在写小论文时，通过电子邮件及QQ群对学生进行辅导，告诉学生如何查文献，并把有代表性的文献传给了学生参考，使得学生的平时实验报告及考核小论文写的很认真，很全面，并可作为他们将来工作的参考资料保存。

实践表明，水产专业的学生们通过该课程的技能训练与思维训练，对提升综合研究能力以及综合素质有着重要的意义，并能在该学科的某些相关科学研究中起着较大的作用。

参考文献

- [1] 叶希韵, 孙剑华. 细胞工程实验课程拓展型教学体系的建立 [J]. 实验室研究与探索, 2008, 27 (1): 96 - 97, 112.
- [2] 李艳红. 细胞生物学和细胞工程实验教学的几点体会 [J]. 实验室研究与探索, 2004, 23 (7): 51 - 52, 66.
- [3] 陈晓明, 张建国. 动物细胞工程开放实验教学模式探讨 [J]. 现代农业科技, 2010, (8), 23 - 24, 27
- [4] 刘清波, 黄红梅, 赵燕. 农业院校细胞工程实验教学改革探析 [J]. 现代农业科技, 2010, (15): 27 - 28
- [5] 李建秀, 张红霞, 谢东甫, 等. 生物技术专业细胞工程实验教学的设计与体会 [J]. 基础医学教育, 2011年, 13 (5): 457 - 459.

(责编 高新景)