

改革创新发育生物学实验教学的实践与思考

董巍^(✉)¹, 张媛², 樊启昶¹, 许崇任¹

1. 北京大学生命科学基础实验教学中心, 北京, 100871

2. 北京大学实验室与设备管理部, 北京, 100871

摘要: 本文根据北京大学近年来在发育生物学实验教学的经验, 针对发育生物学的学科特点和现状, 提出改革与创新发育生物学教学实验的几点体会和思考。我们尝试将科研实验与教学实验进行双向转化, 收到了很好的效果和反响, 不仅丰富和更新了教学实验内容, 而且推动发育生物学实验教学平台和模式的建立与完善。

关键词: 发育生物学, 实验教学

Innovation Practice and Reflection of Developmental Biology Experiment Teaching Reform

DONG Wei^(✉), ZHANG Yuan², FAN Qi-chang¹, XU Chong-ren¹

1. Basic Experimental Teaching Center of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

2. Laboratory and Equipment Management Department, Peking University, Beijing 100871, China

1 引言

发育生物学是当今生命科学进展最为迅速的分支学科之一, 从2002年初高等教育出版社第一本发育生物学理论教材出版至今^[1], 国内各高等院校纷纷开设发育生物学作为本科高年级的专业主干基础课, 并陆续出版了相应的教材^[2]。但是, 目前仅有极少数高等院校开设了发育生物学实验课程, 并且很大程度地受到专业领域和实验条件的限制, 教学内容较为陈旧, 教学体系尚不完善, 难以实现和达到发育生物学的实验目标和对理论课的辅助作用。北京大学生命科学学院和基础实验教学中心率先在国内开设了发育生物学课程及相应的实验, 并于2009年在国家自然科学基金委的支持下, 为国内“211”学校的生命科学学院组织

了发育生物学实验教学培训班。在北京大学实验室与设备管理部实验教学改革经费的支持下, 我们不断改革和完善发育生物学实验教学体系, 由于实验内容新颖, 受到了学生和老师们的好评。

目前许多大学生不重视实验技能的学习和训练, 有些同学虽然理论课成绩突出, 但是在科研中却表现出来发现问题、分析问题、解决问题的能力较差, 使我们深刻地感觉到实验技能对于培养创新型人才的重要性。同时, 我们也意识到随着学科的飞速发展, 同学们了解和接触科研的渠道越来越多, 只有不断更新教学内容, 将基础理论知识和科学研究真正做到有机结合, 才能体现教学的作用, 保持教学的吸引力, 满足并激发同学们的求知热情。我们以发育生物学实验教学为试点, 秉承创新型人才培养的目标和理念, 丰富和改革实验内容, 尝试将科研实验和教学实验的紧密结合和有机转化, 实现全面、系统、前沿、创新的教学实验平台和模式。文章对我们近年来改革创新发

发育生物学实验教学进行分析和总结，希望能够为其他兄弟院校提供借鉴和参考，共同推动发育生物学及其实验教学的发展和成熟。

2 发育生物学实验的特点

发育生物学是胚胎学的继承和发扬，在细胞学、遗传学、分子生物学发展的推动下，探察个体发育从生殖细胞形成到衰老死亡的分子生物学过程和机制。这也决定了发育生物学实验设计和实验教学具有以下的特点。

涵盖面广、综合性强。发育实验涵盖面广，综合性强，实验教学内容丰富、材料鲜活、实验操作感强、成果可见，非常利于引发同学们的科研兴趣。在设计发育生物学实验内容时，如果纵向的看，从生殖细胞形态和发生、受精、早期胚胎发育模式、器官形成发育中的基因表达和功能、基因调控的发育机制和原理、发育与环境的关系、调亡和再生等发育特有现象、发育与进化等等重要的生命科学问题都是发育生物学研究的内容，都可以在实验中寻求解答。横向的看，发育生物学的研究方法非常丰富，吸纳了胚胎学、分子生物学、遗传学、生物化学、医学、计算机科学等很多领域的研究手段，是一种交叉、综合度高的实验学科。因此，在同学们已经具有一定的专业基础和基本实验技能之后，学习发育生物学及实验会更有效果和感悟。同时，在现代发育生物学研究中，模式生物作为研究对象成为目前主流的研究思路，大部分的发育生物学的研究成果来自于模式生物。现在常用的模式生物包括动物有：海胆、线虫、果蝇、斑马鱼、爪蟾、鸡、小鼠，植物有拟南芥。这些模式生物在研究中各具优势，在实验操作上各有不同，但同时不同模式生物研究可以相互借鉴，很多新技术在实验教学平台中可以移植^[3]。

发展速度快、架构不成熟。近些年来，发育生物学的研究工作方兴未艾，国内许多大学的生命科学学院均有从事模式生物发育生物学研究的科研小组，研究成果的不断涌现，充实、更新和推动着发育生物学的不断发展。目前国内一些大学已经意识到发育生物学的重要性，纷纷开设发育生物学及实验。但是相比其他生物学分支学科，发育生物学及实验还处于刚刚起步阶段，教学框架还很不成熟，国内外还没有形成统一的、可广泛接受和采纳的教学体系，也没有适合

大部分高校使用的实验教材。现有许多发育生物学实验中相当比重的内容来源于胚胎学实验，而不能很好地体现发育生物学的核心概念和基本原理。因此，设计独特而完善的发育生物学实验内容体系尤为重要。

注重实验设计、实验结果不确定。很多发育生物学原理和机制来源于成功的实验设计，需要同学们对理论知识和实验原理有相对深入的了解，才能完成成功的实验。同时发育原理和机制中很多概念十分抽象，通过实验能够帮助同学们更好地理解 and 领悟晦涩的发育理论。同时，发育生物学实验结果有很大的不确定性，因此带给教学中的教师和同学们很多的创造性和挑战性。这就更加要求师生共同学习，阅读科研文献，不断在实验中尝试、创新、分析和总结，不断完善发育生物学实验。几年的发育生物学实验的教学经验让我们深刻感觉到，同学们在设计实验、实验操作和结果分析的能力上得到了很大的锻炼和提升。

3 发育生物学实验的改革与创新

3.1 充实和改革实验内容

根据发育生物学实验的特点，我们在教学中的重点之一是对实验内容进行了充实和改革，主要体现在将每个实验分为三个层次：一、模式动物饲养和胚胎早期发育；二、发育生物学常用基本实验技术；三、发育生物学研究中的经典和综合性实验。

具体的讲，首先我们以模式生物为实验主线。现在主流的发育生物学研究相对集中在几种模式生物上，让同学们系统了解模式生物，掌握基本的实验操作对于发育生物学的学习和今后的科研工作十分必要和有益。发育生物学源于胚胎学，但是又与传统的胚胎学有很多不同之处。反映到实验中，胚胎学实验侧重的是物种发育过程中的形态比较，而发育生物学实验则注重探察发育现象背后的分子生物学过程和机制，基因的表达和功能。因此，我们在设计发育生物学实验时，模式生物的早期胚胎发育过程是不能忽视的，但是要在形态观察的同时，加入机制的讲解和实验操作。

其次，发育生物学实验技能操作复杂，综合性强，需要同学们有一个由简到繁的学习和熟练过程，分为基本实验技能和综合性实验技术。基本实验技能包括胚胎的收集处理，简单的胚胎操作等：例如挑取转移线虫、果蝇成虫盘解剖，斑马鱼卵膜剥除。综合性实验则体现了发育生物学复杂交叉的学科特点和魅力，

表1 发育生物学实验教学内容

模式生物	发育模式和基本实验	综合性实验
拟南芥	种植和发育观察	1. 拟南芥花的器官特征决定的遗传分析: ABC 模型
	发育观察	1. EMS 诱变和突变体观察
线虫	挑取线虫	2. 雌雄同体线虫产卵器发育的遗传分析
	胚胎发育观察	1. Hox 基因在体节形态的表达
果蝇	3 龄幼虫成虫盘解剖	2. 基因 <i>apterous</i> 在果蝇翅发育中的功能
	早期胚胎发育观察	1. 视黄酸 (RA) 对前后体轴发育的影响
斑马鱼	胚胎操作	2. Cyclopamine 对斑马鱼早期胚胎发育及 sonic hedgehog 通路的影响
	人工授精	3. 斑马鱼侧线毛细胞损伤及再生
爪蟾	胚胎发育	1. 爪蟾受精卵显微注射
	早期发育	2. 爪蟾胚胎命运图的细胞示踪分析
鸡	2 天鸡胚整装片	1. FGF-8 蛋白在鸡胚中诱导长出异位肢芽
	7 天鸡胚观察	2. 不同酒精剂量及处理时间对鸡胚发育的致畸影响 (酒精胎儿综合症)
		3. 鸡胚肢芽绒毛膜尿囊移植

涉及的实验原理十分丰富,涵盖了发育体制构建、信号诱导、基因表达和功能分析、基因操作和转基因、突变筛选、基因功能分析、再生发育等,涉及的实验方法如显微注射、原位杂交、遗传分析、克隆表达等等。表1中列出了近几年来北京大学生命科学学院发育生物学教学开设的实验内容。

例如,斑马鱼是一种十分常见的发育生物学模式动物,具有很多独特的优点:胚胎易得,数量大,体外发育,早期透明等,非常适合应用于教学实验中。我们在设计斑马鱼发育实验中,学生们自己配鱼收卵,观察早期胚胎发育,并进行剥离卵膜等基本的胚胎操作。综合性实验中,我们设计了几个实验。经典的实验如视黄酸(RA)对体轴发育的影响。RA作为维生素A的衍生物,是重要的形态发生源(morphogen),以浓度梯度的形式参与胚胎发育。RA所介导的基因活性表达对于早期的脊椎动物发育至关重要,其作为一种躯体后部化信号在包括哺乳动物在内的很多发育系统中起作用,同时它也参与了肢体的形成^[4]。当胚胎暴露于高于正常水平的RA中时,正常的发育过程就会紊乱。在人体中,如果早期胎儿13-顺式-视黄酸过度表达,将会导致一系列异常的特征,包括耳朵的消失或者缺陷,下颌缺失或者变小,腭裂,主动脉弓的异常,胸腺功能缺失及中枢神经系统的异常等。我们在实验中,设计了不同浓度的RA溶液和不同胚胎发育时间,浸泡处理斑马鱼的早期胚胎,斑马鱼胚胎也显示了类似于哺乳动物胚胎的缺失表型。再通过胚胎整体形态观察和原位杂交技术,进一步检测RA对于斑马鱼胚胎发育的影响机制及确定这种影响的剂量依赖性。通过这个实验,让同学们充分理解了动物发育过程中的模式建成(pattern formation)、体轴(axis)、

形态发生源浓度梯度等概念。

再例如,鸡胚也是非常好的发育生物学实验材料。我们在培养箱中孵化,观察鸡胚发育的整个过程,并设计了综合性实验:FGF-8蛋白在鸡胚中诱导长出异位肢芽的发育,以及不同酒精剂量及处理时间对鸡胚发育的致畸影响(酒精胎儿综合症)。这些实验方法比较成熟,但是实验难度有所增加,对同学们的实验操作能力要求较高,但非常有助于激发同学们的学习兴趣和科研热情。有了积极性和主动性,同学们态度认真,实验效果也很好。

考虑到发育实验周期较长,实验材料的获取也不同,各个高校可以根据自身的优势和教学的具体要求,选择1~2种模式生物开展实验即可。

3.2 科研实验的内向转化

在发育生物学实验教学中,我们很注重快速转化科研成果到本科生教学中,不让实验教学与科研前沿脱节。我们发现,课题组的老师和研究生们在科研实践中得到的一些非常好的实验方法和结果,实验技术也不十分复杂,完全可以应用到本科生实验教学中,激发同学们科研的兴趣。

例如,我们与斑马鱼研究课题组合作,在同学们的斑马鱼发育实验内容中,增加了“斑马鱼侧线毛细胞损伤及再生的实验”。这个实验来自于科研中,对于教学是全新的,在国内外的任何发育生物学实验指导上都没有相关的内容。斑马鱼体表侧线系统上由一定数量的神经丘(neuromasts)组成,每个神经丘主要由位于中心的毛细胞(hair cell, HC)和四周的支持细胞(supporting cell, SC)构成,可以感知水流方向、强度和振动,并把这种外来刺激通过感觉神经纤维传递到

中枢神经，与哺乳动物内耳中的毛细胞在结构和功能上类似，因此斑马鱼侧线毛细胞给我们提供了一个研究毛细胞较佳的模型。更为重要的是，斑马鱼的毛细胞在损伤或死亡后可以修复和再生，而哺乳动物失去了这种再生能力。这些特性为我们进行在体 (*in vivo*) 实时观测和研究毛细胞再生及组织再生提供了便利。近些年来，斑马鱼被选作为动物模型而开展小分子化合物的筛选来检测药物的耳毒性及其对于毛细胞再生的修饰作用。借助于比较基因组学的手段，斑马鱼毛细胞再生的研究或许能够为我们治愈耳聋提供一些新的思路。同学们按照科研人员提供的实验方法，用一定浓度的 CuSO_4 浸泡斑马鱼卵半个小时，高效地杀死斑马鱼侧线神经丘中的毛细胞，同时鱼的生活状态良好。斑马鱼再通过一段时间 (24 h) 的恢复，同学们可以在显微镜下观察到侧线中的毛细胞的再生，并统计再生后的毛细胞的数量。在这个实验中，我们使用的斑马鱼是科研组提供的转基因鱼，并用特异性荧光染料标记的 YO PRO-1 显色方法来显示毛细胞，同学们通过荧光显微镜能够清楚地看到斑马鱼侧线中的毛细胞的死亡和再生过程，都深感发育实验的神奇魅力。

科研实验向教学实验转化，可以称之为内向转化。科研实验更新发展的速度快，这将改变教学实验常常多年不变的弊端，有利于推动教学实验的质量，提高实验教师的教学水平。

3.3 探索性实验的外向转化

在大力倡导创新型人才培养的理念下，我们也不断努力尝试在实验教学中加入更多的创造性思维的训练。我们的目标不单单是将科研实验向教学实验的内向转化，如果同时能够做到教学实验成果向科研的外向转化，实现教学实验为科研服务，将使教学实验的意义更提高一个层次。

例如，选修了高级发育生物学实验的十几名本科生，在老师的带领下，开展了探索性实验“利用线虫大规模诱变和筛选雄性生殖能力相关的基因”。秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 已经成为经典的发育和神经生物学模式生物之一。秀丽隐杆线虫是一种常见的小型土壤线虫，生活周期很短，在理想的条件下 (20℃，食物充足) 仅为 4 天就可以产生下一代。秀丽线虫可以在琼脂培养基中大量繁养，而且其幼虫还可以直接进行活体冻存和复苏。是否能够利用线虫这样的低等动物来筛选与生殖行为能力和生殖老化相关的基因，并

建立相关模型应用于高等动物及人类自身，是一个有趣并且很有挑战性的研究工作。在相关研究领域专家的启发和帮助下，教师和同学们在结果完全未知的情况下，查阅文献，讨论方向，共同拟定了研究题目，设计实验方案，并一同做实验，艰苦工作了两个半月，筛选得到了 3 个具有雄性生殖力增强表型的线虫候选品系，相当于一个博士研究生一年的工作量。相关科研组对实验结果非常感兴趣，因此 3 名本科生带着此课题进入到实验组中继续深入科研工作。

这次实验使我们更加有信心加大教学实验中探索性实验的比重，充分调动学生们的自主性和创新性，相信学生们的能力和潜力，实现更大程度的探索性教学实验向科研的外向转化。

4 发育生物学实验教学平台的建立与完善

许多高校已经意识到规范发育生物学实验教学的必要性^[5]，提出了实验指导教材空白、实验教学环节薄弱、实验教学内容参差不齐的现状。我们在几年的发育生物学实验教学中，不断摸索经验，希望能够总结建立一套完善可行的教学模式，编写实验指导，进一步推动发育实验的普及和提升，促进发育生物学教学发展进步。

4.1 编写出版实验指导教材与规范实验内容

发育生物学实验内容非常丰富，同时新的研究成果增加速度惊人，给教材的编写带来一定的困难。但是，发育生物学的研究方法有迹可寻，模式生物发育图示作为研究载体，使我们能够比较系统地将发育实验整合在一起，编排合理并且操作性强的实验。在实验内容以及相应的指导教材编写上，我们主要依循以下几个原则：第一，实验技能与理论知识相结合。旨在将发育生物学研究中的重要理论知识和概念融会贯通在每一个综合实验中，使同学们能够在掌握实验技能，分析实验结果的同时加深对发育生物学的领悟和理解。第二，以模式动物的发育为主线，突出发育调控机制。让同学们系统了解模式生物，掌握基本的实验操作对于发育生物学的学习和今后的科研工作十分必要和有益。实验中，既需要了解胚胎学实验中形态比较的基本实验内容，但更应注重探索发育现象背后的分子生物学过程和机制，基因的表达和功能。第三，经典实验与前沿科研并重。在发育生物学的研究历史中有很多非常精巧漂亮的实验，可以让同学们在重复前人工

作的基础上体会科学成果的来龙去脉。同时, 在实验内容的选编上参考并加入一定数量的国内外科研前沿的实验, 更能激发学生们的学习和科研的兴趣和热情。

4.2 注重实验教学内容的灵活性与平台建设

目前生物的教学实验从内容到形式上缺乏变化。很多实验内容十几年、甚至几十年没有更新, 一些实验思路简单导致结果过于确定, 这使得实验课对很多同学缺少吸引力。为了提高实验教学的质量, 推进实验教学对理论学习的促进作用, 我们在发育生物学实验中注重大教学内容的灵活性, 完善实验教学平台的建设。

相对于其他分支学科, 发育生物学的内容更具有综合性和前瞻性, 因此实验教学也相对更加具有灵活性。实验内容的灵活性表现在几个方面: 首先, 实验材料的可选性。学生可以根据需求, 选择不同的模式动物进行实验, 如原位杂交实验材料既可以用线虫来做, 也可以用斑马鱼胚胎, 二者实验方法略有差异, 但实验原理是一致的, 也体现了模式生物发育调控的共性; 第二, 每种模式生物可以开展多个不同的实验。例如, 斑马鱼可以展开信号通路对体轴发育的影响, 特定基因的表达和功能分析, 再生实验等等。根据授课要求和材料条件等许多具体情况, 进行实验内容的选择与调整。第三, 实现科研实验与教学实验真正的有机结合。与科研小组保持紧密的联系, 不断将新的科研成果进行内向转化, 更新补充到教学中。

发育实验的材料和对象是每一个活体的生物, 存在着生物个体差异、人为操作、实验条件变化等多种因素导致实验结果具有一定程度的不一致。而且, 实验操作和实验结果之间的联系是未知的、黑箱的, 每个实验结论是需要多个实验, 多次重复, 逻辑推理得出的, 这些都会造成发育实验结果的不确定性, 也充分体现了发育实验的特质。特别是一些创新性的实验, 尽管对实验结果有一定的预期, 但是应该包容出现实验结果不明确, 甚至得不到结果的情况。关键是在实验中理解原理机制, 掌握实验技能, 并能够对实验结果(包括无结果)给出合理的解释和改进实验的想法。

通过对实验内容的改革创新, 以及加强与科研之间的紧密联系, 我们希望构建一种新的实验教学模式和平台, 充分展现出实验课的优势与作用, 推动实验教学的发展。

5 结语

国内高等教育已经充分意识到培养创新型人才的重要性, 并且为了实现这一目标在各个方面推行机制和体制的改革^[6]。我们在改革建设发育生物学实验的进程中, 也深切体会到教学实验有利于提高学生的综合素质和创新能力^[7,8], 是一个筛选、培育和锻造人才非常好的平台。尽管发展历史不长, 并且存在着一些不足, 但是发育生物学及实验教学日益显示出它的魅力和价值, 它的重要性和应用性越来越受到广大生物教育工作者的重视。我们在发育生物学实验教学的过程中, 不断探索与思考, 改革与创新。不仅在实验教学的内容上力求综合、独特、前沿, 增加了多种模式生物的胚胎观察操作和发育机制研究, 并且在学校和院里实验教学管理的支持下, 大胆尝试教学模式的变化。我们的改革实践已初见成效, 既弥补了发育生物学实验的空缺和不足, 推动了发育生物学更好的发展; 同时增强了学生们的能动性和创造性, 实现了创新型科研人才培养的目标。在发育生物学实验教学模式中, 我们实现了科研实验向教学的内向转化, 以及探索性教学实验向科研的外向转化, 必将为生物学的教学和实验之间构建一个更好的平台和模式。

参考文献

- [1] 樊启昶, 白书农. 发育生物学原理 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [2] 张红卫. 发育生物学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2013.
- [3] 吴秀山. 现代发育生物学实验指南 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [4] Ligas A. Testing the effects of retinoic acid on tail formation of developing zebrafish embryos [EB/OL] http://www.swarthmore.edu/NatSci/sgilber/DB_lab/Fish/ZF_RA.html, 2000.
- [5] 郭炳冉, 等. 规范发育生物学实验教学内容的思考 [J]. 实验技术管理, 2008 (25): 9.
- [6] 江珩, 等. 关于深化高校实验教学改革的几点认识 [J]. 中国大学教育, 2005 (6): 42-43.
- [7] 丁乃峥, 等. 浅谈发育生物学实验教学改革创新及创新能力培养 [J]. 生物学杂志, 2011 (28) 3: 103-105.
- [8] 张伟, 等. 开放式创新实验室建设与学生创新能力培养模式的研究 [J]. 高等理科教育. 2008 (2): 70-73.