

微生物多样性研究的教学设计及效果分析

张美玲* 贾彩凤 党永岩 周忠良

(华东师范大学生命科学学院 上海 200062)

摘要: 微生物实验教学的目标是既要让学生掌握基本实验技能, 又要扩展学生的知识面, 让他们了解科学发展的前沿。本文将微生物多样性研究的实验引入本科微生物实验教学中, 可以使学生初步了解微生物基因组学及微生物分子生态学的相关研究, 激发学生的学习热情, 提高学生的科研创新能力。该实验操作简单, 结果明确, 教学成本低, 便于在高校中开展。

关键词: 微生物学, 实验教学, 多样性

Applying the Bacterial Diversity Investigation on the Teaching Class

ZHANG Mei-Ling* JIA Cai-Feng DANG Yong-Yan ZHOU Zhong-Liang

(College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: The aims of microbiology experiment teaching are not only to cultivate the students' capacity of basic operation, but also to expanse their knowledge scope. We applied the bacterial diversity on the teaching class to make the students understand the progress of microorganism genomics research. It is helpful to cultivate the students' innovative spirit and ability. Easy to work, clear result and low cost facilitated the spread of this experiment in the university.

Keywords: Microbiology, Experiment teaching, Diversity

微生物学是生物专业学生最重要的专业必修课之一, 该课程实践性非常强。微生物实验教学作为理论教学不可缺少的组成部分, 对于培养学生的动手操作能力、提高学生的科研创新能力、开阔学生的视野具有重要的作用^[1]。

随着分子生物学技术的快速发展和微生物基因组学研究的兴起, 微生物学迎来了一个全新的发展时期。目前的研究表明, 很多环境样品中可培养的微生物只占该样品微生物总量的一小部分。例如, 肠道样品中可培养细菌只占总菌的 20%左右, 而土

壤中只有 0.1%~1%的细菌可以被培养, 仅依靠纯培养技术很难全面的反映一个环境样品中的微生物组成, 所以在本科生的微生物实验教学中, 仅仅固守传统的微生物分离培养实验, 已经不能满足培养高素质人才的需要。如何开阔学生的视野, 让他们在有限的课时内接触并了解微生物基因组学及微生物分子生态学的研究进展成为我们思考的一个问题。

1 微生物多样性分析实验融入课堂教学

微生物是生态系统的重要组成部分, 对自然界

基金项目: 华东师范大学主干课程建设基金(No. 521J0509)

*通讯作者: Tel: 86-21-54341957; ✉ mlzhang@bio.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2009-04-07; 接受日期: 2009-05-04

物质的循环、迁移、转化及生态系统的修复起着非常重要的作用,而微生物组成的多样性变化对环境质量起到明显的指示作用。环境微生物多样性信息分析包括 2 个方面的内容: 1) 微生物基因组成多样性,即同一种微生物不同菌株的基因组成有很大差异,导致他们的生理功能也有较大差异。例如 *E. coli* K12 和 *E. coli* O157, 它们的生理生化反应结果一致,但前者是微生物实验教学中常用的模式生物,后者却是导致腹泻的罪魁祸首; 2) 环境微生物组成多样性,即一个生态环境中微生物组成的多样性。例如有研究通过比较水质不同的河道微生物组成多样性,发现污染严重的河道水体中浮游细菌的多样性明显偏低^[2]。通过分析番茄根际微生物组成情况,发现初果期根际微生物群落多样性指数达到最高,微生物种类最丰富,是筛选拮抗菌的良好时期^[3]。可见,微

生物多样性研究在环境微生物学方面发挥着越来越重要的作用。

由于微生物个体微小,所以微生物多样性研究的开展需要依赖于分子生物学的研究手段。DNA 指纹图技术、荧光原位杂交技术及文库测序技术等已经广泛地应用于该领域的研究中。为了使学生在本科学习阶段就能初步了解微生物多样性及基因组学的相关研究,在传统实验的基础上,我们设计增加了一个全新的实验——基于基因组成差异的微生物多样性分析。通过该实验的学习,让学生掌握微生物多样性的研究手段及方法,扩展学生知识面,为今后的科研工作奠定基础。同时,该实验与大肠杆菌的分离纯化,细菌的生理生化反应构成一个相对独立的实验单元(图 1),这也大大增强了实验安排的系统性与连续性。

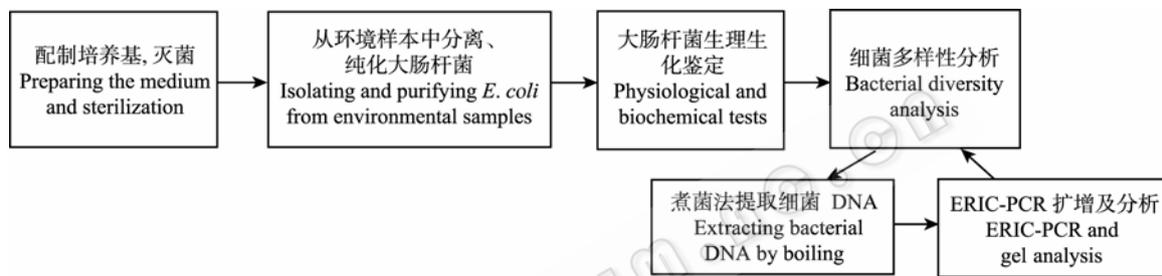


图 1 细菌分离鉴定及多样性分析实验流程

Fig. 1 The experimental progress of the bacterial isolation, identification and diversity analysis

2 微生物多样性研究实验

在微生物多样性研究实验单元中,学生首先进行培养基的配制,利用自己配制的培养基从粪便样本中分离纯化大肠杆菌。在这个学习过程中,学生可以掌握与微生物分离纯化相关的技术,包括涂布培养和划线培养;其次,对分离到的细菌进行相应的生理生化鉴定,通过一系列的生理生化反应,学生可以明确自己分离到的细菌是否为大肠杆菌。在这个学习过程中,学生可以接触到微生物生理生化检测的具体操作及结果分析的方法,例如乳糖发酵、VP 反应、淀粉水解实验等。然后,对分离到的大肠杆菌进行随机扩增,每组学生准备经灭菌处理的 Eppendorf 管,在无菌条件下,向每管中加入 20 μ L 无菌水,分别挑取经生理生化反应鉴定的自分大肠杆菌和教师发放的大肠杆菌 K12 的单菌落于加过无菌水的 Eppendorf 管中,通过煮菌法提取细

菌基因组 DNA,并对提取到的细菌基因组 DNA 进行随机扩增^[4],最后电泳检测。通过对每条泳道的指纹图谱进行分析,可以比较不同菌株基因组成的差异,揭示大肠杆菌的基因组成多样性。

本实验以大肠杆菌为例,揭示如何通过多样性分析反映不同微生物基因组成的差异。该实验的学习对已知菌株做进一步的分析筛查及发现新菌株有重要的现实意义,学生所掌握的研究手段对后续研究环境样品中的微生物组成多样性也有很大帮助。实验所需的仪器设备主要是 PCR 仪及电泳仪,教学成本较低。该实验融入本科微生物实验教学,对于培养学生科研思维和创新思维、提高学生分析问题与解决问题能力方面具有重要作用。

3 教学反馈及分析

3.1 效果分析

微生物教学改革的主要任务之一就是学生创新

能力的培养。传统的微生物实验内容简单、缺乏研究性, 实验与实验之间的连贯性也较弱, 学生在实验课上按照老师的要求, 完成一些验证性操作, 学习热情不高, 在遇到实际问题时又缺乏独立的思考及解决问题的能力, 实验教学与学生创新能力的培养严重脱节。本文所介绍的微生物多样性研究实验既与现有的细菌生理生化反应相结合, 又向学生展示了微生物基因组学及环境微生物研究的技术手段, 学生的实验结果不是全班统一的, 而是“因组而异”, 甚至“因人而异”, 有效地激发了学生的学习兴趣。

微生物多样性分析实验采用分子生物学的方法来分析微生物的基因组成, 紧跟环境微生物领域的发展前沿。该实验分为两部分进行: 前半部分为 PCR 过程, 学生做细菌生理生化检测的同时可以进行 PCR 的扩增; 下一次实验课的时候, 则进行电泳分析, 所以在有限的课时内就可以让学生接触如何采用分子生物学的方法研究细菌多样性, 时间安排方便。

通过这一实验单元的完整展示, 学生不但可以掌握分离鉴定微生物的基本步骤, 还可以了解微生物基因组成多样性分析, 感受分子生物学技术给传统的微生物学研究带来的新的发展。实验结束之后, 教师布置思考题, 要求学生比较传统培养与分子方法在研究微生物组成中的利弊, 学生的学习积极性被充分调动起来, 很多学生会主动和教师讨论微生物多样性研究有哪些方面的应用, 有哪些新的技术等等。这样, 在学习实验的同时, 还能够把一些微生物研究方面的最新进展展示给学生, 拓宽学生的知识面。

通过在本科微生物实验教学中设计增加一些新颖的综合性实验, 不但可以培养学生的实验操作能力, 还可以使学生获得最新的知识, 了解最新的分析方法, 有助于提高学生的探索 and 创新能力^[5]。

3.2 问题和不足

实践证明, 微生物多样性研究融入本科微生物实验教学有效地激发了学生学习的主动性, 但是在教学过程中, 我们也发现一些问题与不足。

首先, 学生分析问题的能力差异较大。一些善

于思考的同学不但可以掌握教师介绍的方法, 还可以主动设计实验, 对环境样品中的微生物组成进行分析。一些学习主动性较差的同学则是做完实验了事, 对实验的原理和应用了解的并不透彻。

其次, 在分子生物学实验中, 教师事先配置好了 PCR 体系, 在一定程度上降低了学生对于实验的参与程度, 所以在今后的实验中, 要多给学生提供独立操作的机会, 让他们通过预习实验讲义, 自己进行细菌 DNA 的快速提取和扩增, 从而对实验原理及内容有更深刻的理解和认识。

4 结语

大学本科教育的目标不仅是培训学生的实验技能, 更重要的是让学生在掌握实验技能的同时具备基本的科研思路, 可以做到发现问题、分析问题, 通过设计实验来解决问题。在微生物学的实验教学中, 如果仅仅固守传统实验, 对学生科研素质的提高和视野的开阔非常不利^[5], 我们也希望在今后的教学中不断地摸索和改进, 适当增加一些创新性的实验内容, 激发学生的学习兴趣, 有效提高微生物实验教学效果, 提升学生的科研素质和创新能力。

参考文献

- [1] 汪玲玲, 张玲华, 李宝盛, 等. 微生物学实验多样化教学之初探. *微生物学通报*, 2008, 35(7): 1157-1159.
- [2] 姜彩虹, 张美玲, 陶琰洁, 等. 上海市内不同水质的河道春季浮游细菌群落结构分析. *微生物学通报*, 2008, 36(4): 1-6.
- [3] 孙晓棠, 王 燕, 龙良鲲, 等. 番茄根际微生物种群动态变化及多样性. *微生物学通报*, 2008, 35(11): 1744-1749.
- [4] Wei GF, Pan L, Du HM, *et al.* ERIC-PCR fingerprinting-based community DNA hybridization to pinpoint genome-specific fragments as molecular markers to identify and track populations common to healthy human guts. *J Microbiol Methods*, 2004, 59(1): 91-108.
- [5] 卜 宁, 陶思源. 实施“三高”教学, 创建“微生物学实验”课程新体系. *微生物学通报*, 2006, 33(1): 169-172.