

微生物生理学教学探索 ——以细菌鞭毛结构与功能的教学为例

关国华* 王瑜 陈文峰 李颖

(中国农业大学生物学院 北京 100193)

摘要: 微生物生理学是开设于三年级上学期的专业选修课。我们通过优化教学内容、合理安排教学顺序、与互联网时代接轨、采用问题法引出新知识、恰当运用生动和形象的语言、鼓励学生参与教学以及做好课外延伸等方式,进行细菌鞭毛结构与功能的教学,激发了学生的学习兴趣和,取得了较好的教学效果。

关键词: 微生物生理学, 细菌鞭毛, 教学内容, 教学手段

Microbial Physiology teaching exploration ——taking the teaching of the structure and function of bacterial flagella as an example

GUAN Guo-Hua* WANG Yu CHEN Wen-Feng LI Ying

(College of Life Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Microbial Physiology is a major elective course opening to students in grade three. Some teaching methods were explored and attempted in teaching of the structure and function of bacterial flagella, such as optimization of teaching content, reasonable arrangement of teaching order, integration with internet, appropriate use of vivid language, quiz teaching, discussion teaching, and inductive teaching. The students' interest of learning Microbial Physiology has been inspired and better teaching results have been achieved through this lecture.

Keywords: Microbial Physiology, Bacterial flagella, Content of courses, Teaching methods

微生物生理学是我院的专业选修课, 开设于三年级上学期。我校的选修课有预选课制度, 开学前两周允许学生对所选课程进行改选和补选, 第三周才正式确定所选课程。本门课程以往在预选阶段, 出现过少数学生因为感觉与已修完的微生物生物学或生物化学区别不大, 或感觉课程枯燥而在前

两周退课的现象。本学期, 为了提高课程的讲授水平, 增加课程的吸引力, 我们深化了教学内容, 并尝试运用多种教学手段进行教学, 取得了较好的教学效果。本文以第一章细菌结构与功能的第一节细菌鞭毛结构与功能的讲授为例, 谈几点体会, 与同行商榷。

*Corresponding author: Tel: 86-10-62733751; Fax: 86-10-62732012; E-mail: ghguan@cau.edu.cn

Received: October 31, 2015; Accepted: January 08, 2016; Published online (www.cnki.net): January 11, 2016

*通讯作者: Tel: 86-10-62733751; Fax: 86-10-62732012; E-mail: ghguan@cau.edu.cn

收稿日期: 2015-10-31; 接受日期: 2016-01-08; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-01-11

1 合理安排教学内容

1.1 优化教学内容

微生物生理学是研究微生物生命活动规律的科学。在微生物生物学的基础上, 深刻阐明微生物生命活动的机理是微生物生理学教学的主要内容。细菌的鞭毛是细菌的运动“器官”, 是帮助其在环境中实现趋化性的实际工具^[1-6]。通过微生物生物学课程的学习, 学生们已经掌握了鞭毛的形状、结构和化学成分, 以及着生方式和生理功能等内容, 但对鞭毛装配相关基因的产物及其功能、鞭毛的具体装配过程、鞭毛生长、鞭毛运动的机理, 以及鞭毛运动和细菌趋化性的关系等知识尚缺乏了解。而对这些内容的讲解不仅有助于学生更全面地理解细菌鞭毛的结构及功能, 还可为后面讲述信号转导, 了解趋化现象产生的原因及调控等知识打下基础。为此, 我们对原来的教学内容进行优化, 侧重从基因及其表达产物的层面讲述鞭毛的结构及功能, 详细介绍鞭毛的装配和生长, 增加了编码鞭毛基因的表达调控和鞭毛运动与趋化性关系两部分内容。

1.2 合理安排教学顺序

按照认识事物的规律来安排教学内容, 可增加课堂的条理性, 培养学生思维的逻辑性, 有助于学生更好地接受知识。在内容的讲述上, 我们采用由表型(与鞭毛装配相关基因的产物)到基因的调控, 由零件(构成鞭毛的蛋白)到组装、再到鞭毛的生长, 由特殊(大肠杆菌)到一般(革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌)的顺序。安排如下:

(1) 鞭毛的结构, 与鞭毛装配相关基因的产物及功能(40 min): 以大肠杆菌为例, 介绍与鞭毛装配相关基因的产物、位置及其功能。

(2) 鞭毛结构蛋白的组装(8 min): 鞭毛组装有精确的顺序: 先合成 MS 环和 C 环, 其次合成外运其它鞭毛成分的装置, 再就是鞭毛杆, 然后是 P 环、L 环和鞭毛钩, 最后是鞭毛丝和 Mot 蛋白^[3-6]。

(3) 编码鞭毛基因的表达调控(8 min): 按照基因产物被组装的顺序, 分三组依次表达。第一组基因(*flhDC*)组成一个操纵子, 编码第二组基因的转录

激活因子; 第二组基因的产物是基体、鞭毛钩和转录第三组基因所必需的 σ 因子(FliA); 第三组基因对于合成鞭毛丝蛋白和 Mot 蛋白是必需的^[3-6]。

(4) 鞭毛的生长(7 min): 顶部延伸而非基部延伸。构成鞭毛丝的蛋白亚基(FliC)通过中空基体、鞭毛钩和鞭毛丝被运输和添加到鞭毛丝的顶部(远端)。帽蛋白(FliD)阻止运输到顶部的 FliC 泄露到培养基中^[3-6]。

(5) 革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌鞭毛的比较(5 min): 革兰氏阳性菌无 P 环和 L 环^[1-6]。

本节的重点和难点是第一部分, 即鞭毛的结构、与鞭毛装配相关基因的产物及功能。与大肠杆菌鞭毛装配相关的基因产物有三十种以上, 从功能上可分为鞭毛的结构蛋白、外运和分泌蛋白、伴侣蛋白以及调控蛋白等。结构蛋白又包括构成鞭毛丝的蛋白、构成鞭毛钩的蛋白和构成基体的蛋白。构成基体的蛋白种类多、结构精巧、功能多样。有驱动鞭毛运动的马达, 有控制鞭毛旋转方向、与趋化性有关的马达的开关蛋白, 有负责鞭毛组分装配和运输的外运鞭毛成分的装置。引发鞭毛旋转的马达是鞭毛最迷人的部分, 也是揭示鞭毛运动机理的核心部分。马达由定子(Mot 蛋白)和转子(MS 环和 C 环)两部分组成。定子由膜外传导质子到膜内, 消耗质子动势来产生扭矩使转子转动。解释这一过程的模型主要有质子发动机模型(Proton turbine model)和定子构象改变模型(The model of conformational change in the stator)。控制鞭毛旋转方向的开关蛋白是连接鞭毛运动和趋化性的纽带。大肠杆菌的游泳和翻滚两种鞭毛运动的行为分别是由鞭毛的逆时针旋转和顺时针旋转引起的, 而这两种鞭毛的运动行为和趋化性有密切的关系^[3-6]。总之, 在讲述与鞭毛装配相关的基因产物及其功能时, 我们按照从外(鞭毛丝)到内(基体)、从简单到复杂的顺序, 先讲构成鞭毛丝的蛋白, 再讲构成鞭毛钩的蛋白, 然后是构成基体的蛋白, 最后讲调控蛋白(表 1)。采用这样的顺序, 把三十多种蛋白及其行使的功能有条不紊地呈现在学生们面前, 并突出马达蛋白和开关蛋

白的生理功能,以揭示鞭毛运动的机理,并为后面的章节讲趋化性及调控打下基础。

1.3 与互联网时代接轨

要讲鞭毛装配相关的基因产物及其功能,需要一张鞭毛的装配图。经多方找寻,我们在 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, 京都基

因与基因组百科全书,网址为: <http://www.genome.jp/kegg/>) 数据库 中 找 到 了 理 想 的 图 (网 址 为 : http://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=eco&mapno=02040&mapscale=&show_description=show)。该图囊括了组装成鞭毛的三十多种蛋白,并且直观地画出了这些蛋白在鞭毛中的位置,配合

表 1 大肠杆菌中与鞭毛装配相关的基因产物、及其位置和功能^[3-6]
Table 1 Flagellar gene products of *E. coli* and their locations and functions^[3-6]

基因产物 Gene product	位置/性质 Location/Nature	功能 Function
鞭毛丝 Filament		
FliD	鞭毛丝的顶端 Distal tip of filament	帽蛋白, 给鞭毛丝盖上帽子, 阻止鞭毛亚基泄露到培养基 Capping protein that caps filament, preventing flagellar subunits from leaking out into medium
FliC	鞭毛丝 Filament	鞭毛丝的组分 Flagellar component of filament
鞭毛钩 Hook		
FlgL, FlgK	鞭毛丝、鞭毛钩连接处 Hook-filament junction	鞭毛丝、鞭毛钩连接蛋白 Hook-filament junction proteins
FlgE	鞭毛钩 Hook	鞭毛钩的组分 Flagellar component of hook
FliK	鞭毛装配蛋白 Flagellar assembly protein	控制鞭毛钩长度 Control of hook length
FlgD	鞭毛装配蛋白 Flagellar assembly protein	鞭毛钩装配蛋白 Hook assembly protein
基体 Basal body		
鞭毛杆和 P、L 环 Rod, P and L rings		
FlgG	鞭毛杆的细胞远端 Cell-distal portion of basal body rod	鞭毛杆细胞远端部分的鞭毛组分 Flagellar component of cell-distal portion of basal body rod
FlgH	外膜(脂多糖层)上的 L 环 Basal body outer membrane L (LPS layer) ring	L 环的鞭毛组分 Flagellar component of L ring
FlgF	鞭毛杆的细胞近端(L 环与 P 环之间) Cell-proximal portion of basal body rod (between P ring and L ring)	鞭毛杆细胞近端部分的鞭毛组分 Flagellar component of cell-proximal portion of basal body rod
FlgI	肽聚糖层的 P 环 Basal body peptidoglycan layer P ring	P 环的鞭毛组分 Flagellar component of P ring
FlgA	鞭毛装配蛋白 Flagellar assembly protein	装配基体的 P 环 Assembly of P ring

(待续)

(续表)

FliE, FlgB, FlgC	鞭毛杆的细胞近端(P 环与 MS 环之间) Cell-proximal portion of basal body rod(between P ring and MS ring)	鞭毛杆细胞近端部分的的鞭毛组分 Flagellar component of cell-proximal portion of basal body rod
马达 Motor		
FliF	细胞膜和细胞膜上层的 MS 环 Basal body MS (membrane and supramembrane) ring	MS 环的鞭毛组分, 能旋转 Flagellar component of MS ring, enabling rotation
MotA, MotB	跨越细胞膜, 围绕 MS 环 Span cell membrane, and surround MS ring	MotA 和 MotB 形成跨膜质子通道复合物, 使鞭毛马达旋转。 MotA and MotB form a complex of a transmembrane proton channel, enables flagellar motor rotation.
FliG, FliM, FliN	C 环 Basal body C ring	C 环的鞭毛组分, 鞭毛马达开关, 能旋转并决定旋转的方向 (逆时针对顺时针) Flagellar components of C ring, components of flagellar switch, enabling rotation and determining its direction (CCW vs. CW).
鞭毛组分外运装置 Export apparatus for flagellar components		
FlhA	C 环中部细胞质一侧的球形把手 Knob in the center of C ring on the cytoplasmic side	推测的鞭毛外运孔蛋白, 参与鞭毛组装过程 Putative flagellar export pore protein, protein involved in the assembly process
FlhB	C 环中部细胞质一侧的球形把手 Knob in the center of C ring on the cytoplasmic side	鞭毛蛋白外运装置, 底物特异性蛋白, 参与鞭毛组装过程 Flagellin export apparatus, substrate specificity protein, protein involved in the assembly process
FliH	C 环中部细胞质一侧的球形把手 Knob in the center of C ring on the cytoplasmic side	负调控 FliI ATPase 的活性, 参与鞭毛组装过程 Negative regulator of FliI ATPase activity, protein involved in the assembly process
FliI	C 环中部细胞质一侧的球形把手 Knob in the center of C ring on the cytoplasmic side	鞭毛特异性的 ATP 合酶 Flagellum-specific ATP synthase
FliO, FliQ, FliP, FliR	C 环中部细胞质一侧的球形把手 Knob in the center of C ring on the cytoplasmic side	鞭毛合成蛋白, 类型 III 分泌系统 Flagellar biosynthesis proteins, Type III secretion system
FlgN, FliJ, FliS, FliT	伴侣蛋白 Chaperone	参与鞭毛合成和组装的伴侣蛋白 Flagellar synthesis and assembly chaperones
调控蛋白 Regulatory proteins		
FlhC, FlhD	转录激活因子 Transcriptional activator	鞭毛第二组操纵子转录激活因子, 与鞭毛早期基因产物形成有关 Flagellar class II regulon transcriptional activators, involved in early gene products
FlgM	负调控因子 Negative regulator	σ^{28} 的抗 σ 因子, 与鞭毛晚期基因产物形成有关 Anti-sigma factor for FliA (σ^{28}), involved in late gene products

表 1, 可以简洁、形象、明了地介绍鞭毛装配相关的基因产物及其功能。不仅如此, 在数据库中点击图中的每一种蛋白, 还会出现这种蛋白的详细信息, 包括基因名称、定义、参与的代谢途径、与其它数据库的关联、氨基酸序列、蛋白质序列等信息, 是讲述构成鞭毛的蛋白及其功能的得力助手。我们通过 PPT 演示告诉学生如何在 KEGG 网站找到鞭毛的组装图, 如何获得每种蛋白的详细信息, 以及如何找不同菌种的鞭毛组装图, 比较其差异。让他们知道, 互联网上有多种数据库, 通过笔记本、手机上网就能查询, 就像一个可随身携带的图书馆。我们所利用的 KEGG 数据库不仅整合了基因组学、生物化学以及系统功能组学的信息, 而且提供对所有可能的代谢途径(通路)的查询, 并对催化各步反应的酶进行了全部的注解, 是学习和研究微生物生理学的强有力工具^[7]。在微生物生理学课上向学生们介绍 KEGG 数据库的使用方法, 有利于学生开阔眼界, 拓宽他们学习和研究微生物生理学的方式和方法, 提高学生们的学习兴趣, 同时也为微生物生理学的课程带来浓郁的时代气息, 增加课程的魅力。此部分内容, 用时 20 min, 作为预备知识, 放在第一部分鞭毛的结构、与鞭毛装配相关的基因的产物及功能之前介绍。

2 综合运用多种教学手段

2.1 采用问题法引出新知识

问题法教学通过引发学生的探究心理, 吸引学生的注意力, 引导学生思考^[8]。当讲完鞭毛装配相关的基因产物及其功能后, 提出问题: 我们知道蛋白质都是由细胞质中的核糖体合成的, 而构成鞭毛的蛋白分别在细胞膜、肽聚糖层、外膜以及外膜以外, 它们是如何到达这些位置的? 又是按什么顺序在时间和空间上组装起来, 构成如此精巧、别致的小机器呢? 学生的好奇心受到引发, 随后讲述鞭毛蛋白的装配, 学生都听得很认真, 不觉得枯燥了。这部分讲完后再问学生, 鞭毛是由这些蛋白在时间和空间上有序装配组装起来的, 那么, 这些蛋白

的转录是否也有一定的顺序? 是一起合成了再组装, 还是边合成、边组装? 是受哪些调控蛋白控制的呢? 这些问题把学生的思路引领到了与鞭毛装配相关基因的表达调控上了。再通过提出问题, 鞭毛的生长是顶端生长还是基部生长, 引出鞭毛的生长。

此外, 在介绍开关蛋白(FliG、FliM、FliN)时, 提出问题: 鞭毛是旋转运动, 那么是顺时针旋转还是逆时针旋转? 旋转的方向由哪些蛋白控制? 旋转方向的不同会给菌体的运动带来不同吗? 环境因素(吸引剂或排斥剂)是如何影响鞭毛运动方向的? 引出开关蛋白的功能(控制鞭毛旋转的方向)、游泳和翻跟斗两种鞭毛运动的行为以及和趋化性的关系等课程内容。在讲到鞭毛运动和趋化性的关系时, 只提到趋化反应的调控蛋白 CheY 可以结合开关蛋白 FliM, 引发鞭毛旋转方向的改变, 从而引起细菌的趋化性^[3-6]。而调控蛋白 CheY 是如何感知环境中的吸引剂和排斥剂的呢? 提出这个问题, 并说明讲到调控的内容时, 再详细解答。通过抛出这样一个暂不解答的包袱, 引起学生对后续内容的关注与期待。

2.2 恰当运用生动、形象的语言

细菌的鞭毛长 15–20 μm , 直径只有 0.01–0.02 μm ^[2]。要想把如此微小之物的结构和功能讲清楚, 除了精美的课件外, 生动、形象的语言是一个有力的工具。例如把鞭毛比作螺旋形的推进器, 由镶嵌在细胞膜中的精妙绝伦的马达驱动。马达由不旋转的定子(MotA 和 MotB)和旋转的转子(FliG 和 FliM)组成^[6]。定子提供扭矩给转子, 引起鞭毛的旋转。控制鞭毛旋转方向的蛋白叫开关蛋白。把鞭毛的逆时针旋转比作翻跟斗, 形容这种旋转像翻跟斗那样, 能改变运动的方向。把鞭毛的顺时针旋转比作游泳, 形象地描述细菌的运动。教师把对讲课内容的喜爱通过生动、形象的语言表达出来, 不仅有助于学生对知识的理解和接受, 而且无形中也会增加学生对课程的喜爱。

2.3 鼓励学生参与教学

为了调动学生的学习积极性, 鼓励学生投入到

教学过程中, 我们在总评成绩中设置了 10 分的课堂表现分。课堂上敢于向老师提出问题、积极回答老师问题以及课下多与老师交流教学内容的学生, 会得到高的课堂表现分。10 分虽少, 但表明我们希望多与学生交流, 鼓励学生参与教学。在讲述鞭毛旋转的动力来自细胞的质子动势时, 我们介绍了两个模型: 质子发动机模型和定子构象改变模型, 并简单介绍提出该模型的实验依据^[5-6]。不少学生对这两个模型发表自己的评价, 运用生物化学和电化学知识, 说明自己更倾向的模型及原因。课堂气氛十分活跃。一位学生发邮件询问鞭毛的顺时针旋转和逆时针旋转是怎样测定出来, 两位学生课后询问 MotA 和 MotB 形成复合物的实验证据是什么。学生们思维活跃, 对世界充满好奇, 鼓励和引导他们用科学的思维方式学习和思考微生物的生命活动, 融入到微生物生理学的教学中来, 是我们课程改革的一项主要任务。

2.4 做好课外延伸和分层次教学

课堂的时间是有限的。为了丰富学生们对鞭毛结构与功能的学习, 加深对鞭毛结构与功能的理解, 我们把研究鞭毛结构与功能的经典文献, 包括鞭毛的顺时针旋转和逆时针旋转的测定, MotA 和 MotB 形成复合物的实验证据等文献介绍给学生们。为了让学生熟练掌握在 KEGG 网站查找代谢途径的方法, 我们留作业让他们查找大肠杆菌鞭毛合成途径中的 MotA 蛋白的详细信息。

由于微生物生理学是选修课, 并且学生的学业压力较重, 我们的课后作业题是分层次的, 包括必需完成的基础题和选做的提高题。基础题一般 10 min 左右即可完成。正确地做完基础题, 本次作业可获得不低于良好的成绩。查找 MotA 蛋白的详细信息是基础题, 要求每个学生都要做。阅读研究鞭毛结构与功能的经典文献是提高题, 留给对课程有浓厚兴趣的学生, 引导他们更深入地学习本门课程。

对于本次作业, 学生们不仅都在 KEGG 网站上

找到了 MotA 蛋白的详细信息, 5 位学生还通过网站的链接找到了 MotA 的结构, 分析了 MotA 结构与功能的关系, 6 位学生查找了 MotB 的详细信息, 4 位学生阅读了 MotA 和 MotB 形成复合物的文献, 综述了这两种蛋白的关系, 2 位学生概述了鞭毛的顺时针旋转和逆时针旋转的测定。

本节讲完后, 我们就帽蛋白和开关蛋白的位置及功能, 鞭毛结构蛋白的组装顺序、鞭毛旋转的机理课堂随机提问了 3 位学生。这 3 位学生的回答基本正确, 表明学生们基本掌握了本节的授课内容。

经过两周的补选、改选, 本学期微生物生理学选课人数从开学初预选课人数的 26 人增加到确定选课人数的 40 人。

通过细菌鞭毛结构与功能及其它章节的教学探索, 学生们学习的主动性和积极性被不同程度地调动起来了, 微生物生理学课程的教学质量也有了明显提高。

参考文献

- [1] Zhou DQ. Essential Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2011: 28-30 (in Chinese)
周德庆. 微生物学教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011: 28-30
- [2] Shen P, Chen XD. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 62-63 (in Chinese)
沈萍, 陈向东. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 62-63
- [3] Moat AG, Foster JW, Spector MP. Microbial Physiology [M]. New York: Wiley-Liss, Inc., 2002: 325-334
- [4] Li Y, Guan GH. Microbial Physiology[M]. Beijing: Science Press, 2013: 43-50 (in Chinese)
李颖, 关国华. 微生物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 43-50
- [5] Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, et al. Brock Biology of Microorganisms [M]. Glenview: Pearson Education, Inc., 2014: 56-59
- [6] White D, Drummond J, Fuqua C. The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes [M]. New York: Oxford University Press, 2012: 6-12
- [7] Guan GH. Microbial Physiology Experimentation[M]. Beijing: Science Press, 2015: 182-187 (in Chinese)
关国华. 微生物生理学实验教程[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 182-187
- [8] Zhu XF, Jia XM. Mobilize all positive factors of student, deepen teaching reform of Microbiology [J]. Microbiology China, 2007, 34(1): 185-187 (in Chinese)
朱旭芬, 贾小明. 充分调动学生的学习积极性, 深化微生物学教学改革[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1): 185-187