

基因工程实验教学的探索与实践

郭滨, 娄慧玲, 吴燕华, 乔守怡, 卢大儒

复旦大学生命科学学院, 上海 200433

摘要: 基因工程实验是生物类专业的重要课程, 是学生掌握基本分子生物学技术, 培养理论与实践相结合能力, 提高科学思维能力和独立操作能力的最佳途径。高校基因工程实验教学内容引入新技术, 与科研接轨, 有利于提高学生综合素质, 进一步培养学生分析和解决问题的能力, 提高教学质量。

关键词: 基因工程实验; 教学改革; 无缝克隆

Exploration and Practice of Teaching Reform on the Genetic Engineering

GUO Bin, LOU Hui-Ling, WU Yan-Hua, QIAO Shou-Yi, LU Da-Ru
School of lifesciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

Abstract: Genetic engineering experiments is an important courses for students whose major is biology. It is one of best ways to training theory and practice of combining ability, improve scientific thinking skills and ability to operate independently. Introduce new technologies to Genetic engineering experiment will help improve the overall quality of students and further develop students' analytical and problem-solving skills, improve teaching quality.

Key words: genetic engineering experiments; teaching reform; ClonExpress

基因工程技术是二十世纪 70 年代在分子生物学和分子遗传学基础上发展起来的一门崭新的学科, 是基因水平上的遗传工程, 为基因的结构和功能的研究提供了有力的手段。该学科已经渗入到生物学的各个分支学科, 其研究成果大大地推动了生命科学地发展。因而熟练地掌握该项技术便成为现代生物科学工作者的首要任务之一。

基因工程是一门理论性和实践性并重的学科, 基因工程实验教学的目的是使学生掌握分子生物学的基本技术, 使学生做到理论与实践相结合, 提高学生的科学思维能力和独立操作能力。为了提高基因工程实验的教学效果, 近两年来我们对基因工程实验课的教学引进了目前比较前沿的无缝克隆。

该技术是一种非连接依赖性的快速 DNA 定向克隆技术, 通过同源重组的原理可快速并

且高效地将 PCR 产物定向克隆至任意载体的任意位点。最大的优点是不受酶切位点的限制将多个片断在融合的同时与线性化载体融合。是最近两年在科研上兴起的新的克隆技术。为了将其引入课堂教学，根据其特点，我们设计了如下的实验：

- 1 实验材料
- 2 实验方法
 - 2.1 电子克隆
 - 2.2 目的基因和载体的获得
 - 2.3 目的基因与载体连接
 - 2.4 转化 DH5a 大肠杆菌
 - 2.5 大肠杆菌表达体系的表达检测
 - 2.6 蛋白质纯化
- 3 实验结果

插图

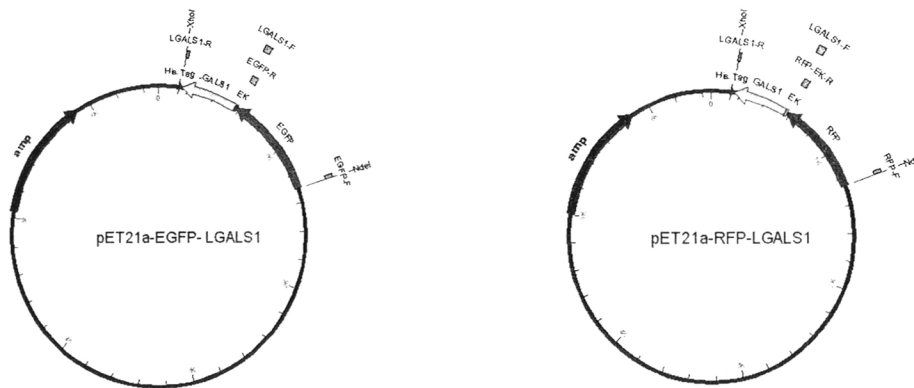


图 1 电子克隆图谱

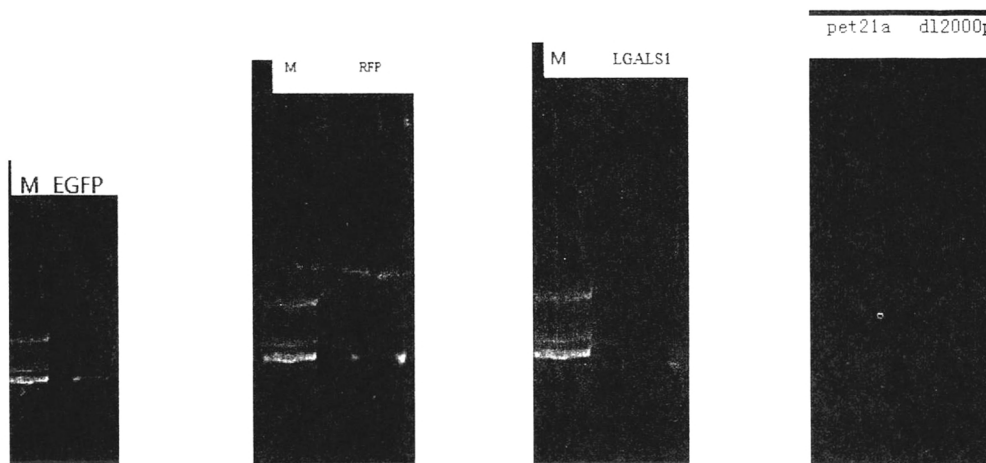


图 2 EGFP-PCR 扩增 图 3 RFP-PCR 扩增 图 4 LGALS1-PCR 扩增 图 5 pET21a 载体酶切回收

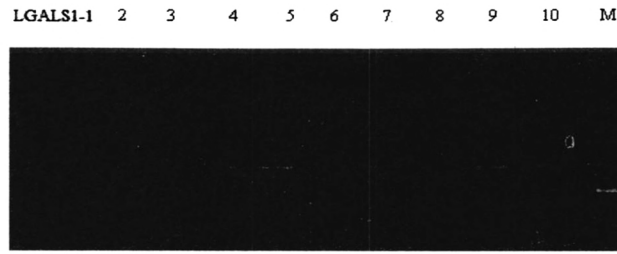


图 6 pET21a-EGFP-LGALS1 阳性鉴定

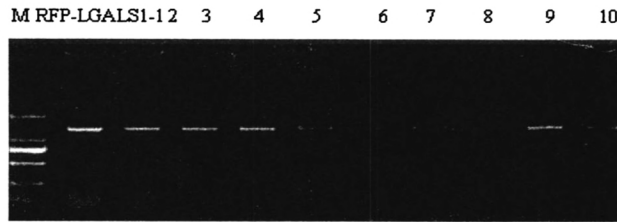


图 7 pET21a-RFP-LGALS1 阳性鉴定

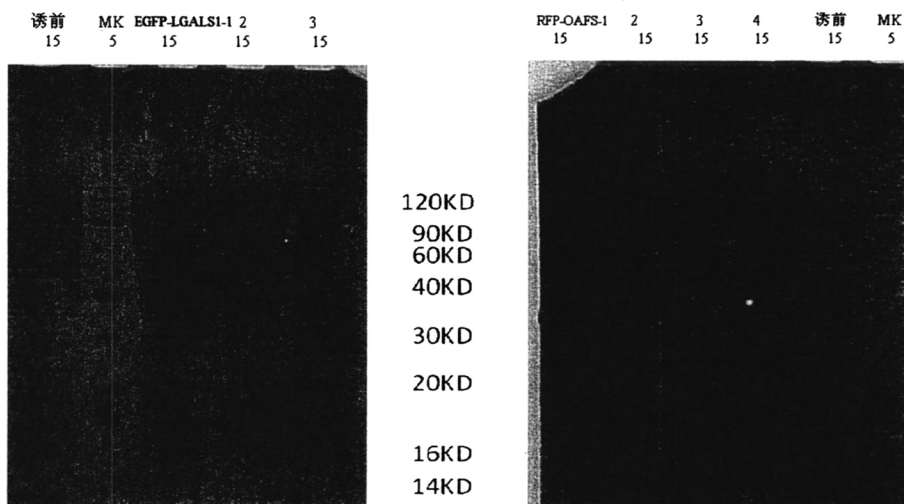


图 8 SDS-PAGE

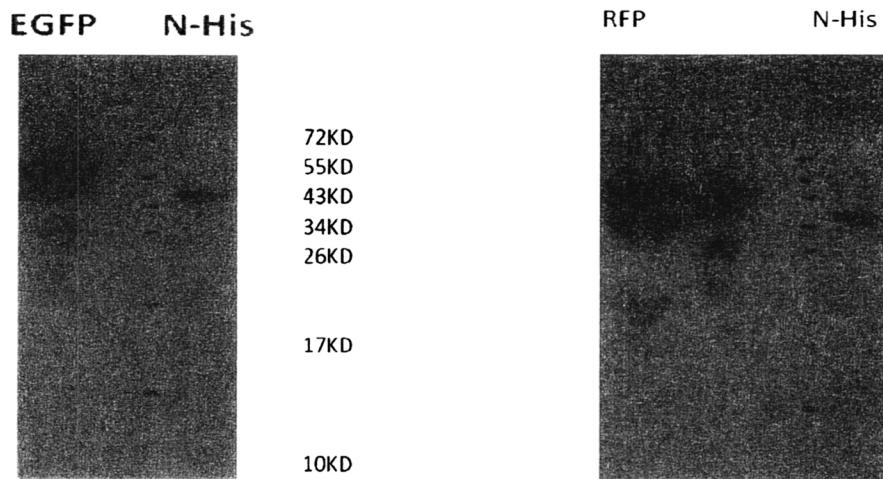


图 9 Western blot

参考文献 (References):

- [1] 邢万金, 扈廷茂. 本科基因工程大实验教学改革的实践和体会. 生物学通报, 2007, 42 (2), 48-50
- [2] 朱旭芬, 赵小立, 张铭. 基因工程实验课程的建设与实践. 中国大学教学, 2006, 3: 44—46.
- [3] 王义良. 加强综合性实验和研究性实验注重实践能力和创造能力培养—— <生物技术综合实验>教学改革探讨. 中山大学学报论丛, 2001, 21(5): 48-50.
- [4] 周丽萍, 王卉放, 乔正等. 分子生物学实验开放性教学改革探索. 中国教育导刊. 2006(5): 90-92.
- [5] 吴燕华, 郭滨, 娄慧玲, 崔玉良, 顾惠娟, 乔守怡. 从基因克隆到表达分析??改革基因工程实验课程的实践与体会. 遗传, 2012, 34(2): 248-252.
- [6] 肖建富, 吴建国, 石春海. 改进实验教学设施和开放水平, 提升遗传学实验教学质量. 遗传, 2011, 33(12): 1409-1413.
- [7] NS Berrow, L Bird, D Alderton, S Sainsbury. Using In-Fusion® Technology for High-Throughput Precision Cloning of Constructs Expressing Signaling Pathway Protein Domains.... - 2011 - clontech.com