

工程教育专业认证背景下基于中试生产线的生物工程专业综合实验教学改革与探讨

黄明星 曾 骥 张宏梅 傅明辉

广东工业大学 生物医药学院, 中国·广东 广州 510006

【摘要】工程教育专业认证对于工科类高等院校具有及其重要的意义,是实现工程教育国际互认和工程师资格国际互认的重要基础。在工程教育专业认证过程中,专家除了对常规的教学内容和体系的考察外,对实验教学和实验室建设的考察也是重要的一环。在生物工程专业实验教学体系中,常常存在以下几个问题,是容易被认证考察的专家所指出的地方。首先是生物工程专业实验设置目的性缺失;其次是各门实验缺乏关联性,实验内容散乱;再次是实验项目理科性质太强,工科性质薄弱。为了同时解决以上各种问题,我们以我院中试发酵生产线实验室建设为基础,对生物工程专业实验教学体系进行了改革。

【关键词】工程教育专业认证;中试发酵生产线;生物工程;综合实验教学

工程教育专业认证简单来说就是我国工程教育的质量是否能在国际社会得到认可,其认证基础是《华盛顿协议》^[1]。工程教育专业认证是指专业认证机构针对高等教育机构开设的工程类专业教育实施的专门性认证,由专门职业或行业协会(联合会)、专业学会会同该领域的教育专家和相关行业企业专家一起进行,旨在为相关工程技术人才进入工业界从业提供预备教育质量保障^[2]。工程教育专业认证是国际通行的工程教育质量保障制度,也是实现工程教育国际互认和工程师资格国际互认的重要基础^[3]。我国高等学校各个工科专业能否取得工程教育专业认证是我国工程教育质量能否在国际社会上得到认可的关键一环。工程教育专业认证的核心就是要确认工科专业毕业生达到行业认可的既定质量标准要求,是一种以培养目标和毕业出口要求为导向的合格性评价。工程教育专业认证要求专业课程体系设置、师资队伍配备、办学条件配置等都围绕学生毕业能力达成这一核心任务展开,并强调建立专业持续改进机制和文化以保证专业教育质量和专业教育活力^[4]。

工程教育是我国高等教育的重要组成部分,在国家工业化进程中,对门类齐全、独立完整的工业体系的形成与发展,发挥了不可替代的作用。工程教育专业认证对于工科院校来说就显得尤为重要,是对本科教学质量评价的一个重要指标。在工程教育专业认证过程中,专家除了对常规的教学内容和体系的考察外,对实验教学和实验室建设的考察也是重要的一环。在生物工程专业实验教学体系中,常常存在以下几个问题,是容易被认证考察的专家所指出的地方。首先是生物工程专业实验设置目的性缺失;其次是各门实验缺乏关联性,实验内容散乱;再次是实验项目理科性质太强,工科性质薄弱。为了同时解决以上各种问题,我们以我院中试发酵生产线实验室建设为基础,对生

物工程专业实验教学体系进行了改革^[5]。

在我院现有的实验教学体系中,与生物工程有关的大多数实验项目都有所开设,包括专业生化技术实验,分子生物学实验,细胞工程实验,酶学综合实验以及发酵工程实验,各门实验所设计的实验项目见表1。从表面上看,整个专业实验的教学体系很完善,涵盖了生物工程的方方面面;但是,仔细推敲就能发现,整个专业实验的教学体系大而散乱,只是在教给学生一个一个的实验技术,这些技术在我国现代化工业生产过程中具有怎样的应用则完全体现不出来,势必让学生无法真正领会到怎样才能把所学知识运用到生产实践中去。

表一、生物工程专业旧的实验教学体系和实验教学内容

实验课程	实验项目	学时	开课时间
业生化技术实验	1. 凝胶柱层析分离鸡血红蛋白和血红蛋白性质测定 2. SDS-PAGE凝胶电泳分析蛋白质	8	大二下
酶学综合实验	1. 鸡蛋卵黏蛋白的提取 2. 交换树脂的处理、填柱及配基的偶联 3. 利用全自动蛋白纯化仪分离纯化猪胰蛋白酶 4. 胰蛋白酶性质的鉴定和酶活测定。	32	大三上
细胞工程实验	1. (植物组织培养)烟草叶片外植体的表面消毒;植物组织培养基的配制;叶盘法诱导烟草愈伤组织的形成和植株再生 2. (动物细胞培养)动物细胞房的使用和倒置显微镜的使用;动物细胞的复苏、继代培养和低温保存;动物细胞的形态观察和计数	16	大三下
分子生物学实验	1. PCR技术扩增基因, DNA凝胶电泳分析基因的扩增 2. 大肠杆菌质粒的提取;感受态大肠杆菌的制备 3. 质粒DNA转化感受态大肠杆菌 4. 抗生素法筛选阳性转化子 5. 菌落PCR法鉴定阳性转化子	32	大三下

微生物与发酵工程实验	1. 土壤中耐高温淀粉酶菌种的分离纯化 2. 菌种生理生化鉴定 3. 菌种摇瓶发酵产酶 4. 固定化产淀粉酶细胞 5. α -淀粉酶的固定化及其酶活测定	32	大四上
------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------	----	-----

工院校本科教育的首要任务是培养应用型人才, 同样, 生物工程专业的教育那么也一定要教会学生怎样把知识运用到我国的现代化工业生产中去。所以, 在生物工程专业的实验教学环节, 为了达到以上目的, 围绕生产一个工业化的产品为目标来构建实验教学体系和设置实验教学内容, 就显得尤为重要。结合我校的实际情况, 以及粤港澳大湾区战略规划, 本专业实验教学体系着眼于高附加值蛋白类药物生产来改进实验教学体系并设置实验项目, 把各种生物技术实验都整合到一个工业化产品的生产制备产线中去, 让所学所教能够真正与实际生产相融合。

用于生物工程专业本科综合实验教学的高附加值蛋白药物应该要满足以下几点: 第一是可以在大肠杆菌和中国仓鼠卵巢细胞(CHO)中表达, 这样既能满足分子生物学综合实验的要求, 又能结合细胞工程实验进行本科教学; 第二是蛋白性质检测方法简单, 不能太过于复杂; 三是蛋白相对比较稳定, 分离纯化方法相对比较简单。为了满足以上条件的要求, 结合我国现有的已经上市的一些重组蛋白药物的生产情况, 我们选择了重组人尿激酶原作为实验对象, 围绕中试发酵生产线制备该蛋白药物, 整合各种本科教学实验项目, 形成一套完整的适用于生物工程专业的综合实验教学体系。

经过改革后的新实验教学体系和实验教学内容如表二所示。在原有的实验体系中新增加的生物信息学上机实验环节, 主要目的在于让学生熟练掌握各种生物信息学软件, 主要的实验内容包括: 1. 利用NCBI系统在线进行人尿激酶原(hPro-UK)序列查找, 完成基因、mRNA和蛋白序列的提取等; 2. 利用NovoPro公司的ExpOptimizer对人尿激酶原进行大肠杆菌密码子优化; 3. pQE80L质粒载体分析, 限制性内切酶选择, 双酶切位点构建; 4. 利用DNA star软件完成重组人尿激酶原分子量、等电点、三维结构预测等。

分子生物学实验主要是涉及基因工程方面的实验教学, 在课前需要提前把密码子优化后的hPro-UK基因人工合成后连接到pUC-SP载体上, 并转化进DH5a大肠杆菌。主要的实验内容包括: 1. 提取pUC-SP-rhPro-UK重组质粒, 提取大肠杆菌表达质粒载体pQE80L; 2. BamH I和Hind III双酶切pUC-SP-rhPro-UK和pQE80L, 并凝胶回收双酶切hPro-UK和pQE80L片段; 3. 连接hPro-UK和pQE80L, 得到重组质粒pQE80L-rhPro-UK; 4. 表达宿主菌M15感受态细胞制备, 重组质粒pQE80L-rhPro-UK转化M15; 5. 双抗生素Kan和Amp筛选阳性转化子, 菌落PCR法鉴定阳性转化子; 6. 阳性转化子进行甘油保种, 以备后用。

酶学综合实验主要是对重组蛋白进行分离纯化并进行性

质鉴定, 主要的实验内容包括: 1. IPTG诱导M15(pQE80L-rhPro-UK)生产重组的人尿激酶原rhPro-UK; 2. 超声破碎大肠杆菌细胞, 分离纯化包涵体; 3. 利用全自动蛋白纯化仪和Ni柱分离纯化rhPro-UK; 4. 梯度稀释法复性rhPro-UK; 5. rhPro-UK性质的鉴定和酶活测定。

细胞工程实验在课前需要提前把rhPro-UK基因连接到哺乳动物细胞表达载体pCMV-N-His 得到重组质粒pCMV-N-His-rhPro-UK, 由于前面在分子生物学实验课程已经让学生构过原核表达重组质粒载体, 虽然原核表达和动物细胞表达所用的载体不一样, 但是方法都相同, 因此, 在细胞工程实验课中无需再重复教学。细胞工程实验主要的实验内容包括: 1. 动物细胞房的使用和倒置显微镜的使用; 2. 中国仓鼠卵巢细胞(CHO)的复苏、继代培养和低温保存; 3. 动物细胞的形态观察和计数4. pCMV-N-His-rhPro-UK转染CHO; 5. G418筛选阳性转化细胞。

除去发酵工程外, 其余的实验教学内容也通常会对生物科学和生物技术等理学专业的学生进行教学。发酵工程实验是生物工程专业综合实验中最具有工程意义的实验教学, 但是也常常在生物工程专业的实验教学环节中被忽视。发酵工程主要的实验内容包括: 1. 发酵罐的使用; 2. 利用发酵罐扩大培养M15(pQE80L-rhPro-UK); 3. 利用哺乳动物发酵罐扩大培养CHO(pCMV-N-His-rhPro-UK)。

表二、生物工程专业新的实验教学体系和实验教学内容

实验课程	实验项目	学时	开课时间
生物信息学上机实验	1. 基因序列查找, 完成基因、mRNA和蛋白序列的提取等 2. 对人尿激酶原进行大肠杆菌密码子优化 3. 质粒载体分析, 限制性内切酶选择, 双酶切位点构建 4. 重组人尿激酶原分子量、等电点、三维结构预存	8	大二下
分子生物学实验	1. 重组质粒和表达质粒载体提取 2. 质粒双酶切, 并凝胶回收双酶切片段。 3. 双酶切基因和载体连接得到重组质粒 4. 表达宿主菌感受态细胞制备, 重组质粒转化宿主菌 5. 抗生素筛选阳性转化子, 菌落PCR法鉴定阳性转化子 6. 阳性转化子进行甘油保种, 以备后用	32	大三上
酶学综合实验	1. 重组蛋白的诱导表达 2. 超声破碎大肠杆菌细胞, 分离纯化包涵体 3. 重组蛋白纯化 4. 梯度稀释法复性重组蛋白纯化 5. 重组蛋白性质的鉴定和酶活测定	32	大三下
细胞工程实验	把rhPro-UK基因连接到哺乳动物细胞表达载体pCMV-N-His 得到重组质粒pCMV-N-His-rhPro-UK(课前准备) 1. 动物细胞房的使用和倒置显微镜的使用 2. 中国仓鼠卵巢细胞(CHO)的复苏、继代培养和低温保存 3. 动物细胞的形态观察和计数 4. pCMV-N-His-rhPro-UK转染CHO 5. G418筛选阳性转化细胞	16	大三下

发酵工程实验	1. 发酵罐的使用 2. 利用发酵罐扩大培养M15 (pQE80L-rhPro-UK) 3. 利用哺乳动物发酵罐扩大培养CHO (pCMV-N-His-rhPro-UK)	32	大四上
--------	---------------------------------------------------------------------------------------------	----	-----

从以上教学改革前后的对比可以看出，实验教学课程没有明显的变化，只是改革后增加了一门生物信息学上机实验课，实验教学项目也基本没有大的差异。但是，改革前的各个实验课程和实验教学项目之间几乎没有什么关联，只是在教给学生一个一个的技术；而改革后的实验教学体系，以一个已经商业化的高附加值蛋白产品人尿激酶原hPro-UK作为生产对象，把所有的实验项目有机的整合起来，实现了重组人尿激酶原rhPro-UK的大肠杆菌的原核表达和动物细胞的真核表达，让学生能够真正领会到所学习的实验技术在实际工业化生产中的用途，包括每一个技术能怎样使用以及在什么环节能派上用场等。我院在此次教学改革过程中，也建立了一个包括五条生产线的发酵工程实验室(图1)，为工程教育专业认证打下了良好的硬件设施基础。



图1. 发酵工程实验室展示图

参考文献:

[1] 朱露, 胡德鑫, 何桢与顾佩华, 国际工程教育专业认证体系的发展与改革——基于《华盛顿协议》与欧洲工程教育专业认证体系的对比分析[J]. 高等工程教育研究, 2022 (04): 38-51.

[2] 曹立志, 国际工程教育认证专业课程体系构建与实施[J]. 公关世界, 2024 (18): 148-150.

[3] 贾权, 郭计云与王明明, “新工科+工程教育认证”背景下特色专业人才培养体系探究[J]. 高教学刊, 2024. 10 (S2): 157-160.

[4] 林标声, 江玉岚, 许耿权与何玉琴, 基于工程教育专业认证产业需求为导向的“环境微生物学”课程项目化教学改革[J]. 微生物学通报, 2023. 50 (11): 5190-5202.

[5] 钟俐, 生物工程专业核心课程群教学改革与创新——基于工程教育专业认证和一流课程建设[J]. 创新创业理论与实践, 2023. 6 (16): 46-48.