

现代电生理实验教学的设计与实践

姜丽丽 殷朋宜

陕西能源职业技术学院

[摘要]电生理学涵盖生理学、生物物理学、生物化学、生物信息学等学科,形成了实验与理论并重的跨学科、综合性的新学科。是医学研究领域必备的研究手段之一。对于医学生来说,他们所学的课程多为医学、生物和化学课程,而物理和电学的课程比较稀缺。因此,电生理实验课的教学质量不仅影响学生对神经科学重要理论的理解,而且对培养医学生的综合能力有很大帮助。

[关键词]电生理;实验教学;医学生教学

【DOI】10.12252/j.issn.2096-6288.2020.02.122

一、概述

电生理技术是指以机械能、电能、化学能等其他能量形式刺激机体细胞,并记录和分析机体所发生的电学反应的技术。电生理技术的早期阶段只在大量细胞同步兴奋时才能记录到可检测的电信号。现代电生理技术随着科技特别是电子科学技术的快速发展而突飞猛进,表现出整体水平和微观水平两个发展方向。既能在清醒或麻醉的人或动物的体表上记录到极其微弱的深部电信号;也可以在多种生物膜上记录单个离子通道的纳安乃至皮安级电流,从而达到单个蛋白分子的水平,后者归功于德国科学家Neher和Sakmann创建并完善的膜片钳(Patch Clamp)技术。现代电生理技术在生物学、医学、药学等多学科中得到越来越广泛应用,尤其是在神经科学中得到更充分的发展,陆续开发了细胞吸附模式、开放细胞吸附膜内面向外模式、穿孔囊泡膜外面向外模式、脑片膜片钳等先进技术,并取得了突破性的成果。

二、生理实验设计与临床实践密切相结合

从欧美国家的教学法研究看,近年来国外教育家已从采用“行为主义教育”,“事实主义教育”(事实体验式教育)的方法深入到今天的“以问题为中心的教学法”(PBL)。包括日本在内的一些发达国家生理学课所讲授的内容都是以“临床生理学”为主,当然,PBL教学法中的“问题”一般也大都来自临床实践。经过调研,这种模式符合新医学模式的要求,比较适合我国医学生的思维方式,有利于培养学生的综合能力,可为进入临床打下坚实的基础,是一种以提高学生能力为核心的素质教育模式。例如,在讲授血液这章有关体液的两个构成细胞内液(ICF)和细胞外液(ECF)的量(容积)和渗透压可因某些疾病、内外环境变化而改变时,大多数学生理解得不深。为此,我们给出腹泻(Diarrhea)、在沙漠中迷路(Lost in desert)、肾上腺功能不全(Adrenal insufficiency)、静脉滴注等张氯化钠溶液(Infusion of isotonic NaCl)、过多摄入氯化钠(Excessive NaCl intake)、抗利尿激素增多综合征(SIADH, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone)对ICF、ECF的量和渗透压的影响。要求同学针对其中一种情况写出实验设计。部分同学能够用在无机化学课

中学到的“用贝克曼温度计测冰点的方法”测得渗透压,采用无毒染料稀释法间接算出ECF、ICF。有些同学在建立动物“肾上腺功能不全、脱水”等模型上,动了许多脑筋,对培养同学创造性思维能力非常有益处。

三、医学生电生理实验教学的现状

中国目前多数医学院校面向本科的生理学实验教学课程中,仅有已经沿用数十年年的蛙坐骨神经干动作电位测量等少量实验,可以列入电生理实验,也仅仅属于组织或者细胞水平的初级电生理实验。技术水平相对高级的细胞及分子水平的现代电生理实验,由于所需的膜片钳记录设备和在体多通道记录设备价格昂贵、操作精细而复杂、维修困难,多由研究生实施,主要用于科学研究,在本科生实验教学中相对空缺。

1. 电生理实验的教学方式。目前医学生的电生理实验教学内容有专业基础理论知识讲授、研究方法简介,根据实验室条件而设的实验演示及操作。授课通常以一个技术手段为一个单元,可选择的有离体细胞外记录技术、在体场电位记录技术、清醒动物多通道记录技术及膜片钳记录技术。在某些单元如膜片钳技术,由于电生理理论较深奥及技术实施复杂,部分单元里课程大部分时间被用来介绍实验基本原理及演示整个实验操作过程,需要学生通过多媒体或网络教学的反复预习授课内容。即便如此,授课老师也只能在讲解的同时进行演示操作,学生能够自主动手操作的时间较少,且成功率不高。在开设该选修课程的学校中,一般学时比较短,应根据实际情况适当增加课时数。

2. 电生理实验教学问题。通过教师讲解,医学生基本能了解电生理技术的初步原理、实验目的和实验技术手段,并为今后课题研究储备初步的理论基础和实验技能。但电生理学作为一门交叉学科,理论知识不仅横跨传统的物理学、电学、化学及生物学等,还涉及电化学、生物信息学等新兴学科,对于医学生的来说,由于其理论比较抽象晦涩、讲解稍有不慎就可能致使医学生似懂非懂,缺乏深入理解则会极大地影响实验的实施;电生理学实验仪器特别是膜片钳仪等精密而复杂,对实验环境要求极高,操作要求极为精细,使其成为一门技术性较强、难度较大的实验课程。同时因为影

响实验能否成功的因素较多,使医学生在独立操作中依然会遇到诸多意想不到的困难,延长实验时间,这将打击学生对实验本身的兴趣及取得实验成功的信心。容易造成有医学及生物学背景的研究生多数不能深入掌握电生理技术的基本原理、技术路线,而熟悉电子技术的学生对于细胞生理特性及分子机制缺乏理解,学生在学习完该课程后只是掌握了技术而不能分析数据的意义,或者知其然不知其所以然。

四、电生理实验课程设置

1. 实验前电生理知识讲授及交流。教学安排上应循序渐进,内容做好铺垫,从基本生物电现象描述作为导言、从复习欧姆定律、含源电路欧姆定律等最基本的电学原理开始,由表及里、从易到难,逐步过渡到重点和难点,并集中讲授,重点内容包括电生理常见仪器如膜片钳信号放大器、数模/模数转换器、振动切片机、恒温灌流仪、玻璃微电极控制仪/操纵仪等,详细介绍各仪器的基本原理、操作程序、设备维护要点,利用软件进行数据分析更是关键。应用多媒体进行形象化展示,根据学院正在开展的研究课题,组织选修电生理学技术的医学生,邀请相关老师参与,开展交流讨论,包括引导学生展开小组自由讨论,然后及时加以分析和总结。同时,鼓励学生查阅文献,阅读相关研究的新进展报道。选派研究生特别是熟悉该实验技术的高年级学生参与,与尚无经验的学生就技术关键或实验内容进行交流讨论。此外,教师要及时了解相关研究的新进展,并据此开设专题讲座,主要内容有:电生理的方法学(在体场电位记录、脑片场电位记录、单离细胞及脑片膜片钳技术、清醒动物多通道记录等)、不同类型电反应性细胞的电生理特性的比较、数据采集软件和分析软件使用、不同类型细胞(包括体外原代培养细胞与细胞系及新鲜分离细胞)的区别、全细胞、单通道及各受体亚型的电生理特征等。

2. 实验技能演示及实验教学。由于电生理仪器精密,参数设置复杂,仪器的维修耗时耗力,同时部分实验试剂价格昂贵,为保证医学生在课堂时间内既可以观察到正确的实验结果,也提高其亲自操作的成功率,有必要采用老师示教、学生一观看二讨论三实践的方式。为了取得最佳效果,不仅需要学生提前多次预习,还要尽可能分批示教和解说。尤其要传授保障信号记录成功的关键因素:如对干扰及噪声信号的排除、玻璃微电极的控制参数、细胞活性的判断、电极尖端直径及抛光度的检查,细胞内液与外液的配置,渗透压、酸碱度检测及调整等。根据作者的经验及同行的发现,影响电生理实验结果的因素较多。因此,应安排学生在各次实验中分步掌握不同的基本实验技术,并学会排除不同技术的干扰因素。通过实验基本技能的逐步积累,最后到达系统地掌握仪器的正确操作并记录成功的目的。对继续从事相关研究的学生,通过其他后续相关项目如大学生创新课题及竞赛

等进行为期较长的重复,进一步熟练实验技能。鼓励学生运用所学理论对观察到的实验现象进行演绎解释,对导致实验不成功的诸多因素进行甄别分析,进而可改变相关实验条件如离子浓度、渗透压等引导学生对所产生的不同实验结果做出解释。实验操作课包括:实验标本制备及实验用品准备、玻璃微电极的控制和抛光,大鼠神经元静息电位的检测、离体及在体场电位记录、动作电位和动作电流的记录。有一定技术难度的脑组织切片、细胞分离、电极控制等可由学生多次练习。难度较大的细胞的封接和破膜由学生首先在模拟细胞上实践,然后老师在真实标本细胞上示范后,指导学生操作,提醒其电极尖端接触细胞的正确位置、正负压力施加及释放时机的正确把握,尽量提高成功率。

五、电生理实验课程考核

综上所述,对初次涉及电生理学实验的医学生来说,由于影响实验效果的因素较多,不能保证学生在有限的教学时间内完全熟练掌握电生理技术。因此考核将以实验考核为主,同时结合学生的理论知识学习水平考查。实验考核由理论考试、实验报告评估并结合实验操作三部分加权组成。实验报告主要考查实验原理和目的、材料方法、具体实验过程的完整与准确性,占60%;原始实验记录、实验结果及结果的讨论分析等成为加分项,比例为25%;实验操作部分比例稍低,为15%,从而了解学生对原理的理解和实验技能的掌握。依据实验的难易程度将实验操作分三种类型:1)基本型实验,包括标本制备与保养、微电极电极控制及抛光、恒温灌流仪等简单仪器的调试等;2)提高型实验,刺激与记录程序的编写、复杂仪器参数的调试、培养细胞制备和新鲜单细胞的分离;3)综合型实验,静息电位及动作电位等电生理实验实施并开展数据记录分析。实验操作评估主要针对实验中操作的正确性,干扰信号排查故障的思路与步骤,重点关注原始数据的记录的真实性和可靠性、实验操作的规范性。考核本身不是目的,是为了保证学生掌握基本理论知识的同时,熟悉基本的实验操作,为将来的科学研究打好基础。

总之,现代电生理技术在目前的医学类人才培养方面具有举足轻重且其他实验技术无法代替的作用,改革并创新实验教学的内容与方式,将有效提高医学生电生理实验课程的教学质量与效果,帮助医学生开拓创新思维及提高科研能力,为未来的神经科学工作打下初步基础。

参考文献

- [1]康华光.细胞电生理与膜片钳技术[J].中国医疗器械杂志,2000,24(3):155.
- [2]常岚,王钦文.现代电生理实验教学设计与实践[J].宁波大学学报(教育科学版),2017,39(4):118-120.