指向高阶思维培养的基因工程第二轮复习策略

陈胜群

（益阳市第一中学，湖南益阳 413000）

摘　要：为在复习中有效培养学生的高阶思维能力，以“利用酵母工程菌生产青蒿酸”的真实科研情境为载体，以提炼“高产青蒿酸酵母工程菌的构建与发酵”这一科研内容为教学主线，将科研历程转化为递进式任务链和问题链。通过引导学生依次完成基因表达载体构建、目的基因导入与鉴定、代谢途径优化（包括抑制内源基因表达）及规模化发酵等系列任务，模拟科研工作者解决实际问题的思维过程。该策略将基因工程与发酵工程等相关知识有机整合，实现了从碎片化知识到系统性认知的转变，为生物学专题复习中融合前沿科研成果、发展学科核心素养提供了可操作的实践路径。

关键词：基因工程；真实问题；高阶思维；科研情境；二轮复习

DOI：10.19935/j.cnki.1004-2326.2026.09.003

引用格式：陈胜群.指向高阶思维培养的基因工程第二轮复习策略[J].实验教学与仪器，2026，43(09)：10-12，16.

“科学思维”是一种运用科学方法认识事物、解决实际问题的思维习惯和能力[1]，寻找恰当的真实主题创设相关活动与任务，解决真实客观的系统性问题，是一种能有效深化学生科学思维及科学探究能力培养的教学与复习策略。教师可将真实的科研情境作为载体贯穿课堂教学，将真实的生物学研究内容与研究过程有效转化为课堂任务与系列问题，引导学生像科研工作者一样去思考探究并解决真实问题，在将知识进行回顾、整合、形成体系的同时，有效培养学生认识问题、分析问题、系统性解决问题的能力。

笔者在“基因工程”专题复习中，以“通过调控基因网络构建高产青蒿酸酵母工程菌”的真实科研情境为载体，设置任务链与问题链，驱动基因工程及其应用、发酵工程及其应用等内容的整合复习与提升，挖掘与培养学生系统性解决问题的能力。

1　发现问题，开辟解决问题的新途径

资料1：疟疾是一种严重威胁人类健康的疾病，目前用于治疗疟疾的主要药物是青蒿素。青蒿素源自青蒿，但野生青蒿植株中青蒿素仅占其干重的0.01%～0.10%[2]，含量非常低，且青蒿的种植受季节和地域影响，远远满足不了市场对青蒿素的需求。

资料2：经过深入的研究，科学家们已揭示出青蒿细胞内部合成青蒿素的途径（参见图1中的实线框架部分），酵母菌细胞中也能合成出关键中间产物FPP（参见图1中的虚线框架部分），而这两种生物体内产生FPP的酶促反应过程是一致的[3]。

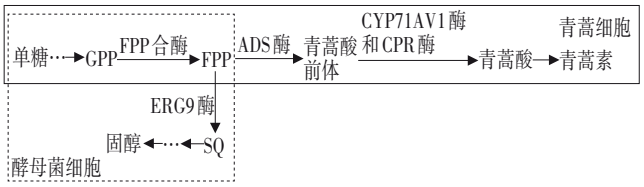


图1　青蒿细胞青蒿素合成途径与酵母菌相关代谢途径

问题1：根据资料1与资料2，请提出规模化生产青蒿素的新思路。

学生依据资料1与资料2中的信息，结合所学知识，能初步提出将FPP合成青蒿酸的相关基因导入酵母菌的方案，再利用青蒿酸在体外合成青蒿素。在描述方案时引导学生回顾基因工程基本操作程序。

设计意图：通过以上资料与问题的呈现，学生运用基因工程等知识提出新思路，进一步掌握基因工程的基本操作步骤，提升学生应用能力。

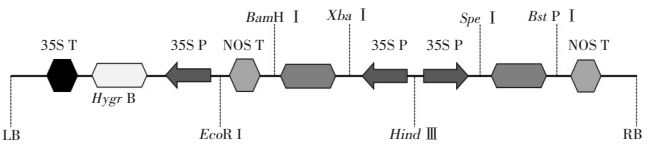
2　任务一：解决关联的问题链，聚焦基因工程基本工具与基本程序的系统性复习

笔者结合基因工程的基本操作步骤，将真实科研内容转化为阶梯式问题链，引导学生探讨获得产青蒿酸酵母菌工程菌的策略，聚焦基因工程基本工具与基本程序的系统性复习。

2.1　构建双元基因表达载体

资料3：以图2所示的p1304*质粒为载体，将*CPR*基因插入*Spe* Ⅰ位点和*Bst*PⅠ位点之间，*CYP71AV1*基因插入*Xba* Ⅰ位点和*Bam*HⅠ位点之间，最终构建出双元载体

p1304*-*CPR*-*CYP*71*AV*1*[4]。青蒿的*CYP*71*AV*1基因两侧部分序列及相关限制酶识别位点如图3所示。



注：LB表示左边界，RB表示右边界，35S P表示启动子，NOS T和35S T表示终止子，*Hygr* B表示潮霉素B抗性标记基因。

图2　载体p1304*示意图[4]

3’-TACTTCTCATATGATTTTC……GAGCAAGGTTCAAAGATC-5’

转录方向 ⟶

5’-ATGAAGAGTATACTAAAAG……CTCGTTCCAAGTTTCTAG-3’

限制酶	*Eco*R Ⅰ	*Bam*H Ⅰ	*Xba* Ⅰ	*Hind* Ⅲ
识别序列和切割位点	↓ 5’-GAATTC-3’	↓ 5’-GGATCC-3’	↓ 5’-TCTAGA-3’	↓ 5’-AAGCTT-3’

图3　*CYP*71*AV*1基因部分序列及相关限制酶识别位点

问题2：在插入*CYP*71*AV*1基因时，应选择什么限制酶处理p1304*质粒与含*CYP*71*AV*1基因的DNA片段？还需在该过程中使用哪种物质呢？

问题3：*CYP*71*AV*1基因两侧不含限制酶识别序列，通过PCR特异性扩增*CYP*71*AV*1基因时，需在引物上添加相应的限制酶识别序列。请尝试设计引物，写出引物的部分碱基序列（表示出15个碱基）。

在问题2中，需链接人教版教材中限制酶选择的基本要求，用同一种限制酶或能产生相同末端的限制酶切割质粒与含有目的基因的DNA片段，确定选择限制酶*Xba* Ⅰ和*Bam*H Ⅰ。在问题3设计引物时，引物3’端应与*CYP*71*AV*1基因中的母链互补配对，限制酶识别序列只能添加在引物的5’端。在构建基因表达载体时，一般将目的基因按转录方向插在启动子和终止子之间，因此*CYP*71*AV*1基因上游引物的5’端应添加限制酶*Xba* Ⅰ识别序列，下游引物的5’端也应添加限制酶*Bam*H Ⅰ识别序列。

利用上述问题回顾基因工程基本工具的作用与应用后，教师可进一步引导学生归纳基因表达载体的构建方法与步骤，归纳基因表达载体的组成元件及其作用。

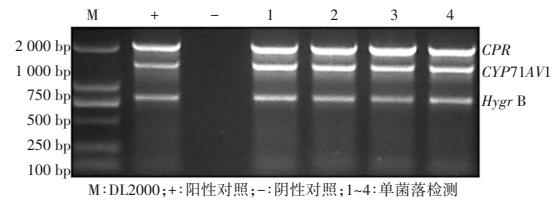
设计意图：通过问题2与问题3，强化并突破基因工程中限制酶等工具的选择及PCR引物设计等重难点内容。基于真实科研情境设置具有关联性和层次性的问题链，学生进行反复思考、讨论和调整，提升学生思维的缜密性。

2.2　目的基因的导入、检测与鉴定

问题4：将双元载体p1304*-*CPR*-*CYP*71*AV*1导入已表达*ADS*基因的酵母菌中后，如何通过酵母菌培养初步筛选出成功导入质粒的酵母菌？

问题5：通过含潮霉素B的培养基筛选出的酵母菌落，是否都已成功导入了目的基因并能用于产生青蒿酸？请从DNA、蛋白质（或代谢产物）等层面分别设计实验进行检测，最终获得成功表达目的基因的酵母菌。

学生通过思考讨论确定具体筛选、检测与鉴定的方法，教师引导归纳。初步筛选：p1304*-*CPR*-*CYP*71*AV*1导入感受态酵母菌后，涂布在含潮霉素B的培养基上进行筛选培养；还需要从分子水平检测目的基因是否导入了酵母菌中，即确认酵母菌中目的基因的有无：挑取单菌落分别进行PCR与电泳，检测*CPR*基因、*CYP*71*AV*1基因和*Hygr* B基因扩增结果是否均为阳性，结果在所挑的4个单菌落中，目的基因和*Hygr* B均为阳性（图4）；从个体生物学水平鉴定目的基因的表达情况，即确认目标性状的有无：观察酵母细胞发酵产青蒿酸的能力。



M：DL2000；+：阳性对照；−：阴性对照；1~4：单菌落检测

图4　重组工程菌p1304*-*CPR*-*CYP*71*AV*1的PCR检测[4]

设计意图：通过问题4和问题5，学生系统地掌握基因工程中目的基因检测与鉴定的方法及目的，认识到科学研究过程具有复杂性和不确定性，体会科学研究中“逐层验证、步步确证”的逻辑严密性。

3　任务二：解决新问题，聚焦学生批判性思维与系统性思维培养

3.1　青蒿酸酵母菌工程菌构建方案的完善

资料4：当*ADS*基因通过pRS425质粒导入酵母菌中并正常表达后，酵母菌仅能产生少量的青蒿酸前体，其浓度为4.4 mg/L，远低于期望值。

问题6：结合资料2中酵母菌代谢途径思考，为什么酵母菌中导入*ADS*基因并正常表达后产生的青蒿酸前体很少？

问题7：请尝试优化构建青蒿酸酵母菌工程菌的方案，以提高酵母菌合成青蒿酸的产量。

通过问题6与问题7引发学生的辩证思考，为提高青蒿酸产量，在使酵母菌获得合成青蒿酸能力的同时，还需要抑制酵母菌中*ERG*9基因的表达，进一步优化规模化生产青蒿素的方案为：将获得的*ADS*基因、*CYP*71*AV*1基因和*CPR*基因通过基因表达载体导入酵母细胞中，同时抑制酵母菌中*ERG*9基因的表达，筛选出能高产“青蒿酸”的酵母菌工程菌，通过发酵工程使之合成出青蒿素的前体物质“青蒿酸”。

设计意图：通过以上资料与问题的呈现，学生学会从整体出发看待问题并能系统性地解决问题，培养学生的批判性思维能力。

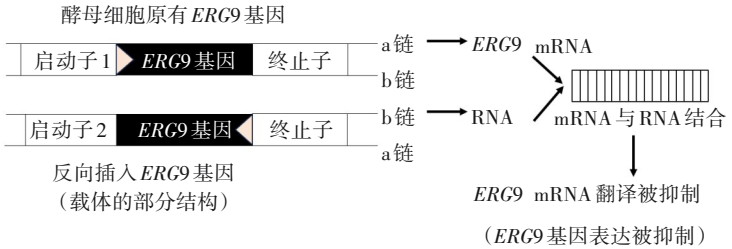
3.2 抑制*ERG*9基因表达，深化目的基因连接方向及反向连接内容

要构建青蒿酸高产酵母菌工程菌，还需要抑制*ERG*9基因的表达。笔者以2024年诺贝尔生理学或医学奖的相关研究成果为背景，引导学生提出抑制基因表达的策略。

资料5：2024年10月7日，两位美国科学家因发现微RNA（microRNA）及其在转录后基因调控中的重要作用，获得2024年诺贝尔生理学或医学奖[5]。二者研究发现*lin*-4基因可以负调控*lin*-14基因表达，其具体机制为*lin*-4基因编码了一个22核苷酸的microRNA，该microRNA通过与*lin*-14 mRNA中的互补序列结合来关闭*lin*-14基因，从而阻断了lin-14蛋白的产生[6]。

问题8：依据*lin*-4基因阻止*lin*-14基因表达的原理，你能想到抑制酵母菌*ERG*9基因表达的方法吗？

学生在获取资料中基因表达的负调控机制后，迁移应用，推导出可使酵母菌细胞中转录出能与*ERG*9 *m*RNA互补配对的RNA，可采用如下方法：将*ERG*9基因反向插入启动子与终止子之间，构建反义基因表达载体，导入酵母细胞，抑制酵母细胞中原有*ERG*9基因的表达，如图5所示。除此之外，师生还可补充实现基因表达负调控的其他机制：将酵母菌中*ERG*9基因的启动子替换为可被抑制的启动子[3]，例如可被甲硫氨酸抑制的*PMET*3启动子；利用基因编辑技术使该基因突变而失去其功能等。



注：启动子2：*Gal*10启动子，被半乳糖诱导。图中“▶■”代表*ERG*9基因。

图5 反义*ERG*9基因表达载体负调控*ERG*9基因表达的机制

设计意图：该任务用2024年诺贝尔生理学或医学奖相关成果引发学生思考，不仅能激发学生探索未知、追求真理的学习热情，还能引导学生树立从事科研探索的伟大志向。学生在思考问题3与问题8时会产生认知冲突，在问题3中需将目的基因按转录方向正向插在启动子和终止子之间，而在问题8中，则需将目的基因反向插在启动子和终止子之间，通过这种认知冲突，让学生深刻理解目的基因插入方向对基因功能的影响，并关联基因表达内容，深化对基因表达调控机制与基因表达过程的理解，提升学生的思辨能力。

4 任务三：规模化发酵生产青蒿酸，关注微生物合成生物学技术应用前景

筛选出高产青蒿酸酵母菌工程菌后，可利用发酵工程进行大规模发酵生产，纯化获得青蒿酸。目前还没有在酵母菌中成功将酵母菌工程菌合成的青蒿酸转变成青蒿素，这成为微生物合成青蒿素必须攻克的最后堡垒。

微生物合成和发酵技术可以突破传统植物提取的局限，不受地理位置、土壤状况、自然气候环境和灾害的影响，可在工厂里全天候生产，应用前景广阔。

设计意图：任务三将基因工程与发酵工程有效联系起来，基因工程育种是发酵工程选育菌种的有效途径之一，认同微生物合成和发酵技术的潜力巨大。

5 结语

《普通高中生物学课程标准（2017年版）》对《基因工程》内容的要求是“阐明基因工程需要3种基本工具与基因工程基本操作程序”，结合这一目标要求，笔者提炼了高产青蒿酸酵母菌工程菌的构建与发酵这一科研主题及思维主线。基于教学目标和要求，提炼科研主题的思维主线，将一个科研主题转化为紧密关联的任务链与进阶

（下转第16页）