

教学园地 Teaching

谈谈如何结合分子标记技术的发展培养学生的创造性思维能力

王永飞*

暨南大学生物工程学系, 广州 510632

在生物学教学中,有许多事例可以作为创造性思维教学(creative thinking instruction)的内容。结合这些事例进行创造性思维教学,不但有利于学生掌握生物学的知识和技能,而且有利于培养具创新能力的人才。本文以分子标记技术的发展为例谈谈如何培养学生的创造性思维能力。

1 分子标记的概念及其种类

遗传标记(genetic marker)是指与目标性状紧密连锁,同该性状共同分离且易于识别的可遗传的等位基因变异。组成DNA分子的4种核苷酸在排列次序或长度上的任何差异都会产生DNA分子的多态性。分子标记(molecular marker)就是指根据基因组DNA存在丰富的多态性而发展起来的可直接反映生物体在DNA水平上的差异的一类新型的遗传标记(方宣钧等 2001)。

Botstein等(1980)首先提出DNA限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)可以作为遗传标记,开创了直接应用DNA多态性作为遗传标记的新阶段。Mullis等(1986)发明了聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR),于是直接扩增DNA的多态性成为可能。近30年来,分子标记技术得到长足发展,相继出现了多种分子标记技术。依据多态性检测手段,大致可将目前已有的分子标记分为3大类:第一类为基于Southern分子杂交技术的分子标记如RFLP等;第二类为基于PCR技术的分子标记如随机引物扩增多态性DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)等;第三类为结合PCR和RFLP技术的分子标记如扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)等。另外,还有以DNA序列分析为核心的分子标记如表达序列标记(expressed sequence tag, EST)和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)等(方宣钧等 2001)。

2 结合分子标记技术的发展培养学生的创造性思维

每种分子标记技术的发现就是一个科学创新过程。因此,在讲授分子标记时,应结合分子标记的发展过程进行创造性思维教学,启发学生向科学家们学习如下的创造性思维:

第一,联想思维。联想可以使人从过去的知识中获得启示,激发灵感,加速创新活动的进程,扩大创新活动的成果。例如在PCR技术的基础上,从短的引物联想到长的引物,从随机引物联想到在随机引物的末端加上几个重复的核苷酸,通过对引物进行改变,就产生了许多新的分子标记技术。采用长度为5~8个碱基的随机寡核苷酸序列为引物,对基因组DNA进行PCR扩增,是DNA扩增指纹(DNA amplification fingerprinting, DAF)标记(Caetano-Anolles等1991);以10个碱基的随机寡核苷酸序列为引物,对基因组DNA进行PCR扩增就成为RAPD标记(Williams等1990);采用长度为18~24个碱基的随机寡核苷酸序列为引物,对基因组DNA进行PCR扩增就是随机引物PCR(arbitrary primed PCR, AP-PCR)标记(Welsh和McClelland 1990);为了检测2个简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)之间的DNA序列的多态性,Ziethiewicz等(1994)在随机引物的5'或3'端接上2~4个重复的嘌呤或嘧啶碱基,就发明了简单序列重复区间DNA(inter-simple sequence repeat DNA, ISSR)标记技术。

为了提高某一理想RAPD标记的稳定性,首先将其克隆并对其末端测序后,在原来RAPD所用的10个碱基引物上增加合成末端序列,以此为引物对基因组DNA再进行PCR扩增就是序列特征扩增区域(sequenced characterized amplified region,

收稿 2005-11-18 修定 2006-03-06

*E-mail: wyfmsm@163.com, Tel: 020-38897606

SCAR) 标记。它的稳定性比 RAPD 增强了许多, 并且 DNA 之间的差异可直接通过有无扩增产物来显示 (Paran 和 Michelmore 1993)。因此, 从随机引物联想到特异引物既产生新的分子标记, 也增加了分子标记的稳定性和简便性。

第二, 组合思维。善于进行组合思考是导致创新成果的一种重要的思维方法。不同技术的组合并不是简单的机械相加, 而往往可以形成一个具有独特结构和独特内容的新技术。例如把已知的 RFLP 和 PCR 技术联合起来, 按照不同的顺序就产生了 AFLP 和切割的扩增多态性序列 (cleaved amplified polymorphic sequences, CAPS) 2 种分子标记。AFLP 标记是先将样品 DNA 用限制性内切酶进行酶切, 再对其酶切片段进行 PCR 扩增 (Vos 等 1995); CAPS 标记则是先对样品 DNA 进行 PCR 扩增, 再用限制性内切酶对扩增产物进行酶切 (Konieczny 和 Ausubel 1993)。因此, AFLP 和 CAPS 就是在 PCR 和 RFLP 技术的基础上, 经过组合和改进而导致的创新成果, 并使 PCR 和 RFLP 技术得到不断的补充和发展。

第三, 求异思维。要有意识地设计与前人不同的试验。求异思维可以引导人们从不同的方面去思考, 进而提出独具特色、另辟蹊径的创新性设想。例如每一种新类型分子标记的发现都是求异思维的结果, 在引物的长短上进行改变, 导致了对 PCR 技术的再发现和再创造, 从而发明了 RAPD、DAF、AP-PCR、ISSR 和 SCAR 等标记; 将已知的 RFLP 和 PCR 技术联合起来, 按照不同的顺序就产生了 AFLP 和 CAPS 2 种不同的分子标记。

3 小结

联想、组合和求异思维都在于一个“思”字。如果不在“思”字上下功夫, 怎会有创造性发现呢? 作为生物学教师, 应该用上述生动的

事例让学生明白思考的重要性, 启发学生在掌握了已有的知识和方法后, 创造性地提出下一步研究的思路和改进的方法。更应该让学生明白, 只有善于思考, 才会有创造性的研究成果。

总之, 在创造性思维教学中, 应注重介绍获得创新性成果的方法, 让学生在获得知识的同时, 学会创造性思维。这样, 学生不但可以掌握生物学的知识和技能, 而且可以培养自己的创新意识, 使创造性思维能力得到提高。

参考文献

- 方宣钧, 吴为人, 唐纪良 (2001). 作物 DNA 标记辅助育种. 北京: 科学出版社, 1~21
- Botstein D, White RL, Skolnik M, Davis RW (1980). Construction of a genetic linkage map in man using length polymorphism. *Am J Hum Genet*, 32 (3): 314~331
- Caetano-Anolles G, Bassam BJ, Gresshoff PM (1991). DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *BioTechnol*, 9 (6): 553~557
- Konieczny A, Ausubel FM (1993). A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J*, 4 (2): 403~410
- Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H (1986). Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*, 51 (1): 263~273
- Paran I, Michelmore RW (1993). Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor Appl Genet*, 85 (8): 985~993
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M et al (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 23 (21): 4407~4114
- Welsh J, McClelland M (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, 18 (24): 7213~7218
- Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 18 (22): 6531~6535
- Ziethiewicz E, Rafalski A, Labuda D (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20 (2): 176~183