

基于便携式诊断技术的农业病害检测综合性 实验教学设计

刘伟鹏, 郑纯, 何良, 刘英菊*

(华南农业大学 材料与能源学院, 广东 广州 510642)

摘要: 为适应化学实验教学现代化需求, 该文将 CRISPR/Cas12a 系统与 DNA 水凝胶技术结合, 设计了基于胶体金试纸条的农业病害检测教学方案。实验利用 CRISPR/Cas12a 的基因特异性识别能力触发 DNA 水凝胶可控解聚, 释放信号分子人绒毛膜促性腺激素(hCG), 通过试纸条实现可视化检测。教学实践表明, 该方案整合了分子生物学、材料化学与分析技术, 解决了传统教学中依赖大型仪器、成本高昂及跨学科整合不足的问题, 为培养学生创新能力和实践技能提供了新途径。

关键词: 试纸条; DNA 水凝胶; CRISPR/Cas12a 系统; 实验教学

中图分类号: O657; Q342 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2573-08

Exploration of Agricultural Disease Detection Experimental Teaching Based on Portable Diagnostic Technology

LIU Wei-peng, ZHENG Chun, HE Liang, LIU Ying-ju*

(College of Materials and Energy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To meet the needs of modernization in chemical experiment teaching, this experiment combines the CRISPR/Cas12a system with DNA hydrogel technology and designs a teaching scheme for the detection of agricultural diseases based on colloidal gold test strips. In the experiment, the gene-specific recognition ability of CRISPR/Cas12a is utilized to trigger the controllable depolymerization of the DNA hydrogel, releasing the signal molecule hCG, and realizing visual detection through the test strips. Teaching practice shows that this scheme effectively integrates molecular biology, materials chemistry, and analytical techniques, solving the problems of traditional teaching that rely on large-scale instruments, are costly, and lack interdisciplinary integration. It provides a new approach for cultivating students' innovative abilities and practical skills.

Key words: test strip; DNA hydrogel; CRISPR/Cas12a system; experiment teaching

将科研项目案例融入本科生的综合实验课程, 已经成为化学实验教学改革与创新中提高教学质量的核心策略之一^[1]。化学专业本科教育中, 分析化学、现代仪器分析、现代波谱分析、现代生化分析等课程构成了本科阶段分析技术的基础。然而, 这些课程往往侧重于大型分析仪器的教学, 虽然这些设备能够提供高精度的定量分析结果, 但高昂的成本和复杂的操作程序限制了学生独立操作的可能性, 也阻碍了学生对其内部构造和工作原理的深入了解。此外, 教学中对便携式即时诊断工具(POCT)的应用涉及较少, 而这些工具在快速检测领域中扮演着日益重要的角色。胶体金免疫层析技术(即试纸条技术)作为经典的 POCT 工具^[2], 具有操作简便、成本低、快速检测等优势, 已广泛应用于医学和环境监测领域^[3-5]。然而, 传统试纸条教学需针对不同靶标单独设计特异性抗体并重新开发试纸条, 导致开发周期长、抗体筛选成本高昂。这种模式迫使实验内容固化为固定操作流程(如加样、显色判读), 学生仅能机械完成步骤, 难以深入探究靶标识别机制、信号放大原理等核心科学逻辑。

针对上述问题, 华南农业大学无机及分析化学教学团队基于农业病害检测技术的长期研究积累^[6-7], 提出了一种创新的本科实验教学方案。实验将 CRISPR/Cas12a 基因编辑系统、DNA 水凝胶材料

收稿日期: 2025-04-09; **修回日期:** 2025-05-06

基金项目: 国家自然科学基金(32170100, 32470085); 广东省一流课程-无机及分析化学(粤教高函[2020]16号); 无机及分析化学广东省课程思政示范团队(粤教高函[2024]27号); 应用化学国家一流本科专业建设点(教高厅函[2019]46号); 广东省本科高校教学质量与教学改革工程建设项目“无机及分析化学教研室”(粤教高函[2024]9号); 华南农业大学课程思政示范团队和示范课程-无机及分析化学(华南农教[2023]1号)

* **通讯作者:** 刘英菊, 博士, 教授, 研究方向: 生命分析化学, E-mail: yingjuliu@scau.edu.cn

与胶体金试纸条技术有机融合, 构建“基因识别-材料响应-可视化检测”的一体化教学平台。通过设计通用型 DNA 水凝胶载体^[8-10], 将信号分子人绒毛膜促性腺激素(hCG)封装于凝胶网络内, 并利用 CRISPR/Cas12a 系统特异性识别病原体基因, 触发水凝胶解聚释放 hCG, 最终通过商业化试纸条完成检测。该方案突破了传统试纸条教学中对靶标抗体的依赖性, 学生仅需更换 crRNA 即可实现靶标切换, 显著降低了教学成本与操作复杂性。实验设计通过分子生物学、材料化学与分析技术的跨学科整合, 引导学生从基因识别、动态材料响应到信号输出的全流程检测中掌握核心原理, 为培养学生解决复杂问题的能力开辟了创新路径。

1 实验教学设计

1.1 实验目的

了解 DNA 水凝胶的设计、制备和表征方法; 掌握农业病害特征基因识别和检测方法; 掌握商业化试纸条的结构、检测原理和使用方法; 了解扫描电镜的成像原理, 掌握核酸扩增仪、电泳仪和试纸条读取器的使用方法。

1.2 实验原理

本教学实验基于 CRISPR/Cas12a 系统的基因特异性识别能力与 DNA 水凝胶的动态响应特性构建检测平台(原理如图 1 所示)。

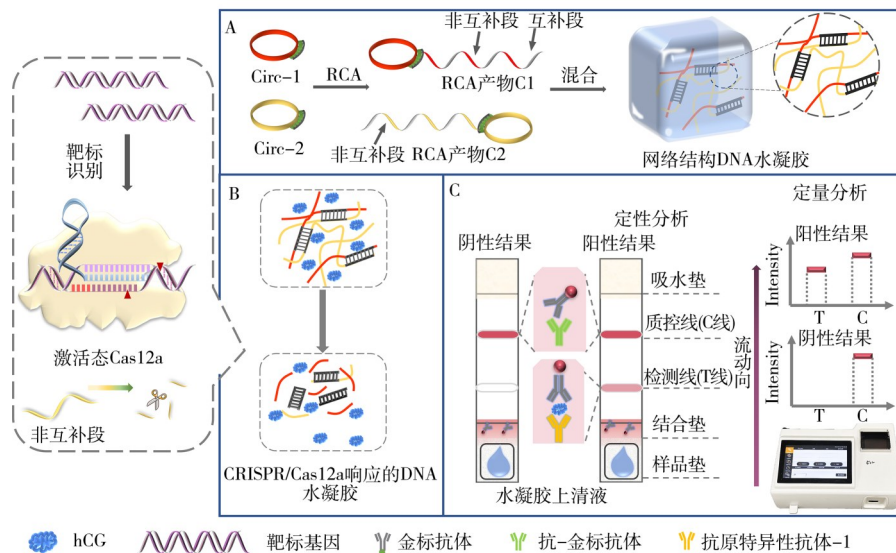


图 1 基于 DNA 水凝胶的试纸条检测平台原理图

Fig. 1 Schematic diagram of the test strip detection platform based on DNA hydrogel

A: the principle of DNA hydrogel construction; B: the principle of the controllable degradation of DNA hydrogel; C: the principle of the test strip detection

DNA 水凝胶制备环节, 采用滚环扩增技术(RCA)与核酸自组装原理协同作用的策略: RCA 反应首先生成两条含部分互补区域与非互补区域的长单链 DNA 产物, 其中互补区域通过碱基配对形成三维网状骨架, 非互补区域暴露于凝胶网络中, 成为 CRISPR/Cas12a 系统潜在切割位点^[11-12]。通过物理包埋与静电相互作用, 信号分子 hCG 被稳定封装于凝胶孔隙内, 形成功能化 DNA 水凝胶(图 1A)。

CRISPR/Cas12a 系统的特异性识别功能通过 crRNA 与靶标基因(马铃薯晚疫病致病疫霉特征基因)的互补配对实现: 当 Cas12a/crRNA 与靶标 DNA 结合后, Cas12a 蛋白的 REC 结构域(靶标识别区)与 NUC 结构域(核酸酶活性区)发生构象变化, 激活其反式切割活性, 进而对周围单链 DNA(ssDNA)进行非特异性剪切^[13-14]。由于水凝胶内部预先设计了 Cas12a 可切割 ssDNA 区域, 该酶切反应触发凝胶网络逐步断裂, 促使包埋的 hCG 分子释放(图 1B)。

在信号转导阶段, 释放的 hCG 通过胶体金试纸条的双抗体夹心法实现可视化检测: hCG 与胶体金垫上的金标抗体结合后, 随层析液迁移至检测线(T 线), 与固定在此处的抗原特异性抗体形成“金标抗体-hCG-抗原特异性抗体”复合物, 金纳米颗粒聚集显红色条带; 质控线(C 线)上标记的抗-金标抗

体可捕获剩余金标抗体，用于验证检测过程的有效性(图1C)。三者协同构建了“基因识别-材料响应-信号转导”的检测体系：CRISPR系统将基因识别转化为酶切信号，DNA水凝胶通过可控解聚实现靶标响应的信号放大，胶体金试纸条借助免疫层析与纳米比色效应完成可视化分析，最终完成从分子识别到即时检测的全流程整合。

1.3 实验设计思路与教学目标

实验设计思路与教学目标如表1所示。

表1 实验设计思路与教学目标
Table 1 Experimental design idea and teaching objective

Experimental task	Design principle	Teaching objective		
		Knowledge objective	Ability objective	Ideological and political objective
前沿文献调研与方案设计	对比分析前沿技术	1. 了解DNA水凝胶制备原理； 2. 掌握CRISPR/Cas12a反式剪切机制； 3. 理解POCT技术发展趋势	1. 实验方案设计能力； 2. 文献批判性分析能力	1. 以诺贝尔奖案例激发创新意识； 2. 强化科技兴农使命感
材料合成与表征	跨学科整合(化学+材料+生物)	1. 掌握RCA技术关键参数； 2. 理解材料性能与结构关联性	1. 精密仪器操作能力； 2. 实验条件优化能力	1. 培养严谨科研态度； 2. 通过国产设备使用增强科技自信
多维度性能验证	分层次递进验证	1. 熟悉分子诊断验证标准； 2. 掌握胶体金试纸条技术原理； 3. 掌握检出限计算方法	1. 异常结果分析能力； 2. 多技术对比评价； 3. 实验报告撰写与数据可视化能力	1. 强化学术诚信意识(如原始数据保存与溯源)； 2. 践行工匠精神
创新拓展与评价	开放性实践	1. 了解多重检测的技术难点； 2. 了解粮食安全对社会影响； 3. 理解POCT检测的现实意义	1. 科研成果转化能力； 2. 调研数据统计能力	1. 通过“把论文写在祖国大地上”案例理解科研转化价值； 2. 强化知识产权保护意识

1.4 实验试剂与仪器

Cas12a核酸酶、Phi29 DNA聚合酶、T4 DNA连接酶、DNase I(无RNase)购自纽英伦生物技术(北京)有限公司；脱氧核苷酸(dNTP)预混液购自生工生物工程(上海)有限公司；Gelred染料购自Biosharp生物科技(上海)有限公司；hCG、硼酸钠(BB, 分析纯)、吐温-20(分析纯)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP, 分析纯)购自上海阿拉丁生物技术有限公司。

主要仪器：商业化试纸条(金秀儿妊娠试纸条, 广州万孚生物技术股份有限公司)；核酸扩增仪(Mastercycler nexus, Eppendorf中国有限公司)；试纸条读取器(FIC-Q100N, 苏州和迈精密仪器有限公司)；扫描电子显微镜(Verios 460, Thermo Fisher Scientific (FEI Company))。

本实验所用的寡核苷酸序列如表2所示，均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

表2 实验所用核酸序列
Table 2 The sequences of nucleic acid

Nucleic acid name	Sequence (5'-3')
Primer-1	GTA GGA ACA TCA AAC GAC AGC CA
Padlock-1	P-TCG TTT GAT GTT CCT ACT CTA ACC GTA CAG TAT TTT CCC GGC GGC GCA GCA GTT AGA TTG GCT G
Primer-2	AAG TGA TGG CTG TCG TTT GAT GTT CCT A
Padlock-2	P-CAG CCA TCA CTT ATC TCC TGT CCC CCT GTC TGG CGT TTG CAT CCG CAC TCG TTA TAA GTG ATT AGG AAC ATC AAA CGA
靶标基因片段-TS	TGC GGT TGG TTT TCG GAC CGA CTG CGA GTC CTT TTA AAT GTA CT
靶标基因片段-NTS	AGT ACA TTT AAA AGG ACT CGC AGT CGG TCC GAA AAC CAA CCG CA
crRNA	UAAUUUCUACUAAAGUGUAGAUAAAGGACUCGCGACUGCGUCCGA

1.5 实验方案

1.5.1 DNA水凝胶的制备 环形模板合成：将Primer-1(1.5 μmol/L)与Padlock-1(1 μmol/L)溶于1×T4 DNA连接酶缓冲液中，95 °C退火5 min后以1 °C/min降温至室温再快速降温至4 °C。加入T4 DNA连接酶(20 U/μL)于25 °C反应2 h，65 °C灭活10 min，生成Circ-1。同理，以Primer-2和Padlock-2制备环形模板Circ-2。

滚环扩增(RCA)：取Circ-1(4 μL)与50 mmol/L NaCl、1 mmol/L dNTPs、0.1 mg/mL重组白蛋白、1×phi29缓冲液及phi29 DNA聚合酶(0.25 U/μL)混合，37 °C反应10 h，生成单链RCA产物C1。相同方法以Circ-2为模板合成C2，产物4 °C保存。

水凝胶组装：将0.5 μL hCG(0.2 mg/mL)与5 μL C1混合(37 °C, 600 r/min, 30 min)，加入等体积

C2, 37 °C 孵育形成 hCG 包埋水凝胶。使用前以磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗 3 次去除游离 hCG。

1.5.2 基因靶标识别 Cas12a/crRNA 复合物制备: 将 200 nmol/L Cas12a、200 nmol/L crRNA、1.5 μL 10×NEBuffer 2.1 与 DEPC 水混合 (总体积 27 μL), 25 °C 孵育 30 min。

靶标激活: 加入马铃薯晚疫病靶标基因 (终浓度 0~100 nmol/L), 37 °C 孵育 30 min 以激活 Cas12a 反式切割活性。

1.5.3 基于 DNA 水凝胶的试纸条检测 水凝胶裂解: 将 30 μL 激活后的 Cas12a 反应液加入 10 μL DNA 水凝胶, 37 °C 孵育 60 min, 反应后取上清液。

显色检测: 上清液与 70 μL Extension buffer (0.2 mol/L BB, 0.02% Tween-20, 0.5% PVP, pH 8.0) 混合, 将试纸条样品垫浸入混合液 320 s 后读取结果。

1.6 实验常见问题与安全注意事项

为保障实验教学的安全性及可操作性, 表 3 汇总了实验过程中可能出现的典型问题及其解决方案, 并列明了关键安全风险与预防措施。

表 3 实验常见问题与安全注意事项

Table 3 Common issues and safety precautions in the experiment

Category	Issue/risk point	Cause analysis	Solution/precaution
实验操作	DNA 水凝胶交联不足	RCA 反应条件未优化或互补链比例失衡	1. 适当增加 RCA 反应时间; 2. 增加 Mg ²⁺ 浓度提高 DNA 聚合酶活性
	Cas12a 失活	RNase 酶污染、靶标序列未包含有效 PAM 位点	1. 重新设计 crRNA, 确保靶标区域包含正确 PAM 位点; 2. 使用无 RNase 试剂, 操作时佩戴手套并使用 DEPC 处理实验用品
安全风险	试纸条 T 线显色模糊或假阴性	hCG 释放不足或样品垫浸润时间不足	1. 增加靶标浓度; 2. 延长样品垫浸润时间 (但不得超过 15 min)
	DEPC 试剂操作风险	DEPC 具有潜在致癌性, 可能刺激呼吸道和皮肤	DEPC 处理后的实验用品需高温高压灭菌
	DNA 染料接触风险	部分核酸染料 (如 EB) 具有潜在致癌性, 接触皮肤或吸入可能危害健康	1. 优先使用低毒替代染料 (如 Gelred、SYBR Green); 2. 操作时佩戴手套, 避免直接接触
	高温/电泳设备安全隐患	烫伤风险或电泳短路	1. 禁止触碰运行中的高温模块; 2. 电泳前确认缓冲液覆盖电极

2 结果与讨论

2.1 DNA 水凝胶的制备与表征

图 1A 展示了滚环扩增生单链 DNA 并交联形成 DNA 水凝胶的原理示意图。粘度试验显示, 滚环扩增产物 C1 呈透明且低流动性的粘稠体, 这归因于单链 DNA 间的氢键和 π - π 堆积作用 (图 2A, a-e)。C1 和 C2 混合交联后形成不规则白色凝胶, 证明水凝胶成功合成 (图 2A, f)。扫描电镜显示 (图 2B), DNA 水凝胶由不规则 DNA 小球组成, 具有三维立体、稀疏多孔、网络交错的结构, 可为 hCG 负载提供空间。琼脂糖凝胶电泳 (图 3) 结果也验证了水凝胶的成功合成, 图中泳道 1~4 依次加载了 Primer-1、Padlock-1、Primer-2 和 Padlock-2。泳道 5~6 代表不同的锁式探针和引物杂交产物, 对比于泳道 1~4, 观察到具有较低迁移率的新条带产生, 说明 Primer-1 和 Padlock-1、Primer-2 和 Padlock-2 有效杂交, 通过 T4 DNA 连接酶形成了环状模板 Circ-1、Circ-2。滚环扩增生成的超长产物 C1 和 C2 在胶孔截留 (泳道 7~8), 混合后形成的水凝胶同样截留在胶孔处 (泳道 9)。

2.2 Cas12a 驱动 DNA 水凝胶裂解的可行性验证

为验证 CRISPR/Cas12a 系统对 DNA 水凝胶的靶向裂解能力及其在信号释放中的核心作用, 本研究通过荧光染料释放实验, 评估了 Cas12a 反式剪切活性对水凝胶结构的可控降解效果 (见图 4)。结果表

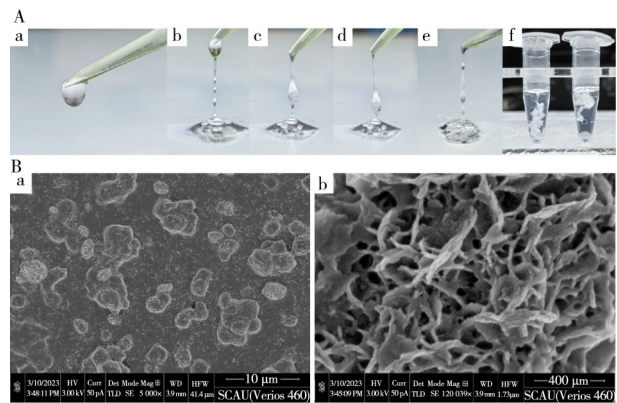


图 2 DNA 水凝胶表征

Fig. 2 Characterization of DNA hydrogel

A: photographs of free-dropping of RCA product C1 (a-e), photograph of DNA hydrogel (f); B: SEM images of DNA hydrogel with magnification of 10 μm (a) and 400 nm (b)

明，对照组(单纯DNA水凝胶)荧光在40 min内基本不变，60 min时有少量释放，可能是小分子染料被动扩散所致。Cas12a组中，被激活的CRISPR/Cas12a在2 h内使部分凝胶裂解，荧光变强。DNase I组作为阳性对照，可以发现在酶作用下DNA水凝胶结构发生破坏，荧光染料释放到上清液中。这表明基于CRISPR/Cas12a的策略可由靶标基因启动，并可降解DNA水凝胶。

2.3 灵敏度与特异性分析

为评估该检测平台对核酸分子的检测性能，实验以马铃薯晚疫病特征基因作为检测靶标进行分析。如图5A所示，T线显色强度与靶标基因浓度呈正相关性。通过试纸条读取器对T线强度进行定量分析(图5B)，结果显示，在靶标基因浓度6.25 fmol/L~100 nmol/L范围内，T线强度与浓度的对数呈良好线性关系(线性方程： $I_T=477.1+85.36 [\lg C (\text{nmol/L})]$ ， $r^2=0.9963$)，检出限为6.25 fmol/L。如表4所示，与现有的便携式病原体核酸检测技术相比，本方案展现出更高的灵敏度及更宽的线性范围。其技术优势主要体现在：无需依赖复杂的核酸扩增技术即可实现病原体痕量检测；同时通过DNA水凝胶和试纸条的创新应用，使其在即时诊断领域展现出重要应用价值，满足农业病害基因的快速筛查需求。

为进一步探究本方法对靶标检测的特异性，设计了七组单碱基错配序列和一组随机序列，突变位点分别设计在PAM序列后1位、3位、6位、8位、12位、18位及22位(记作SNM-1、SNM-3、SNM-6、SNM-8、SNM-12、SNM-18和SNM-22)。实验结果表明(图6)，随机序列组未触发Cas12a切割活性，试纸条信号与未加入靶标的空白组一致。值得注意的是，靠近PAM序列的突变(SNM-1和SNM-3)完全抑制了Cas12a的酶切功能，导致水凝胶裂解效率显著降低。而随着突变位点逐渐远离PAM序列，Cas12a的反式剪切活性逐步恢复，其中位于22位的单碱基突变结果与WT接近。上述结果表明，本检测体系能够精准区分单碱基突变与野生型靶标，尤其对PAM邻近区域的碱基差异具有高度敏感性，为其在复杂田间环境下的病原体基因分型及突变筛查提供了技术支撑。

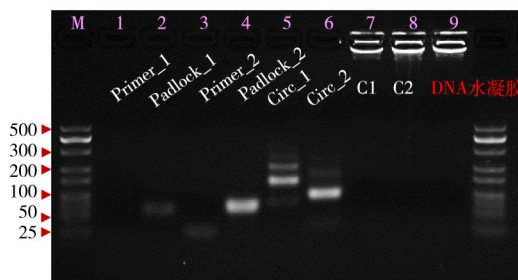


图3 DNA水凝胶电泳图

Fig. 3 Electrophoretogram of DNA hydrogel

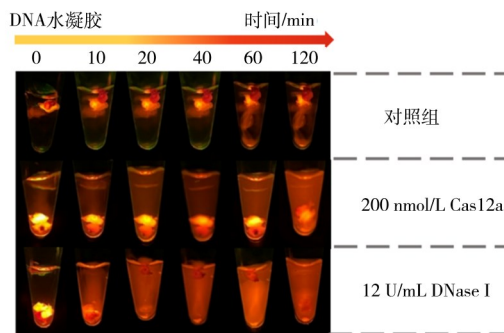


图4 DNA水凝胶在CRISPR/Cas12a作用下裂解的染料释放分析

Fig. 4 Analysis of dye release from the lysis of DNA hydrogel under the action of CRISPR/Cas12a

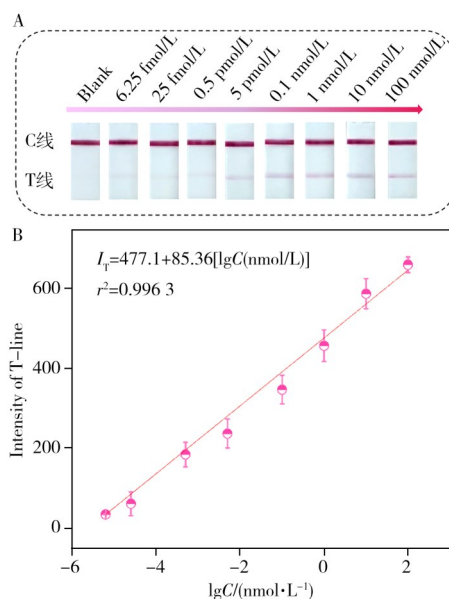


图5 试纸条检测平台灵敏度实验

Fig. 5 Sensitivity experiment of the test strip detection platform

A: test strip detection results; B: linear regression curve

表4 便携式病原体核酸检测技术比较

Table 4 Comparison of portable pathogen nucleic acid detection technologies

Method	Detection platform (cost)	Signal mode	Linear range	LOD	References
不对称PCR	基于核酸探针的自研胶体金试纸条(约5元/条)	比色信号	0.1~100 pg/ μ L	0.1 pg/ μ L	[15]
基于核酶的扩增技术	丝网印刷电极(约20元/片)	电化学信号	5 pmol/L~100 nmol/L	2.6 pmol/L	[16]
基于聚合物纳米粒子的Cas12a扩增技术	滤膜(50元/片)	比色信号	1 pmol/L~1 nmol/L	80.7 fmol/L	[17]
基于水凝胶的Cas12a扩增技术	商业胶体金试纸条(<1元/条)	比色信号	6.25 fmol/L~100 nmol/L	6.25 fmol/L	This work

3 实验教学实施与特色

3.1 实验教学实施

基于实验的综合性和难度，教学过程中采用“分组协作+三阶段教学+线上线下融合”模式，实现实验教学的立体化实施。每组4~6人，完成周期为2周(其中课前准备4天，课中实施2天和课后拓展4天)，具体教学实施框架如下：

3.1.1 课前准备阶段(第1~4天) (1)文献调研与方案设计(第1~2天)：学生通过检索核酸检测技术、DNA水凝胶制备及POCT技术的相关文献，结合农业行业标准《马铃薯晚疫病菌PCR检测方法》《马铃薯晚疫病检测方法》^[18-19]等文件，完成实验方案设计。

(2)在线学习与培训(第3天)：通过线上平台学习实验基本要求，并参与移液器操作培训及经典异常结果案例(如试纸条假阳/阴性结果等)预警示教育。

(3)滚环扩增产物制备(第4天，12h)：由教师提前完成RCA产物的制备，供课堂使用，确保实验材料的标准化。

3.1.2 课中实施阶段(第5~6天) (1)DNA水凝胶合成与表征(第5天)：①DNA水凝胶合成(4h)，学生混合RCA产物并封装hCG，观察凝胶形成；②DNA水凝胶表征(4h)，通过扫描电镜(SEM)、粘度测试及琼脂糖凝胶电泳验证水凝胶的结构与性能。

(2)CRISPR剪切验证与试纸条检测(第6天)：①剪切验证性实验(4h)，利用靶标基因激活Cas12a反式酶切反应，通过荧光染料释放实验评估水凝胶裂解效率；②试纸条检测(4h)，使用商业化试纸条检测凝胶裂解液并对显色结果判读，使用试纸条读取器生成标准曲线并计算检出限。

教师实时记录操作规范性，同步分析数据异常(如水凝胶交联不足、T线显色延迟)，并引导学生通过温度梯度对照实验排查数据异常。

3.1.3 课后拓展阶段(第7~10天) (1)数据整理与分析(第7天，基础层培养，必选)：学生整理原始实验数据，绘制靶标浓度与T线强度的标准曲线。

(2)创新实验设计(第8~9天，提升层培养，可选)：学生可从以下方向开展探索：①多靶标检测体系设计(基于Cas13a/Cas12a双酶协同体系，构建可同步检测多基因位点的生物传感系统^[20-21]；开发分子逻辑门控系统—AND/OR门，实现多基因组合触发检测机制^[22-23])；②开发智能手机APP，实现检测结果的自动化输出；③撰写《农业病害快检技术创新方案》。

(3)实践调研(课后延伸阶段，实践层培养，可选)：结合高校“三下乡”活动(如华南农业大学

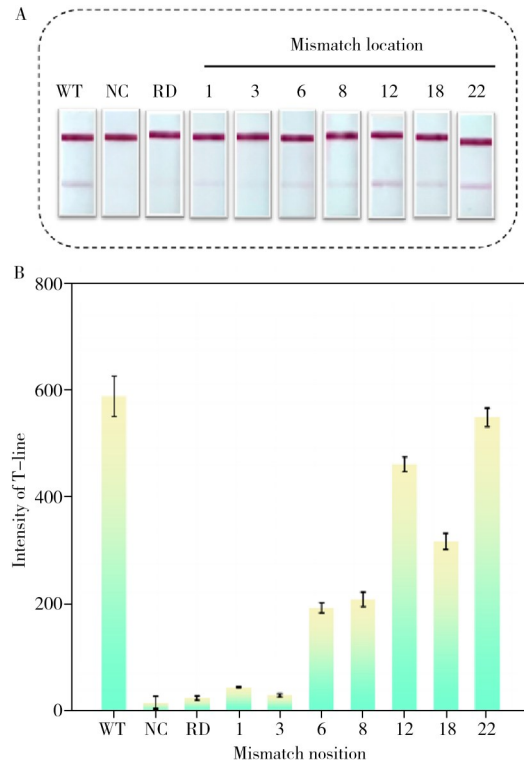


图6 试纸条检测平台特异性实验
Fig. 6 Specificity experiment of the test strip detection platform
A: test strip detection results of specificity experiment; B: quantitative analysis results of specificity experiment

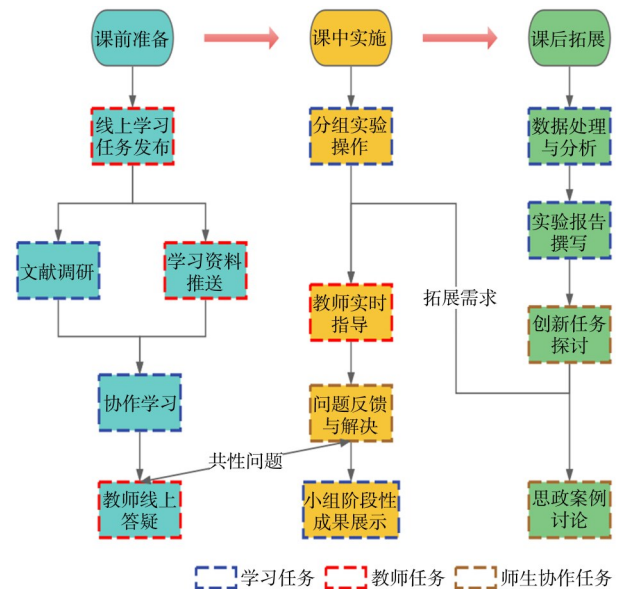


图7 教学实施过程
Fig. 7 The process of teaching implementation

2024年组织的三下乡·返家乡——万名学子乡村大调研行动)，形成科技助农方案。

(4)课程总结讨论(第10天)：组织CRISPR技术伦理研讨会，结合诺贝尔奖案例强化科学精神教育，通过实验数据分析培养学术诚信意识，最终形成包含技术报告、创新方案和社会调研报告的综合性成果档案。

3.1.4 教学评估阶段 采用双向评价机制：①学生评价：通过问卷调查收集学生对实验内容、教学方法及教师指导的反馈，优化教学策略；②教师评估：从操作规范性、数据分析能力、创新思维及团队协作四维度综合评价学生表现，提供个性化学习建议，确保实验目标与能力培养的有效衔接。

3.2 实验教学特色

(1) **跨学科融合创新** 实验整合分析化学、生物学和材料科学的前沿技术，构建“基因识别-材料响应-信号转导”的全链条教学实践平台，通过跨学科知识串联(如CRISPR基因编辑、水凝胶智能响应、试纸条POCT技术)，强化学生交叉创新思维与复杂问题解决能力。

(2) **科研反哺与科教协同** 依托国家级科研项目，将CRISPR检测体系与DNA水凝胶制备技术转化为教学案例。通过工艺简化(如双滚环扩增组装水凝胶)与商业化试纸条组合，实现以研促教、以教助研的良性循环。

(3) **便携式检测技术创新** 突破传统大型仪器依赖，引入胶体金试纸条实现肉眼可视化检测，结合试纸条读取器完成定量分析，构建“田间现场-实验室”联动的智慧检测雏形，凸显POCT技术在农业场景的应用价值。

(4) **课程思政与专业融合** 以诺贝尔奖案例激发创新意识，通过病害检测实践强化科技助农使命感；结合基因编辑伦理研讨与技术标准化操作训练，引导学生树立学术诚信与工匠精神，深化把论文写在祖国大地上的科研价值观。

3.3 课程评价

通过匿名问卷调查(共收集有效问卷58份)和访谈发现，学生对该实验教学的整体反馈积极且成效显著。在知识掌握方面，93.1%的学生表示通过实验“深入理解CRISPR技术原理”和“DNA水凝胶的跨学科应用”，表明实验设计有效促进了学生对前沿技术理论的理解。实践能力提升方面，86.2%的学生认为“试纸条检测流程的动手操作”显著强化了仪器操作技能和数据可视化能力，尤其是试纸条显色结果判读和定量分析环节，使学生对POCT技术的应用逻辑有了直观认识。同时，实验通过引入CRISPR技术(基因编辑)、DNA水凝胶(智能材料)与试纸条检测(分析工具)，将分子生物学、材料化学与分析化学的核心知识点有机串联。96.6%的学生认为此类多维度整合实验促进了他们对“基础原理→技术创新→实际应用”逻辑链的理解，培养了他们跨学科思维与系统性问题解决能力^[24]。特别是，以马铃薯晚疫病检测为切入点，学生将该实验项目结合学校的“三下乡”进行实践活动，深入田间调研，普遍认为该实验紧扣乡村振兴战略需求，强化了他们的知农爱农意识，实现了专业知识与家国情怀的有机统一。

此外，在客观成绩对比中，实验组与未参与该实验的平行班级相比，《现代生化分析》课程的期末成绩平均分提升5%。具体题型分析显示，实验组在“分子诊断技术应用”和“实验方案设计”两类题型的得分率显著高于对照组，表明实验教学不仅强化了理论知识的应用能力，还提升了学生解决复杂问题的综合素养。

4 结论

本教学实验通过整合CRISPR/Cas12a基因编辑系统、DNA水凝胶智能响应材料与胶体金试纸条技术，构建了“基因识别-材料响应-可视化检测”一体化教学平台，实现了农业病害特征基因的高灵敏检测。实验设计以跨学科融合为核心，学生通过DNA水凝胶合成与表征、CRISPR靶标激活及试纸条检测等实践环节，系统掌握了分子识别、动态材料调控与POCT技术原理，强化了理论应用与创新实践能力。该综合性实验教学设计突破了传统本科教学对大型仪器依赖的局限性，通过商业化试纸条和基于RCA扩增的DNA水凝胶构建策略，显著降低了教学成本，同时为农业现场多病原体快速筛查提供了技术原型。教学实施结合科研反哺与课程思政，以科技助农为导向，培养了学生解决复杂问题的

综合素养,推动了科研成果向教育与社会服务的有效转化,为化学专业复合型人才培养提供了创新路径。

参考文献:

- [1] Tang H, Liu D S, Chen W, Chen S. *Theor. Prac. Contemp. Educ.* (唐皓, 刘德顺, 陈武, 陈硕.当代教育理论与实践), **2022**, 14(2): 147-151.
- [2] Jiang H, Deng Y L, Lü X F, Liu Y, Li A Y, Li X Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2025**, 267: 116836.
- [3] Grant B D, Anderson C E, Williford J R, Alonzo L F, Glukhova V A, Boyle D S, Weigl B H, Nichols K P. *Anal. Chem.*, **2020**, 92(16): 11305-11309.
- [4] Xiang S Y, Su X N, Zhang Y Y, Chen J J, Yang X Q, Shen Y D, Yang J Y. *J. Instrum. Anal.* (向四意, 苏晓娜, 张咏仪, 陈俊杰, 杨旭琼, 沈玉栋, 杨金易.分析测试学报), **2024**, 43(6): 928-932.
- [5] Zhou S Y, Zhu X J, Song S S, Sun M Z, Kuang H, Xu C L, Guo L L. *Food Microbiol.*, **2024**, 121: 104510.
- [6] Chang W D, Liu W P, Liu Y, Zhan F F, Chen H F, Lei H T, Liu Y J. *Microchim. Acta*, **2019**, 186(4): 243.
- [7] Yang H, Ge L Y, Liang Z Q, Shen H R, Liu Y J, He K Y, Liu W P. *J. Anal. Test.*, **2025**, 9(1): 71-81.
- [8] Xu W T, He W C, Du Z H, Zhu L Y, Huang K L, Lu Y, Luo Y B. *Angew. Chem. Int.*, **2021**, 60(13): 6890-6918.
- [9] Bai F T, Ga L, Ai J. *Part. Part. Syst. Char.*, **2023**, 40(3): 2200176.
- [10] Xi L Q, Shang Y T, Wang Z Z, Wang J, Wu Q P, Shen Y Z, Ding Y. *Coordin. Chem. Rev.*, **2024**, 518: 216084.
- [11] Wang H Y, Wang X M, Si J Y, Bian X J, Lai K Q, Zhu C F, Yan J. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2025**, 287: 138549.
- [12] Tang J P, Liang A Q, Yao C, Yang D Y. *Chem-Eur. J.*, **2023**, 29(9): e202202673.
- [13] Swarts D C, Jinek M. *Mol. Cell*, **2019**, 73(3): 589-600.
- [14] Li T, Li N. *J. Instrum. Anal.* (李甜, 李娜.分析测试学报), **2022**, 41(4): 520-528.
- [15] Zhan F F, Wang T, Iradukunda L, Zhan J S. *Anal. Chim. Acta*, **2018**, 1036: 153-161.
- [16] Hanpanich O, Lomae A, Maruyama A, Palaga T, Chailapakul O, Ngamrojanavanich N. *Biosens. Bioelectron.*, **2023**, 221: 114352.
- [17] Gong S H, Song K X, Pan W, Li N, Tang B. *Anal. Chem.*, **2024**, 96: 15789-15796.
- [18] DB15/T 2957-2023. PCR Detection Method for *Phytophthora infestans*. Inner Mongolia Autonomous Region Market Regulation (马铃薯晚疫病病菌PCR检测方法.内蒙古自治区市场监督管理局).
- [19] DB23/T 1234-2008. Detection Method for Potato Late Blight. Heilongjiang Province Bureau of Quality and Technical Supervision (马铃薯晚疫病检测方法.黑龙江省质量技术监督局).
- [20] Wang Y, Fu L T, Tao D G, Han X S, Xu B R, Deng M F, Li S, Zhao C Z, Li X Y, Zhao S H, Gong P, Yang Y, Khazalwa E M, Ma Y L, Ruan J X, Li C C, Xie S S. *ACS Synth. Biol.*, **2023**, 12: 2051-2060.
- [21] Hu F, Zhang Y Y, Yang Y, Peng L X, Cui S H, Ma Q, Wang F N, Wang X C. *Biosens. Bioelectron.*, **2025**, 280: 117428.
- [22] Wang X J, Zhao C X, Yin N N, Wang X, Shu Y, Wang J H. *Anal. Chem.*, **2025**, 97: 3053-3062.
- [23] Gong S. H, Wang X, Zhou P, Pan W, Li N, Tang B. *Anal. Chem.*, **2022**, 94: 15839-15846.
- [24] Tian X J, Luo Y L, Wang S L. *Food Ind.* (田晓菊, 罗玉龙, 王松磊.食品工业), **2025**, 46(3): 237-239.

(责任编辑:胡雪玉,盛文彦)