

RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验在分子生物学检验技术教学中的实施分析

李 琼

广西医科大学附属武鸣医院 广西南宁 530100

【摘要】目的 探讨 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验在分子生物学检验技术教学中的应用价值。**方法** 2018 年 1 月至 2021 年 1 月, 在我院选取 35 名医疗检验专业学生作为研究对象, 按随机数字表法分组 (实验组 17 名、对照组 18 名)。对照组未接受实验教学, 运用常规教学方法, 实验组在对照组基础上增加 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验教学。对收集数据进行统计分析后, 对比两组教学前后考核成绩及学习依从性。**结果** 教学前两组基础理论知识、实践操作考核成绩对比均无意义 ($P > 0.05$), 教学后两组成绩均有所提升, 实验组提升幅度更大, 组间存在明显差异 ($P < 0.05$); 实验组实习生学习依从性高于对照组 ($P < 0.05$), 分别为 94.12%、61.11%。**结论** RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验是分子生物学检验技术教学中不可或缺的一项教学任务, 能全面提升理论知识与临床实践能力, 建议采纳。

【关键词】 RNA 提取; RNA 定量; RT-PCR 综合性实验; 分子生物学检验技术

【中图分类号】 R-4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1002-3763 (2022) 08-006-02

【基金项目】 课题名称: 广西医科大学教育教学改革项目 (2021XJGBC05)

分子生物学是研究核酸、蛋白质等生物大分子的形态、结构特征及其重要性、规律性和相互关系的学科, 20 世纪 50 年代, 英国物理学家 Crick 和美国遗传学家 Waston 首次提出了 DNA 双螺旋结构模型, 这标志着分子生物学检验开始兴起, 经多年的研究, 分子生物学检验技术开始广泛应用于临床, 引领着生命科学的发展方向, 目前分子生物学检验技术开始广泛应用于临床检验、传染病预防预控制、疾病诊断、卫生检验等方面, 发挥着不可或缺的作用^[1-2]。RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验则是分子生物学检验技术教学的关键所在, 是决定医疗检验专业学生综合能力的核心要素, 对比常规教学方法, RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验则容许学生直接接触实践, 将理论与临床实际结合, 由此可提升其综合能力, 为其后期职业及技术发展奠定了良好基础^[3]。鉴于此, 本次研究筛选出 35 名医疗检验专业学生作为研究对象, 将未接受实验教学 (常规教学) 与接受 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验的学生进行对照, 以此分析该综合性实验教学的实际应用价值, 现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

以随机数字表法作为分组依据, 将 35 名医疗检验专业学生分为对照组 ($n=18$) 及实验组 ($n=17$), 选取时间: 2018 年 1 月—2021 年 1 月。对照组纳入男性 10 名、女性 8 名, 年龄最小 21 岁, 最大 24 岁, 均值 (22.07 ± 2.02) 岁, 本科 8 名、大专 10 名; 实验组纳入男性 12 名、5 名, 年龄最小 21 岁, 最大 24 岁, 均值 (22.17 ± 2.06) 岁, 本科 7 名、大专 10 名。所有学员生均详细了解研究内容, 且组间一般资料无差异, $P > 0.05$ 。35 名学生均为全日制医疗检验专业学生。排除配合度较低、中途退出的学生。

1.2 方法

对照组未接受实验教学, 运用常规教学方法: 学生由临床经验丰富的老师进行统一教学, 按医疗检验实施教学。

实验组在对照组教学基础上增加 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验教学: 试剂与材料包括无水乙醇、氯仿、

1.5ml Eppendorf 管 (RNase-free)、Tips (RNase-free) 等。样本处理: 收获细胞 $1 \sim 5 \times 10^7$, 加入 1ml Trizol (异硫氰酸胍/酚) (在冰箱旁边取出白细胞即刻加入 Trizol), 混匀; 用 1ml 注射器反复抽取 (约 30 次) 以破裂细胞及剪切 DNA, 室温静置 5min (使核酸蛋白复合物完全分离); 口咽拭子样本: 和外标质控品使用核酸提取试剂进行核酸提取, 通过核酸扩增试剂 (Inf. A/Inf. B/ β -actin 扩增反应液、Taq DNA 聚合酶、M-MLV 反转录酶) 进行扩增, 并实时采集荧光信号, 仪器软件系统自动绘制出扩增曲线。根据荧光背景信号确定阈值后, 得到未知样本的阈值循环值 (Ct 值), 实现对未知样本的检测。

1.3 观察指标

(1) 对比两组学生考核成绩。分别于教学前及教学 30 日后由老师组集中考核。考核内容主要包括基本理论知识及临床实践技能。两项考核内容总分均为 100 分, 分越高则表示成绩更优。

(2) 对比两组学习依从度。完全依从: 学习兴趣强, 积极完成学习任务; 部分依从: 主动学习略差, 基本可完成学习任务。不依从: 无自主学习^[4]。总依从率 = (完全依从率 + 部分依从率) / $35 \times 100\%$ 。

1.4 统计学处理

选择 SPSS22.0 软件对研究内全部数据实施计算处理, 以 % 形式表达计数资料, 开展卡方检验; 以 ($\bar{x} \pm s$) 形式表达计量资料, 开展 t 检测, 在计算结果显示 $P < 0.05$ 时, 提示数据差异有统计学分析意义。

2 结果

2.1 两组考核成绩比较

教学实施前两组考核成绩对比均无意义 ($P > 0.05$), 教学实施后两组基础理论知识、实践操作考核成绩均有明显提升, 但实验组提升幅度更大, 组间存在差异 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 两组学习依从性对比

实验组实习生学习依从性高于对照组 ($P < 0.05$), 分别为 94.12%、61.11%, 见表 2。

表 2: 学习依从性对比 (名)

组别	完全依从	部分依从	不依从	总依从率(%)
对照组 (n=18)	6	5	7	11 (61.11)
实验组 (n=17)	10	6	1	16 (94.12)
χ^2	/	/	/	5.402
P	/	/	/	0.020

3 讨论

分子生物学检验技术是医疗检验专业学习的重要课程,其掌握度直接与学生最终成绩、未来发展及临床能力相关,因此,采取科学的临床教学对医疗检验专业学生具有重要意义^[5]。

针对医学检验专业的常规教学的模式是一种固定化的教学模式,该教学模式往往忽略了理论与实践的结合,教学状态为“填鸭式”、“灌输式”的理论灌输,无法真正锻炼学生实践能力,同时由于学生接受能力的差异,部分学生对相关知识的掌握程度并不理想^[6]。为进一步提升教学质量,加速学生对分子生物学检验相关知识的理解,教学管理者开始将 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验穿插与教学流程中并取得了较理想的教学效果,获得了广泛认可^[7]。本次研究结果显示:教学前两组基础理论知识、实践操作考核成绩对比均无意义($P > 0.05$),教学后两组成绩均有所提升,实验组提升幅度更大,组间存在差异($P < 0.05$)。该项研究结果提示 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验能强化学生理论知识的学习、培养学生实践能力,两组数据出现如上差异的原因分析如下:分子生物学检验技术的相关理论知识较为抽象,理解难度较大,而常规教学的重点大多停留与课本,因此该教学模式存在明显缺陷,通过 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验能促使学生在实验中将理论知识转化为实物,例如如何测量吸光度、比对凝胶电泳结果、RNA 清洗、RNA 重溶、RNA 产量测定、RNA 沉淀、样本制备/处理等,因此实验组实践考核成绩较对照组更高^[9];从另一个角度通过 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验亦能发挥巩固学生理论知识的作用,原因在于实验的每个步骤均需要对照书本习的相关知识,有利于加深学生对相关知识的印象,是一个“实践—反思—调整—再实践”的循环过程^[10];同时在接受实验教学前学生需大量阅读或查询书实验步骤、注意事项、最终结果判定等相关知识,在这个过程中实现对常规理论知识的拓展与更新,可激发、刺激回忆、提供学习指导、促进学习迁移,因此实验组学生教学后的理论成绩相对较高^[11]。其次本次研究结果显示:实验组实习生学习依从性高于对照组($P < 0.05$),分别为 94.12%、61.11%,研究结果提示通过 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验能调动学生的学习兴趣,原因分析如下:在实验教学实

施过程中,学生处于完全独立个体或群体,自微量加样到如何使用离心机,提取试剂的制备到 RNA 的提取,在上述操作过程中教导者的扮演角色仅为监督者,定期给予督促、提醒,在这种教学模式下,学生能全身心的投入到学习中,通过各项操作能激发学习兴趣,故该综合性实验教学学习分子生物学检验技术相关知识的核心动力,因此实验组学生的学习依从性更高^[12]。

综上所述,在分子生物学检验技术教学中穿插 RNA 提取、定量及 RT-PCR 综合性实验能提升患者理论成绩及实践能力,同时可提升学习依从性,建议采纳。

参考文献

[1] 刘凌云. 理论与实践相结合在生物化学教学设计中的应用——以 PCR 技术为例 [J]. 生命的化学, 2021, 41(7):1632-1636.

[2] 朱宇, 宋桂瑜, 冯莎娜, 等. 检验医师规范化培训临床微生物学专业教学模式探索与实践 [J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(15):1909-1912.

[3] 伊洁, 吴洁, 杨启文, 等. 临床分子生物学检验进修生临床教学实践与体会 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17(16):2422-2423.

[4] 黄曦悦, 王婷婷, 李冬冬, 等. 基于 SPOC 与虚拟仿真试验混合式教学的探索与实践——以临床微生物学检验技术为例 [J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(15):1908-1911.

[5] 陈凤花, 胡丽华, 耿帆, 等. 《临床分子生物学检验》课程教学探讨 [J]. 临床血液学杂志, 2020, 33(10):721-722.

[6] 李欣, 赵玉红, 赵立青, 等. 实时定量 PCR 技术在本科实验教学中的应用 [J]. 实验技术与管理, 2018, 35(6):198-202, 210.

[7] 陈莹, 徐新明, 谢常宝, 等. 临床分子生物学检验教学中的 PBL 创新实践及其推广分析 [J]. 中华医学教育探索杂志, 2018, 17(12):1205-1210.

[8] 伦永志, 孙杰, 潘凌鸿. 临床微生物学检验课程创新性教学设计与思考 [J]. 中国微生物学杂志, 2019, 31(1):101-103.

[9] 张雪燕, 姚海燕, 郝春燕, 等. 临床生物化学检验技术课程中 PBL+CBL 教学案例的编写 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(4):582-584.

[10] 黄晶晶, 孙宏莉, 范洪伟, 等. 临床微生物学教学模式改革探索 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(3):419-422.

[11] 宋亚坤, 张敏, 王翘楚, 等. 利用 RNA 干扰技术沉默基因表达在本科实验教学中的设计与实践 [J]. 遗传, 2019, 41(7):653-661.

表 1: 对比教学前后考核分数 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	基础理论知识		实践操作考核	
	教学前	教学后	教学前	教学后
对照组 (n=18)	81.09±8.18	84.01±8.53	80.96±8.02	83.94±8.52
实验组 (n=17)	81.17±8.25	90.06±9.01	80.95±8.04	89.97±9.01
t	0.029	2.041	0.004	2.045
P	0.977	0.049	0.997	0.049