UPPSALA
UNIVERSITET

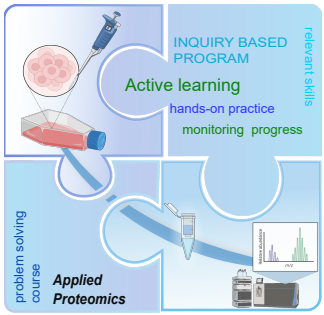
Studentstyrda laborationer: experimenten i centrum

Erik T. Jansson*

Institutionen för farmaceutisk biovetenskap, Uppsala universitet

E-mail: erik.jansson@farmbio.uu.se

Abstract



Den snabba utvecklingen av experimentell metodik inom data-driven livsvetenskap gör det oerhört viktigt att studenter utrustas med aktuella verktyg och kunskap rörande hur man erhåller och tolkar modern data. Medan laborationsövningar är sedan länge väl etablerat inom livsvetenskaperna för undervisningssyfte, anser vi att det finns utrymme för hur laborationsövningar utförs. Vi har här designat och utvecklat en kurs där laborationsövningar har primärt fokus och studenterna själva får formulera biologiska frågeställningar som de själva får försöka besvara. Studenterna får stöd via föreläsningar och seminarier som leder dem genom de steg som behöver genomföras, experimentell provberedning, proteomisk analys med masspektrometri samt utvärdering av de biologiska resultat som erhålls. Den problembaserade inlärningsmetod vi använt här gav enligt intervjuer med studenter en djupare förståelse av de laborationshandledningar de själva fick skriva, och som de sedan följde för att utföra sina egna experiment.

Nyckelord: *Analytisk kemi, molekylär biologi, masspektrometri, proteiner/peptider, multidisciplinärt, laborationshandledning, grundutbildning, problembaserad inlärning.*

Projektbeskrivning

Introduktion

Kursen proteomik för läkemedelsutveckling på avancerad nivå som ges av farmaceutiska fakulteten erbjöds första gången VT 2020. Ett moment som det läggs stort vikt på inom kursen är en proteomisk studie där studenterna ska få laborationserfarenhet av experiment och provberedning för att analysera läkemedelseffekter på celler in vitro. I de flesta kurser ges föreläsningar och sedan sätts ett laborationsprotokoll i handen på studenten för att praktiskt befästa de nyligen vunna teoretiska kunskaperna.

Gott så, men oftast är förståelsekurvan ganska brant mellan laboration och föreläsning. Studenterna har oftast många saker samtidigt att hålla reda på inom en kurs och allmän tidsbrist gör att djupare förståelse hinner inte uppstå. Laborationsprotokollet blir oftast snabbt genomskummat på kvällen innan för att klara säkerhetsförhöret och sedan följa ”receptet och få godkänt på laborationstillfället. Förståelse för vad som händer blir ytligt. Detta stöds av en sammanställning[1] som lyfter fram studier som visar att studenter sällan har en tydlig uppfattning om syftet med deras laborativa övningar[2]. Dessutom överensstämmer sällan studenternas uppfattning av målet med laborationen med lärarnas mål[3–5], vilket i sin tur kan leda till negativa konsekvenser för inlärning[6]. En bättre koppling mellan teoretiskt stoff och laborationsövningar är alltså önskvärt!

Syfte och utförande

Vi har vid design av kursens delmoment utgått från att laborationerna i kursen ska vara det centrala lärandemålet och all kunskapsförmedling (föreläsningar, video-genomgångar, seminarier, självstudier) ska finnas där för att ge studenterna en tydlig förståelse för varför, hur och vart vi utför mätningar. Specifikt ska laborationerna vävas samman tydligt med föreläsningarna via planeringsseminarier och litteraturuppgifter. Detta gjordes genom att från dag ett i kursen instruera studenterna om att de individuellt kommer att få besvara en biologisk frågeställning (som de får definiera själva enligt en rad kriterier) och sedan steg för steg introducera metodiken för laborationerna (i kronologisk ordning efter vad arbetsflödet kräver för sådan analys). Detta sker samtidigt som de under självstudier och handledda seminarier får diskutera och resonera sig fram inför vad som är lämpliga angreppssätt för att lösa problemet. Slutligen genomfördes den planerade delen i en laboration där studenterna fick använda sig av sin egna laborationshandledning som stöd för det praktiska arbetet. Detta exponerade studenterna för ett arbetsflöde som är identiskt med metodiken i en forskningsmiljö, det är ytterst sällan ett ”riktigt” projekt utförs på 8 timmar i en laborationssal.

Hypotesen som ledde vårt utvecklingsarbete var att denna problemlösningsbaserade metodik skulle göra studenterna mer medvetna om vad varje steg i laborationen innebär samt att de inom ramen för kursens experimentella del skulle få möjligheten att fokusera på en läkemedelsbehandling som de själva är intresserade av, vilket ytterligare borde bidra till att stärka studenternas motivation för inlärande. Projektet inleddes med planering av hur förmedling av kunskapsstoff tidsmässigt bäst skulle kunna sammanvävas med självstudier och diskussionsseminarier med laborationer. Detta gjordes genom att bryta upp arbetsflödet för en proteomisk studie och identifiera vilka kunskapskomponenter som var kritiska vid en viss tidpunkt under arbetsflödet. För att utvärdera befintliga kunskaper inom området samt identifiera potentiella problemformuleringar för laborationskursen intervjuades de apotekarstudenter som valt att läsa kursen under den första kursveckan. Det framtagna upplägget implementerades när kursen gavs 2020–2022.

Projektgrupp

Personer som ingått i projektet (samtliga vid institutionen för farmaceutisk biovetenskap):

- Erik Jansson, biträdande universitetslektor, projektkoordinator
- Friederike Sandbaumhüter, forskare (leg. apotekare), utvärdering av programmeringsmoduler
- Jordan Aerts och Mariya Nezhyva, doktorander, kommer undersöka de tekniska förutsättningarna för vart ramarna för studenternas laborationer måste dras och designade seminarie-modulerna
- Kursdeltagarna

Kursmål

I kursplanen för 3FF031 Proteomik för läkemedelsutveckling återfinns följande mål: Studenten ska efter godkänd kurs kunna

- Identifiera, förklara och motivera användandet av masspektrometri som verktyg vid biologisk läkemedelsutveckling under preklinisk och klinisk fas
- Identifiera, förklara och motivera val av analytiska separationstekniker kopplat till masspektrometri beroende på provtyp
- Designa strategier för identifiering av målprotein och ledande strukturer för läkemedelsutveckling med proteomiska analysmetoder
- Använda grundläggande provberednings- och analystekniker för proteomiska studier
- Tillämpa bioinformatiska metoder för analys av kvalitativ och kvantitativ data från proteomiska studier och redovisa bakgrund, metod och erhållna resultat i form av en vetenskaplig rapport på god fackspråklig svenska eller engelska.

Genomförande och metod

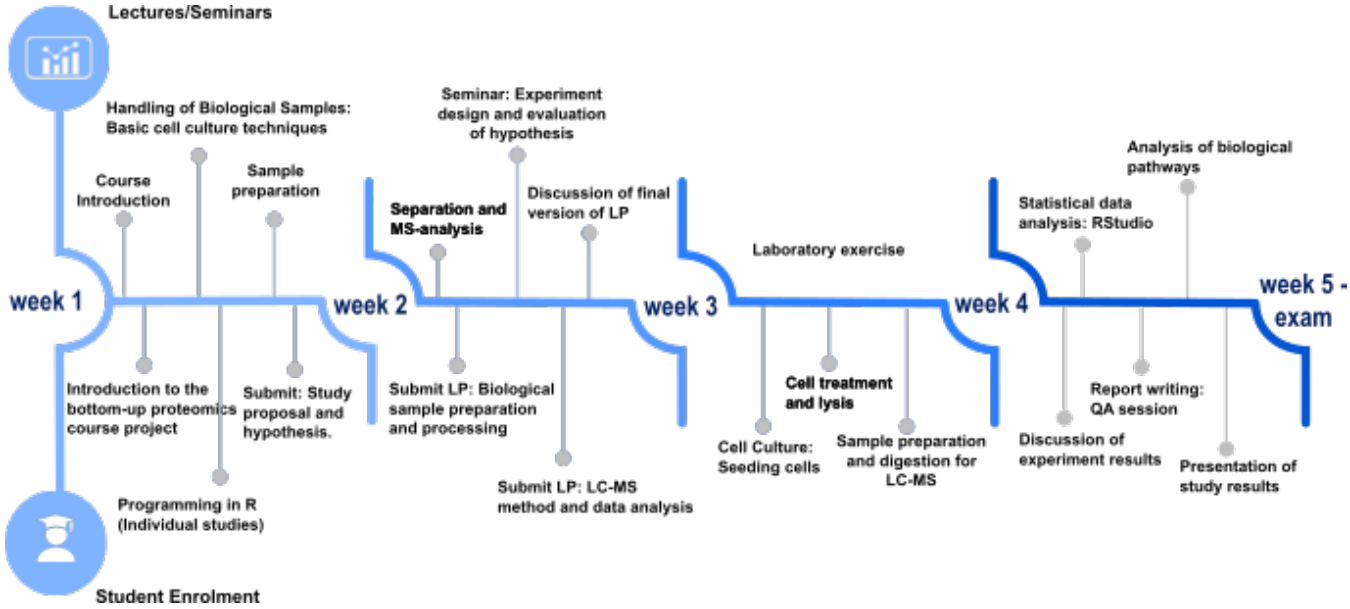
För att implementera studentaktivt inlärande inom kursen lades utvecklingsarbete på parallelisera undervisningsteg (föreläsningar och seminarier) i fas med studenternas egna projekt som de själva skulle driva framåt (Figur 1). Understöd med instruktioner om delmål (utkast, inlämningar, återkoppling) gavs vid kursstart. Sammanfattningsvis omfattar kursens upplägg i huvudsak individuell utveckling av en experimentell laborations-handledning av varje kursdeltagare. Studenterna introduceras till denna uppgift under det första seminariet. Allteftersom kursen fortgår hjälper varje föreläsning och seminarium studenterna framåt med planering av nästa steg i laborationsprotokollet.

Huvudsyftet med kursen är att lära ut strategier och processer för arbetsflöden inom proteomisk analysis. De steg som tas upp inkluderar exempel för de mest vanligt förekommande stegen inom ett proteomiskt experiment. För att förse studenterna med goda kunskaper och förståelse av proteomik inom en femveckorsperiod behöver laborationsövningarna integreras väl med handledning via föreläsningar och seminarier.

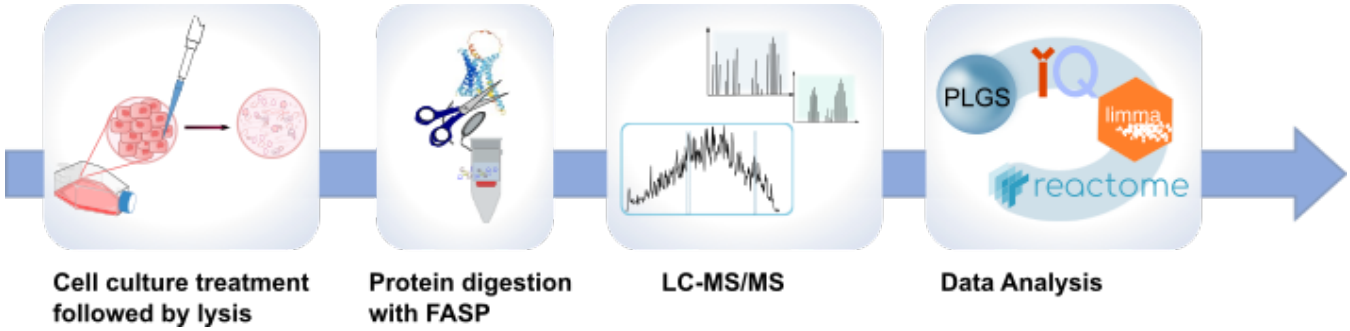
Studenternas uppgift

Studenterna ombads att planera och utföra en studie av hur läkemedel påverkar proteomet för en särskild biologisk cellinje. Studenterna fick en lista med tillgängliga läkemedel de fick välja fritt från och vilken sorts celler de skulle vilja använda. På så sätt fick studenterna redan vid problemformuleringsstadiet en möjlighet att utvärdera rimligheten av experimentet och att formulera en hypotes om det möjliga utfallet. Föreläsningarnas mål vara att steg för steg ge studenterna grundkoncept och kunskap som är viktiga för laborationsplaneringen. Ett upplägg för kursen ges i Figur 1.

Genom det aktuella kursupplägget tillåts studenterna omsätta erhållen teoretisk kunskap i praktiken. Varje föreläsning är därför väl förankrad i processen för att designa laborationshandledningen. Trots att



Figur 1: Översikt av kursens planering och upplägg.



Figur 2: Arbetsflöde för proteomiska experiment.

studenterna till slut (är tvungna) att välja den mest lämpliga metoden, måste de kritiskt utvärdera alla metoder som lyfts fram under föreläsningarna. Under de första veckornas föreläsningar kunde studenterna direkt tillämpa deras kunskaper för att skriva och skicka in ett utkast av ett laborationsprotokoll till laborationshandledaren, som ger återkoppling på protokollet. Laborationshandledarens roll vid detta steg är att peka ut de förändringar som måste göras för att få protokollet kompatibelt med den utrustning och materiel som är tillgängliga för användning.

Kortfattat omfattar laborationsövningen följande delar: arbete med cellodling och läkemedelsbehandling, proteomiska mätningar med masspektrometri följt av data-analys.

Biologisk provberedning

Det första steget i laborationsprotokollet som studenterna behöver behärska och beskriva är beredning av biologiska prover, som ska maximera proteomisk kvantitativ och kvalitativ information. Studenterna introduceras till cellodling av den typ de själva valt. Detta moment integreras tidsmässigt väl med föreläsningar rörande biologiska prover, 3R (reduction, refinement, replacement), aseptiska tekniker och planering av de mängder biologiskt material som krävs för att utföra studien. För att kunna analysera proverna, får studenterna lära sig att minimera kontaminering av prover, uppskatta prov-till-prov variation, bedöma provkomplexitet och att använda reagens som är kompatibla med masspektrometri.

Upprening

Det finns en mångfald av provberedningsmetoder för proteomik, där valet ofta beror på den experimentella studiens mål. I den här kursen lade vi emfas på de metoder som är lämpliga för s.k. botten-upp proteomik. Studenterna introduceras till filterpreparation[7], en metod som ger god täckningsgrad av proteomet med den utrustning vi använder oss av (nanoLC ACQUITY och Synapt G2-Si MS, Waters Corporation, Manchester, Storbritannien). Studenterna instruerades till hur denna metod används med föreläsningar och utdelad litteratur, och fick planera följande steg: cell lysering, filter-tvätt, provupprening, reduktion och alkylering av proteiner följt av digrering (Figur 2).

LC–MS

Efter att ha förstått biologisk provberedning behövde studenterna därefter vägledas till de instrumentalla metoderna. Föreläsningarna täcker därför i detta skede in analytiska separations- och detektionstekniker med fokus på vätskekromatografi–masspektrometri. Vi tog hänsyn vid planeringen av detta moment att studenterna inte har någon praktisk erfarenhet av masspektrometri. Därför är detta moment väldigt detaljerat, där vi täcker in generell masspektrometri och dess fundamentala principer, in till olika mätningslägen. I laborationsprotokollet var studenterna tvungna att definiera de operativa parametrar som skulle användas på instrumentet. Detta var en s.k. förutsättningslös analys som krävde data-independent acquisition (DIA). Studenterna fick också bekanta sig styrningsmjukvaran av instrumentet.

Data-analys

Studenterna fick därefter lära sig hur databassökningarna går till för att identifiera proteiner ur LC–MS data. Här fick studenterna också information om relevanta statistiska metoder. För att kunna tillgodogöra sig dessa kunskaper uppmanades studenterna att utföra självstudier på Codecadamy för att erhålla grundläggande kunskaper inom programmeringsspråket R.

Biologisk tolkning

Slutligen fick studenterna interagera och utforska den data de genererat med webbgränssnittet hos Reactome (www.reactome.org). Studenterna fick ladda upp deras dataset med proteindata och analysera de biokemiska

reaktionsvägar som påverkats av deras läkemedelsbehandling. Användning av Reactome ger studenten direkt återkoppling med specifika detaljer och vilka proteiner som funnits påverkade inom en viss reaktionsväg och med information om hur reaktionsvägen kopplar vidare till andra biokemiska processerm vilket ger en holistisk överblick av det komplexa nät som reaktioner i ett biologisk prov utgör (Figur 3–4).

Resultat och utvärdering

Framtagandet och genomförandet av en laborationscentreradkurs bottnar i att tidigare studier visat att laborationer ofta uppfattas av studenter som frikopplade från övrigt kunskapsstoff i en kurs. Forskningsstudier har påvisat att studenters och lärares uppfattning om vad målet med laborationen är oftast skiljer sig. Kopplingen mellan laborationer och föreläsningar ses oftast tydligare av lärare med mycket erfarenhet men är svårare att skönja för studenterna.

Intervjuer med de studenter som gick kursen 2020-2022 genomfördes under slutet av varje kurstillfälle för att utvärdera deras upplevda erfarenheter av denna kurs gentemot kurser med traditionell laborationsundervisning. Upplägget upplevs ha bidragit positivt och stärkt inlärande, nästa steg kommer bl.a. vara att förmedla konceptet till andra kurser på universitetet där syftet är att lära ut laborativ arbetsmetodik.

Enkäter för att erhålla återkoppling från studenterna utfördes med Mentimeter (www.mentimeter.com). Information samlades in om studenternas självskattning av kunskap inom kursområden och preferenser för undervisningsstilar (Tabell 1–2). Tabell 1 visar studenternas självvskattning av uppfyllda inlärningsmål, och reflekterar en ökning av kunskap inom samtliga fält. Ur ett lärarperspektiv visar utvärderingen av inlämnade laborationsrapporter och den skriftliga examineringen att studenternas självskattningarna är rimliga. Tabell 2 visar effektiviteten och motivationen som åstadkoms genom olika utlärningsstilar. Kortfattat så har metoden att studenterna får skriva sin egen laborationshandledning och sedan utföra experimenten varit väldigt värdefullt enligt studenterna, medan demonstrationslaborationer inte anses vara lika värdefulla.

Tabell 1: Studenters självskattning av kunskapsnivåer (1–5) inom kursens delämnen (n=6 studenter).

Ämne	Poäng
Masspektrometri	3.5
Proteomik	3.2
Kromatografi	3.8
Programmering	1.7
Cellbiologi	4.2
Antiseptiska tekniker	3.9

Tabell 2: Studenter värdering av utlärningsstrategier (1–5) (n=6 studenter).

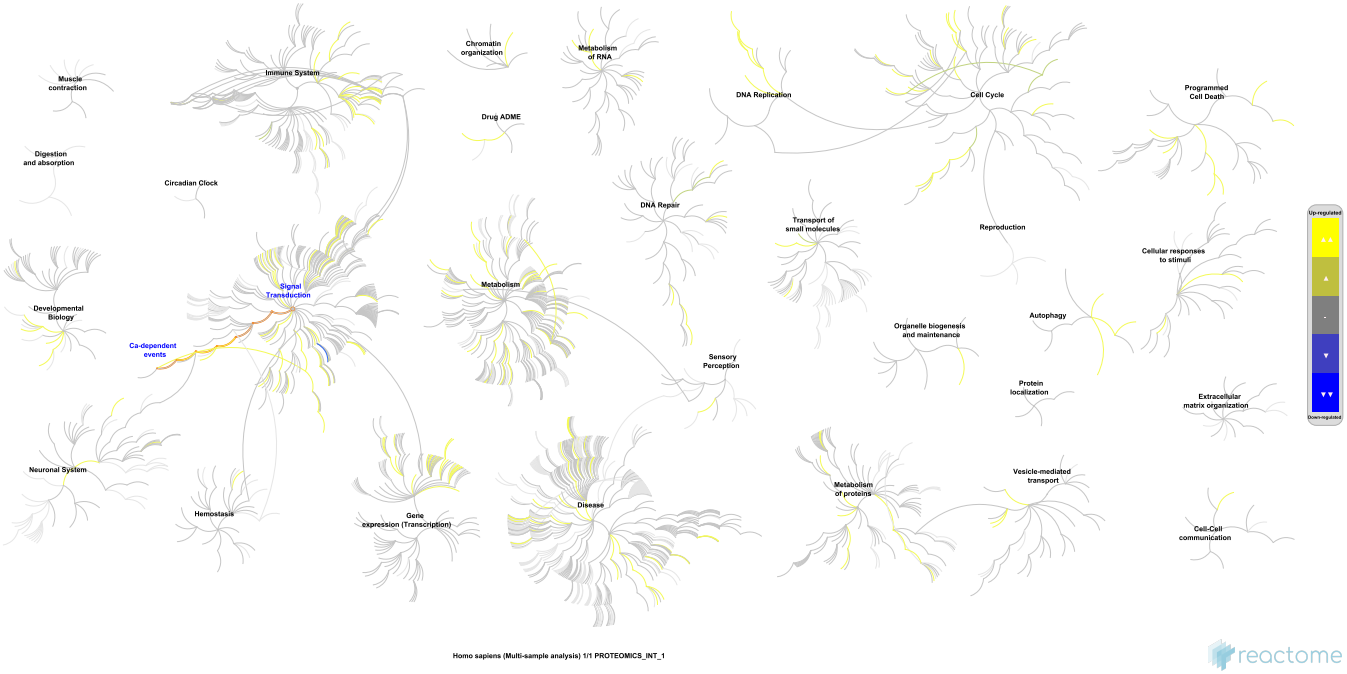
Metod	Poäng
Praktiskt arbete	4.7
Egenförfattad instruktion	3.9
Utdelade manualer	2.4
Demonstrataioner	2.7
Förinspelade videos	3.3

Kursutvärderingarna visaede att kursen stärkte studentaktiv inlärning. Detta ansågs vara en viktig del av kursen som gjorde ämnet och kursstoffet mer tillgängligt att ta åt sig. Särskilt ansågs skrivandet av en egen laborationshandledning vara ett gott stöd för att möta kursmålen.

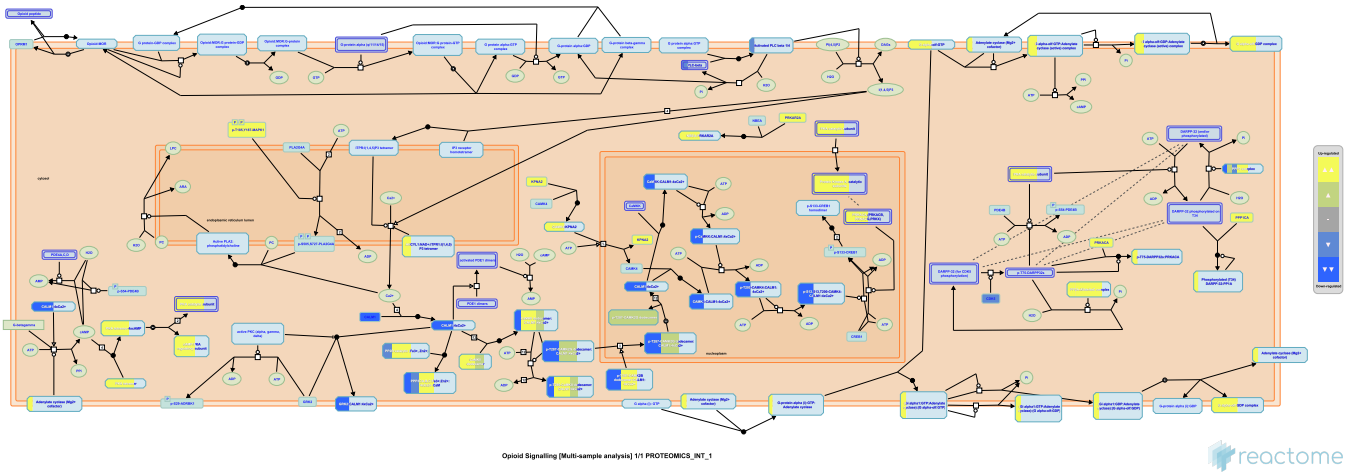
Studentåterkoppling

> ”Att få den här sortens handgripliga undervisning är väldigt ovanligt, snälla behåll det här undervisningssättet, jag är väldigt positivt inställd till det.”

> ”Det var nyttigt för oss att skriva våra egna laborationshandledningar”



Figur 3: Översikt av molekylära reacktionsvägar i Reactome. Det fritt tillgängliga och webbaserade gränssnittet möjliggör interaktiv utforskning av framtagen data som studenterna kan utforska på egen hand.



Figur 4: Detaljerad vy av kalciumberoende reaktionsväg Figur 3. Här syns individuella reaktionsvägar, proteiner och en del av deras interaktioner.

> ”Jag gillar att vi såg masspektrometrin på riktigt och arbetade med den”

> ”Att skriva min egen laborationshandledning hjälpte mig att lära mig bättre om processen och orsaken till varje steg som gjordes, behåll detta!”

Förslag på förbättringar gavs även:

> ”Vi behöver mer förklaringar och seminarier för att diskutera metoder och verktyg som R, reactome, panther...”

Diskussion

Att undervisa inom en disciplin som ligger väldigt nära forskningsfronten är i sig självt en utmaning. Proteomik är ett sådant ämne, vilket gör att till skillnad från t.ex. allmän kemi där undervisningsmaterial till större del är statiskt, så får proteomik ett behov av anpassningsbarhet även vad gäller laborativ undervisning. Här har vi valt att fokusera kursens koncept på att studenterna får lära sig metodologi för att kunna planera experimentellt arbete generellt, vilket gör studenterna bättre anpassade för att lösa problem inom ett fält där metoder löpande förändras och förbättras. Detta angripssätt kan givetvis användas även i andra kurser.

De kriterier vi funnit som viktiga i vår kursutveckling för studentaktivt lärande är att handhålla verktyg så att studenterna håller sig uppdaterade med hur det vetenskapliga områdesfältet förändras. Framförallt behöver de bli varse om behovet att anpassa deras metodval baserat på snabbt framskridande tekniker. Vidare fann vi att studentaktivt lärande genom eget handledningsskrivande var av stor vikt för att stärkta experimentell planeringsförmåga. Exempelvis kunde studenterna med ett redan förberett protokoll ha använt en C18-kolonn som stationär fas för analys av deras prover med masspektrometri. Om de istället blev ombedda att skriva sin egen handledning med hänvisning till att provupprening måste ske före analys med masspektrometri, så skulle studenterna lära sig att det finns ett flertal olika stationära faser tillgängliga för detta ändamål. Således kommer studenter uppnå en mer detaljerad förståelse av varje steg och kommer själva kunna designa framtida experiment på ett bättre sätt.

Genom att introducera studenterna till ett stort projekt i början av kursen kan de lätt bli överrumplade, men genom att balansera egna studier med handledning så kan effektiv inlärning åstadkommas. Med detta i åtanke lades varje föreläsning in på en viss del av projektets fortskridande. Dessutom ger design av ett protokoll med lärarhandledning möjlighet till dialog, genom vilket studenten kan få ytterligare återkoppling och bibehålla fokus på undervisningsämnet. Kursens planering baserades dels på studenternas tidigare kunskaper inom proteomik och behovet att understödja framgångar i deras kursprojekt. Vi vägde dessutom in aspekter från apotekarprogrammets fokus genom att centrera projektet omkring läkemedel och deras potentiella effekter på biologiska celler. Detta gjordes i kombination med att koppla an till tidigare kunskaper apotekarprogrammets studenter har inom separationsteknik och analytiska metoder (s.k. ”meaning making”)[8].

Tabell 1 visar hur proteomik ansågs vara det delmoment där studenternas självutvärdering pekade på en medelmåttlig kunskapsnivå, som endast slog nivån för programmeringskunskaper. De sex olika delmoment vi fråga om valdes p.g.a. deras relevans till proteomik. Vi noterade att detta var första gången någonsin dessa fjärdeårsstudenter exponerades för arbete med däggdjursceller och associerade arbetsmetoder.

Troligen har få institutioner råd att dedikera LC–MS instrumentering för grundutbildningssyfte, men vi vill poängtera att projektets huvudmål bör snarare ses som träning inom arbetsflödet och tolkning av de biologiska resultat som projektarbetet uppnår, än att studenterna blir fullödiga masspektrometrister (vilket kräver betydligt mer tid och arbete). Många forskningsprojekt inom omics utförs i Sverige på s.k. core facilities som erbjuder tillgång till nödvändig infrastruktur,

och mycket redan befintlig data finns tillgänglig genom t.ex. databasen PRIDE (https://www.ebi.ac.uk/pride/). Således är det helt möjligt att skapa en kurs som helt fokuserar på proteomisk analysis även om det inte finns tillgång till själva instrumenteringen.

Slutsatser

Studentaktiv inlärning är till godo för utbildningsprocesser, särskilt för att säkerställa förståelsen hos studenter för vad kopplingen mellan kursmålen och laborationsövningar är i en kurs, och att förståelse för hur uppfattningen mellan hur denna koppling ser ut finns mellan lärare och studenter. I detta utvecklingsarbete designade vi en kurs med fokus på laborativa övningar där studentaktiv inlärning i utbildningsaktiviteter möttes med positiv återkoppling från studenterna som läst kursen. Dessa metoder verkar ha stärkt inlärningsprocessen för att utbilda studenter inom ämnet proteomik och kommer att behållas som undervisningssätt inom kursen.

Disseminering

Resultaten av kursutvecklingen som delvis återfinns i denna rapport planeras att publiceras i en pedagogisk tidskrift. Eftersom kursen 3FF031 fr.o.m. VT23 är en obligatorisk kurs inom mastersprogrammet för biologiska läkemedel och ett större förväntat studentunderlag (ca 20 studenter) än tidigare, planerar vi att intervjua och sammanställa återkoppling från dessa studentern under nästa år för att med ett större underlag publicera undervisningsupplägget och de slutsatser vi dragit av utvecklingsarbetet.

Referenser

(1) Singer, S. R.; Hilton, M. L.; Schweingruber, H. A. *America's lab report: Investigations in high school science*; National Academies Press: Washington, D.C., 2006.

(2) Chang, H.-P.; Lederman, N. G. The effect of levels of cooperation within physical science laboratory groups on physical science achievement. *J. Res. Sci. Teach.* **1994**, *31*, 167–181.

(3) Hodson, D. Philosophic stance of secondary school science teachers, curriculum experiences, and children's understanding of science: Some preliminary findings. *Interchange* **1993**, *24*, 41–52.

(4) Osborne, R.; Freyberg, P. *Learning in science. The implications of children's science.*; Heinemann: London, England, 1985.

(5) Wilkinson, J. W.; Ward, M. The purpose and perceived effectiveness of laboratory Work in secondary schools. *Aust. Sci. Teach. J.* **1997**, *43*, 49–55.

(6) Schauble, L.; Klopfer, L. E.; Raghavan, K. Students' transition from an engineering model to a science model of experimentation. *J. Res. Sci. Teach.* **1991**, *28*, 859–882.

(7) Wiśniewski, J. R.; Zougman, A.; Nagaraj, N.; Mann, M. Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat. Meth.* **2009**, *6*, 359–362.

(8) Wickman, P.-O. The practical epistemologies of the classroom: A study of laboratory work. *Sci. Educ.* **2004**, *88*, 325–344.