

Saana Annala & Anne-Maria Ylilauri

FLUORESENSSIMIKROSKOOPIN KÄYTTÖOHJE

Olympus cellSens Time-lapse Imaging System

FLUORESENSSIMIRKOSKOOPIN KÄYTTÖOHJE

Olympus cellSens Time-lapse Imaging System

Saana Annala & Anne-Maria Ylilauri
Opinnäytetyö
Kevät 2016
Bioanalytiikan ko
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan ko

Tekijät: Saana Annala & Anne-Maria Ylilauri

Opinnäytetyön nimi: Fluoresenssimikroskoopin käyttöohje – Olympus cellSens Time-lapse Imaging System

Työn ohjaajat: Outi Mäkitalo & Paula Reponen

Työn valmistumislukukausi- ja vuosi: Kevät 2016

Sivumäärä: 27

Valmistimme opinnäytetyönä ValiRX Finland Oy:lle käyttöohjeen fluoresenssimikroskopointiin Olympus cellSense time-lapse imaging system -laitteistolle. Fluoresenssimikroskooppi on yrityksen käytössä useissa projekteissa muun muassa solujen kuvantamisessa ja paikantamisessa. Yrityksellä ei aiemmin ollut käytettävissään helppoa ja selkeää käyttöohjetta laitteistolle. Ohjeen tarkoituksena on sujuvoittaa niin uusien kuin kokeneiden käyttäjien työntekoa sekä varmistaa, ettei laitteisto vioitu väärinkäytön takia.

Tavoitteenamme oli laatia fluoresenssimikroskoopille ja sen laitteistolle mahdollisimman helppokäyttöinen ja selkeä, mutta kuitenkin kaikki käytön vaiheet kattava ohje työskentelyn lomaan. Hyvän käyttöohjeen avulla kuka tahansa yrityksen työntekijä voi käyttää laitteistoa työssään itsenäisesti. Ohjetta pystytään hyödyntämään myös uusien ja vanhojen työntekijöiden perehdytysmateriaalina.

Saimme laitteiston vastuuhenkilöltä käyttökoulutuksen, jonka jälkeen syvensimme osaamistamme itsenäisellä käytännönharjoittelulla sekä aiheen teoriaan perehtymällä. Kirjallisuudesta saimme tietoa hyvän käyttöohjeen laatimisesta ja fluoresenssimikroskopian perusperiaatteista. Etenkin fluoresenssista saimme ajankohtaista tietoa alan lehtijulkaisuista. Ohjeen kokosimme yhdistelemällä muistiinpanojamme käyttökoulutuksesta ja käyttämällä hyödyksi tietopohjan kokoamisesta oppimaamme tietoa. Toimeksiantaja oli tiiviisti mukana käyttöohjeen teossa tuoden esille omia mielipiteitään. Viimeisenä vaiheena testasimme käyttöohjeen toimivuutta käyttäjällä, jolla ei ollut aiempaa kokemusta kyseisestä laitteistosta.

Lopputuotoksena on tavoitteen mukainen käyttöohje, jonka toimeksiantaja on hyväksynyt käyttöönsä. Käyttöohje etenee selkeästi vaihe vaiheelta, mutta se on kuitenkin tarpeeksi tarkka kokonaisvaltaista käyttöä varten. Ohjeessa on käytetty kuvia tukemaan myös kokemattoman käyttäjän työskentelyä. Se siis soveltuu hyvin sekä uudelle käyttäjälle että laitteiston tuntevan henkilön työn tueksi, mutta myös perehdytysmateriaaliksi.

Jatkoprojektina voitaisiin laatia työohje näytteen valmisteluvaiheille soluviljelystä mikroskopointilaisien värjäämiseen, sillä niiden hallitseminen on tärkeä osa fluoresenssimikroskopointia. Fluoresenssimikroskopointilaitteiston ohjetta ja valmisteluvaiheiden ohjetta käyttämällä voitaisiin tutkia esimerkiksi ValiFinn:n solulinjoja mykoplasma kontaminaatioiden varalta ja verrata sitä muihin kontaminaatioiden tunnistustekniikoihin.

Asiasanat: Fluoresenssi, mikroskopointi, käyttöohje.

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Biomedical Laboratory Science

Authors: Saana Annala & Anne-Maria Ylilauri

Title of thesis: Manual for fluorescence microscope – Olympus cellSens Time-lapse Imaging System

Supervisors: Outi Mäkitalo & Paula Reponen

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2016 Number of pages: 27

The thesis we manufactured is a manual for an Olympus cellSens Time-lapse Imaging System fluorescence microscope system. The product was ordered by ValiRX Finland Oy, a company that uses the microscope in many research projects. The purpose of the manual is to ease the use of the microscope and to prevent it from getting damaged due to a lack of understanding of the equipment.

Our goal was to make the manual as user friendly as possible. Another main objective was to make it comprehensive enough, so that even novice users can work with the microscope independently. The manual is also suitable for introduction material to the system.

First we went through a user training session organised by the person in charge of the hardware in question. Then we familiarised ourselves with the hardware in practice and in theory. We undertook some research and read the appropriate literature about writing a manual, having had no previous experience of this practice. The manual was basically made by combining and refining our notes from the training and supplementing it with the knowledge and material we had researched from other literary sources. The subscriber of the manual was closely part of the project by bringing up his opinions. Lastly we tested if the manual was functional with the user who had had no experience of the system before.

As a result of our endeavours we have a ready to use manual which has been approved by the client. The manual is easy to use, intuitive and has enough information for any novice or inexperienced user. Pictures are used as visual aids to clarify the meaning of some details. Thanks to the diligent application of subheads, more experienced users can easily and quickly reference the relevant sections they need.

As a further study we recommend making a manual about prepping the samples for fluorescence microscopy. This includes cell culturing, choosing the right fluorophores and dyeing the slides. By using such information and the manual we made, the cell lines used by ValiFinn could be checked for mycoplasma contamination and the technique could be compared with other techniques of checking for contamination.

Keywords: Fluorescence, microscopy, manual.

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	TIETOPOHJA	7
2.1	Käyttöohjeen kirjoittaminen	7
2.2	Fluoresenssimikroskopointi	8
2.2.1	Fluoresenssi.....	8
2.2.2	Laitteisto.....	8
2.2.3	Fluoresenssiväriaineet	11
2.2.4	Köhleröinti.....	11
2.2.5	Polarisaattori.....	12
2.2.6	Fluoresenssimikroskoopin käyttösovellutukset	13
3	PROJEKTIN LÄHTÖKOHDAT.....	14
3.1	Projektin tavoitteet.....	14
3.2	Projektioorganisaatio.....	15
4	TYÖVAIHEET	17
4.1	Fluoresenssimikroskoopin käyttökoulutus	17
4.2	Käyttöohjeen suunnittelu ja muotoilu.....	17
4.3	Käyttöohjeen testaaminen ja viimeistely.....	19
5	TULOKSET.....	21
6	POHDINTA	23
	LÄHTEET.....	25

1 JOHDANTO

Mikroskooppien kehittämisessä on viime vuosikymmeninä ollut tärkeintä saada erottumaan haluttu signaali ympäristöstään. Fluoresenssimikroskopiolla on ollut tässä haasteessa keskeinen rooli, sillä sen tekniikalla saadaan helposti mustaa taustaa vasten näkymään haluttu osa näytteestä. Fluoresenssimikroskopia on jatkuvasti kehittyvä ala, jossa uusia soluja tai molekyyliä leimaavia fluorofooreja sekä mikroskopointilaitteistoja keksitään nopealla tahdilla eri yrityksissä.

ValiRX Finland Oy on Oulussa toimiva bioteknologia-alan yritys, jonka päätoimialana on esimerkiksi syövän hoitomuotojen etsimiseen suuntautuva kehitystyö. Kehitystyötä tehdään tutkimusprojekteina, joissa tarvitaan fluoresenssimikroskopiaa leimattujen biomolekyylien kuvantamisessa ja lokalisaatiossa sekä tutkittaessa esimerkiksi solujen vuorovaikutussuhteita. Yrityksen varsinaisissa tiloissa Oulun ammattikorkeakoulun Sosiaali- ja terveysalan yksikössä ei ole työntekijöiden käytössä tarkoitukseen sopivaa fluoresenssimikroskooppia. Yritys käyttää Biocenter Oulussa sijaitsevaa Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteistoa. Laitteistolle on olemassa englannin kielinen laitemanuaali, mutta ei erillistä yksinkertaistettua käyttöohjetta.

Tämän projektin tarkoituksena oli luoda Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteistolle selkeät ja yksinkertaiset ohjeet, joita ValiRX Finland Oy:n työntekijät pystyvät käyttämään sujuvasti työn lomassa omissa tutkimusprojekteissaan. Ohjetta voidaan käyttää myös apuna uuden työntekijän perehdytyksessä. Toimeksiantajan toiveesta käyttöohjeeseen sisällytettiin mikroskoopin ja laitteiston yleiseen käyttöön sekä solujen kuvantamiseen liittyvät kohdat. Parhaan mahdollisen selkeyden takaamiseksi ohjeessa käytettiin kuvia, joita muokattiin Photoshop-ohjelmalla.

Työohjeen toimivuutta testattiin koehenkilöllä, joka sai tuoda omia kommenttejaan ja parannusehdotuksiaan esille. Näin saatiin luotua varmasti uutta käyttäjää parhaiten palveleva ohje ja varmistettua, että ohje oli tarkoitukseensa sopiva.

2 TIETOPOHJA

Tietopohjaan on kerätty teoriaa, jota hyödynnettiin opinnäytetyön suorittamisessa. Lähteinä on käytetty mahdollisimman ajantasaista kirjallisuutta, artikkeleita sekä Internet-sivustoja. Käyttöohjeen kirjoittamiseen perehdyimme aiheesta kertovien oppaiden avulla. Perehdyimme tarkemmin myös fluoroforien toimintaan, fluoresenssiin ilmiönä, fluoresenssimikroskopointilaitteistoon ja sen käyttösovellutuksiin. Tarpeellista oli perehtyä myös mikroskoopin köhleröintiin sekä polarisaattoriin.

2.1 Käyttöohjeen kirjoittaminen

Käyttöohjeen tarkoituksena on ohjata laitteen käyttäjää mahdollisimman sujuvaan, tehokkaaseen ja turvalliseen työskentelyyn. Hyvä käyttöohje on yksiselitteinen, selkeä, helppolukuinen ja loogisesti etenevä. Kaunokirjallisuudesta poiketen tieteellisessä asiatekstissä tärkeintä on selkeys ja informatiivisuus. Kirjoittaessa tulee pitää kohderyhmä ja sen esitiedot koko ajan mielessä, jotta tekstistä tulee käyttäjän näkökulmasta ymmärrettävä. (Nykänen 2002, 50-51.)

“Hyvä tieteellinen teksti on virkerakenteeltaan ja sananvalinnaltaan niin yksinkertaista kuin asia sallii” (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2010, 299). Helppolukuisessa tekstissä virkkeet ovat lyhyitä. Lauseenvastikkeita käytetään harkitusti, sillä ne vaikeuttavat usein virkkeen ymmärrettävyyttä. Virkkeissä huomiota kannattaa kiinnittää tehokkaaseen ja selkeään sanajärjestykseen. Tiiviillä ja ytimekkäällä kirjoituksella tekstistä saa asiantuntevan kuvan, joten ylimääräistä kiertelyä ja turhia täytesanoja kannattaa välttää. Täsmällisyyttä tekstiin tuovat asianmukaiset sanavalinnat, hyvä jäsentely ja käsitteiden oikea käyttö. Alan termejä voi tekstissä käyttää kohtuudella, mikäli kohderyhmä varmasti tietää niiden merkityksen. (Hirsjärvi ym. 2010, 290-306.)

Käyttöohjeessa lukijaa kannattaa puhutella käskymuodossa ja positiiviseen sävyyn, mutta vaaratilanteisiin liittyvissä asioissa voi käyttää myös selviä kieltoja. Kannattaa myös miettiä, ovatko esimerkiksi korjaus- ja huoltotoimenpiteet peruskäyttäjälle oleellisia tietoja. Kuvien käytön on oltava perusteltua ja selkeää ja kuvilla on oltava selvä yhteys tekstiin. Valmista käyttöohjetta on hyvä vielä testata kohderyhmän toimesta, jotta varmistutaan, että ohje kattaa kaikki käytön vaiheet ja on muutenkin toimiva. (Nykänen 2002, 50–51.)

Viimeistely ulkoasu on tärkeä osa käyttöohjeen helppokäyttöisyyttä. Kirjasinkokona toimivin on 12 pistettä ja kirjasintyyppiä parhaiten soveltuu selkeä perusfontti. Otsikoissa voi käyttää pari pistettä isompaa kirjasinkokoa, alleviivausta tai lihavoitua, jotta ne erottuvat helposti muusta tekstistä. Rivivälin suositeltava koko on 1,5. Edellä mainittujen asetusten on hyvä pysyä samana tuotoksen alusta loppuun. Tehosteita tulee käyttää maltillisesti, jotta tekstistä ei tule levoton ja vaikeaselkoinen. Liika tehosteiden käyttö kadottaa niiden merkityksen. Tulostukseen käytetään laadukasta A4-kokoista paperia, jossa tekstiä on vain yhdellä puolella sivua. (Hirsjärvi ym. 2010, 424.)

2.2 Fluoresenssimikroskopointi

Viime vuosikymmeninä mikroskooppien kehittämisessä on ollut tärkeintä saada erottumaan haluttu signaali ympäristöstään entistä selvemmin. Tähän haasteeseen fluoresenssimikroskooppi vastaa hyvin, sillä sen tekniikalla saadaan mustaa taustaa vasten näkymään tarkasti rajattu kiinnostuksenalainen osa näytteestä. (Conchello & Lichtman 2005, 910.)

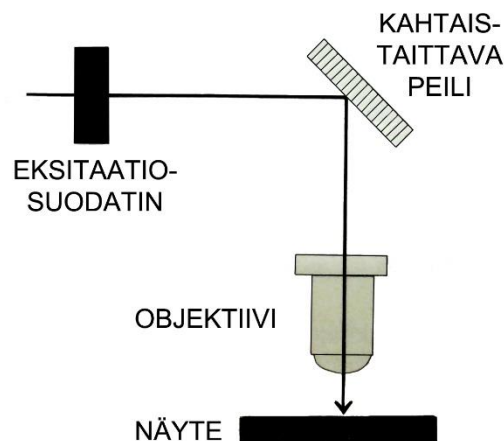
2.2.1 Fluoresenssi

Fluoresenssi on eräs fotoluminesenssi-ilmiön alalajeista, jossa kyseiselle ilmiölle alttiit molekyylit viritetään ultraviolett- tai näkyvän valon fotoneilla. Siinä on kolme eri päävaihetta: fluoresenssille alttiiden molekyylien viritys fotonilla, virittyneiden elektronien värähtelyn laskeutuminen matalimmalle energiatasolle, jolloin pidemmän aallonpituuden fotonit emittoituvat ja molekyylin palautuminen perustasolle. Aikaa tähän menee vain sekunnin miljardiosia. Käytännössä molekyylien absorboimisessa fotoneita niiden elektronit siirtyvät korkeampaan energiatilaan eli virittyvät, joka purkautuessaan emittoituvat aineesta valoa, jonka aallonpituus on pidempi kuin absorboidulla valolla. (Davidson 2009, viitattu 30.9.2015; Lounatmaa & Rantala 1998, 166.)

2.2.2 Laitteisto

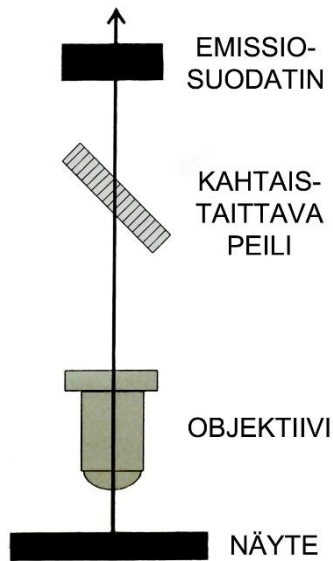
Fluoresenssimikroskoopin toiminta alkaa viritinvalonlähteestä. Viritinvalon tehtävänä on virittää molekyylit, jotta ne virityksen purkautuessa emittoivat valoa. Yleisimpiä valonlähteitä ovat elohopea- ja laserlamput, joista valo kulkee eksitaatiosuodattimeen. Eksitaatiosuodatin suodattaa lam-

pusta lähtevän laajan aallonpituusalueen valosta vain käytetylle merkkiaineelle sopivan aallonpituuden näytteeseen. Yleensä käytetään kaistanpäästösuodatinta, jossa on kapea 20 nm valitun aallonpituusalueen läpäisevä aukko. Suodattimen läpäisevä valo jatkaa kulkuaan säteenjakajajärjestelmään, jossa kahtaistaittava peili taittaa säädettyä kynnyksarvoa lyhyemmän aallonpituudet 90° kulmassa. Tämä on välttämätöntä samaa kautta kulkevien eksitaatio- ja emissiovalojen erottamiseksi toisistaan. Eksitaatiovalo on aallonpituudeltaan lyhyempää, joten peili taittaa sen näytteeseen. Kuviossa 1 on esitetty viritinvalon kulkureitti. (Lounatmaa & Rantala 1998.)



KUVIO 1. Viritinvalon kulkureitti (Mukaillen Lounatmaa & Rantala 1998)

Näytteestä emittoituva valo on puolestaan aallonpituudeltaan pidempää, joten se kulkee peilin läpi kohtisuoraan emissiosuodattimeen. Emissiosuodattimen tehtävä on varmistaa, että ainoastaan näytteestä peräisin oleva valo päätyy tarkasteltavaksi. Laitteesta riippuen käytössä voi olla alipäästösuodatin, jonka läpäisee vain kynnyksarvoa lyhemmät aallonpituudet tai kapean aallonpituusalueen lävitseen päästävä kaistanpäästösuodatin. Siitä valo päätyy laitteistosta ja tarkastelutavasta riippuen joko okulaarien tai kameran kautta silmään. Kuviossa 2 on esitetty emissiovalon kulkureitti. (Lounatmaa & Rantala 1998.)



KUVIO 2. Emissiovalon kulkureitti (Mukaillen Lounatmaa & Rantala 1998)

Tässä työssä käytetty mikroskopointikonaisuus on nimeltään Olympus cellSens Time-lapse Imaging System. Se koostuu käänteisestä mikroskoopista, jossa valo kulkee objektiivin kautta näytteen ja siitä pois alakautta. Viritinvalonlähteenä on metallihalidilamppu. Objektiiveja vaihtelemalla näkymää voi tarkastella 10-, 20-, 40- tai 60-kertaisella suurennoksella. Laitteessa on suodattimet DAPI-, FITC-, GFP-, Texas Red- ja TRITC-fluoroforeille. Tämä ei kuitenkaan sulje pois muiden väriaineiden käyttöä, sillä esimerkiksi DAPI ja Hoechst virittyvät molemmat aallonpituudeltaan lähkekkäisillä sinisillä valoilla, joten niitä voidaan tarkastella saman suodattimen avulla. Näkymää voidaan katsella okulaarien lisäksi Olympus XM10 CCD -kameran avulla ja tallentaa kuvina. (Biocenter Oulu 2013. Viitattu 13.11.2015)

Laitteistolla on mahdollista tallentaa myös ajastettua kuvausta (time-lapse imaging), jossa kamera säädetään ottamaan yhdestä näkökentästä kuva tietyin väliajoin. Elävien solujen toiminta ja liikkedintä on niin hidasta, ettei niiden muutosta voi huomata lyhyessä tarkastelussa. Kun pitkän ajanjakson, esimerkiksi vuorokauden, aikana tasaisin väliajoin otetut kuvat toistetaan peräkkäin, voidaan mikroskooppiset tapahtumat nähdä nopeutettuna liikkuvana kuvana. Ajastetussa kuvauksessa kriittistä on tutkittaville soluille suotuisten ympäristöolosuhteiden säilyttäminen, jotta solut pysyvät elinvoimaisina. Siksi kuvantamisjärjestelmään kuuluu mahdollisuus säädellä esimerkiksi lämpötilaa, ilmankosteutta ja kaasukoostumusta. (Olympus America Inc. 2012. Viitattu 2.12.2015.)

2.2.3 Fluoresenssiväriaineet

Tuhannet eri molekyyli pystyvät absorboimaan ja emissoimaan eli lähettämään valoa. Kun tällainen molekyyli liitetään solujen johonkin rakenteeseen tai ioneihin, sitä voidaan käyttää merkkiaineena fluoresenssimikroskopiassa. Solubiologiassa käytettäviä fluoresoivia merkkiaineita kutsutaan fluoroforeiksi. Käytännössä fluoroforeista voidaan erottaa sininen, vihreä ja punainen väri. (Lounatmaa & Rantala 1998, 167.)

Fluoroforit jaetaan kahteen ryhmään: luontaisiin ja ulkoisiin. Luontaiset fluoroforit, kuten A-vitamiini ja klorofylli, esiintyvät luontaisesti molekyyliessä, kun taas ulkoiset ovat synteettisiä värejä tai muokattuja biokemikaaleja. Ulkoisia fluoroforeja voidaan lisätä näytteeseen, jotta saadaan aikaan fluoresenssi, jolla on spesifisiä spektrisiä ominaisuuksia. (Carsten & Miller 2013; Davidson 2009, viitattu 30.9.)

Tämän projektin kannalta merkittäviä fluoroforeja ovat DAPI, GFP, TRITC, FITC ja Texas Red, joita varten mikroskoopissa on omat suodattimet. 4',6-diamidino-2-fenyyli-indoli eli DAPI on DNA:han sitoutuva fluorofori, jolla voidaan kuvantaa tumaa ja kromosomeja. DAPI voidaan sitoa fiksoitujen tai elävien solujen rakenteisiin, jolloin se lähettää sinistä valoa. Green fluorescent protein eli GFP on alun perin havaittu luonnossa meduusoissa. Se emittoi hyvin selkeästi näkyvää vihreää fluoresenssia, jota käytetään muun muassa geeninosisoituksessa ja proteiinien leimauksessa. Tetrametyylirodamiini-isotiosyanaatti eli TRITC, fluoreskeiini isotiosyanaatti eli FITC ja Texas Red ovat proteiineihin sidottavia merkkiaineita, joita käytetään usein ennen kaikkea immunofluoresenssimikroskopiassa. FITC lähettää vihreää valoa ja Texas Red nimensä mukaisesti punaista valoa. (Trotta & Paci 1998, 4706; Tsien 1998, 509; Lounatmaa & Rantala 1998, 167.)

2.2.4 Köhleröinti

August Köhler kehitti vuonna 1893 tekniikan, jolla säädetään mikroskoopille optimaalinen valaistus kohdistamalla ja keskittämällä näytteeseen tuleva valo. Peruseriaatteena köhleröinnissä on kondensorihimmennintä säätämällä fokusoida valo pois näytteen tasolta, jolloin kondensatorin epäpuhtaudet eivät häiritse kuvaa. Pieniä ruuveja säätämällä valo saadaan keskitettyä tasaisesti näkymän keskelle. (Davidson 2015, viitattu 7.2.2016.)

Köhleröinti on erityisen tärkeää näytteen valokuvauksessa, digitaalisessa kuvantamisessa ja muussa tarkkuutta vaativassa mikroskopoinnissa. Köhleröinti suositellaan tehtäväksi aina mikroskopoinnin aloittaessa toisen käyttäjän jälkeen tai vaihtaessa objektiivista toiseen. Tavallisessa päivittäisessä työskentelyssäkään köhleröintiä ei pitäisi unohtaa, sillä se auttaa saamaan mikroskoopista käyttöönsä sen täyden tehon. Köhleröinnin tuloksena on tasaisen kirkkaasti valaistunut näyte. Kuvan kontrasti ja resoluutio paranevat ja näytteen lämpeneminen vähenee. Köhleröinti vähentää kuvasta häiriötekijöitä kuten epäpuhtauksia, heijastuksia ja hohtoa. (Parry 2011, viitattu 7.2.2016.)

2.2.5 Polarisaattori

Polarisaattorilla saadaan korkean erotuskyvynsä ja herkkyytensä ansiosta helpommin tarkasteltua värjäämättömiä tai eläviä soluja. Polarisaattori tuo esille solujen kolmiulotteisen rakenteen, jonka ansiosta soluja on helppo löytää ja tarkastella etenkin ohuissa näytteissä. Polarisaattori on erittäin herkkä epätarkkuudelle, joten ennen sen käyttöä kannattaa aina köhleröidä laite. (Parry 2011, viitattu 7.2.2016; Rantala & Lounatmaa 1998, 126.)

Polarisaatio saadaan aikaan asettamalla polarisaattori valotielle ennen näytettä ja toinen polarisaattori näytetason jälkeen ensimmäiseen nähden kohtisuoraan. Toista polarisaattoria kutsutaan myös analysaattoriksi. Ensimmäisen polarisaattorin jälkeen polarisoitu valo jakaantuu kahteen hie-juuri ennen kondensoria. Kondensorin jälkeen valonsäteet kulkevat näytteen läpi, missä niiden kulku muuttuu riippuen esimerkiksi näytteen vaihtelevan paksuuden ja kulmien mukaan. Tämä aiheuttaa muutoksia säteiden reiteissä sellaisilla alueilla, jossa näytteen yksityiskohdat ovat lähellä toisiaan. Näytteen jälkeen valonsäteiden värähtely ei ole enää samalla tasolla. Toinen polarisaattori eli analysaattori tuo valonsäteiden värähtelyn taas samalle tasolle. Objektiivin jälkeen on jälleen yksi Wollastonin prisma, jossa valonsäteet taas yhdistetään yhdeksi. (Rantala & Lounatmaa 1998, 127; Davidson 2015, viitattu 10.2.2016.)

2.2.6 Fluoresenssimikroskoopin käyttösovellutukset

Fluoresenssimikroskopoinnista on tullut tärkeimpiä välineitä solubiologian tutkimuksissa. Fluoroforien eli fluoresoivien väriaineiden laaja ja alati kasvava valikoima mahdollistaa molekyylin, solun ja solunsisäisen tason kuvantamisen yhtäaikaisesti. (Conchello & Lichtman 2005, 910.)

Tavallisessa valomikroskoopissa tarkennuksen rajallinen syvyys estää saamasta hyvää kokonaiskuvaa kolmiulotteisista soluista ja molekyyleistä. Fluoresenssimikroskoopilla voidaan eri väriaineita ja suodattimia yhdistelemällä luoda monikerroksinen kuva, josta rakenteiden kolmiulotteisuus tulee paremmin esille. (Agard, Hiraoka, Shaw & Sedat 1989, 354, 372-376.)

Fluoresenssimikroskoopin käyttömahdollisuudet ovat erittäin laajat ja uusia menetelmiä kehitellään jatkuvasti. Fluoresoivien vasta-aineiden eli koetinten avulla on mahdollista paikantaa geneettisesti leimattu proteiini tai proteiinin osa. Fagocytoosin tutkimisessa voidaan fluoresenssimikroskooppia käyttää selvittämään, onko bakteeri solunsisäinen vai isäntäsoluun ulkoisesti kiinnittynyt. Tutkittava bakteeri leimataan fluoresoivalla aineella, jonka jälkeen se päästetään isäntäsolun luokse. Solut karkaistaan esimerkiksi asetonilla, jolloin solun ulkoiset bakteerit menettävät fluoresenssinsa, mutta fagocytoidut bakteerit näkyvät mikroskoopissa fluoresoivina. Merkittävää fluoresenssimikroskopoinnissa on erityisesti kuvan korkea paikallinen tarkkuus. Fluoresenssin avulla päästään syvälle tutkimaan solunsisäistä toimintaa sekä solujen välistä viestintää. On myös mahdollista seurata reaaliajassa proteiinien vuorovaikutusta ja toimintaa ennen ja jälkeen stimulaation. (Agard ym. 1989, 354; Campbell & Drevents 1991, 31; Kenther & Sourjik 2010, 373.)

3 PROJEKTIN LÄHTÖKOHDAT

ValiRX Finland Oy eli ValiFinn on Oulussa toimiva monikansallinen bioteknologia-alan yritys. Sen päätoimialana on kehitystyö, jonka avulla etsitään esimerkiksi syövän hoitomuotoja. Laajamittaista tutkimustyötä se tekee muun muassa sopivan merkkiaineen löytämiseksi eturauhassyövän toteutukseen ja hoitoon. Kehitystyön lisäksi ValiFinn tarjoaa laboratoriopalveluita yhteistyössä Oulun ammattikorkeakoulun kanssa. ValiFinn toimii kokonaisuudessaan lontoolaisen syöpälääkkeiden kehitykseen erikoistuneen yrityksen ValiRX Plc:n alaisuudessa. (ValiFinn 2015, viitattu 4.11.2015.)

ValiFinn -yrityksessä käytetään fluoresenssimikroskooppia leimattujen biomolekyylien kuvantamisessa ja lokalisaatiossa. Sen avulla voidaan siis tarkastella molekyylin määrää, sijaintia ja ryhmittymistä soluissa ja kudoksissa sekä vuorovaikutussuhteita toiseen leimattuun kohteeseen. Fluoresenssimikroskoopilla on yrityksessä keskeinen rooli useissa tutkimusprojekteissa, kuten NAV3-syöpämerkkiaineen kehittämisessä. Fluoresenssimikroskopiointia voidaan käyttää myös mykoplasma kontaminaatioiden tunnistamiseen solulinjoista.

Yrityksen varsinaisissa tiloissa Oulun ammattikorkeakoulussa ei ole toimivaa fluoresenssimikroskooppia, joten yrityksen työntekijät käyttävät Biocenter Oulussa sijaitsevaa mikroskopiointilaitteistoa. Laitteistolle on olemassa manuaali, mutta kyseessä on koko laitteiston käytön yksityiskohtaisesti kattava englannin kielinen ohje, jota on hankala käyttää työn ohessa. Mikroskopiointia ja kuvantamista varten yrityksen työntekijät tarvitsivat selkeän ja helppolukuisen käyttöohjeen.

3.1 Projektin tavoitteet

Tutkimustehtävän tavoitteena oli tehdä ValiFinn:n työntekijöille kirjalliset työohjeet fluoresenssimikroskoopin ja sen laitteiston käyttöön. Käyttöohje tehtiin Biocenter Oulussa sijaitsevalle Olympus cellSens time-lapse imaging system -fluoresenssimikroskopiointilaitteistolle. Käyttöohjeen myötä kaikilla ValiFinn:n työntekijöillä on mahdollisuus käyttää yrityksen tutkimusprojekteissa kyseistä fluoresenssimikroskooppia. Ohjetta voidaan käyttää myös perehdytysmateriaalina uusille tai vanhoille työntekijöille. Tavoitteena oli tehdä mahdollisimman selkeät ja helppolukuiset ohjeet, jotka

kattavat kaikki mikroskoopin ja sen tietokoneohjelmiston käyttöön liittyvät vaiheet. Käyttöohjeen edellytyksenä oli, että sitä pystyttäisiin soveltamaan helposti työn lomassa.

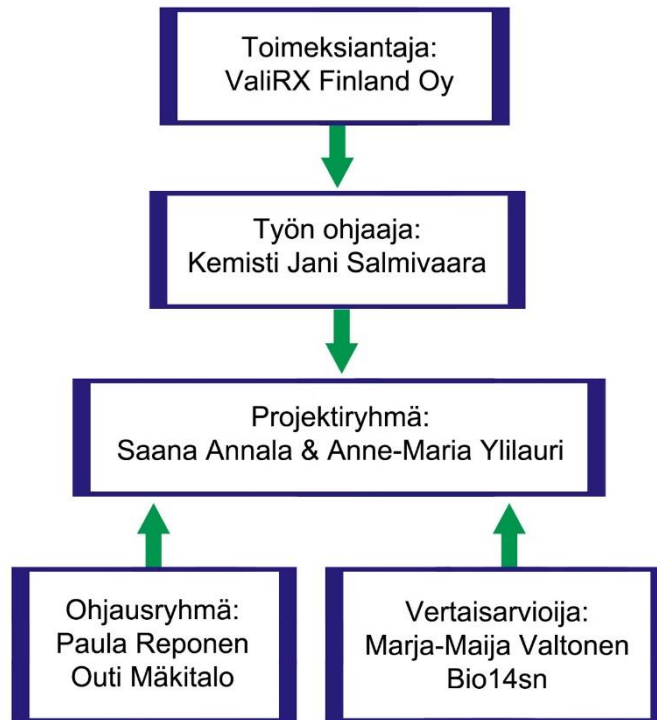
Tavoitteiden selkeyttämiseksi loimme kaksi kohtaa, joiden tulisi täyttyä projektissa:

1. Luoda toimeksiantajan kuvauksen mukainen käyttöohje tietopohjan ja oman perehtymisen pohjalta Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteistolle.
2. Testata ja todeta käyttöohje hyväksi vertaisarvioijan ja toimeksiantajan avulla sekä tehdä heidän kommenttinsa pohjalta mahdollisia parannuksia.

3.2 Projektiorganisaatio

Projektiryhmänä toimi Oulun ammattikorkeakoulun Sosiaali- ja terveysalan yksikön bioanalytiikan opiskelijat Saana Annala ja Anne-Maria Ylilauri. Itse projektin toimeksiantajana toimi ValiRX Finland Oy. ValiRX Finland Oy:n puolelta työn ohjaajana sekä asiantuntijana ja yhteyshenkilönä toimi laboratorion johtaja biokemisti (FM) Jani Salmivaara. Ohjaavina opettajina tutkimustehtävässä toimivat Oulun ammattikorkeakoulun lehtori (FT) Paula Reponen ja tuntiopettaja (FT) Outi Mäkitalo. Vertaisarvioijana toimi bioanalytiikan opiskelija Marja-Maija Valtonen. Kuviossa 3 on esitetty tutkimusorganisaatiomme.

Tutkimusorganisaatio



KUVIO 3. Tutkimusorganisaatio

4 TYÖVAIHEET

Projektimme käytännönsuus alkoi keväällä 2015 alkuvalmisteluilla ja suunnittelulla. Kävimme myös fluoresenssimikroskoopin käyttökoulutuksessa, jossa kokenut käyttäjä opetti meille laitteiston käyttöä. Perehdyimme kevään aikana fluoresenssimikroskoopin toimintaan sekä tiedonhaun että omakohtaisen harjoittelun avulla. Alkuperäisestä suunnitelmasta poiketen projekti oli työkiireiden vuoksi kesän ajan tauolla ja käyttöohjetta alettiin muotoilla vasta syksyllä. Käyttöohjetta ja raporttia saatiin muotoiltua yli puolen välin vuoden 2015 loppuun mennessä. Keväällä 2016 käyttöohjetta testattiin vertaisarvioijan avulla ja se ja raportti viimeisteltiin helmikuun aikana.

4.1 Fluoresenssimikroskoopin käyttökoulutus

Keväällä kävimme Biocenterin tiloissa tutustumassa ValiFinn:n käyttämään fluoresenssimikroskooppiin. Varasimme ajan käyttökoulutukseen netistä laboratorion sivuilta. Biocenter Oulun valomikroskopian yhteyshenkilö erikoistutkija Veli-Pekka Ronkainen piti meille noin puolen tunnin käyttökoulutuksen, jossa meille opetettiin Olympus-mikroskoopin ja cellSense-ohjelman käyttöä. Mukana käyttökoulutuksessa oli myös opinnäytetyöprojektin tilaaja biokemisti Jani Salmivaara. Koulutuksessa käytettiin ValiFinn:n valmiiksi fluoresenssileimaamia mikroskopointilaseja.

Erikoistutkija Ronkainen kävi yksityiskohtaisesti läpi mikroskoopin ja cellSense-ohjelman käynnistyksen, laitteiston osat ja niiden tarkoitukset sekä käytön. Koulutuksessa saimme hyvän kuvan laitteiston peruskäytöstä erikoistutkija Ronkaisen omakohtaisen käyttökokemuksen ja asiantuntijuuden kautta. Koulutuksen edetessä teimme molemmat omia kirjallisia muistiinpanoja, joita myöhemmin yhdistelimme ohjeen muotoilua varten.

4.2 Käyttöohjeen suunnittelu ja muotoilu

Syksyllä 2015 kävimme paremmin tutustumassa laitteistoon ilman ohjausta. Pyrimme saamaan selkeän ja asiantuntevan kuvan mikroskoopin käytöstä, jotta myös käyttöohjeesta tulisi luotettava. Mikroskoopin ja ohjelman käyttö onnistui omien muistiinpanojemme avulla suhteellisen hyvin. Käy-

timme harjoittelussa samoja ValiFinn:n valmiita mikroskopointilaseja, joissa oli käytetty fluoroforeina muun muassa DAPI, Hoechst, Alexa ja Texas Red -väriaineita. Harjoittelimme oikeiden säätöjen asettamista eri väriaineille ja monikanavaisen kuvan ottamista. Otimme kuvia laitteistosta sekä Snip-kuvakaappauksella talteen sellaisia osioita cellSense-ohjelman painikkeista ja asetuksista, joiden arvioimme olevan tarpeellisia käyttöohjeessa.

Käyttöohjeen muotoilun aloitimme yhdistelemällä käyttökoulutuksessa tekemiämme muistiinpanoja työohjeen raakaversioksi Microsoft Office Word -ohjelmalla. Teimme ohjeelle karkean väliotsikoinnin aloitukseen, mikroskoopin käyttöön, kuvien ottamiseen ja lopetukseen. Koska ohjetta käytetään työskentelyn lomassa, päätimme tehdä numeroinnin ykkösestä eteenpäin ja edetä kohta kohdalta loogisessa järjestyksessä. Emme laittaneet yhteen kohtaan liikaa tekstiä, jotta ohjeesta olisi myös helppo tarkistaa vain yksittäisiä asioita. Luimme ohjeen useita kertoja läpi ja teimme muutoksia sanajärjestykseen ja -valintoihin, yhdistelimme joitain kohtia ja siirsimme joidenkin paikkaa. Teimme myös kansilehtisen ja jätimme vapaata tilaa laitteiston kuvaamiselle ensimmäiselle sivulle.

Tässä vaiheessa lähetimme ohjeen keskeneräisen ensimmäisen version projektin toimeksiantajalle biokemisti Salmivaaralle, jotta saisimme alustavan mielipiteen. Liitimme mukaan kysymyksiä liittyen ohjeen sisältöön. Biokemisti Salmivaara oli sitä mieltä, että ohjeemme oli vielä suhteellisen suppea, mutta kuitenkin oikeaan suuntaan menossa. Häneltä saimme muutamia korjaus- ja lisäysehdotuksia ohjeeseen. Hän halusi ohjeeseen sisällytettävän vielä köhleröinnin sekä polarisaattorin käytön.

Raakaversiota tehdessä huomasimme tarvitsevamme lisää kuvia muutamiin kohtiin, joiden selittäminen sanoin oli haastavaa. Kävimme Biocenter Oulussa ottamassa valokuvia, joita muokkasimme Photoshop-kuvankäsittelyohjelmalla. Lisäsimme muun muassa numeroinnin kuviin, jotka otimme koko laitteistosta ja ohjelmasta. Numerointia käytimme ohjeessa tarkentamaan, mitä osaa tai kohtaa missäkin tarkoitetaan.

Päätimme vielä myöhemmin ottaa yhteyttä erikoistutkija Ronkaiseen ja pyytää häntä mikroskoopin vastuuhenkilönä selventämään ja kertaamaan meille köhleröintiä ja polarisaattorin käyttöä. Sovimme tunnin tapaamisen Biocenterille, jossa erikoistutkija Ronkainen selvensi konkreettisesti mikroskoopin ääressä köhleröintiä ja polarisaattorin käyttöä. Lisäsimme ohjeeseen köhleröinnin ja po-

larisaattorin käytön omiksi kokonaisuuksikseen. Otimme tapaamisen aikana myös lisää kuvia köhleröintiin ja polarisointiin liittyen ja muokkasimme niistä ohjeisiin havainnollistavat kuvat numeroin- teineen.

Ohjeeseen alkoi kerääntyä monia eri numeroituja kuvia. Helppokäyttöisyyden edistämiseksi pohdimme, että olisi hyvä tehdä oma erillinen laminoitu A4-kokoinen lappu, johon tulisi numeroidut kuvat mikroskoopista ja tietokoneohjelmasta. Näin käyttöohjetta lukiessa olisi helppo seurata, mitä kohtaa missäkin tarkoitetaan ilman, että ohjetta täytyisi selata edes takaisin. Työn tilaaja halusi itse tulostaa valmiin käyttöohjeen, joten laminointi jäi vain ehdotuksen tasolle. Kuvien sekoittumisen estämiseksi laitteiston osat on merkitty ohjeeseen vihrein aakkosin ja tietokoneohjelman osat punaisiin numeroihin. Tekstissä osiin viitattaessa käytettiin myös samoja värejä.

Käyttöohjeen tekemisessä pääpaino oli selkeydellä ja helppokäyttöisyydellä, ei niinkään visuaalilla ilmeellä. Ohjeesta päätettiin tehdä tyyliään selkeä ja pelkistetty, ilman ylimääräisiä koristeellisuuksia. Pientä elävyyttä toimme kuvien numerointien värityksillä, sekä etusivujen vihreällä otsikoinnilla. Vihreä väri toistui yhtenäisesti myös kuvien nuolimerkinnöissä.

4.3 Käyttöohjeen testaaminen ja viimeistely

Käyttöohjetta testattiin vertaisarvioijamme Marja-Maija Valtosen kanssa. Tulostimme ohjeen, josta puuttui vielä muutamia muokattavia kuvia ja menimme paikan päälle Biocenter Ouluun. Ideana oli testata ohjeen toimivuutta sellaisen henkilön kanssa, jolla ei ollut mitään etukäteistietoa Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteistosta tai sen käytöstä. Näin varmistuisimme, että käyttöohje sopisi hyvin uudelle työntekijälle. Annoimme testaajan työskennellä mikroskoopilla ohjeen varassa, mutta annoimme suullisia ohjeita puuttuvien kuvien ja muuten epäselvien kohtien osalta. Epäselvät kohdat kirjattiin heti ylös ja niihin mietittiin yhdessä parannuksia.

Testauksessa kävi selvästi ilmi kohtia, jotka vaativat uudelleensijoittelua tai muuta muotoilua. Teimme muokattavista kohdista testaushetkellä muistiinpanoja ja toteutimme muutokset ohjeeseen heti testauksen päätyttyä. Testaaja toi hyvin esiin uuden käyttäjän näkökulman, jota emme olleet itse aina osanneet tarpeeksi huomioida. Testauksen ja korjausten jälkeen ohjeeseen saatiin lisättyä

vielä puuttuvat kuvat. Lähetimme vertaisarvioija Valtosen kommenttien pohjalta viimeistellyn ohjeen biokemisti Salmivaaralle kommentoitavaksi. Biokemisti Salmivaara oli tyytyväinen käyttöohjeeseen, mutta ehdotti parannukseksi kuvien numeroinnin muuttamista tekstiviitteiden mukaiseen järjestykseen. Muutokset toteutettiin ja lopputulos oli aiempaa selkeämpi ja helppokäyttöisempi.

5 TULOKSET

Projektin tuloksena on suomenkielinen, yksinkertaistettu ja helppokäyttöinen ohje Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteistolle, joka tilaaja on hyväksynyt käyttöönsä. Laitteiston käyttäjäryhmänä on bioanalytiikan ja kemian ammattilaisia ValiRX Finland -yrityksestä, joille tavallisen valomikroskoopin käyttö on tuttua. Fluoresenssimikroskopoinnista ei kaikilla työntekijöillä välttämättä ole ennalta kokemusta, mikä otettiin huomioon ohjetta kirjoitettaessa. Ohje kirjoitettiin niin selkeäksi ja havainnollistavaksi, että sitä voidaan käyttää myös kokonaan uuden työntekijän perehdytyksessä apuna. Liitteessä 1 on valmis käyttöohje.

Laatimamme ohje etenee kronologisesti laitteen käynnistyksestä käytön ja eri asetusten kautta laitteiston sulkemiseen. Selkeyttä paransimme sisällysluettelolla ja hyvällä jäsentelyllä, jotta tottuneempikin käyttäjä voi nopeasti tarkistaa ohjeesta tarvitsemansa asian. Ohjeeseen tulivat seuraavat väliotsikot: 1. Aloitus, 2. Käyttö, 3. Köhleröinti, 4. Polarisattorin käyttö, 5. Kuvaaminen ja 6. Lopettaminen. Jokainen otsikko alkaa omalta sivultaan ja sisältää noin sivullisen tekstiä ja kuvia aiheeseen liittyen.

Aloitukseen sisällytimme laitteiston ja ohjelmiston käynnistämisen sekä näytteen asettamisen mikroskooppiin. Käyttö-otsikon alle tuli mikroskoopin tarkennukseen, objektiiveihin, suodattimiin ja kamerasasetuksiin liittyvät yleiset käyttöohjeet. Köhleröinti ja polarisaattorin käyttö ovat kohtia, jotka käyttäjä voi ohittaa halutessaan. Sijoitimme köhleröintiohjeen kuitenkin melko alkuvaiheeseen ohjetta, sillä se olisi kuvalaadun parantamiseksi suotavaa suorittaa aina ennen varsinaisen mikroskoppoinnin aloittamista. Kuvaaminen-otsikon alle laitoimme kuvan ottamisen ja tarkastelun lisäksi tietoa myös kuvan tallentamisesta. Lopetus kattaa laitteiston ja ohjelmiston sulkemisen sekä objektiivin puhdistuksen immersio-öljystä.

Käytimme ohjeessa havainnollistavia valokuvia laitteistosta sekä kuvakaappauksia cellSens-ohjelmasta. Niiden muokkaamiseen käytimme Photoshop-ohjelmaa, jolla saimme kätevästi lisättyä, siirrettyä ja muokattua numeroita ja nuolia. Näihin kuviin oli muokattu numerointi, joiden kautta tekstissä viitattiin eri osiin. Ohjeesta tuli pidempi kuin olimme alussa ajatelleet, joten sisällysluettelo ohjeen alkuun oli hyvä lisäys. Myös ohjeeseen sisällytettiin muutamia havainnollistavia kuvia, jotka sijoiteltiin järkevästi niitä käsittelevien tekstiosuukien yhteyteen. Ohjeessa oleviin kuviin myös vii-

tattiin tekstissä selkeästi. Käytimme ohjeessa vain sellaisia kuvia, jotka lisäsivät ohjeen ymmärrettävyyttä ja helppokäyttöisyyttä. Saimme selkeytettyä kuvilla monia sellaisia kohtia, jotka olivat sanallisesti hankalia selittää.

Käyttöohjeeseen ei sisällytetty tarkempia huolto- ja korjaustoimenpiteitä objektiivin puhdistuksen lisäksi, sillä ohjeen kohderyhmä ei vastaa mikroskoopin ylläpidosta. Ohjeen loppuun laitettiin ongelmatilanteiden varalta mikroskoopin vastuuhenkilön, erikoistutkija Ronkaisen, yhteystiedot hänen suostumuksellaan.

6 POHDINTA

Opinnäytetyöprojektin tavoitteena oli luoda ValiRX Finland Oy:n työntekijöille selkeä ja helppolu-
kuinen Biocenter Oulussa sijaitsevalle Olympus cellSens time-lapse imaging system -fluoresens-
simikroskopointilaitteistolle tarkoitettu käyttöohje, jota he voivat käyttää sujuvasti työn lomassa. Itse
käyttöohjeesta saatiin tehtyä suunnitelmien mukainen eli helppokäyttöinen ja selkeä.

Tietopohjamme antoi hyvää pohjustusta projektin toteuttamiselle. Hyvän käyttöohjeen kirjoittami-
sen kriteereihin perehtymällä saimme luotua selkeän ja informatiivisen ohjeen, joka soveltui hyvin
halutulle käyttäjäryhmälle. Tietopohjassa saimme myös hyviä vinkkejä hyvän käyttöohjeen muotoi-
lusta. Fluoresenssista ja fluoresenssimikroskopoinnista kerrytetty tieto auttoi meitä ymmärtämään
paremmin laitteen toimintaa ja sitä kautta se auttoi valitsemaan parhaan tavan kertoa laitteiston
käytöstä. Oma syvempi perehtyneisyys aiheeseen helpotti käyttöohjeen kirjoittamista.

Työohjeen luotettavuus taattiin testaamalla sitä käyttäjällä, jolla ei ollut aiemmin mitään tietoa mik-
roskopointilaitteistosta. Tilanteessa käyttäjä sai lukea käyttöopasta rauhassa ja toimia sen anta-
mien ohjeiden pohjalta. Lisäkommentteja annoimme vasta, kun hän niitä pyysi. Testitilanne osoitti,
että ohjetta kykenee käyttämään sellaisenaan, että se sisältää tarpeeksi informaatiota ja että se on
ymmärrettävä. Myös ohjeen muotoilu oli tarpeeksi selkeä ja käyttäjäystävällinen. Kokemattoman
käyttäjän antaman palautteen pohjalta tehtiin viimeistelyjä ohjeeseen.

Projektin tilaaja biokemisti Salmivaara oli tiiviisti mukana käyttöohjeen valmistuksessa. Hän toi
esille omia kommenttejaan ja mielipiteitään, joiden pohjalta saimme hyvin muokattua ohjetta halut-
tuun suuntaan. Käyttöohjeen tilaajana biokemisti Salmivaaran mielipiteillä oli suurin painoarvo,
minkä takia pidimme hänet hyvin ajan tasalla projektin etenemisessä. Lopputulokseen hän oli
tyytyväinen ja kertoi etenkin kuvien tuovan paljon selkeyttä ohjeeseen.

Projektin alkuvaiheessa loimme kaksi tavoitetta onnistumisen arvioinnin helpottamiseksi:

1. Luoda toimeksiantajan kuvauksen mukainen käyttöohje tietopohjan ja oman perehtymisen
pohjalta Olympus cellSens Time-lapse Imaging System -fluoresenssimikroskopointilaitteis-
tolle.
2. Testata ja todeta käyttöohje hyväksi vertaisarvioijan ja toimeksiantajan avulla sekä tehdä
heidän kommenttiansa pohjalta mahdollisia parannuksia.

Ensimmäinen tavoite saavutettiin projektin valmistuessa. Käytimme tietopohjaa hyödyksi ja perehdyimme laitteistoon käyttökoulutuksen ja ohjauksen avulla. Toimeksiantaja oli tyytyväinen ohjeeseen, joka täytti hänen kuvauksensa. Toinen tavoite luotiin käyttöohjeen laadun takaamiseksi. Testaamalla ohjetta opponetti Valtosen kanssa varmistuimme ohjeen toimivuudesta ja sopivuudesta käyttäjäryhmälle. Testaajamme ei ollut vielä valmistunut alalle, joten testaus osoitti ohjeen sopivan myös kokemattomammalle työntekijälle esimerkiksi perehdytysmateriaalina. Toimeksiantajaa ajan tasalla pitäen varmistuimme myös käyttöohjeen sopivan tarkoituksiinsa ValiFinn-yrityksessä. Kommenttien pohjalta muotoilimme ohjeen valmiiksi.

Opinnäytetyöprosessi oli hyvä opetus ison projektin toteuttamisesta. Itse aihe oli mielenkiintoinen ja opettavainen monelta kannalta. Saimme kehitettyä omaa oppimistamme fluoresenssista ja fluoresenssimikroskopoinnista sekä hyvän käyttöohjeen tekemisestä. Lisäksi saimme kokemusta ja osaamista projektityön suunnittelusta ja toteuttamisesta sekä vastoin käymisten selvittämisestä. Oppimme yhteistyötä ja töiden jakamista, mistä tulee varmasti olemaan hyötyä työelämässä.

Kirjoitimme alusta asti opinnäytetyön raporttia sekä käyttöohjetta Google Docs -palvelussa, jossa pääsimme molemmat itsenäisesti muokkaamaan samoja dokumentteja ja kommentoimaan toistemme lisäyksiä. Palvelu osoittautui todella käteväksi projektin kirjoitusalueksi. Google Drive -palvelun kautta pystyimme jakamaan kuvia käyttöohjetta varten.

Jatkoprojektina voisi laatia työohjeen myös aikavälikuvantamiseen sekä fluoresoivien näytteiden valmisteluvaiheille. Näytteiden leimaaminen fluoroforeilla on tärkeä osa fluoresenssimikroskopointia, eikä yrityksellä ollut aiheesta selkeää ohjetta. Projektissa voitaisiin tutkia esimerkiksi erilaisia kaupallisia fluoroforeja ja niiden eroja sekä toimivuutta erilaisissa tilanteissa. Lisäksi leimaamisohjeen avulla voitaisiin tutkia esimerkiksi eri solulinjojen mykoplasma kontaminaatioiden tunnistamista fluoresenssimikroskopoinnilla. Fluoresenssitekniikkaa voitaisiin myös verrata muihin mykoplasma kontaminaatioiden tunnistustapoihin ja tehdä sen pohjalta johtopäätöksiä parhaasta tavasta varmistaa solulinjojen puhtaus.

LÄHTEET

Carsten, M. & Miller, J. 2013. Uterine Function: Molecular and Cellular Aspects. Springer Science & Business Media.

Conchello, J. & Lichtman, J. 2005. Fluorescence microscopy. *Nature Methods* 2 (12), 910-919.

Davidson, M. 2015. Configuring a Microscope for Köhler Illumination. *Molecular Expressions. Optical Microscopy Primer*. Viitattu 7.2.2016.

Davidson, M. 2015. Differential Interference Contrast. *Molecular Expressions. Optical Microscopy Primer*. Viitattu 10.2.2016.

Davidson, M. 2009. Fluorescence Microscopy. Basic Concepts of Fluorescence. *Molecular Expressions. Optical Microscopy Primer*. Viitattu 30.9.2015.

Hirsjärvi S., Remes P., Sajavaara P. 2010. Tutki ja kirjoita. Hämeenlinna: Kariston Kirjapaino Oy.

Kentner, D. & Sourjik, V. 2010. Use of Fluorescence Microscopy to Study Intracellular Signaling in Bacteria. *Annual Review of Microbiology* 64, 373-390.

Lounatmaa, K. & Rantala, I. 1998. Biologinen valomikroskopia. Helsinki: Yliopistopaino.

Nykänen, O. 2002. Toimivaa tekstiä. Helsinki: Tekniikan Akateemisten Liitto TEK.

Olympus America Inc. Microscopy Resource Center, 2012. Time-lapse Cinemicrography. Viitattu 2.12.2015

Parry, N. 2011. How Köhler Illumination can help you to see the light. Viitattu 7.2.2016.

Trotta, D. & Paci, M. 1998. Solution structure of DAPI selectively bound in the minor groove of a DNA T-T mismatch-containing site: NMR and molecular dynamics studies. *Nucleic Acids Research* 26 (20), 4706.

Tsien, R 1998. The Green Fluorescent Protein. Annual Reviews Biochemistry 67, 509.