



SAVONIA

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

POLYMERAASIKETJUREAKTIO

Verkko-oppimateriaali BioDigi-hankkeeseen

TEKIJÄT: Mari Heikkinen
Oona Ahtinen

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma/Tutkinto-ohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Mari Heikkinen ja Oona Ahtinen	
Työn nimi Polymeraasiketjureaktio – Verkko-oppimateriaali BioDigi-hankkeeseen	
Päiväys	13.12.2019
Sivumäärä/Liitteet	46/1
Ohjaaja(t) Anssi Mähönen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
<p>Tiivistelmä</p> <p>Verkko-oppiminen vastaa kustannustehokkaasti nykypäivän vaatimuksia. Verkko-opiskelu mahdollistaa opiskelun kansainvälistymisen, monipuolistaa opetustarjontaa sekä mahdollistaa opiskelun ajasta ja paikasta riippumatta. Verkkoon tuotetaan materiaalia oppimislustoille. Verkkoa voidaan käyttää vuorovaikutuskanavana, tiedon jakelun alustana tai materiaalin sijaintina. Luotu verkko-oppimateriaali soveltuu käytettäväksi flippaukseen, eli käänteiseen oppimiseen. Käänteinen opetus tarkoittaa sananmukaisesti opetuksen kääntämistä niin, että opiskelija perehtyy materiaaliin itsenäisesti ennen kontaktiopetusta. Opettajan kanssa syvennyttään opiskelijalle haastaviin aiheisiin, jolloin opetus muuttuu opiskelijälähtöiseksi.</p> <p>Polymeraasiketjureaktio on menetelmä, jolla saadaan monistettua DNA:ta kahden tunnetun nukleotidijakson väliseltä alueelta. Menetelmä perustuu polymeraasientsyymien kykyyn rakentaa komplimentaarista DNA-juostetta vapaista nukleotideistä. Monistaminen tapahtuu kolmivaiheisessa syklissä, jossa lämpötilan muutokset mahdollistavat reaktion tapahtumisen.</p> <p>Opinnäytetyö on kehittämistyö, jonka tuotoksena oleva verkkomateriaali polymeraasiketjureaktiosta on osa molekyylibiologian kurssimateriaalia. Tuotos sisältää kirjoitettua verkko-oppimateriaalia, lopputestin ja käytännön työtä tukevan opetusvideon. Kurssimateriaali on osa BioDigi-hankkeen, eli bioanalyytikon digitaalisen verkkoportaalin osuutta. Hankkeen verkkomateriaalin tavoitteena on ollut tarjota monimuotoista ja kansainvälistä opetusta, sekä lisätä ammattikorkeakoulujen välistä tasa-arvoa ja yhteistyötä. Hankkeen koordinoijana on toiminut Metropolia-ammattikorkeakoulu ja rahoittajana hankkeelle on ollut Suomen opetus- ja kulttuuriministeriö. Työn tilaajana on ollut Savonia-ammattikorkeakoulu, joka on toiminut hankkeen yhteistyökumppanina yhdessä muiden ammattikorkeakoulujen kanssa, joissa on toteutettu bioanalyytikon tutkinto-ohjelmaa. Savonia-ammattikorkeakoulu on toteuttanut molekyylibiologian opintokokonaisuuden.</p>	
Avainsanat PCR, polymeraasiketjureaktio, verkko-oppimateriaali, verkko-oppiminen, <i>flipped learning</i>	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Mari Heikkinen and Oona Ahtinen			
Title of Thesis Polymerase Chain Reaction – E-learning Material to BioDigi-project			
Date	13.12.2019	Pages/Appendices	46/1
Supervisor(s) Anssi Mähönen			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>E-learning responds to modern day's demands cost-efficiently. E-learning enables the internationalization of studying, diversifies offered studies and also enables studying regardless of time and place. Material is produced to Internet on learning platforms. Internet can be used as a channel of interaction, as a platform for information or location of the material. Created e-learning material is suitable for flipped learning. Flipped classroom means reversing the teaching so that the students orient with the material independently before contact teaching. The teaching becomes more student-oriented when the students immerse themselves in challenging subjects with the teacher.</p> <p>Polymerase chain reaction is a method where DNA has been amplified between two known nucleotide sequences. The method is based on the ability of the polymerase enzyme to form a complementary strand of DNA from free nucleotides. Amplification happens in a three-step cycle in which the temperature changes to allow the reaction to occur.</p> <p>This thesis is a development project, the output of which is an e-learning material about polymerase chain reaction. The output is a part of the course material in molecular biology. The outcome includes written e-learning material, a final test, and a tutorial video that supports practical work. The course material is part of the BioDigi project, a digital web portal for biomedical laboratory scientists. The purpose of the project is to offer diverse and international education, as well as to increase equality and co-operation between Universities of Applied Sciences. The project has been coordinated by Metropolia University of Applied Sciences. The project has been funded by the Finnish Ministry of Education and Culture. The client organization of the thesis was Savonia University of Applied Sciences, which has collaborated with other Universities of Applied Sciences that offer a degree programme in biomedical laboratory science. Savonia University of Applied Sciences has implemented a study program in molecular biology.</p>			
<p>Keywords PCR, polymerase chain reaction, e-learning material, e-learning, flipped learning</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	6
2	POLYMERAASIKETJUREAKTIO.....	7
2.1	DNA	7
2.2	Polymeraasiketjureaktion historia.....	8
2.3	Reaktioon tarvittavat reagenssit.....	9
2.3.1	Templaatti	9
2.3.2	Alukkeet	9
2.3.3	Polymeraasientsyymi.....	10
2.3.4	Nukleotidit	11
2.3.5	Reaktioseos	11
2.3.6	Reaktiossa käytettävät kontrollit.....	12
2.4	Reaktion kulku.....	12
2.4.1	Denaturaatio.....	13
2.4.2	Alukkeiden kiinnittyminen	13
2.4.3	Pidennysreaktio.....	13
2.4.4	Syklit eli toistojaksot	14
2.5	PCR-tuotteen käyttö	15
2.6	Aseptinen työskentely.....	15
3	POLYMERAASIKETJUREAKTION KÄYTTÖKOHTEET JA SOVELLUTUKSET	17
3.1	PCR-tuotteen hyödyntäminen	17
3.2	Geenitekniikan eettisyys.....	18
4	VERKKO-OPPIMINEN.....	20
4.1	Hyvä verkkomateriaali ja sen tuottaminen.....	21
4.2	Opettajan rooli verkkoympäristössä.....	23
4.3	Opiskelijana verkko-oppimassa	24
4.4	Video osana verkkomateriaalia	25
4.5	edX-verkkoalusta	25
5	FLIPPAUS ELI KÄÄNTEINEN OPETTAMINEN	26
5.1	Oppimisen organisointi flippauksen avulla	27
5.2	Opiskelija ja flipped learning.....	29
6	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS.....	31

7	OPINNÄYTETYÖPROSESSI.....	32
7.1	Opinnäytetyö kehittämistyönä	32
7.2	Opinnäytetyön toteuttaminen	32
7.3	Opetusmateriaalin luominen.....	33
7.3.1	Videomateriaali	33
7.3.2	Teoriamateriaali	34
8	POHDINTA	36
8.1	Opinnäytetyön ja kurssimateriaalin tuottamisen arviointi.....	36
8.2	Tuotoksen käyttömahdollisuudet.....	38
8.3	Opinnäytetyön eettisyys ja luotettavuus.....	39
8.4	Ammatillinen kasvu	39
	LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT	41
	LIITE 1: PCR-VIDEON KÄSIKIRJOITUS.....	45

1 JOHDANTO

Polymeraasiketjureaktio eli PCR (engl. *polymerase chain reaction*) on menetelmä, jolla monistetaan DNA:ta. Monistettavan DNA-jakson emäsjärjestys voi olla tuntematon, mutta usein emäsjärjestys tunnetaan ainakin osittain. Menetelmällä monistetaan DNA:ta toistaen kolmivaiheisia syklejä, jotka lämmönvaihteluiden avulla mahdollistavat DNA:n monistumisen exponentiaalisesti termostabiilin polymeraasientsyymien avulla. (Suominen & Ollikka 1997, 107-108.) PCR-menetelmän etuna on sen nopea toteutettavuus sekä herkkyys, jolla pienestäkin määrästä DNA:ta saadaan monistettua tarvittava määrä käytettäväksi analyyseihin. (Orpana & Huoponen 2006, 272.) PCR on mahdollistanut mm. sekvensoinnin, eli perimän emäsjärjestyksen selvityksen, kloonauksen sekä perinnöllisyyslääketieteen kehityksen. (Read & Strachan 2011, 183, 346, 501.) Mikrobeja voidaan myös tunnistaa PCR:n avulla (Ollikka ja Suominen 1997, 113). Reaktion herkkyyden vuoksi PCR-työskentelyssä tulee kiinnittää huomiota aseptiseen toimintaan, sillä pieni määrä vierasta DNA:ta työskentelyvälineissä tai reagensseissa voi aiheuttaa kontaminaation ja ei-halutun DNA:n monistumisen. (Orpana & Huoponen 2006, 272.)

Verkko-oppiminen vapauttaa opiskelijaa, sillä oppiminen voi tapahtua missä ja milloin vain. Verkko voi olla mukana opiskelijan oppimisprosessissa materiaalin lokalisaationa tai vuorovaikutuksen kanavana. Oppiminen voi myös tapahtua kokonaan verkossa ilman lähiopetusta. Verkko-opetus vastaa opetuksen nykyaikaisiin tarpeisiin, sillä se mahdollistaa opetuksen tarjoamisen kustannustehokkaasti, monipuolisella tavalla ja helpottaa opiskelijaa yhteensovittamaan opiskelun oman työ- ja perhe-elämän lomaan. (Kalliala 2002, 12-13, 30-31.) Verkko-oppiminen tapahtuu verkko-oppimislustoilla, jotka mahdollistavat monipuolisia työkaluja innovatiivisten verkkomateriaalien luomiseen (Nurmela & Suominen 2011, 14). Oppimisen tukena voidaan hyödyntää kuvia, videoita, ääntä sekä virtuaalisia oppimisympäristöjä, joilla oppimista voidaan havainnollistaa. Hyvä verkkomateriaali vastaa kurssin osaamistavoitteisiin, sekä opiskelijan tarpeisiin ja on selkeästi esitetty. (Kalliala 2002, 14-16, 59.)

Oppimateriaali noudattaa flipped classroom –opetusmenetelmää, joka tarkoittaa käännteistä opettamista. Tällä menetelmällä pyritään siirtymään opettajakeskeisestä opetuskuulttuurista opiskelijälähtöisempään. Flippauksessa opettaja toimii tiedon soveltamisen apuna, eikä tiedon siirtäjänä, kuten perinteisessä opetuksessa. (Humaloja, Peura & Toivola 2017, 20.) Flippauksessa opiskelijoille jaetaan ennakkomateriaalia, joihin opiskelijat perehtyvät ennen kontaktiopetusta. Näin kontaktiopetusaika voidaan käyttää haastaviin, opiskelijoita askarruttaviin aiheisiin. (Saarelainen.)

Opinnäytetyön toimeksiantajana on toiminut Savonia-ammattikorkeakoulu, joka toimii yhteistyökumppanina BioDigi-hankkeessa. Hanke on Opetus- ja kulttuuriministeriön rahoittama ja hankkeen koordinoijana toimii Metropolia-ammattikorkeakoulu. Savonia-ammattikorkeakoulu tuottaa hankkeelle oppimateriaalin, joka käsittelee molekyylibiologiaa. Opinnäytetyömme on kehittämistyö, jonka tuotoksena luomme yhden osan tätä oppikokonaisuutta. Tuotos sisältää englanninkielellä tuotetun teoriamateriaalin ja lopputentin sekä käytännön työtä tukevan tekstitetyn opetusvideon PCR-työskentelystä.

2 POLYMERAASIKETJUREAKTIO

Polymeraasiketjureaktiossa kaksikierteinen DNA-juoste denaturoidaan eli erotetaan toisistaan kuumennuskäsittelyllä. Tämän jälkeen kaksi tunnettua aluketta (engl. *primers*) sitoutuvat kaksinauhaisen DNA:n vastakkaisiin juosteisiin. Toinen sijoittuu toisen juosteen alkupäähän ja toinen vastakkaisen juosteen loppupäähän. Alukkeiden väliin jäävä alue on monistettavaa DNA-aluetta. Monistusreaktion mahdollistamiseksi tarvitaan termostabiilia eli lämpöä kestävää polymeraasia, jonka tehtävänä on liittää reaktioseokseen lisätyjä nukleotideja alukkeiden määräämään kohtaan templaatin mallin mukaisesti. Polymeraasientsyymien tehtävänä on rakentaa alukkeiden väliin jäävän alueen nukleotidijärjestys, joka muodostaa vastinjuosteen alkuperäiselle DNA-juosteelle. (Suominen & Ollikka 1997, 107-108.)

Monistusreaktio tapahtuu mikrosentifuugiputkissa, jotka asetetaan PCR-reaktioihin tarkoitettuun PRC-laitteeseen (engl. *thermal cycker*). Laite säätelee lämpötiloja nopeasti. Tämä mahdollistaa DNA-juosteen denaturoinnin (engl. *deanturation*) korkeassa lämpötilassa, alukkeiden kiinnittymisen eli *annealing*-reaktion hieman matalammassa lämpötilassa ja polymeraasientsyymien toiminnan eli niin kutsutun pidennysreaktion (engl. *extension*) jälleen korkeammassa lämpötilassa. Näitä kolmea vaihetta yhdessä kutsutaan sykliksi. Jokaisen peräkkäin toistetun syklin jälkeen DNA-juosteiden määrä on kaksinkertainen, eli DNA:n määrä kasvaa eksponentiaalisesti. Polymeraasiketjureaktiolla saadaan hyvin pienistäkin DNA-näytteistä monistettua suuri määrä tietyn pituisia DNA-jaksoja. (Suominen & Ollikka 1997, 107-108.)

2.1 DNA

DNA eli deoksiribonukleiinihappo on kaksikierteinen, ohut ja pitkä biologinen makromolekyyli, joka koostuu nukleotidipareista. DNA:n muodostavat pienimolekyylliset nukleotidit rakentuvat deoksiribosisokerista, fosfaatista ja emäksestä, joissa emäsosa vaihtelee. Nukleotidin emäsosa on joko puriinimäs: adeniini (A) tai guaniini (G). Emäsosa voi myös olla pyrimidiinimäs: tymiini (T) tai sytosiini (C). DNA:n pitkä nauha rakentuu, kun nukleotidin sokeriosa liittyy kovalenttisella sidoksella toisen nukleotidin fosfaattiin jättäen emäsosan vapaaksi. Nukleotidien emäkset puolestaan muodostavat nukleotidiemäspareja toistensa kanssa vetysidoksilla ja rakentavat peilikuvamaisen vastinnauhan. Nukleotidien emäksien parimuodostumisille on sääntö, emäsparisääntö, jossa adeniini kiinnittyy tymiiniin kahdella vetysillalla ja guaniini sytosiiniin kolmella vetysillalla. Nukleotidien kiinnittymisen ketjumaisesti ja vastinnauhan rakentuminen emäsparien avulla saa aikaan DNA:n oikealle kiertävän kaksoiskierrerakenteen. (Portin 2016, 18-21.) DNA-juosteen pituuteen vaikuttaa sitoutuneiden molekyylien määrä. DNA-juosteen pituus ilmoitetaan nukleotidipareina, eli emäspareina, joista voidaan käyttää lyhennettä bp (engl. *base pair*). (Suominen & Ollikka 1997, 20.)

DNA:n muodostavien nukleotidien järjestys sisältää geneettisen informaation. Tämän informaation kulkumekanismit ovat samanlaisia kaikilla elävillä olennoilla. Ihmisen genomi, eli perimä sisältää 3,2 miljardia nukleotidiparia ja sen järjestys, eli sekvenssi määritettiin 2000-luvun alussa. Genomi sisäl-

tää introneita, eli nukleotidijaksoja, jotka eivät osallistu proteiinisynteesiin. Solun toimintojen ilmentäminen riippuu koodattavasta jaksosta. (Tapana 2010, 24-28.) Koodaavia alueita kutsutaan eksoniksi (Solunetti 2006a).

DNA-juosteen aukaisemiseen eli erottamiseen toisistaan vaaditaan joko voimakasta emäskäsittelyä tai kuumentamista, saaden aikaan vetysidosten katkeamisen emästen välillä. Koska guaniinin ja sytosiinin välillä on voimakkaampi kolmen vetysidoksen sidos, vaatii paljon G-C pareja sisältävä DNA-juoste voimakkaamman käsittelyn. DNA-juosteen erottumista kutsutaan denaturoitumiseksi. Poistamalla denaturoiva tekijä, joko jäähdyttämällä DNA-liuosta hitaasti tai neutraloimalla emäksinen liuos, saadaan aikaan kaksoiskierteen palautuminen, eli renaturaatio. Renaturaatiossa komplementaaristen vastinnauhojen emäkset liittyvät toisiinsa, jota kutsutaan hybridisoitumiseksi. Näitä molempia tekniikoita hyödynnetään muun muassa polymeerasiketjureaktiossa, eli PCR:ssä. (Suominen & Ollikka 1997, 20, 114.)

2.2 Polymeerasiketjureaktion historia

Ensimmäinen askel lähemmäs PCR:n kehittämistä otettiin, kun kaksi keksijää, Watson ja Crick, löysivät DNA:n kaksoiskierrekenteen. He esittelivät maailmalle, kuinka DNA:n emäkset pariutuvat tika-puiden tavoin. He nostivat esille DNA:n kopiaamisen mahdollisuuden. Watson ja Crick voittivat löydöstään Nobelin palkinnon vuonna 1962. Löydös oli merkittävä ensimmäinen askel koko tulevalle molekyylogeneettiselle tutkimukselle. (Cheriyedath 2018.)

Vuonna 1976 *Taq*-polymeeraasi eristettiin *Thermus Aquaticus* -bakteerista. Tästä mullistavasta löydöstä vastasi Thomas Brock. Löydöstä merkittävän teki polymeerasientsyymin termostabiilius, eli *Taq*-polymeeraasi pystyi toistamaan PCR-syklejä niin, ettei uutta DNA entsyymiä täydy lisätä jokaisen syklin välissä. Tutkija Kary Mullins ja sen ajan johtava PCR-tutkimuslaitos Cetus Corporation kaupallistavat *Taq*-polymeeraasin yleiseen käyttöön vuonna 1989. Se levisi nopeasti yleiseen käyttöön. (Thermo Fisher Scientific.)

Frederik Sanger esitteli jo vuonna 1977 DNA:n sekvensointimetodin. Metodissa käytettiin polymeeraasia, yhtä aluketta, eli oligonukleotidia sekä vapaita nukleotidejä. Hän sai keksinnöstään Nobelin palkinnon vuonna 1980. Toisin sanoen, kaikki palaset PCR:n keksimiselle oli jo löydetty. Kuitenkin vuonna 1983 Mullins käytti Sangerin DNA:n sekvensointi-idea perustana, kun hän keksi lisätä toisen alukkeen toiselle puolelle monistettavaa DNA-sekvenssiä. Näin Mullins löysi keinon monistaa ennalta tiedettyä, spesifiä DNA:n aluetta. Näin moderni PCR sai alkunsa. (Cheriyedath 2018.)

Ensimmäinen automaattinen PCR-termosykleri tuotiin markkinoille vuonna 1988 Perkin Elmerin ja Cetus Corporationin voimin. Jo vuonna 1993 ensimmäiset reaaliaikaisen PCR:n menetelmät esiteltiin. Yksi tärkeimmistä PCR:n tuomista saavutuksista on koko ihmisen genomien sekvensointi, joka saavutettiin vuonna 2007. (Thermo Fisher Scientific.)

2.3 Reaktioon tarvittavat reagenssit

2.3.1 Templaatti

Polymeraasiketjureaktiolla voidaan monistaa DNA:ta, jonka sekvenssi, eli emäsjärjestys tunnetaan vähintään sen alusta ja lopusta. Monistettavaa kaksijuosteista DNA:ta kutsutaan templaattiksi, joka denaturoituu, eli avautuu kuumennuskäsittelyn seurauksena yksijuosteiseksi DNA-nauhoiksi. (Ollikka & Suominen 1997, 107.) Monistettavan alueen tulisi olla noin 1-3 kbp, mutta erikoismenetelmillä monistettavan alueen pituus voi olla jopa 40 kbp (Brown 2011, 151).

2.3.2 Alukkeet

Reaktion mahdollistamiseksi tarvitaan monistettavan alueen rajaamiseen tarkoin suunnitellut alukkeet, jotka vastaavat monistettavan alueen reuna-alueita. Jotta alukkeet voivat kiinnittyä, eli hybridisoitua DNA-juosteiden 3' päähän, tulee alukkeiden olla suunniteltuna avautuneeseen templaattiin nähden komplimentaarisina. Komplementaarilla tarkoitetaan emäspariutumisperiaatteen mukaista vastinnauhaa. Käytettävien alukkeiden oikea koko on tärkeää, sillä liian pitkien alukkeiden kiinnittyminen juosteeseen on hidasta. Puolestaan liian lyhyet alukkeet voivat kiinnittyä ei-spesifiin kohtaan DNA:ta, jolloin monistustuotteena voi olla väärän alueen tai usean erilaisen DNA-sekvenssin monistuminen. (Brown 2011, 149-152.) Sopiva pituus alukkeelle on 17-20 nukleotidia (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016, 117).

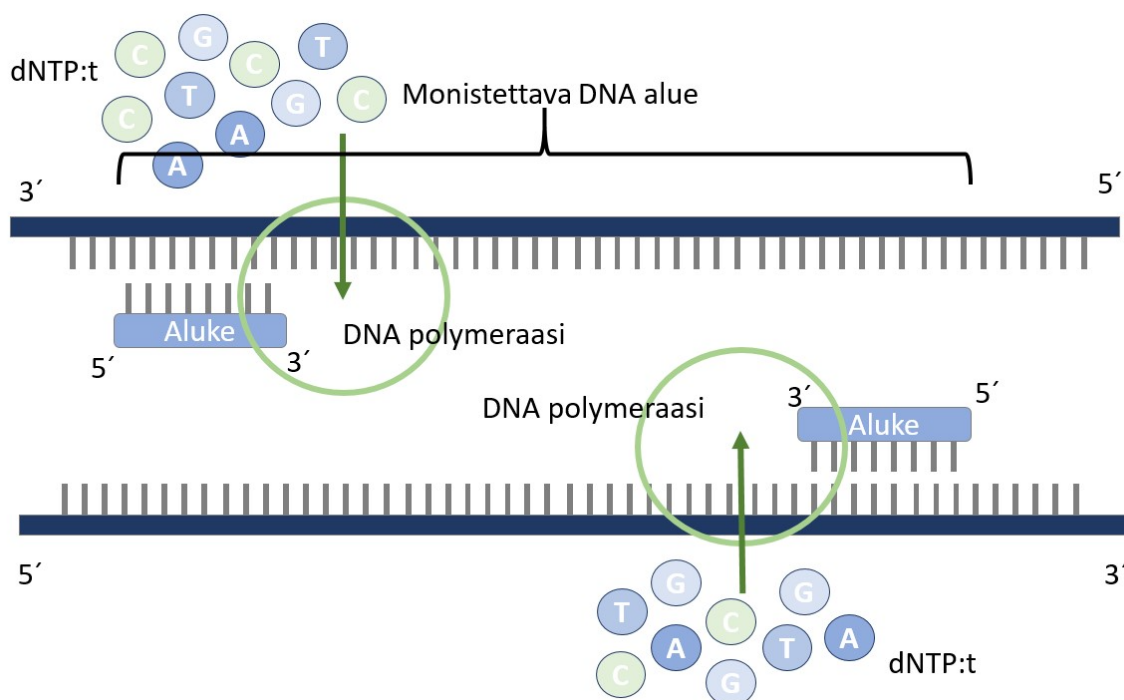
Alukkeiden suunnittelussa ja käytössä tulee ottaa huomioon myös alukkeiden sulamislämpötilat. Alukkeiden sulamislämpötila, T_m , on lämpötila, jossa puolet alukkeesta on kiinnittyneenä juosteeseen toisen puolen ollessa irrallaan reaktioseoksessa. (Ollikka & Suominen 1997, 110.) Sulamislämpötilaan vaikuttaa alukkeiden emäskoostumus, sillä G-C parien välissä on kolme vetysidosta, kun puolestaan A-T pareilla kaksi. Sidoksien määrästä johtuen G-C parien erottamiseen tarvitaan korkeampi lämpötila. Tämän vuoksi alukkeiden G-C konsentraation olisi hyvä olla 40-60%. (Read & Strachan 2011, 185.) Lyhyiden alukkeiden sulamislämpötila voidaan määrittää Wallacen nyrkkisäännön avulla, antamaan karkea vastaus sopivasta lämpötilasta. Tällä laskukaavalla adeniinien ja tymiinien summa kerrotaan kahdella, guaniinin ja sytosiinien summa neljällä ja lopuksi näiden tulos summataan yhteen. Saatu lämpötila on usein liian korkea alukkeiden täydelliseen kiinnittymiseen, jonka vuoksi tuloksesta on usein syytä vähentää noin viisi astetta. Reaktion onnistumisen kannalta käytettävien alukkeiden lämpötila saisi erota enintään noin pari astetta. (Ollikka & Suominen 1997, 110.)

Alukkeiden suunnitteluun on kehitetty useita ohjelmia, jotka laskevat sulamislämpötilan tarkemmin. Tietokoneohjelmia tarjotaan saataville kaupallisesti, mutta alukkeiden suunnittelua varten on myös mahdollista verkon kautta ladata ilmaisia ohjelmia sekä päästä erilaisille suunnittelualustoille (Read & Strachan 2011, 185.) Ohjelmien avulla voidaan suunnitella alukkeet myös huolellisemmin si-

ten, että ne eivät muodosta hiusneularakenteita (engl. *hairpin*), eli ettei alukkeiden sisällä ole komplementaarisuutta. Tai siten, että alukkeet eivät ole toisilleen komplementaarisia ja kiinnity reaktiossa toisiinsa. (Ollikka & Suominen 1997, 110.)

2.3.3 Polymeerasientsyymi

Polymeerasiketjureaktion toteuttamiseksi reaktioon lisätään pieni määrä polymeerasientsyymiä. Polymeerasientsyymit ovat korkeita lämpötiloja kestäviä entsyymejä, jonka vuoksi ne eivät denaturoidu 94°C lämpötilassa, jossa puolestaan DNA-templaatti denaturoidaan. Yleisimmin käytetty polymeerasientsyymi on *Taq*-polymeerasi, joka on eristetty kuumien lähteiden *Thermus Aquaticus*-bakteerista. *Taq*-polymeerasin optimaalinen toimintalämpötila on 74°C, jossa se alkaa syntetisoida komplementaarista vastinjuostetta vapaista reaktioseoksessa olevista nukleotideista. (Brown 2011, 49, 148.) Juosteen rakennus alkaa alukkeiden kiinnittymiskohdasta, DNA:n 3'-päästä kohti 5'-päästä. (Ollikka & Suominen 1997, 108).



KUVIO 1. Polymeerasientsyymien toiminta. (Ahtinen & Heikkinen 2019)

Useimmin ja monissa menetelmissä käytetyn *Taq*-polymeerasin rinnalle on kehitetty myös muita entsyymejä, sillä *Taq*-polymeerasin tekemät virheet monistamisen aikana ovat yleisiä. Muita entsyymejä ovat muun muassa *Pfu*, *Vent*, *Tth* ja *DynaZyme*-polymeerasit. (Ollikka & Suominen 1997, 108.) DNA-polymeeraaseilla on itsellään 3'-5' eksonukleaasiaktiivisuus, eli niin kutsuttu oikolukuaktiivisuus, joka mahdollistaa jossain määrin DNA-polymeerasien tekemien virheiden automaattisen korjaamisen (Read & Strachan 2011, 183). Jos ensimmäisen monistusreaktion kohdalla entsyymien tekemä korjaamaton virhe tapahtuu, reaktio epäonnistuu, sillä seuraavissa sykleissä virheellistä juostetta kopioidaan. Eri entsyymivalmistajat ilmoittavat reagenssiluetteleissaan virhefrekvenssejä entsyymeilleen. (Ollikka & Suominen 1997, 111.)

2.3.4 Nukleotidit

Nukleotidit, dNTP:t, ovat DNA:n rakenneyksikkö, joka muodostuu puriini- tai pyrimidiiniemäksestä, pentoosisokerista ja fosfaattiryhmästä (Tapana 2010, 18). Nämä deoksinukleotiditriposfaatit: adeniini, tymiini, guaniini ja sytosiini, ovat tärkeitä monistuksen lähtöaineita. Näitä nukleotideja lisätään reaktioseokseen ylimäärin (Ollikka & Suominen 1997, 108). Pidennysreaktion aikana polymeerasientsyymi liittää reaktioseoksessa vapaana olevia nukleotideja ketjuksi. Näin muodostuu komplimentaarinen DNA-juoste alukkeen 3'-päästä alkaen kohti 5'-päästä, templaatin mallin mukaisesti. (Horelli-Kuitula & Orpana 2016, 117.)

2.3.5 Reaktioseos

Monistus tapahtuu mikrosentrifuugiputkissa tai 96-kuoppalevyllä reaktioseoksessa, joka sisältää monistukseen tarvittavat komponentit. Tyypillisimmin yhden reaktioseoksen tilavuus on 25 mikrolitraa tai 50 mikrolitraa. Reaktioseoksessa kaikilla komponenteilla on reaktioon sopiva konsentraatio. Reaktioseoksen määrä tasataan tarvittavaan tilavuuteen PCR-laatusella vedellä, kun kaikkien muiden komponenttien määrä on säädetty oikeaksi. (Sigma Aldrich.)

50 µl:n reaktioissa templaatti-DNA:n lopullinen pitoisuus seoksessa on yleisimmin 1-200 nanogrammaa, joka lisätään seokseen 1-5 mikrolitran tilavuudessa. Alkuperäinen templaatti-DNA laimennetaan tarvittaessa PCR-laatusella vedellä. Alukkeita lisätään reaktioon pääsääntöisesti 1-2 µl:aa ja alukkeiden loppukonsentraatioksi reaktioseoksessa halutaan 50-100 pmol. dNTP:n kaupalliset liuokset ovat yleisesti vahvuudeltaan 10 mM, joita lisätään 50 µl:n tilavuuteen 1 µl, saavuttaen 200 µM konsentraation. Polymeerasin lopullinen määrä reaktiossa tulisi olla 2,5-5 U. Tällöin kaupallista polymeerasia, jonka pitoisuus on esimerkiksi 5 U/ µl lisätään 0,5-1 µl:aa. (Sigma Aldrich.)

Reaktiossa olosuhteet luodaan optimaaliseksi erilaisilla puskureilla. Puskuri luo reaktiolle suotuisat olosuhteet, jolloin reaktion saanto ja tarkkuus lisääntyvät. (Gene Education.) Usein kaupalliset puskurit ovat vahvuudeltaan kymmenkertaisia, jotka laimennetaan yksinkertaiseksi esimerkiksi lisäämällä sitä 5 µl:aa, jos halutaan lopullisen reaktioseoksen tilavuudeksi 50 µl:aa (Sigma Aldrich). Kaupallisia puskureita on voitu jo valmiiksi rikastaa erilaisilla auttaja-aineilla, mutta aineita voi lisätä myös manuaalisesti reaktioseokseen. Tyypillisiä reaktioseokseen lisättäviä aineita ovat Tris, EDTA, MgCl₂, KCl, Glyseroli, DMSO, TritonX100, Nonidet P40 sekä Twin20. (Gene Education.)

Esimerkiksi *Taq*-polymeerasi vaati toimiakseen optimaalisen, tyypillisesti 0,5 – 5mM, Mg²⁺-konsentraation aloittaakseen katalyyttisen reaktion. Kuitenkin liika magnesiumkationipitoisuus voi saada aikaan ei-spesifisen alukkeiden sitoutumisen, sekä nostaa myös templaatti-DNA:n sulamislämpötilaa, eli vaikuttaa denaturoitumisnopeuteen. DMSO:ta käytetään reaktion auttajana usein silloin, kun templaattilla on korkea GC-suhde. DMSO estää *hairpin*-rakenteen muodostumista ja li-

sää alukkeiden sitoutumisspesifisyyttä templaattiin. Tris ja EDTA ovat puskurin pääkomponentteja. Tris:n tehtävänä on ylläpitää puskurin olosuhde reaktion aikana pH 8,0. EDTA:n käyttö PCR:ssä puolestaan kelatoi käyttämättömät ionit ja siten parantaa PCR reaktiota. (Gene Education.) Kaupallisesti on saatavilla valmiita reaktioseoksia, joissa puskurin, nukleotidien ja yleisimmin käytettyjen auttaja-aineiden, kuten magnesiumin määrä on valmiiksi tarvittavassa konsentraatiossa. Tällöin reaktioseokseen tarvitsee lisätä vain käytettävät alukkeet, DNA-templaatti ja PCR-laatuinen vesi. Useampaa reaktiota suoritettaessa on suositeltavaa valmistaa reaktioseos yhteen isompaan putkeen, josta sen voi jakaa alieriin näyteputkiin. Niinkutsutun *mastermixin* valmistus säästää paitsi pipetointivaiheita ja aikaa, sekä vähentää virheitä mittauksessa ja annostelussa. Tällöin näyteputkiin tarvitsee lisätä enää vain DNA-templaatti. (Sigma Aldrich.)

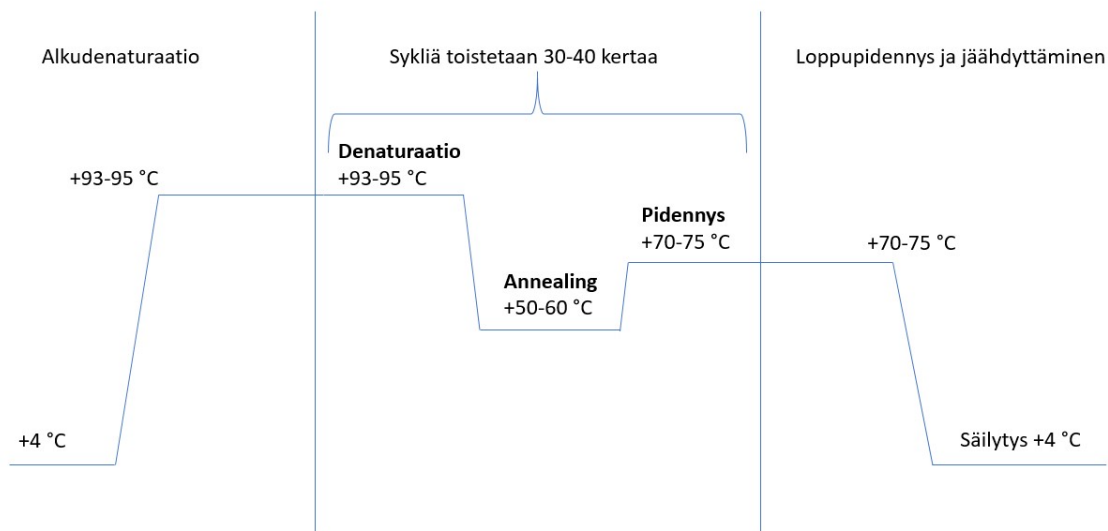
2.3.6 Reaktiossa käytettävät kontrollit

Polymeraasiketjureaktiota suunniteltaessa on varsinaisten näytteiden rinnalla suotavaa tehdä kontrolloja, jotta reaktion onnistuminen ja mahdolliset virhelähteet voitaisiin paremmin havaita. Kontrollina voi olla reaktioseos ilman templaattia, niin kutsuttu negatiivikontrolli, jolla varmistetaan lähtöaineiden, eli reaktioseoksen puhtautta. Kontrollina voidaan myös käyttää jo monistettua ja toimivaksi todettua näytettä, joka toimii reaktiossa positiivikontrollina. Positiivikontrollin tarkoituksena on todistaa, että reaktio toimii, eli reaktioseoksen komponentit ja reaktion syklit ovat toimineet halutulla tavalla. (Ollikka & Suominen 1997, 109-110.)

2.4 Reaktion kulku

Varsinainen monistusreaktio tapahtuu termosyklereissä eli PCR-laitteissa, jonka toistuvat lämmönvaihtelujaksot mahdollistavat DNA:n monistumisen. Ensimmäiset PCR-laitteet kehitettiin 1980-luvulla ja vuosikymmenen lopulla ne tulivat jo kaupallisesti saataville vesihauteissa toteutettavien lämmönvaihteluiden sijalle. Nykypäivänä laitteet ovat pienikokoisia ja kevyitä sekä niihin voi ohjelmoida ja tallentaa muistiin erilaisia ajo-ohjelmia. (Sigma Aldrich 2019.)

DNA:n monistuminen vaatii kolme vaihetta, joissa lämpötilojen muutoksilla saadaan aikaan kaksijuosteisen DNA:n denaturoituminen yksijuosteiseksi, alukkeiden kiinnittyminen DNA-juosteiden spesifiin kohtiin ja polymeraasientsyymien toiminta rakentaa uutta komplementaarista DNA-juostetta. Näitä kolmea peräkkäistä vaihetta yhdessä kutsutaan sykliksi, jota toistamalla alukkeiden rajaaman sekvenssin määrä kasvaa kaksinkertaiseksi, eli eksponentaalisesti jokaisella syklillä. (Amon, Berk, Bretscher, Kaiser, Krieger, Lodish, Ploegh & Scott 2013, 192-193.)



KUVIO 2. Havainnointi automatisoituun laitteeseen syötettävästä ajo-ohjelmasta. (mukaillen Brown 2010, 148; Horelli-Kuitunen & Orpana 2016, 117)

2.4.1 Denaturaatio

Polymeraasiketjureaktiossa syklin ensimmäisessä vaiheessa, denaturaatiossa, reaktioseos, joka sisältää DNA-templaatin, polymeraasin, alukeparin ja nukleotidit, kuumennetaan 93-95°C:seen. Korkea lämpötila saa aikaan kaksijuosteista DNA:ta yhdessä pitävien vetysidosten rikkoutumisen erottaen juosteet yksijuosteisiksi DNA-nauhoiksi. (Brown 2010, 148; Read & Strachan 2011, 183.)

2.4.2 Alukkeiden kiinnittyminen

Syklin toista vaihetta kutsutaan *annealing*-vaiheeksi, jossa reaktioseoksen lämpötilaa lasketaan hetkellisesti 50-60°C:seen. Alennettu lämpötila määräytyy alukkeille määritetyn sulamispisteen mukaisesti, jossa alukkeet pystyvät kiinnittymään optimaalisesti komplementaarisiiin kohtiin denaturoituun DNA-juosteeseen. (Brown 2010, 148-153.) Kumpikin aluke kiinnittyy eri kohtiin, vastakkaisten DNA-juosteiden 3'-päihin rajaten näin monistettavan alueen (Read & Strachan 2011, 184). Lämpötilan laskeminen saa aikaan myös osittaista renaturoitumista kahden yksijuosteisen DNA:n välillä, mutta pienen kokonsa, eli emäsparimääränsä ansiosta alukkeet ehtivät kiinnittyä niiden komplementaarisiiin alueisiin nopeasti, ennen kuin renaturoatio ehtii edetä (Brown 2010, 148; Ollikka & Suominen 1997, 107-108).

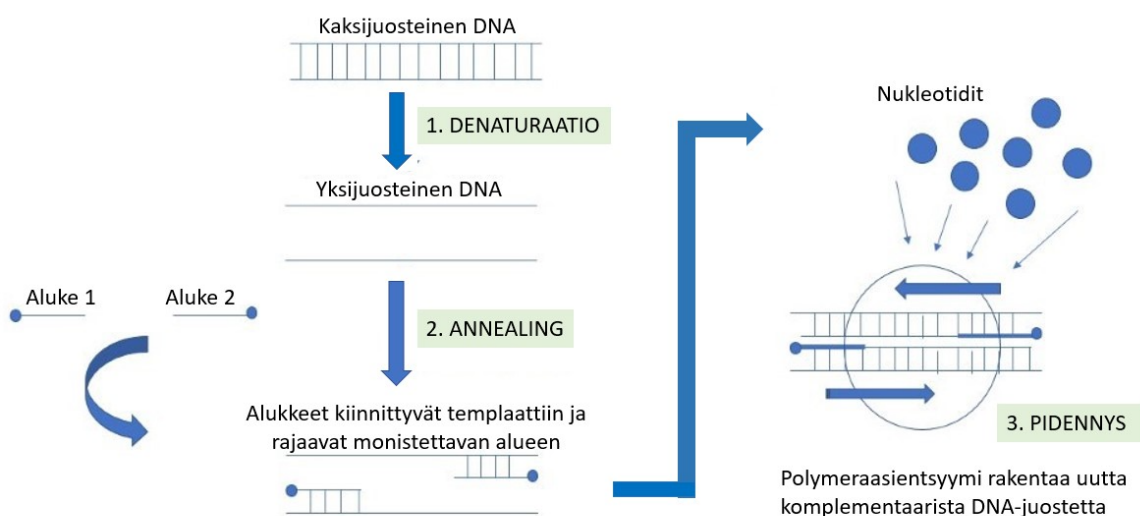
2.4.3 Pidennysreaktio

Syklin viimeisessä vaiheessa, pidennysreaktiossa (Ollikka & Suominen 1997, 108) polymeraasientsyymi rakentaa uutta komplementaarista DNA-juostetta alukkeiden pidentämiseksi, alukkeiden 3'-päistä alkaen. Polymeraasientsyymi toimii tyypillisesti 70-75°C:n lämpötilassa, jossa se liittyy reaktioseoksessa vapaina olevia deoksinukleotiditriposfaatteja (dATP, dCTP, dGTP ja dTTP) alukseen jatkoksi, muodostaen näistä komplementaariset DNA-nauhat templaattina toimivalle DNA:lle. (Read & Strachan 2011, 183-184.) Polymeraasientsyymi jatkaa toimintaansa, DNA-synteesiä, kunnes uuden

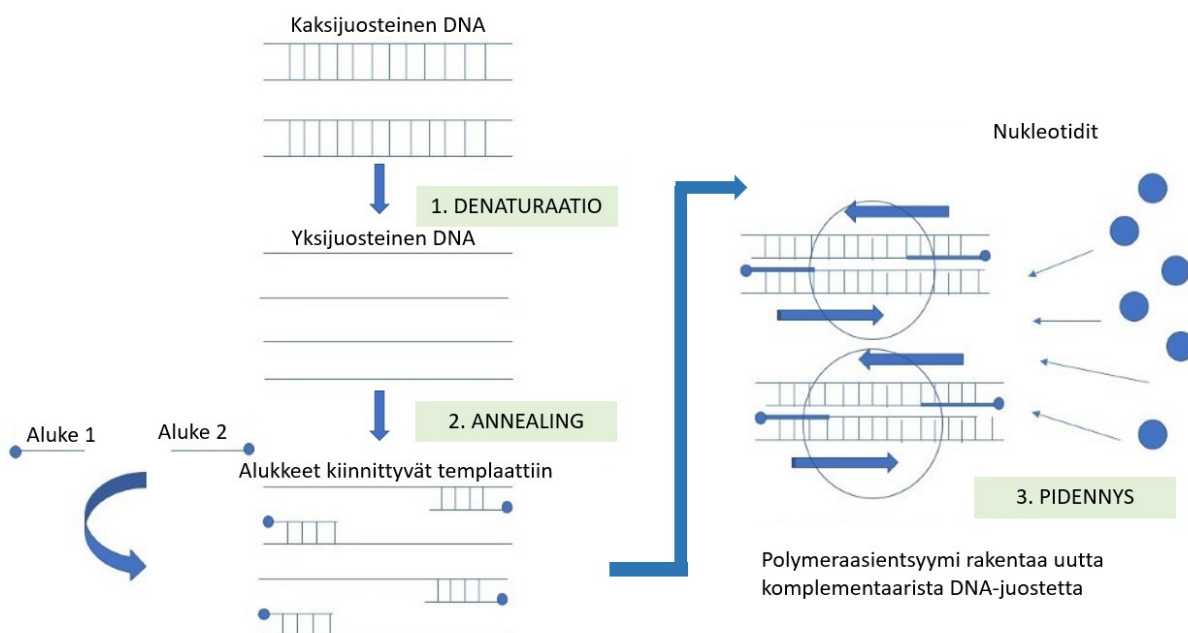
syklin denaturointivaihe alkaa erottamaan vanhoja ja uusia DNA-juosteita toisistaan (Ollikka & Suominen 1997, 108).

2.4.4 Syklit eli toistojaksot

Denaturointi-*annealing*-pidennys -sarjaa toistamalla saadaan hyvin pienistäkin, nanogrammojen suuruisista määristä lähtötuotetta monistettua jo kolmellakymmenellä syklillä useita mikrogrammoja haluttua DNA-jaksoa (Brown 2010, 148). Polymeerasiketjureaktio tapahtuu automatisoiduissa PCR-laitteissa nopeasti ja tehokkaasti, sillä yhden syklin suorittamiseen tarvitaan yleisesti vain 3-5 minuuttia ja toistettaessa 30-40 sykliä aikaa kuluu noin 2-4 tuntia sen saadessa aikaan noin 1 000 000-kertainen määrä haluttua DNA:ta (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016, 117).



KUVIO 3. Ensimmäisen syklin tapahtumat. (Ahtinen & Heikkinen 2019)



KUVIO 4. Toisen syklin tapahtumat. (Ahtinen & Heikkinen 2019)

Ensimmäisen syklin jälkeen lopputuotteena syntyneillä kahdella uudella DNA-juosteella on alukkeiden määräämät 5'-päät, mutta tuntemattomat, ohi alukkeiden rajaaman alueen ulottuvat 3'-päät. Toisessa syklissä syntyy neljä uutta vastinnauhaa, joista kahdella on edelleen tuntemattomat 3'-päät, mutta kahden muun nauhan pituus on alukkeiden rajaaman alueen pituinen. Kolmannessa syklissä kahdeksasta uudesta nauhasta puolestaan kuusi on halutun mittaisia. Alkuperäinen DNA-templaatti säilyy reaktioseoksessa kaikkien syklien läpi, mutta siitä monistuvien pidempien jaksojen määrä kasvaa joka syklissä vain yhdellä (Ollikka & Suominen 1997, 108). Jokaisen syklin jälkeen DNA-juosteiden määrä kaksinkertaistuu, eli kasvaa eksponentiaalisesti ja alukkeiden rajaaman alueen mittaiset uudet juosteet ovat vallitseva osa lopputuotetta pidempien jaksojen ollessa vähäinen. (Read & Strachan 2011, 184; Brown 2010, 148.) Syklejä toistetaan useita, yleensä 30-40, jonka aikana reagenssit kuluvat usein loppuun ja monistuminen saatetaan päätökseen (Strachan & Read 2011, 185).

2.5 PCR-tuotteen käyttö

PCR-tuote, eli monistettu DNA analysoidaan usein agarosigeelielektroforeesin avulla tai tuotetta voidaan tutkia esimerkiksi sekvensoinnilla. Agarosigeelielektroforeesissa väriaineen, esimerkiksi etidiumbromidin tai muiden turvallisempien väriaineiden, kuten SYBR Safe:n (Thermo-Fisher), avulla monistettu DNA saadaan visualisoitua erillisenä vyöhykkeenä geelillä. Agarosigeelillä voidaan nähdä, onko reaktio toiminut halutulla tavalla, jos DNA:n vyöhyke on näkyvässä ja se on molekyylipainomarkkerista nähdyn koon perusteella oikean kokoinen. Jos reaktiossa on monistunut myös jotain muuta, ei-haluttua tuotetta, näkyisi tämä geelillä eri kohdassa. (Brown 2010, 150-154.)

2.6 Aseptinen työskentely

Polymeraasiketjureaktion suorittamisessa tarvitaan erityistä huolellisuutta työskentelyssä, sillä reaktio on erityisen herkkä kontaminaatioille. Reaktion laadunvarmistamiseksi mukana tulisi olla sekä negatiivi- että positiivikontrolleja, joiden avulla nähdään reaktion toimivuus ja mahdollisten kontaminaatioiden ilmeneminen. Ruutini PCR:a suorittavissa laboratorioissa kontaminaation mahdollisuus on suuri, sillä ilmassa voi leijaila toisesta tuotteesta peräisin olevaa DNA:ta. Vierasperäisen DNA:n kulkeutuessa suoritettavaan reaktioon, voi se monistua halutun DNA:n sijasta. Varsinkin hyvin pieniä määriä monistettaessa väärän monistustuotteen tuottamisen riski kasvaa, sillä vierasperäisestä DNA:sta voi tulla hallitseva osapuoli monistuksessa syrjäyttäen halutun DNA:n riittävän monistumisen. (Ollikka & Suominen 1997, 111-112.)

Laboratoriotilan, jossa suoritetaan PCR:a olisi hyvä olla kontaminaatoriskin minimoimiseksi mahdollisimman erillään, mieluiten ylipaineistettu puhdistila, jonne ilmastointi tuo ilmaa suodattimien läpi. Ylipaineen avulla saadaan estettyä hiukkasten leijaileminen työskentelyhuoneeseen muista tiloista. Työntekijät ovat myös kontaminaatoriski, jonka minimoimiseksi olisi hyvä rajoittaa kulkua PCR-reaktioiden valmistuksessa käytettävään huoneeseen, ainakin PCR:n lopputuotteita käsiteltävästä tilasta.

Työskentelyssä on myös tarpeen käyttää puhtaita suojaimia, joiden vaihtamisesta on huolehdittava riittävän usein. (Ollikka & Suominen 1997, 112.)

Mahdollisimman aseptisesti toteuttaen työskentely suoritetaan laminaarivirtauskaapissa, joka on mahdollista käsitellä UV-valolla työskentelykertojen välillä. Ultraviolettivalo dekontaminoi tehokkaasti työskentelypintoja ja välineitä valolle altistuneelta pinta-alalta, vähentäen siten kontaminaatiovaaraa PRC:ssa (Cone & Fairfax 2013). Yhtenä kontaminaatiolähteen muodostavat myös pipetit, sillä pipetoitaessa muodostuu aerosoleja, joiden mukana DNA:ta voi kulkeutua pipetin rakenteisiin. Aerosolien ja DNA:n kulkeutumista näytteestä pipettiin ja toisinpäin voidaan ehkäistä käyttämällä suodattimellisia pipetinkärkiä sekä varaamalla PCR:n suoritukseen vain siihen käytettävät pipetit ja pipetinkärjet. (Ollikka & Suominen 1997, 112.)

Aerosoleja syntyy vähäisiä määriä myös putkia avattaessa ja niiden muodostumista voidaan vähentää sentrifugoimalla reagenssit ja reaktioseokset putkien pohjalle ennen niiden avaamista. Reagenssien pitämiseksi puhtaina ja käyttökelpoisina pitkään, voidaan ne jakaa pienempiin käyttöeriin ensimmäisellä käyttökerralla. Pienemmät erät voidaan hävittää käytön jälkeen, ja siten minimoida kontaminaatoriski seuraavalla kerralla, kun käytetään tietoisesti vain puhtaita reagensseja. (Ollikka & Suominen 1997, 112.)

3 POLYMEERAASIKETJUREAKTION KÄYTTÖKOHTTEET JA SOVELLUTUKSET

Polymeraasiketjureaktion etuna on, että hyvin niukastakin näytteestä saadaan suuri määrä tutkittavaa DNA:ta. Tämä mahdollistaa myös niukkojen tai huonokuntoisten näytteiden käyttämisen kuten esimerkiksi fossiilien tai rikospaikkänäytteiden tutkimisen. PCR:n keksiminen on ollut edellytys moderneille molekyylogeneettisille tutkimuksille ja useat geneettiset tutkimukset pohjautuvat siihen. (Huoponen ja Orpana 2006, 271.)

3.1 PCR-tuotteen hyödyntäminen

PCR:n yleisesti käytössä oleva sovellutus on reaaliaikainen PCR. Tässä menetelmässä reaktion etenemistä pystytään seuraamaan nimensä mukaisesti, reaaliajassa. Toisin kuin tavallisessa PCR:ssä, voi tietokoneelta seurata tuotteiden muodostumista jokaisen syklin edetessä. Menetelmä perustuu fluoresoivaan merkkiaineeseen, jonka signaalin voimakkuutta laite mittaa. Näin saadaan selville, sisältääkö näyte etsityn geenijakson. Menetelmällä voidaan määrittää myös näytteen määrää kvantitatiivisesti. (Haajanen, Pelkonen, Pärssinen & Suominen 2010, 154.) Reaaliaikaisen PCR:n fluoresoiva signaali syntyy, kun koetin kiinnittyy denaturoituun yksijuosteiseen DNA:han. Näin voidaan määrittää, sisältääkö näyte etsittyä DNA jaksoa. (Brown 2011, 159.)

PCR:n periaatteen avulla voidaan myös tuottaa RNA:sta DNA:ta. Tämä perustuu käänteiskopioijaentsyymin kykyyn muodostaa RNA:sta yksijuosteista komplimentaarista DNA:ta (cDNA). Tämä DNA jakso puolestaan monistetaan perinteisen PCR:n tavoin *Taq*-polymeraasin avulla. (Brown 2011, 161.) RT-PCR:ää (engl. *reverse transcriptase PCR*) voidaan hyödyntää muun muassa saman geenin eri lähetti-RNA muotojen selvityksessä, geeniekspressioiden tutkimisessa sekä kloonauksessa. cDNA:ta voidaan myös hyödyntää geenikirjastoissa. (Solunetti 2016b.)

Geenitutkimuksen perusta luotiin jo 1866, kun itävaltalainen tutkija nimeltään Gregor Mendelin esitteli tutkimustuloksen, joka perustui herneiden ominaisuuksien periytymiseen risteyttäessä. Tällöin ajatus yksiköistä, jotka riippumatta toisistaan määräävät jälkeläisten ominaisuudet, syntyivät. Kuitenkaan tuolloin tutkimukselle ei voitu luoda fysikaalisia ja kemiallisia perusteluja, mutta tänä päivänä tiedetään, että Mendelin oli tuolloin jo oikeilla jäljillä. (Mäkelä 1997, 11.) Ihminen on jo tuhansia vuosia jalostanut, niin eläimiä kuin kasveja niiden ominaisuuksien parantamiseksi suunnitelmallisesti. Apuna on käytetty perinnöllistä muuntelua ja sen mahdollistamaa risteytysjalostusta. Risteytysjalostuksella lisätään haluttua ominaisuutta risteyttämällä yksilöitä, jotka omaavat näitä piirteitä. Nykytekniikalla on kuitenkin geenimutaation avulla mahdollista siirtää esimerkiksi kasveihin ominaisuuksia, joilla parannetaan muun muassa makua ja tuholaiskestävyyttä, jolloin estetään niin sanottujen ei haluttujen geenien yleistyminen. Geenimuuntelu tuo esille paljon eettisiä kysymyksiä. (Happonen, Holopainen, Sariola, Sotkas, Tenhunen, Tiharinen-Ulmanen ja Venäläinen 2013, 121.)

Geenitekniikka tarkoittaa menetelmiä, joilla voidaan analysoida, eristää, muokata ja siirtää perintöainesta. Kaikki tämä perustuu samaan geneettiseen koodiin elävien eliöiden välillä. Geenitekniikka on mahdollistanut muun muassa kloonauksen, muuntogeenisen eläimen syntymisen, geenikirjastojen

muodostamisen ja genomien emäsjärjestyksen, eli sekvenssin selvittämisen. Ihmisen sekvenssin karttaminen on ollut yksi tärkeimmistä PCR:n mahdollistamista kehityskaskelista, joka on johtanut uusien tutkimusmenetelmien ja -laitteiden kehitykseen. Tämä on myös mahdollistanut perinnöllisyyslääketieteen kehityksen, eli perimän vaikutuksen analysoinnin sairauksien diagnostiikassa. (Happonen ym. 2013, 86-99.) Geenitekniikan avulla on myös luotu tehokkaampia ja yksilöllisempiä hoitomenetelmiä. Esimerkiksi CAR-T-soluhoido leukemiapotilaille, jossa ihmisen omia T-soluja muokataan geenitekniikalla hyökkäämään syöpäsoluja vastaan. Hoidot ovat kalliita ja monimutkaisia, mutta tulevaisuudessa voivat tarjota uusia ratkaisuja ja hoitomenetelmiä jopa nykyisin hoitamattomiin sairauksiin. (Leppä ja Vettenranta 2019.) PCR:a voidaan käyttää myös mikrobien, kuten bakteerien, hiivojen ja virusten tunnistamisessa (Ollikka ja Suominen 1997, 113).

Uusi, tarkempi tapa muokata perimää on nimeltään CRISPR/Cas9. Tämä perustuu tutkijoiden löytöön bakteerien kyvystä puolustautua viruksia vastaan. Bakteeri pystyy muodostamaan havaittuaan virus-DNA:ta tähän sopivaa RNA:ta. Tuotettu RNA sitoutuu Cas9-nimiseen proteiiniin, joka puolestaan pystyy RNA:n avulla pilkkomaan virus-DNA:ta havaittuaan siihen sopivan virus-DNA-jakson. Tämä tekee viruksesta toimintakyvyttömän. Tutkijat huomasivat, että proteiinin avulla voidaan katkaista mikä tahansa kohta DNA:sta hyvin spesifisti ja lisätä siihen haluttu DNA-jakso. Cas9-proteiini voidaan myös käsitellä niin, että se hiljentää tai aktivoi määrätyn geenin. CRISPR-tekniikka toimii niin tavallisissa soluissa kuin kanta- ja alkiosoluissa, jolloin geneettisen muuntelun mahdollisuudet kasvavat. Tekniikasta voidaan löytää ratkaisuja niin nälänhädän torjumiseen, malarian leviämisen estämiseen kuin tehokkaampien hoitomenetelmien kehittämiseen. Mahdollisuudet ovat lähestulkoon rajattomat. (Vierula 2015.) CRISPR menetelmää on kutsuttu DNA-tekniikan seuraavaksi askeleeksi ja sen helppous tuo mukanaan eettisiä ongelmia. Vuonna 2018 kiinalainen tutkija väitti muokanneensa syntymättömien kaksosten perimää niin, etteivät he voi saada HI-virustartuntaa. Tapaus sai paljon huomiota, ja samalla herätti keskustelun siitä, kuinka nykyinen lainsäädäntö ei pysy tekniikan kehityksen mukana. Lainsäädäntö vaihtelee maittain. (Parkkari 2018.)

3.2 Geenitekniikan eettisyys

Geenitekniikan kehittyminen herättää väistämättä eettisiä kysymyksiä. Minne asti tutkimus saa edetä? Onko oikein tuottaa elämää laboratorio-olosuhteissa? Mitkä ovat ne ominaisuudet, joita saadaan tutkia tai muuttaa? Geenitutkimuksen vaaroja voidaan jakaa kolmeen: tutkimuksien tuomat vaarat ja ennakoimattomat tulokset, väärinkäyttö ja elämäntapa sekä kulttuurilliset muutokset. Esimerkiksi tutkimukset voivat mennä pieleen mahdollistaen haitallisten tautien leviämisen. Myös laboratorio voi tuottaa tahtomattaan maailman vaarallisimman bioaseen tai saada aikaan perimän selviytyksen tuoman epäarvoisuuden. Voiko kehitys johtaa ihmisen niin sanottuun jalostukseen? Onko mahdollista, että tulevaisuudessa saa neuvolassa päättää lapsen ominaisuuksia valitsemalla "haluttuja genejä"? On myös tärkeää muistaa, että tutkimusta ei voi kokonaan kieltää, sillä muuten sitä tehtäisiin salassa. Parempi vaihtoehto on vaatia tutkimushankkeilta riskien arviointia ja valvontaa sekä lakien ja eettisten ohjeiden noudattamista. (Pietarinen 1997, 30-33.)

Suomessa geeniteknologiaa ohjaa ja valvoo Suomen sosiaali- ja terveysministeriö. Geenitekniikan käyttöä määritetään lailla, joka perustuu pääosin EU-direktiiveihin. Säätelystä ja valvonnasta pyritään edistämään turvallista käyttöä, ennakoitumista, eettisiä arvoja ja ympäristön suojelua sekä terveyshaittojen torjuntaa. Sosiaali- ja terveysministeriön kanssa lain toteutumisesta vastaa geenitekniikan lautakunta. Lautakunta vastaa myös GMO-tuotteiden (muuntogeenisten organismien) käytöstä ja kenttäkokeiden luvista. Valvira vastaa GMO tuotteiden suljetusta käytöstä. (Sosiaali- ja terveysministeriö.)

4 VERKKO-OPPIMINEN

Verkko-oppimisella (engl. *e-learning*) tarkoitetaan opiskelua, joka tapahtuu internetin välityksellä verkossa. Verkko voi olla osana oppimisprosessia erilaisissa muodoissa. Verkkoa voidaan käyttää osana tiedon jakelua, vuorovaikutuskanavana tai materiaalin sijaintina. Opiskelu voi olla yhdistelmä lähiopetusta ja verkossa tapahtuvaa oppimista tai kokonaan itse suoritettava etäkurssi, jossa kaikki vuorovaikutus ja kurssin suorittaminen tapahtuu verkko-oppimisympäristössä. Verkko-oppiminen vapauttaa opiskelijaa ajasta ja paikasta opiskelun suhteen. (Kalliala 2002, 12-13.) Opetuksen siirtäminen verkkoon mahdollistaa myös yhteisöllistymistä, sillä teknologia tarjoaa laajempia mahdollisuuksia ryhmässä opiskeluun (Humaloja ym 2017, 99).

Verkko-oppiminen tapahtuu verkko-oppimisympäristössä. Verkkoympäristö on laaja ohjelmisto, johon voidaan lisätä sisältöä. Ohjelmistoon kuuluu työkaluja, joiden avulla alustalle voidaan lisätä muun muassa julkaisuja, keskusteluja, tenttejä sekä muuta materiaalia. (Nurmela & Suominen 2011, 14.) Tekninen kehitys viime vuosikymmenillä on mahdollistanut verkko-oppimisen laajenemisen. Oppisalustojen lisääntyminen ja kehittyminen on tehnyt verkko-oppimisesta sekä materiaalin luomisesta helpompaa ja vaivattomampaa. (Kiviniemi 2005, 21.) Oppimisen siirtymistä verkkoon helpottaa myös digipyrähdysten aikana kasvaneiden lasten ja nuorten positiivinen suhtautuminen teknologian tuomiin mahdollisuuksiin (Humaloja ym. 2017, 99).

Verkossa oleva materiaali on usein opettajan kehittämää opiskelumateriaalia, johon voidaan lukea mukaan kurssin kuvaus sekä siihen kuuluvat tehtävät ja tentit. Opettajan luoma, kirjoitettu materiaali, voi toimia kurssikirjan korvaajana. Verkossa toimiminen mahdollistaa kuvien, äänen, liikkuvan kuvan sekä kaksi- ja kolmiulotteisten mallien lisäämisen materiaalin tueksi. Lisäksi voidaan luoda vuorovaikutteisia oppimismaisemia, jossa opiskelija pääsee itse tutkimaan pelin tavoin ympäristöä ja näin kehittämään osaamistaan. Verkko-oppimiseen kuuluu myös aiheeseen liittyvä tiedonhaku niin verkosta kuin sieltä löytyvistä tietokannoista. On huomattu, että verkosta löytyvä tieto on paremmin ajan tasalla, kuin lehdistä ja kirjoista etsittävä materiaali. Myös opiskelijat voivat yhdessä opettajan kanssa tuottaa materiaalia verkkoon, kuten esimerkiksi projektien tai verkkoon tuotettavien keskustelutehtävien muodossa, joissa tuodaan esille eri näkökulmia aiheeseen liittyen. Oppimateriaalia laatiessaan opettaja voi myös hyödyntää asiantuntijoita sekä oppilaitosten ja asiantuntiaverkostojen yhteistyötä. (Kalliala 2002, 14-16.)

Kansallinen ja kansainväliset tietoyhteiskuntastrategiat selittävät osaltaan verkko-opiskelemisen räjähdysmäistä kasvua, sillä ne tukevat ja kannustavat taloudellisesti verkko-opiskelun kehittymistä. Yksi syy verkon käytön yleistymiseen opetuksessa on tiedon ajantasaisuus ja laajuus. Verkko mahdollistaa opiskelijan syventymisen häntä eniten kiinnostavaan aiheeseen omassa tahdissaan. Verkossa voidaan myös jatkaa keskustelua lähiopetuksen aiheista, sekä opettaja voi helposti ja nopeasti tiedottaa opiskelijoita muutoksista ja tärkeistä kursseista koskevista asioista. Verkko-opetus pystyy vastaamaan myös kustannustehokkaasti nykyopetuksen vaatimuksiin vapauttaen luokkatiloja ja vähentämällä matkustusaikoja ja -kuluja. Koska verkossa opiskeleminen ei ole paikasta ja ajasta riippuvaista, mahdollistaa se opiskelun myös eri elämäntilanteissa oleville ihmisille, sekä monipuolistaa

paikkakuntien opiskelutarjontaa niin kansallisesti kuin kansainvälisestikin. Verkko-opiskelu vastaa myös työelämän tarpeisiin ja sitä voidaan hyödyntää esimerkiksi uuden työtehtävän perehdytysjaksoilla. (Kalliala 2002, 30-31.)

4.1 Hyvä verkkomateriaali ja sen tuottaminen

Hyvän materiaalin lähtökohtana on selvittää, mitä asioita kursseilla on tarkoitus oppia, eli kurssille tulee asettaa opintojakson tavoitteet ja kurssin kuvaus. Oppimisen tavoitteiden asettamisen jälkeen tulee ne analysoida tarkemmin, jotta tavoitteet saadaan konkreettiseen muotoon. Tällöin tavoitteet voidaan käsitellä, käsitellä ja muuttaa lopulta toiminnaksi. Analyysin avulla selvitetään oppikokonaisuuden ydinalueita, joiden perusteella lopulliset arviointikriteerit, eli osaamisen tunnisteet muodostuvat. Ydinalueet ovat siis tärkeitä konkreettisia opittavia asioita opintojaksolla. Näitä aiheita voidaan hyödyntää valmiista opintojaksosuunnitelmasta tai luoda analyysi kokonaan itse. (Koli 2008, 34-35.)

Verkko-opetuksen suunnittelussa on myös tärkeää huomioida opiskelijoiden lähtötaso. Tämä tulee ilmaista opintojakson kuvauksessa tai se voidaan vaihtoehtoisesti selvittää oppimisalustalla, jotta opiskelijoiden taustatiedot ja taidot vastaavat kurssin vaatimuksia. On myös tärkeää, että kurssin osallistujia mitoitetaan suunniteltu toteutusta ja pedagogisia ratkaisuja täyttäväksi. (Hohental & Varonen 2017.)

Yhtä tärkeää, kuin on suunnitella kurssin oppimistavoitteet, on asettaa kurssille arviointiperusteet. Arviointikohteet toimivat usein opiskelijoiden toiminnan ohjaajana, sillä usein arvioitavat kohteet mielletään pakollisina tehtävinä, ja muu taas ylimääräisenä lisänä. Arvioinnilla on siis suoraa vaikutusta opiskelijoiden toimintaan ja siksi arviointia kannattaa vaiheistaa koko kurssin keston ajaksi. Näin kurssi ei koostu ainoastaan yhdestä suuresta lopputehtävästä, vaan välille asetetaan pienempiä välitavoitteita, jotka edistävät opintojakson tavoitteiden täyttymistä. (Nurmela & Suominen 2011, 227.)

Verkkokurssin sisällön ja aineiston tärkein tehtävä on tukea oppimistavoitteiden saavuttamista. Sisällön tulee olla suunniteltu niin, että opiskelija pystyy yhdistämään uutta tietoa aiemmin opittuun ja soveltamaan sitä. Sisällön ja aineiston tulee olla ajankohtaista ja käytettyjen lähteiden luotettavuus tulee olla varmistettu. Verkkosisältöä luodessa on myös tärkeää muistaa, että tekijänoikeustiedot sekä käyttöoikeudet ovat kelvolliset. (Hohental & Varonen 2017.) Verkossa sijaitseva itseopiskelumateriaalin tulisi olla luotu niin, ettei siinä ole sisällöllisiä tai teknisiä ongelmia. Tuotetun sisällön tulee siis palvella opiskelijaa selkeästi, sillä itseopiskelumateriaalin tulisi toimia ilman opettajan ohjeita. (Kalliala 2002, 59.)

Samoin kuin materiaali, tulee tehtävien olla kuvattu selkeästi oppimisalustalla. Tehtävien suunnittelussa tulee huomioida, että niiden tarkoitus, suoritustapa, kriteerit ja aikataulu on esitetty selkeästi. Sisällöltään tehtävien tulisi edistää oppimistavoitteiden saavuttamista. Toteutustavaltaan tehtävät voivat olla monimuotoisia ja edistää myös yhteisöllistymistä esimerkiksi ryhmätehtävien muodossa.

(Hohental & Varonen 2017.) Tehtävät voivat siis olla joko yksilö- tai ryhmätehtäviä, jotka voidaan toteuttaa mm. projektitöinä, esseinä, kommentteina keskusteluryhmään tai tiedonetsintätehtävinä. Opiskelijat voivat ryhmässä tuottaa materiaalia, joka alustalla jaetaan myös muiden opiskelijoiden materiaaliksi, jolloin myös opiskelijat itse tuottavat alustalle verkko-opiskelumateriaalia. (Kalliala 2002, 67.)

Kokonaan verkossa suoritettavan kurssin suunnittelemisessa kannattaa panostaa toimintaan ja vuorovaikutukseen. Tämä tarkoittaa, että oppistavoitteita täyttävä sisältö kannattaa sisällyttää tehtäviin ja keskusteluihin ennemmin kuin itseopiskeltavaksi verkkomateriaaliksi. Esimerkiksi keskustelupalstalla voidaan jakaa kommentteja kurssin ydinaiheista, mutta keskustelujen sisällä annetaan tilaa erilaisille etenemistavoille ja näkökulmille. Tällöin sisältö muuttuu opiskelijälähtöisemmäksi ja monikeskeiseksi, sillä sisältöä ei ole tuottanut ainoastaan yksi toimija. Keskustelu verkossa antaa myös enemmän aikaa kantojen perusteluun ja mahdollisuuden palata keskusteluihin. Vuorovaikutusta voi myös harkita siirtämään sosiaaliseen mediaan, kuten Facebookiin. (Nurmela & Suominen 2011, 49-51.)

Verkossa suoritettava opiskelu vaatii oppijalta enemmän motivaatiota ja sitoutumista, verrattuna perinteiseen lähiopetukseen. Sisäisellä motivaatiolla tarkoitetaan opiskelijan itsestä kumpuavaa tiedonjanoa, jonka verkkokurssin materiaalin tulisi pystyä täyttämään. Ulkoisella motivaatiolla tarkoitetaan arvosanojen saavuttamista tai kurssin läpäisemisen pakkoa, joka harvoin toimii aikuisopiskelijoiden motivaationa. On siis tärkeää opiskelijoiden motivoinnin kannalta, että kurssin haastavuus, mielekkyys ja sisältö vastaavat osallistujien tarpeita. Opiskelijoiden itseohjautuvuus ja oma-aloitteisuus lisääntyvät, kun he kokevat, että tehtävät ovat kiinnostavia ja kytkeytyvät todellisuuteen vaatien myös omaa ajattelua. (Nurmela & Suominen 2011, 53.)

Osana hyvää verkkomateriaalia on ohjauksen selkeys ja sen laadukas kuvaaminen tärkeää verkkooppimisympäristössä. Ohjauksen toteutus tulisi olla selkeästi esillä opiskelijalle alustalla. Tärkeää on myös mahdollistaa oikea-aikainen palaute ja ohjaus koko verkkokurssin ajan. Verkkopalustalla tulee tarjota työvälineitä osallistujalle, joilla hän voi osallistua aktiivisesti ohjaukseen ja kysyä mahdollisia kysymyksiä ohjaajalta. Opiskelijan tulee tuntea, että hänen on mahdollista esittää kysymyksiä ja saada ohjausta koko kurssin ajan. Verkkokurssien ja materiaalien kehittämisen kannalta palaute- ja mahdollisuudet ovat avainroolissa. (Hohental & Varonen 2017.)

Oppimisalustat tuovat mukanaan myös visuaalisia mahdollisuuksia, joita voidaan käyttää verkkokurssin ja -materiaalin toteuttamisen selkeyttämisen tukena. Opiskelijan tulee olla helppo edetä verkkokurssilla. Tämä on mahdollista, kun toteutuksen rakenne ja sisältö ovat helposti ymmärrettävissä ja selkeästi laadittu. Tuotettu materiaali tulee olla tyyliltään samanlaista ja erilaisten fonttien käyttö laskettu minimiin. Otsikot ja kansiot ovat laadittu harkitusti ja tunnistettavasti. Sisällön toimivuuden tarkastaminen on myös osa toimivaa oppimisympäristöä. (Hohental & Varonen 2017.)

4.2 Opettajan rooli verkkoympäristössä

Opettajan rooli verkko-oppimisympäristössä on luoda oppimisprosessin kulku, ohjauksen suunnittelu ja sen toteutus. Kyseessä on erittäin vaativa ja kokonaisvaltainen prosessi, jossa kurssin oppimisen ja osaamisen tavoitteet saavutetaan toiminnan avulla verkossa. Oppimisen ymmärtäminen ja ohjauksen tiedostaminen eri prosessin vaiheissa ovat tärkeitä verkko-opettajan ominaisuuksia. Opettajan tulee pystyä asettumaan opiskelijan asemaan ja omata empatiakykyä. (Koli 2008, 18.) Verkko-opettajuus vaatii sisällön laatijalta laajaa tietämystä verkon tuomista mahdollisuuksista, jotta sisältö voidaan luoda mahdollisimman tarkoituksenmukaisimmalla tavalla. (Kalliala 2002, 127.)

Opettajan vuorovaikutuskeinot ovat hyvin erilaiset verkkoympäristössä kuin lähiopetuksessa, jos kurssin toteutus tapahtuu kokonaan verkossa. Ohjaajan päätyökaluna on ennakoida ja valmistella ohjaustyötä. Tässä huomataan ero vanhaan käsitykseen opettajalähtöisestä opiskelutavasta, jossa opettaja toimii tiedon jakajana. Verkko-opetus näin ollen edistää opiskelijalähtöistä opetustapaa, jossa opettaja toimii opiskelun, oppimisen ja osaamisen kehittymisen edistäjänä, tukijana ja seuraajana ohjauksellisin keinoin. (Koli 2008, 20.)

Ohjaajan läsnäolo näkyy ensisijaisesti verkossa tämän luomana materiaalina. Tällä tavoin ohjaaja jakaa omaa asiantuntijuuttaan kurssin osallistujille. Tämä on ikään kuin ohjaajan puhetta opiskelijoille. Ohjaaja voi myös antaa ohjausta aktiivisesti prosessin eri vaiheissa. Ei pidä unohtaa, että opiskelijat voivat toimia myös ohjauksen antajina oppimisympäristöissä. (Koli 2008, 21.) On tärkeää, että verkko-opettaja osallistuu aktiivisesti ja näkyvästi kurssin ohjaukseen. Opettaja voi liittyä keskustelutehtäviin tuoden aktiivisesti omaa asiantuntijuuttaan esille sekä hiljaisen tiedon sanallistamista, joka on saanut kiitosta oppilailta kerätyissä palautteissa. Opettajan näkymättömyys on mielletty verkkokursseilla negatiiviseksi asiaksi. Tämä vaatii ohjaajalta rohkeutta tarttua ongelmatilanteisiin ja tuoda esille jopa omat erehtyväisyytensä esimerkkitalanteissa. Opettaja voi yhtä lailla keskustella oppilaiden kanssa palstoilla tasavertaisesti ja auttaa keksimään ratkaisuvaihtoehtoja. (Nurminen & Suominen 2011, 56.)

Verkko-ohjaajan tärkeä rooli on kurssin aikatauluttaminen ja siitä kiinni pitäminen. Oppilaat pitävät kurssin alussa annettua kokonaisuikataulua tärkeänä ja hyödyllisenä. Näin palautuspäivämäärät ovat selkeästi esitetty ja kurssin suorittajat voivat suunnitella ajankäyttöään sen avulla. Kurssin kokonaisuikataulua määrittää ohjaajan suunnitelma toteutuksen vaiheistaminen, joka tarkoittaa oppimisprosessin eri vaiheissa palautettavien tehtävien aikataulua. Tämä edistää niin opiskelijoiden ajankäyttöä kuin oppimista, sillä opiskelija saa palautetta myös oppimisprosessin aikana. Jos palautetta saa vain kerran kurssin lopussa, on mahdollisuus, että jokin asia on voitu oppia väärin. Opiskelijat kokevat, että he panostavat paremmin kerran viikossa palautettaviin pienempiin kokonaisuuksiin kuin kurssin lopussa yhteen laajaan tehtävään, joka myös osaltaan tukee niin oppimista kuin oppilaisen itseohjautuvuutta. (Kalliala 2002, 132-133.)

Opiskelijalle ohjaajan antama palaute on keskeisessä roolissa, sillä se kannustaa oppijaa, tuo esille puutteita, uusia ratkaisuja, näkökulmia ja erilaisia lähestymistapoja tehtävien tekemiseen. Opiskelija

saa palautteen verkon välityksellä kirjallisessa muodossa. Palautteen tulisi olla enemmän kysyvää kuin osoittelevaa, ja tuoda myös esille opiskelijan onnistumisia. Ohjaajan tulee myös palautteessaan antaa ilmi, että häneltä saa tarvittaessa tiedustella enemmän palautteesta vääринymmärtämisen estämiseksi. Ohjaajan kannattaa panostaa palautteen antamiseen, sillä palaute vaikuttaa verkko-opiskelijoiden oppikokemukseen. Opettajan tulee myös itse noudattaa laatimaansa palauteaikataulua sekä priorisoida verkko-opiskelijoiden sähköpostit ja kysymykset kurssiin liittyen. (Kalliala 2002, 133-134.) Yksilöllinen palautteen antaminen on aikaa vievää ja opiskelijat mieltävät ryhmäpalautteet ei niin hyödyllisinä kuin yksilöpalautteen. Tähän on etsitty ratkaisua automaattipalautteista, jotka nopeudellaan voivat palvella opiskelijaa paremmin kuin hitaasti saapuvat yksilölliset palautteet. (Nurmela & Suominen 2011, 228.)

Ongelmatilanne voi olla este kurssilla etenemiselle ja siksi on tärkeää saada opettajan apua tilanteeseen mahdollisimman nopeasti. Opettajan aktiivisuus verkkokurssia koskien välittää opettajan kiinnostusta kurssia kohtaan, joka puolestaan motivoi opiskelijoita. Opettaja voi mm. muistutella sähköpostissa tehtävien eräpäivän lähestymisestä tai tiedustella kurssin etenemisestä. (Kalliala 2002, 135.)

4.3 Opiskelijana verkko-oppimassa

Verkko-opiskelu vapauttaa opiskelijaa ajasta ja paikasta riippuen. Opiskeluun tarvitsee kuitenkin varata aikaa riittävästi, mutta verkossa opiskeltaessa opiskelija itse saa päättää opiskelun ajankohdan ja kuinka opiskeluun varattu aika jakotetaan muun elämän lomaan. Verkko-kurssia suoritettaessa on tärkeää, että opiskelija hallitsee ajankäyttöä, osaa varata siihen aikaa ja pitää suunnitelmastaan kiinni. Hallittua ajankäyttöä osoittaa myös tehtävien palautusajankohtien ennakoiminen, jolloin opiskelija osaa arvioida tehtävään tarvittavan tuntimäärän, sovittaa sen aikatauluunsa ja suorittaa tehtävän kunnollisesti. Opiskelijan täytyy myös osata sopeutua ja noudattaa ryhmässä sovittua aikataulua. Aikataulun noudattaminen ja suorituksista selviytyminen verkko-oppiympäristössä vaatii opiskelijalta itseohjautuvuutta. Näin opiskelija vastaa omasta oppimisestaan. (Kalliala 2002, 35-38.) Aiemmin tutkimuksissa on todettu verkko-opiskelun vievän opiskelijalta yhtä paljon aikaa kuin lähiopetus. Kuitenkin myöhemmissä pienemmissä tutkimuksissa on todettu verkko-opiskelun vievän jopa enemmän aikaa lähiopetukseen verrattuna. Tähän vaikuttaa ajankäytön pirstaloituminen, eli tehtävien tekeminen pienissä osissa opiskelijan omassa tahdissa, eikä opettajalla ole enää niin suurta vaikutusvaltaa opiskelijan ajankäyttöön ja opiskelutahtiin. (Nurmela & Suominen 2011, 235.)

Ryhmätyöt verkko-opetuksessa haastavat opiskelijoiden yhteistyökykytaitoja. Näitä tärkeitä sosiaalisia taitoja tarvitaan nykyaikaisessa verkostoituneessa ja kansainvälisessä työympäristössä. Kun opiskelijat suorittavat tehtäviä yhdessä, voivat he jakaa keskenään tukea, neuvoja, ajatuksia ja uusia ideoita keskenään. Työskentely useiden ihmisten kanssa parhaan mahdollisen tuloksen saavuttamiseksi vaatii neuvotteluja, kompromisseja ja ongelmanratkaisukykyä. Yleensä ryhmässä tuotetulla kokonaisuudella saavutetaan parempi lopputulos, sillä yksin opiskelija voi juuttua ongelmaan, joka ryhmässä taas voidaan ratkaista ongelmaan kompastumatta. Verkko-opiskelu mahdollistaa myös

ryhmien välisen yhteistyön. Ryhmät voivat antaa toisilleen rakentavaa palautetta ja näin opiskelijoiden omaa osaamista saadaan kuuluviin niin ratkaisujen etsimisessä ja epäkohtien löytämisessä. (Kalliala 2002, 39.)

Verkko-opiskelu vaatii opiskelijalta medialuku-, kirjoitus-, vuorovaikutus- ja teknisiä taitoja eri tavoin kuin lähiopetuksessa. Medialukutaitoa tarvitaan, kun opiskelija etsii tietoa internetistä ja muodostaa kokonaiskuvan eri tietolähteistä. Lähteiden tulee olla luotettavia, ja opiskelijalla tulee olla kykyä erottaa, mikä tieto on oleellista. On myös tärkeää arvioida lähteiden vanhentuneisuutta ja paikkansapitävyyttä. Hyvä kirjoitustaito on tarpeellista, jotta vuorovaikutus verkkoalustalla on selkää ja ymmärrettävää. Välttämättä opiskelijat eivät kohtaakaan kasvotusten kurssin aikana, tulee opiskelijalla olla valmiudet tuoda näkökulmansa esille tekstin muodossa. Teknisiä vaatimuksia verkko-opiskeluun on opiskelija pääsy verkkoon ja verkkoalustan käytön hallitseminen. (Kalliala 2002, 41-43.)

4.4 Video osana verkkomateriaalia

Videon toteutus noudattaa samaa kaavaa kuin esseen luominen: ensin tutustutaan aiheeseen huolellisesti, jonka jälkeen toteutetaan se suunnitelman pohjalta, tällä kertaa vain videon muodossa. Tärkeää on miettiä, mitä videolla halutaan saavuttaa opetuksessa. Toteutukseltaan video voi olla muutakin kuin liikkuvaa kuvaa ja ääntä. Oppimisen kannalta on melkein selkeämpää, kun video koostuu vain kuvista ja äänestä. Hyvä opetusvideo on usein yhdistelmä tätä kaikkea, liikkuvaa kuvaa, ääntä, kuvia ja tekstiä. Pituudeltaan videon kannattaa olla lyhyt, noin 3-5 minuuttia. Parempi termi kuvaamaan tehokkaita opetusvideoita on videoleikkeet, eli pidempää videokokonaisuutta kannattaa harkita leikattavaksi lyhyempiin osiin. (Nurmela & Suominen 2011, 185-190.) Hyvä video on myös saatavilla tekstitettyinä, ja videota luodessa verkkoalustalle on myös tärkeää muistaa tarkistaa sen toimivuus eri päätelaitteilla (Hohental & Varonen 2017).

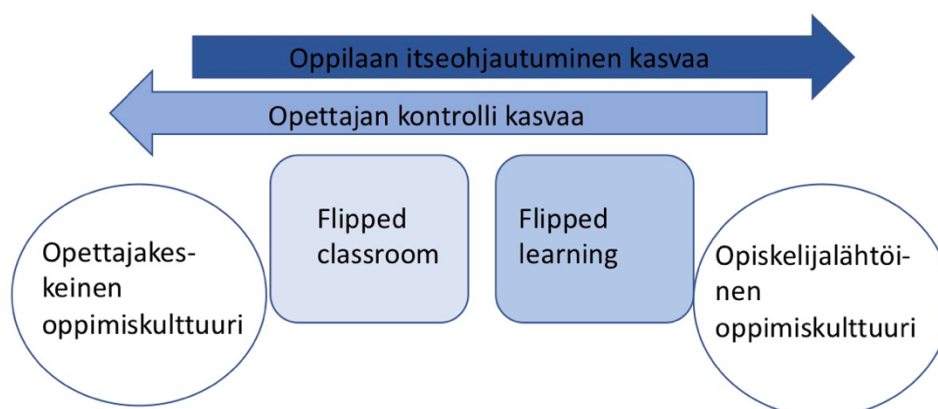
4.5 edX-verkkoalusta

edX on verkko-oppimisalusta, jonka Harvardin yliopisto ja MIT (eng. *Massachusetts Institute of Technology*) ovat luoneet vuonna 2012. edX-alusta tarjoaa kursseja yli 20 miljoonalle oppijalle maailman johtavilta yliopistoilta. edX on globaali ja voittoa tavoittelematon portaali, jolla halutaan muuttaa perinteistä opetusta. Tämä tapahtuu murtamalla maksujen, sijainnin ja saatavuuden esteitä opiskelijoille ympäri maailman. edX tarjoaa kursseja laidasta laitaan tietotekniikasta johtamiseen ja viestintään. Osa kursseista on maksuttomia ja toiset puolestaan veloittavat käyttäjää. (edX 2019)

edX toimii verkko-oppialustana Moodlen tavoin. Alustalle on mahdollista luoda keskustelualustoja, kirjoitettua teorian tietoa ja nettitenttejä. Myös videoiden tuonti on mahdollista. Ulkoasultaan edX on yksinkertainen ja selkeä. edX:n suunnattomana etuna on sen laajuus, jos opiskelija haluaa suorittaa esimerkiksi aiheeseen liittyvän, jonkun toisen yliopiston kurssin. edX luo myös mahdollisuuksia kansainväliselle verkostoitumiselle.

5 FLIPPAUS ELI KÄÄNTEINEN OPETTAMINEN

Flippaus eli käänteinen opettaminen (*flipped classroom*) tarkoittaa nimensä mukaisesti opetuksen kääntämistä. Tällä opetusmenetelmällä pyritään siirtymään opettajakeskeisestä oppimistavasta opiskelijälähtöisempään, jolloin opettaja toimii oppilaalle apuna tiedon soveltamisessa, ei sen siirtämisessä. Opettajan tulee astua ulos tavanomaisesta roolistaan ja näin luoda tilaa uudelle, opiskelijälähtöisemmälle opetuskulttuurille. Käänteinen oppiminen (*flipped learning*) puolestaan tarkoittaa oppimisen metodia, jossa opiskelijaa kannustetaan itseohjautuvuuteen. Tällöin opettaja toimii opiskelijan tukena pedagogisesti, tukien opiskelijan valinnanvapausta omassa oppimisessaan. Erityistä käänteisestä oppimisesta tekee sen, että oppimista katsotaan yksittäisen opiskelijan edunmukaisesti, ei samanlaisena koko luokalle tai kurssiryhmälle. (Humaloja ym. 2017, 20.)



KUVIO 5. Käänteinen opetus ja oppiminen apuna oppilaskeskeiseen oppimiskulttuuriin siirtymisessä. (Humaloja ym. 2017, 20)

Konkreettisesti flippaus näkyy opetuksessa sen rakenteen muutoksessa. Opiskelijoille jaetaan etukäteen luotu ennakkomateriaali, johon he perehtyvät kotona, yksin tai ryhmässä. Ennakkomateriaali voi olla videoitu luento tai mikä tahansa muu materiaali. Siihen voi myös kuulua tehtäviä tai pieni-muotoisia tenttejä, jotka oppilaan tulee tehdä ennen lähiopetustunnille osallistumista. Näin opiskelija voi kartoittaa omaa osaamistaan ennen lähiopetustunteja. Opettaja voi luoda myös kannustimia, lisäämällä ennakotehtäviä arviointikriteereihin. Tämä lisää opiskelijoiden motivaatiota tutustua materiaaliin huolellisesti. Lähiopetuksessa voidaan käydä lävitse oppilaille heränneitä kysymyksiä ennakkomateriaaliin liittyen. Tällöin opetus muuttuu opiskelijan oppimista tukevaksi, eikä vain opettajan tiedon siirron tapahtumaksi, vaan uuteen tietoon perehtyminen on jo tapahtunut ennakkomateriaalin välityksellä. (Pesonen 2018; Saarelainen.)

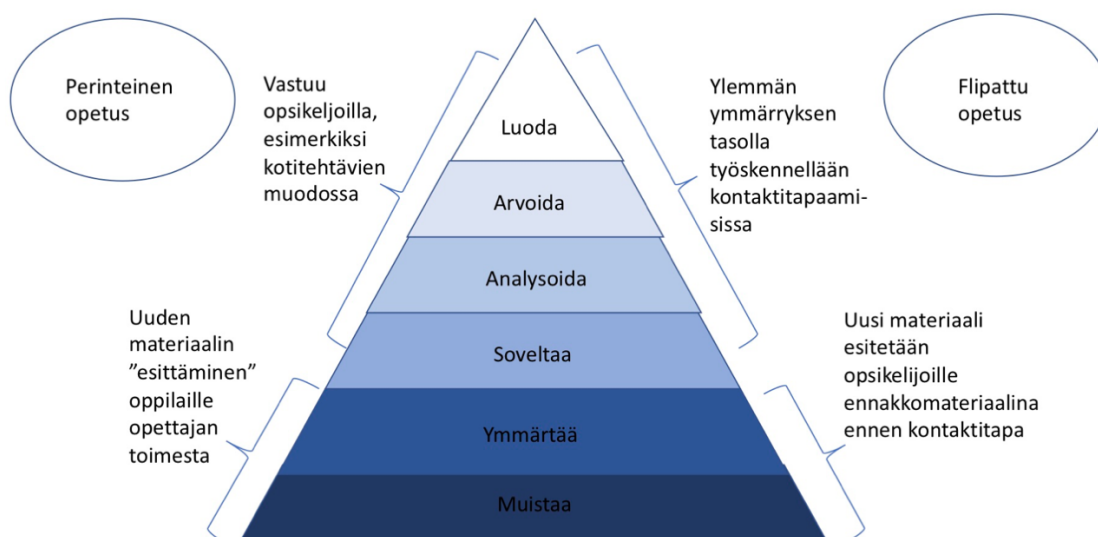
Käänteisen opettamisen tavoitteena ei ole vain saada aikaan parempia oppimistuloksia yksilöllisemmin vaan saada oppilaat sitoutumaan autonomisesti opiskeluun sekä suhtautumaan siihen opiskelijakeskeisemmin. Opiskelijakeskeisellä oppimisella tarkoitetaan opiskelijan aktiivista osallistumista. Op-

piminen on koko elämän kestävä, yksilöllinen prosessi ja opetuksessa opiskelijalla tulisi olla mahdollisuus oppia omaan tahtiin, parhaaksi katsomallaan tavalla. Opiskelijoiden tulee ottaa vastuu omasta oppimisestaan. On myös tärkeää, että opiskelija omaa taidon tehdä itsearviointia, joka on perusta kaikelle tulevalle oppimiselle. Opettajan tulee luoda opiskelijoille hyvä oppimisympäristö, jossa vallitsee positiivinen ilmapiiri. Opettaja kannustaa luoviin ongelmanratkaisuihin ja samalla tukee heidän oppimisprosessiaan. (Humaloja ym. 2017, 23-24.)

5.1 Oppimisen organisointi flippauksen avulla

Flippatun kurssin luominen aloitetaan tarkastelemalla opintojaksokuvausta. Näin kurssin keskeinen sisältö ja tavoitteet hahmottuvat, sekä opetus, toiminta ja tavoitteet ovat linjassa ja tukevat toisiaan. (UEF a.) Opettajan kannattaa myös arvioida, mitkä ovat kurssin lähtötasovaatimukset, jotta kurssi vastaa opiskelijoiden tarpeita tai onko niitä tarpeen kartoittaa ennen kurssin alkamista. (Saarelainen 2018.)

Flippatun oppimateriaalin luomisessa käytetään apuna ydinainesanalyysiä. Tässä opettaja kartoittaa opintojakson, jolloin löydetään kysymykset, joihin opiskelijan tulisi pystyä vastaamaan kurssin suoritettuaan. Osaamisalueet jaetaan otsikoihin, jonka jälkeen opettaja voi pohtia, mitä aihealueet ovat haastavampia, joita voidaan käydä läpi kontaktiopetuksessa ja taas mitkä aihealueet opiskelija voi itsenäisesti sisäistää esimerkiksi ennakkomateriaalin avulla. Samalla opettaja voi arvioida, millaista materiaalia opiskeluun käytetään kunkin kurssiaiheen kohdalla. Ydinainesanalyysin apuna voidaan käyttää Bloomin taksonomista kaaviota (KUVIO 6), joka jäsentelee oppimista. Sen avulla voidaan asettaa myös oppimistavoitteita. (Saarelainen 2018.) Osaamistavoitteet on hyvä saattaa muotoon, jotta ne ovat arvioitavissa ja mitattavissa. Oppimistavoitteet tulee olla saavutettavissa ja selkeästi esitettyinä, jotta opiskelija voi itse arvioida niiden täyttymistä sekä, että opettajan on helpompi arvioida opiskelijan onnistumista niiden täyttymisessä. Näiden tulee myös olla linjassa opintojakson kuvauksen sekä toimintojen kanssa. (Atjonen.)



KUVIO 6. Bloomin taksonomia. (Saarelainen 2018)

Kurssin rakennetta suunniteltaessa on hyvä huomioida kurssin arviointi. Arviointi voi koostua opintojakson varrelle ripotelluista pienemmistä tehtävistä, sekä perinteisestä loppuentistä. Oppimista voi mitata koko oppimisprosessin ajan. (UEF a.) Flippaus mahdollistaa kolme eri vaihetta arvioinnille: preformatiivinen, formatiivinen ja postformatiivinen. Preformatiivinen arviointi perustuu ennen kontaktiopetusta tehtäviin toimintoihin. Tämä kartoittaa osaamista niin, että kontaktiopetuksessa voidaan käydä läpi opiskelijoita askarruttavia, haastavampia aiheita. Formatiiivisella arvioinnilla tarkoitetaan luokkatilanteessa tapahtuvaa arviointia, kun taas postformatiivinen arviointi kohdistuu luokkatilanteen jälkeiseen tilanteeseen. Postformatiivinen arviointi voi olla mm. tenttiin valmistautumista. (Atjonen.)

Käsitteenä sana formatiivinen tarkoittaa arvioinnin muotoa, jossa hyödynnetään vertaisarviointia, itsearviointia sekä portfolioita, eli osaamiskansioita. Formatiiivinen arviointi, eli oppimisen arviointi on jatkuvaa palautetta, jolla pyritään lisäämään ymmärrystä jo opituista asioista ja mitä opiskelijan kannattaisi harjoitella seuraavaksi. Toinen arviointia kuvaava käsite on summatiivinen arviointi, joka puolestaan kuvastaa enemmän perinteistä arviointimallia. Tämä ei ole poissuljettu arviointimenetelmä flipatun kurssin suunnittelussa. Esimerkiksi pienet testit ennakkomateriaaliin pohjautuen ovat summatiivista arviointia. Opettajan tulee antaa opiskelijoille arviointikriteerit etukäteen, jotta he tietävät, mitä arvosanoihin vaaditaan. (Atjonen.)

Hyvä ennakkomateriaali vastaa pedagogisesti opintojakson tavoitteisiin ja arviointiin, sekä havainnollistaa opittavaa aihetta. Ennakkomateriaalia voi luoda itse tai käyttää jo olemassa olevaa tietoa. Materiaalia luodessa käytetään hyväksi ydinainesanalyysiä, jonka avulla on hahmotettu aihealueet, joita opiskelija voi itse opiskella kotona ennen kontaktiopetusta. On tärkeää tuoda opiskelijalle selkeästi esille, mikä opiskelijan on tiedettävä ennen lähiopetukseen osallistumista ja mikä taas on ylimääräistä, syventävää tietoa. Flippauksessa opiskelija opiskelee itsenäisesti ennakkomateriaalin, joten materiaalin määrä tulee suhteuttaa opiskelijoiden ajankäyttöön. Flippauksen käytetyin ennakkomateriaalimuoto on video, mutta muitakin materiaaleja on mahdollista käyttää. Ennakkomateriaalina voi käyttää mm. dokumentteja, valokuvia, podcasteja, äänitallenteita ja erilaista kirjallisuutta. Myös virtuaaliympäristöjä voidaan hyödyntää oppimisen keinona ennen lähiopetukseen osallistumista. Osana ennakkomateriaalia opettaja voi luoda erilaisia toimintoja, kuten ennakotehtäviä tai itseohjaavia testejä, jotka vaativat ennakkomateriaalin tutustumisen. Näin materiaali tulee käytyä läpi ennen kontaktiopetukseen osallistumista, sekä aiheet, joita tulisi syventää kontaktiopetuksessa, nousevat esille. (UEF b.)

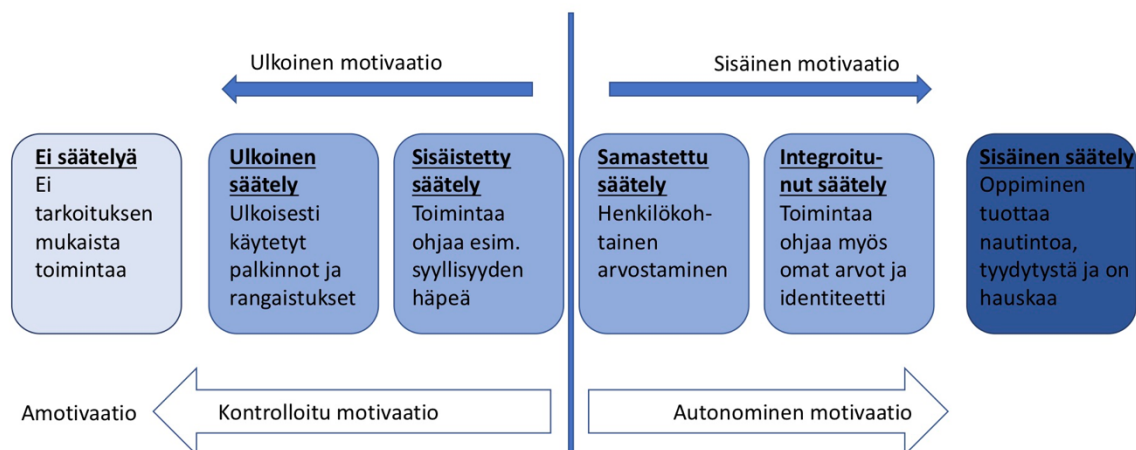
Kontaktiopetus on tilanne, johon hyvin suunniteltu ennakkomateriaali on valmistanut oppilaat. Myös kontaktiopetus flippauksessa tulee olla opiskelijälähtöistä ja opiskelijan aktiivista roolia oppijana painotetaan. (UEF c.) Kontaktiopetuksessa voidaan hyödyntää esimerkiksi ongelmaperustaista oppimista (engl. *problem based learning*), jossa yhdistetään opittua asiaa työelämän haasteisiin. Ongelmaperustainen oppiminen noudattaa yhteisöllistä oppimista, sillä ongelmia ratkotaan yleensä pienissä ryhmissä. (Sointu.) Apuna voi käyttää myös tutkivaa oppimista. Tällä mallilla tietoa syvennetään ja yhteisöllisesti tuodaan esille mm. ristiriitoja ja ratkaisuja niihin. (Valtonen) Tutkivaan oppimi-

seen perustuu myös *case-based learning*, eli tapausopetus. Tässä opiskelijoille esitetään mahdollisesti työelämässä kohdattavia ongelmia. Näin opittua tietoa päästään soveltamaan käytännönläheisesti. Vertaisopetus on hyvä menetelmä flippauksessa, sillä siinä opiskelijat syventävät tietoaan luennoilla ennakkomateriaalista heränneiden kysymysten avulla. Keskustelua voidaan käydä niin opettajan kuin oppilaidenkin välillä, jolloin vertaisoppimisessa on kyse myös oppimisesta yhdessä. Ennakkomateriaalin tehtäviä voidaan käydä läpi myös pienryhmissä, joissa omien ajatusten esille tuomisen kynnys on matalampi. (UEF c.)

5.2 Opiskelija ja flipped learning

Opiskelijan näkökulmasta tärkeää oppimisympäristön luomisessa on motivaation ylläpitäminen. Ihminen tuottaa oman motivaationsa ja siksi oppilaan motivointiin oppimisprosessin aikana kannattaa kiinnittää huomiota. Motivaatiota on kahta eri laatua: sisäistä ja ulkoista motivaatiota. Koko oppimisprosessi ei kuitenkaan perustu ainoastaan sisäiseen motivaatioon, vaan suurin osa perinteisestä opetuksesta rakentuu ulkoiseen motivaatioon. Oppimisprosessin kehittämisen kannalta tulisi enemmän keskittyä opiskelijan motivointiin itsemääräämisteorian avulla. (Humaloja ym. 2017, 33-34.)

Itsemääräämisteoria perustuu ryhmittelyyn itsesäätelytason perusteella (KUVIO 7). Näitä tasoja ovat: amotivaatio, kontrolloitu motivaatio sekä autonominen motivaatio. Amotivaatiolla tarkoitetaan motivoitumisen tilannetta, jossa opiskelijalla ei ole mitään motivaatiota toimia tavoitteiden saavuttamiseksi. Kontrolloitu motivaatio koostuu sisäistetyistä ja ulkoisesta säätelystä. Ulkoinen säätely perustuu oppilaan haluun suorittaa toiminta niin, että siitä seuraa mahdollisesti palkinto tai rangaistuksen välttäminen. Sisäinen säätely puolestaan tarkoittaa toiminnan suorittamista osittain sisäisesti, mutta toiminta on kuitenkin kontrolloitua, sillä opiskelija suorittaa toiminnan esimerkiksi välttääkseen syyllisyyden ja ahdistuneisuuden tuntemuksia. Autonominen motivaatio muodostuu samastetusta ja integroituneesta säätelystä. Samaistetussa säätelyssä toimintaa ohjaa valinta, sillä hän kokee opittavan asian merkitykselliseksi. Integroitu säätely puolestaan perustuu opiskelijan toiminnan kohtaavan hänen omien arvojen, identiteetin ja tarpeiden kanssa. Integroitunut opiskelija toimii itseohjautuvasti. (Humaloja ym. 2017, 34.)



KUVIO 7. Itsemääräämisteoria. (Mukaillen Humaloja ym. 2017, 35)

Käänteisessä oppimisessa pyritään juuri tukemaan opiskelijan itseohjautuvuutta ja täten autonomista motivaatiota. Tähän kannustaa mm. epämuodollinen oppimisympäristö, joka haastaa opiskelijaa ja tarjoaa erilaisia virikkeitä. Opiskelijan autonomista motivaatiota parantaa opettajan luoma itsensä määräämisen, osaamisen ja yhteenkuuluvuuden tunne, esimerkiksi yhteisöllisen oppimisen muodossa. Opettaja käänteisessä opetuksessa mahdollistaa itseohjautuvuuden sekä opiskelun omassa tahdissaan, joka lisää autonomista motivaatiota. Vastakohtana tälle ovat perinteisemmät tiukemmat toimintaohjeet, uhkaukset sekä kilpailuasetelmat, jotka heikentävät sisäisen motivaation syntymistä ja siirtävät sitä enemmän ulkoiseen ja kontrolloidun motivaation suuntaan. (Humaloja ym. 2017, 35.)

Tärkeä osa opiskelijan oppimisprosessia flipatussa opetuksessa on lähikehityksen vyöhyke. Tämä on keskeinen oppimisen alue, sillä lähikehityksen vyöhykkeellä tarkoitetaan oppimista, jota opiskelija ei kykene suorittamaan täysin itsenäisesti. Kuitenkin oikeanlaisen johdatuksen ja tuen avulla opiskelija pystyy saavuttamaan tämän tiedollisen toiminnan tason. Tässä tasossa siis opettajasta tulee merkityksellinen osa opiskelijan oppimisprosessia. Lähikehityksen taso määritellään olevan yksin saavutettavissa ja potentiaalisen oppimisen tason välissä. Käänteisessä opetuksessa opettajan tulee tarjota opiskelijoille eritasoista materiaalia ja näin tukea opiskelijoiden motivoitumista ja kykyä opiskella omassa tahdissaan, omalla oppimistasolla tukien opiskelijan oppimisprosessia. Opettajan roolia on oppimisessa tärkeää niin verkko- kuin lähitoteutuksessa. (Humaloja ym. 2017, 40-41.)

6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS

Työn tavoitteena on yhtenäistää koulutuspolkua ja -tarjontaa hankkeeseen osallistuvien ammattikorkeakoulujen välillä. BioDigi-hankeeseen, eli bioanalyttikon digitaalinen verkkoportaalin toteuttamiseen osallistuu yhteensä viisi ammattikorkeakoulua, joissa tarjotaan bioanalytiikan koulutusohjelmaa. Työn avulla kehitetään ammattikorkeakoulujen välistä yhteistyötä sekä opiskelijoiden yhdenvertaisuutta ja tasa-arvoa. Hankkeelle tehtävän oppimateriaalin englanninkielinen toteutus verkossa mahdollistaa joustavan opintopolun ja koulutuksen hyödyntämisen myös suuremmalle kohderyhmälle, mukaan lukien vaihto-opiskelijat ja vieraskieliset opiskelijat. Opetus- ja kulttuuriministeriö toimii hankkeen rahoittajana. (Metropolia 2017.)

Työn tarkoituksena on ollut tuottaa työn tilaajan, Savonia-ammattikorkeakoulun kanssa yhtenäinen verkko-oppimateriaali molekyylibiologian kurssikokonaisuuteen. Oppimateriaalimme polymeraasiketjureaktiosta sisältää kirjoitettua teoreiatietoa, lopputestin ja käytännön työskentelyä tukevan videon. Verkkomateriaali soveltuu käytettäväksi käänteiseen opetusmetodiin. Savonia-ammattikorkeakoulu on tuottanut oppimateriaalia DNA:n eristämisestä, agarosigeelielektroforeesista, polymeraasiketjureaktiosta ja RT-PCR:ä. Kurssikokonaisuuteen kuuluu myös käsitelista materiaalin tueksi, joka sisältää perussananastoa käännettynä suomesta englanniksi. Olemme pyrkineet oppimateriaalia tuottavien ryhmien kanssa aikaansaamaan opiskelijoille selkeän ja yhteneväisen kokonaisuuden molekyylibiologian eri osaamisalueista. Työmme perustana on ollut, että opiskelijoilla on jo tietämys molekyylibiologian alkeista.

Työmme tuotoksena on polymeraasiketjureaktion verkko-oppimateriaali eDX-alustalla. Opiskelun muuttuessa monimuotoisemmaksi ja kansainvälisemmäksi oppimateriaali on tuotettu englannin kielellä. Tavoitteena on ollut tuottaa englanninkielinen, selkeä ja itseohjautuvaa oppimista tukeva verkkomateriaali, joka pohjautuu flippaukseen, eli käänteiseen oppimiseen. Materiaalissa olemme pyrkineet monipuolisuuteen, joka mahdollistaa yksilöllisen oppimisen eri opiskeluteknikoin. Materiaali sisältää vapaaehtoista lisämateriaalia, jonka avulla opiskelija voi syventää tietämystään kiinnostavista aiheista.

7 OPINNÄYTETYÖPROSESSI

Opinnäytetyöprosessi koostuu aloitus-, suunnittelu-, esi-, työstö-, tarkastus-, viimeistely- sekä päätösvaiheesta. Kehittämistyö tuotetaan toiminnallisena opinnäytetyönä. Aloitusvaiheessa työn idea tuodaan esille, ja tuotos suunnitellaan vastaamaan kehittämistyön tilaajan tarpeita. Suurimmat aiheen linjaukset tapahtuvat tässä vaiheessa. Suunnitteluvaiheessa kehitetään kirjallinen kehittämissuunnitelma, jossa ilmenee muun muassa tavoitteet, toteutuksen vaiheet, materiaalit ja aineistot. Esivaiheessa työskentely siirtyy kentälle, eli ympäristöön, jossa työskentely pääosin tapahtuu. Työstövaihe on erittäin tärkeä osa opinnäytetyöprosessia, sillä siinä lopullinen tuotos saavuttaa muotonsa. Samalla työstövaihe on myös prosessin raskain vaihe. Kun kehittämistyö on saavuttanut lopullisen muotonsa, on se valmis tarkastusvaiheeseen. Viimeistelyssä hiotaan vielä viimeisiä kommentteja, jonka jälkeen päätösvaiheessa kehitystyö esitetään ja levitetään kaiken kansan nähtäväksi. (Salonen 2013, 17-19.)

7.1 Opinnäytetyö kehittämistyönä

Työmme on kehittämistyö, jossa toteutamme tilaajan tarpeisiin soveltuvan tuotoksen. Kehittämistyö, eli toiminnallinen opinnäytetyö eroaa tutkimuksellisesta opinnäytetyöstä siten, että tutkimuksellisessa työssä tuotetaan uutta tietoa, joka julkaistaan tutkimusraportin muodossa. Kehittämistyön lopputuloksena puolestaan syntyy konkreettinen tuote vastaamaan tilaajan tarpeita. Tuote voi olla esimerkiksi opas, kirja, esite tai kuten tässä tapauksessa oppimateriaali. (Salonen 2013, 5-6, 19.)

Toiminnallisessa opinnäytetyössä yhdistyy tiedon raportointi ja käytännön toteutus. Ammattikorkeakoulukoulutuksen, sen tarjoaman tiedon ja vaaditun opinnäytetyön tarkoituksena ja tavoitteena on, että opiskelija hallitsee oman ammattiryhmänsä asiantuntijuuden sekä sen kehittämisen ja tutkimuksen perusteet. Opinnäytetyön tulee esittää ammattimaisen tiedon osaamista, tutkimuksellista asennetta ja sen tulisi olla käytännönläheinen. (Airaksinen & Vilka 2003, 9-10.)

7.2 Opinnäytetyön toteuttaminen

Opinnäytetyömme prosessissa aloitusvaihe alkoi yhteisinä kokouksina kaikkien Savonia-ammattikorkeakoulun ryhmien kanssa syksyllä 2018, jotka loivat kurssimateriaalia alustalle. Silloin määrittelimme suurimmat linjaukset aihealueille, sekä moduulien rakenteille. Tällöin päädyimme pedagogisessa näkökulmassa flippaukseen. Määrittelimme myös BioDigi-hankkeen vaatimukset kehittämistyölle, joka oli englanninkielisen oppimateriaalin tuottaminen verkkoympäristöön.

Suunnitteluvaiheessa teimme Tutkin, oivallan, kehitän - kurssille osana suoritusta aihekuvauksen sekä tutkimussuunnitelman opinnäytetyöhömmme. Tällöin luotavan materiaalin laajuus ja aikataulu alkoivat hahmottumaan, sekä aloimme keräämään ensimmäisiä lähteitä teoriatietoja varten.

Esivaihe oli osaltamme suoritettu, sillä olimme vastikään itse osallistuneet molekyylibiologian kursseille, joten siirryimme suoraan työstövaiheeseen. Työstövaihe osaltamme jakautui kahteen vaiheeseen: materiaalin tuottamiseen alkuvuodesta ja lopun toiminnallisen opinnäytetyön työstämiseen loppusyksystä 2019. Tarkastusvaihe sekä viimeistelyvaiheen suoritimme marraskuun aikana 2019. Esitimme työmme Savonia-ammattikorkeakoulun järjestämässä hyvinvointikonferenssissa, johon työstövaiheessa loimme Power Point-esityksen.

7.3 Opetusmateriaalin luominen

Materiaalin tuottamisessa olemme pyrkineet yhtenäisyyteen Savonia-ammattikorkeakoulun sisältöä tuottavien ryhmien välillä, jotka osallistuvat molekyylibiologian opintojakson materiaalin luomiseen. Materiaalin ulkoasussa on tavoiteltu sen olevan mahdollisimman helposti ymmärrettävä ja selkeälinjainen. Esimerkiksi tärkeät käsitteet ovat merkitty samoin kaikissa molekyylibiologian osioissa. Näin opiskelijalle jää selkeä kuva tärkeistä opittavista asioista. Yhteneväisyyttä lisää myös kaikkien ryhmien sama pedagoginen lähestymistapa, eli *flipped learning*. Kurssin esittely sisältää opiskelijalle täydennettävät päivämääräosiot, joihin voi merkata tarvittaessa ylös kontaktiopetuksen päivämäärät. Esittelyssä myös korostetaan materiaalin läpikäymistä ennen tapaamista opettajan kanssa, joka tukee kaikkien materiaalia tuottavien ryhmien yhtenevää pedagogista lähestymistapaa, flippausta. Jokaisen osion lopussa on samantyylinen, opittuja asioita arvioiva testi, jolla opiskelija voi testata omaa osaamistaan aihealueesta ennen kontaktiopetukseen osallistumista. Kurssin opettaja voi motiivoida opiskelijoita halutessaan lisäämällä lopputestin mukaan arviointiin ja näin varmistaa, että suurin osa opiskelijoista käy ennakkomateriaalin huolella läpi (UEF a.).

Luomamme materiaali on ennakkomateriaalia mahdollisesti flipatulle kurssille. Tuottamamme materiaali perustuu flippauksen ydinainesanalyysiin. Ydinainesanalyysin avulla pyrimme löytämään tärkeimmät asiat, jotka opiskelijan tulee osata kurssin loputtua. (Saarelainen 2018.) Käytimme hyväksemme myös Savonia ammattikorkeakoulun opetussuunnitelmaa, sekä suorittamamme kurssin materiaalia, jotta olemme varmasti oikealla tiellä tärkeiden pääpointtien kanssa. Materiaalimme sisältää kirjoitettua teoretietoa sekä kuvaamamme video polymeraasiketjureaktion käytännön suorituksesta. Koska opiskelijat tuottavat verkkomateriaalin portaaliin, tulee opiskelijoiden näkemys esille, kuinka opittava asia olisi paras esittää. Olimme heti yhtä mieltä, että flippauksen nojalla sekä asian selkeyttämiseksi haluamme kuvata teoretietoa tukevan videon, mitä polymeraasiketjureaktion suoritus käytännössä on ja näin helpottaa käytännön harjoitustunteja.

7.3.1 Videomateriaali

Kursseilla jaettu ja siirretty teoretietoa on usein vaikea yhdistää käytännön työhön. Selkeyttääksemme opitun teoretiedon yhdistämistä käytännön suorittamiseen kuvasimme yhtenä osana materiaalimme videon polymeraasiketjureaktion käytännön suorituksesta laboratoriossa. Videomme on yksi osa kurssin opiskeltavaa materiaalia ja sen tarkoituksena on havainnollistaa kurssin opiskelijoille, kuinka työ toteutetaan käytännön tasolla. Tämä tarkoittaa, että videossa kuvataan

muun muassa tarvittavia välineitä, pipetoitavia reagensseja ja tämän tapahtumista käytännössä. Video ei korvaa kirjoitettua materiaalia, sillä videolla ei perehdytä PCR:n teoriaan.

Videomme on tehty tekstitettyä ilman ääniä, joten sitä on mahdollisuus hyödyntää molekyylibiologian harjoitustyötunneilla. Opiskelijat voivat seurata videota yhtä aikaa eri päätteiltä työskentelyn lomassa ja harjoitustöiden ohjaaja voi hyödyntää sitä työohjeena tai osana opetusta. On tärkeää, että opiskelijat tekevät omaa synteesiä kirjoitetun teorian ja videon välillä.

Ennen videon kuvaamista suunnittelimme, mitä haluamme videollamme saavuttaa. Käsikirjoituksessa otimme huomioon käytännönläheisen, kronologisen työskentelytavan. Toteutuksemme nojautuu Finnzymes Oy:n Fusion High-Fidelity-PCR reaction -tuotepaketin, tuotenumero F-553L, ohjeistukseen. Videon toteuttamiseksi laadimme käsikirjoituksen, jonka mukaisesti kuvasimme käytännön suorituksen (Liite 1.). Videolla olemme osoittaneet selkeästi työhön tarvittavat reagenssit, välineet ja käytännön työn. Videon mukaisessa järjestyksessä edetessään opiskelijat voivat suorittaa kyseisen harjoitustyön ja onnistua tekemään laadukkaasti PCR:n. Tärkeimpänä lähtökohtana pidimme videon soveltavuutta harjoitustunneille työohjeen tavoin. Tämän huomioimme esimerkiksi laskutaulukona reagensseille sekä riittävinä tekstityksinä, ettei opiskelijoille jää epäselväksi, mitä videolla tapahtuu. Video palvelee myös opiskelijaa konkreettisenä esimerkkinä PCR:n suorituksena, jolloin esimerkiksi reagenssien merkitys on mielekkäämpää ymmärtää.

Videomme on kuvattu laadukkaalla älypuhelimella Savonia-ammattikorkeakoulun harjoitustyötiloissa. Videon editointi on toteutettu Applen iMovie-sovelluksella, versiolla 10.1.12. Oppilaitoksen tarjoama toteutusympäristö havainnollistaa opiskelijoille toimintaympäristöä ja käytettävää välineistöä. Kuvauksen aikana otimme huomioon työskentely-ympäristön tarkoituksenmukaisuuden, siisteyden, mallityöskentelyn suorittajan oikeanlaiset työskentelytavat ja asianmukaisten suojavarusteiden käyttämisen.

Kirjoitetun materiaalin joukkoon olemme etsineet internetistä myös muita havainnollistavia ja relevantteja videoita käytännön työskentelystä oppimisen tukemiseksi. Videot toimivat havainnollistavina esimerkkeinä myös PCR:n teoriasta. Näin opiskelijalla on mahdollisuus valita oppimistyyli omaan oppimistapaansa sopivaksi sekä opettaja voi hyödyntää tarjoamaamme videomateriaalia niin lähteenä tehtäville kuin tukena lähiopetuksessa. Tuotettu video sekä internetistä etsityt oppimista tukevat videot ovat englanninkielisiä.

7.3.2 Teoriamateriaali

Kirjoitettu teorian tiedon olemme esittäneet PowerPoint –tyylisesti EDX-alustalla. Teoriatieto noudattaa polymeerasiketjureaktion suoritusvaiheita, aloittaen sen historiasta ja teoriasta. Aihealueemme on pyritty pitämään mahdollisimman helposti luettavana ja siihen on lisätty tärkein tieto opiskelijan osaamisen kannalta. Tiedon syventäminen tapahtuu opiskelijoiden itsenäisellä tiedonhauksella, sekä lisämateriaalin avulla. Olemme pyrkineet luomaan välilehdistä mahdollisimman visuaali-

sia lisäämällä tekstin oheen kuvia ja kaavioita, jotka helpottavat oppimista havainnollistaen teoriati-
toa. Olemme kiinnittäneet erityisesti huomiota siihen, että oppilaalle jää materiaalin osalta selkeä
kuva siitä, mikä on tärkeää tietoa ja mikä taas perustietoa tukevaa vapaaehtoista syvempää osaa-
mista. Tämä tapahtuu tekstin lihavoinnin avulla tärkeiden käsitteiden osalta. Ylimääräinen, oppi-
mista syventävä materiaali on lisätty laatikoihin. Olemme lisänneet materiaali-osion loppuun herät-
televiä kysymyksiä kursivoidulla, joihin opiskelija voi löytää vastauksen lisämateriaalista. Kysymyk-
sien tarkoituksena on herätellä opiskelijan ajatuksia ja kannustaa myös omatoimiseen tiedonhakuun.
Kurssin esittelyssä on kerrottu, että tämä on täysin vapaaehtoista, eikä täten kuulu kontaktiopetuk-
sessa osattaviin asioihin.

Luomamme materiaali on laadittu ydinainesanalyysin avulla. Sen avulla olemme määrittäneet, mikä
on oleellisinta tietoa ja mikä puolestaan on täydentävää tietoa. Ydinainesanalyysin keskeisenä tehtä-
vänä on määrittää kontaktiopetuksessa käytävät asiat lävitse ja aihealueet, jotka opiskelija voi itse-
näisesti suorittaa (Saarelainen b). Koska emme tiedä varmaksi, kuinka konkreettisesti opetus tul-
laan suorittamaan, otimme materiaaliin lähtökohdaksi sen, että koko osio flipataan, eli tuottamamme
materiaali voisi kokonaisuudessaan toimia ennakkomateriaalina. Näin opettaja voi kurssin pedago-
gista lähestymistapaa pohtiessa päättää, mitä osa-alueita käydään tarkemmin lävitse kontaktiope-
tuksessa, esimerkiksi ryhmätehtävien muodossa. Ydinainesanalyysi näkyy materiaalissamme tärkei-
den käsitteiden esille tuomisessa lihavoinnilla. Myös kuvat kuvaavat tärkeimpiä osion opittavia asi-
oita.

8 POHDINTA

Opinnäytetyömme lopuksi pohdimme työmme onnistumista ja merkitystä sekä tavoitteiden saavuttamista opinnäytetyöprosessimme aikana. Arvioimme tuottamamme kurssimateriaalin hyödyllisyyttä ja käyttömahdollisuuksia jatkossa.

8.1 Opinnäytetyön ja kurssimateriaalin tuottamisen arviointi

Työmme tuotos, eli luomamme verkkomateriaali, on yksi osa BioDigi-hankkeen molekyylibiologian kurssimateriaalia. Aloittaessamme materiaalin suunnittelua ja työstämistä muiden aihealueiden tekijöiden kanssa, suunnitelmana oli rakentaa yhteneväinen kokonaisuus. Kurssikokonaisuuden oli tarkoitus jatkaa ulkoasultaan ja sisällöltään toinen toistaan. Kokonaisuuden yhtenäistäminen ei kuitenkaan toteutunut mielestämme riittävästi, vaan kurssin osuudet eroavat toisistaan visuaaliselta ilmeeltään. Yhtenä haasteena ja osasyynä kurssialueen samankaltaisuuden puuttumiselle on mielestämme tekijäryhmien erinevät toteutusaikataulut. Kaikkien kurssien osa-alueet noudattavat samaa pedagogista opetustapaa, joka puolestaan ilmenee saman kaltaisina kurssin osion esittelyinä sekä lopputesteissä. Vaikkei visuaaliset ilmeet ole täysin yhteneväiset, ovat kuitenkin kaikkien kurssien pääpiirteet samanlaiset, johon olemme erittäin tyytyväisiä. Koemme, että onnistuimme tuottamaan materiaaliin, joka antaa molekyylibiologian opintojaksolle kattavan kuvan polymeraasiketjureaktion teoriasta ja käytännön suorittamisesta, sekä sopii kyseiseen molekyylibiologian kokonaisuuteen.

Opiskelijalle flipattua kurssia suoritettaessa on tärkeää tuoda esille, mikä opiskelijan on tiedettävä ennen lähiopetukseen osallistumista ja mikä taas on ylimääräistä, syventävää tietoa (UEF b.). Onnistuimme tässä hyvin, sillä koko kurssin luomisen ajan pidimme mielessä sen, että opiskelijat kurssin läpi käytyään ymmärtävät tärkeimmät pääasiat. Korostimme tärkeitä opittavia käsitteitä lihavoinnilla sekä erottelimme lisämateriaalit selkeästi erilleen. Lopputesti käsittelee myös näitä tärkeimpiä osa-alueita, joka helpottaa opiskelijan omaa arviointia siitä, mitkä valmiudet hänellä on osallistua kontaktiopetukseen tai mitä mahdollisesti haluaa käydä lävitse opettajan avustuksella lähikehityksen vyöhykkeellä (Humaloja ym. 2017, 40-41).

Opiskelijan itseohjautuvuuden ja täten autonomisen motivaation tukeminen on eritoten tärkeää käännteisessä oppimisessa. Käännteinen opettaminen tarjoaa uudenlaisia virikkeitä opiskelijalle, sekä uudenlainen oppimiskulttuuri- ja ympäristö ruokkii opiskelijan itseohjautuvuudesta. (Humaloja ym. 2017, 35.) Tämä uudenlainen opetusmuoto on erittäin soveltuva ammattikorkeakoulujen opetukseen, sillä se vastaa tarpeisiin niin kustannustehokkaasti sekä motivoi opiskelijoita. Materiaaliin syventyminen tuntuu merkitykselliseltä, kun sitä käsitellään kontaktiopetuksessa mielekkäästi, esimerkiksi ongelmaperustaisen oppimisen avulla (Sointu). Samoin aikaa säästyy, kun lähiopetuksessa ei kulu aika niin sanottujen itsestään selvien asioiden läpikäymiseen. Tämä ruokkii myös motivaatiota niiden opiskelijoiden osalta, joille esimerkiksi kyseinen aihealue on entuudestaan tuttu. *Flipped learning* myös mahdollistaa monimuotoisemmat ja mielekkäämmät lähiopetustunnit. Lähiopetustunneilla voidaan hyödyntää *problem based learning* -menetelmää, joka vastaa työelämän tarpeisiin (Sointu).

Flippaus tuo opiskelijoille vapautta opiskella omassa tahdissaan, omaksi parhaallaan katsomalla tavalla (Humaloja ym. 2017, 35). Opiskelijoilla on siten tilaisuus valita kuinka paljon aikaa he käyttävät kyseisen aiheen opiskeluun ennen kontaktiopetusta. Opiskelijoilla on mahdollisuus opiskella omalla tasollaan eri taustoista riippumatta. Materiaalin luomisessa pyrimme, että mahdollisimman monenlaiset opiskelijat saavat materiaalista parhaan mahdollisen hyödyn. Materiaali sisältää perinteistä kirjoitettua tekstiä, kuvia sekä videoita, joita opiskelijat voivat katsoa luennon tavoin. Näin opiskelija voi löytää omaa oppimistaan parhaiten edistävän tavan. Käänteisessä opetuksessa opettajan tulee tarjota opiskelijoille eritasoista materiaalia ja näin tukea opiskelijoiden motivoitumista ja kykyä opiskella omassa tahdissaan, omalla oppimistasolla (Humaloja ym. 2017, 40-41). Kurssimateriaali vastaa myös sisällöltään opiskelijoiden tarpeisiin, jotka haluavat tutustua asiaan pintaa syvemmälle. Herättelevät kysymykset antavat opiskelijalle viitteitä, mihin he voivat esimerkiksi syventyä. Pääasiat ovat kirjoitetussa materiaalissa selkeästi esillä.

Opinnäytetyömme suurena vahvuutena pidämme opiskelijälähtöisen oppimateriaalin tuottamista. Koemme, että olemme osanneet tehdä hyvän opiskelumateriaalin, sillä olemme itse opiskelleet kyseisen aihealueen lähiaikoina. Saamamme opetus on heijastunut vahvasti tuottamamme materiaalin esitystapaan, mutta olemme pystyneet täydentämään sitä opiskelijan näkökulmasta olennaisilla lisätiedoilla, jotka auttavat opiskelijoita ymmärtämään opittavan aihealueen. Esimerkiksi olemme pyrkineet otsikoimaan aiheet niin, että opiskelijalle on selkeästi esillä, mikä on tärkein opetettava asia ja mikä puolestaan selittää pääasiaa. Materiaali etenee käytännötyöhön katsoen loogisessa järjestyksessä, jolloin asiat eivät mene mielestämme niin helposti sekaisin. Toinen opiskelijälähtöistä materiaalia kuvastava asia on käytännötyön video, jonka itse opiskelijoina koimme tarpeelliseksi teorian materiaalin ohelle. Kuitenkaan emme ole saaneet pedagogista koulutusta, jonka vuoksi työmme yhtenä näkökantana oli käänteiseen opetukseen ja -oppimiseen sekä verkko-opiskeluun ja hyvän verkko-oppimismateriaalin tuottamiseen tutustuminen, jotta pystymme vastaamaan hankkeen vaatimuksiin parhaalla mahdollisella tavalla.

Luetutimme materiaalimme toisilla opiskelijoilla, jotta saisimme palautetta, kuinka materiaalimme vastaa opiskelijoiden tarpeisiin. Testaajat ovat käyneet saman kurssin kuin me itse aikaisemmin molekyylibiologian osalta. Kiitosta saimme paljon selkeästä englanninkielen rakenteesta sekä sanavalinnoista. Kirjoittamaamme tekstin lukemiseen ei tarvittu kääntäjää vaan teksti oli testaajien mielestä selkeää. Lukijat pitivät myös tärkeiden käsitteiden lihavoinnista, joka helpotti heidän mielestään tärkeiden asioiden hahmottamista. Materiaali sijaitsee edX-alustalla, joka ei hirveästi antanut mahdollisuutta ulkoasun muokkaukseen. Tekstiä sanottiin hieman kolkoksi, mutta edX-alustana on todella pelkistetty ja yksinkertainen. Kuvat saivat hyvää palautetta, sillä ne havainnollistivat kirjoitettua materiaalia. Kaikista eniten hyvää palautetta sai materiaalin lopussa oleva testi. Testaajien mukaan se toi lisämotivaatiota teoriaosuuden lukemiseen, kun osaamisestaan sai nopeasti kartoitusta. Testaajat eivät arvioineet materiaalin onnistumista flippauksen näkökulmasta, vaan kuinka se vastaa heidän tarpeitaan verraten aikaisempaan kokemukseen.

8.2 Tuotoksen käyttömahdollisuudet

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelman opetussuunnitelman yhtenä osana on molekyylibiologian osaaminen (Savonia 2016). Tuottamamme verkko-oppimateriaali ja opinnäytetyö antavat opiskelijoille teorian tietoa polymeerasiketjureaktiosta sekä ohjeen PCR:n toteutukseen käytännössä.

Tutkimussuunnitelmaa luodessa opetuksen flippaaminen sekä hyvän verkkomateriaalin teoria vaikuttivat pieneltä aihealueelta. Lopullisessa opinnäytetyössä valtaosan sen teoriaosuudesta kuitenkin vei teoria hyvästä oppimateriaalista sekä flippauksesta. Vaikka työmme tuotos, verkko-oppimateriaali, on luotu flippauksen pedagogisesta näkökulmasta, on materiaalimme sopiva osaksi perinteistä lähiopetusta, jossa verkkomateriaali toimii kurssikirjan korvaajana. Mielestämme materiaali sopii myös kokonaan verkossa suoritettavan kurssin materiaaliksi sen laajuuden ja selkeyden ansiosta. Tämä vaatisi rinnalleen kuitenkin selkeät ohjaukset kyseisen verkkokurssin opettajalta. Koemme, että tuottamamme materiaali on hyödyllinen käytettäväksi osana bioanalyttikon koulutusohjelman molekyylibiologian opintokokonaisuutta.

Suurena ulkoisena mahdollisuutena työmme vahvistaa ammattikorkeakoulujen välistä yhteneväisyyttä ja tasa-arvoa. Mielestämme on tärkeää, että kaikilla opiskelijoilla on mahdollisuus samanvertaiseen opetukseen. Hankkeen mahdollistaman kansallisen käytön pohjalta työelämässä työnantajalla on siten helpompi luottaa, että jokaisella on samanlainen tietopohja ja ammatilliset valmiudet toimia kyseisessä ammatissa.

Bioanalyttikon eettisiin ohjeisiin kuuluu ylläpitää ja kehittää ammattitaitoa ja asiantuntijuutta. Bioanalyttikon on perehdyttävä uusiin menetelmiin, toimintatapoihin, suosituksiin, määräyksiin ja standardeihin. (Suomen Bioanalyttikko Ry 2017, 2.) Olemme halunneet pyrkiä työssämme mahdollisimman tuoreeseen tietoon, jonka vuoksi bioanalyttikoiden ammattitaidon ylläpidon kannalta materiaalimme voisi sopia myös käytettäväksi jo opitun tiedon kertauksena ja päivittämisenä työntekijöiden parissa. Materiaalia on myös mahdollista päivittää edX-alustalla ajankohtaisemmaksi, jos päivitys tulee tarpeeseen.

Olemme itse saaneet kurssimateriaalin lähiopetukseen nykyisin Moodle-alustalla. edX-alusta on hyvin samankaltainen alusta, mutta sinne teorian tiedon viennin perusteella koimme, että kyseinen alusta on yksinkertaisempi ja kömpelömpi ulkoasultaan ja käyttömahdollisuuksiltaan kuin meille jo tutumpi Moodle. edX-alustalle viedyt teoriaosuudet, kuvat ja videot ovat alustalla katsottavissa sellaisinaan, ja niitä on voitu jaotella eri kappaleiden alle, kuten Moodlessakin. Nykyisellä Moodle-alustalla on meidän mielestämme kuitenkin helpompi havainnoida koko kurssikokonaisuus. Myös eri aihealueiden alle liitetyt tekstit ja liitteet, kuten PowerPointit ovat mielestämme paremmin toteutettavissa Moodlessa. Näkökulmat ovat kuitenkin erilaisia, sillä Moodlea olemme saaneet tarkastella nyt vain opiskelijan näkökulmasta, kun edX-alustaa materiaalin tekijänä. Tosin edX:n pelkistetty näkymä varmasti miellyttää monen silmää ja on helposti lähestyttävä, sillä alusta on globaalisti käytössä ja alustan tulee vastata moneen eri tarpeeseen.

8.3 Opinnäytetyön eettisyys ja luotettavuus

Tuottamamme materiaali noudattaa tutkimuseettisen neuvottelukunnan (TENK) Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa –ohjetta, johon Suomen ammattikorkeakoulut ovat sitoutuneet. Olemme saaneet asianmukaisen opetuksen aiheeseen, sekä noudatamme tieteellisen käytännön periaatteita. Olemme perehtyneet opinnäytetyön sopimukseen, HTK-ohjeeseen ja ymmärrämme olevamme oikeutettuja myös vastuulliseen ohjaukseen. (ARENE, 5.) HTK-ohje, eli hyvän tieteellisen käytännön -ohje on ollut pohjana kehittämistyöllemme. Ohjeen avulla ehkäistään tieteellistä epärehellisyyttä sekä edistetään hyvää tieteellistä käytäntöä (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 4.) Olemme myös tietoisia tekijänoikeuslaillisista asioista materiaalin jakamisessa. Siksi olemme luoneet itse kaikki materiaaleissamme käytetyt kaaviot itse, mutta ne perustuvat luotettaviin ja ajankohtaisiin lähteisiin. Verkkomateriaalimme sisältää myös muita, ei-itsetuotettuja, kuvia, joita on saatavilla vapaasti internetistä (Pixabay). Koulumme tarjosi myös mahdollisuuden käyttää linensoituja kuvia (Shutterstock), mutta emme kokeneet näiden kuvien käyttöä tarpeelliseksi. Olemme perustaneet tietomme lähteisiin käyttäen lähteinä asiaankuuluvia, ajantasaisia ja luotettavia lähteitä alan kirjallisuudesta ja opetusmateriaaleista, sekä verkkojulkaisuista ja artikkeleista, joihin olemme viitanneet asiaan kuuluvalla tavalla.

Ennen opinnäytetyön aloittamista olemme ohjeen mukaan tehneet opinnäytetyösopimuksen, jonka avulla pyritään välttämään erimielisyyksiä toimeksiantajan ja opiskelijan välillä. Tässä sovitaan yhteisistä säännöistä, joka sisältää mm. työn aiheen, aikataulun, kustannukset, käyttöoikeudet, salassapitovelvollisuudet sekä opinnäytetyön jakelun. (ARENE, 5.)

Suoritamme työn pyyteettömästi ja etsimme tietoa ilman henkilökohtaisia etuja. Huomioimme työsämme, ettei arvovalta ja poliittisuus vaikuta lähteiden valintaan. Olemme valinneet aiheen eettisesti, perustuen siihen, että tuotokselle on todella tarvetta ja aihe on relevantti. (Savonia 2019) Koska kyseessä ei ole tutkimus, olemme eettisesti vastuussa vain luotettavan materiaalin jakamisesta.

8.4 Ammatillinen kasvu

Opiskelijan opiskelujen loppuvaiheessa tekemä opinnäytetyö osoittaa opiskelijan valmiudet korkeakoululle, toimeksiantajalle, oppilaitokselle ja ammattikunnalle (Boedeker & Vuorijärvi 2007, 175). Bioanalyttikoksi valmistuvalta opiskelijalta edellytetään bioanalyttikon tutkinto-ohjelmassa kliinisen laboratoriotyön prosessin kokonaisvaltaista osaamista, jonka yhtenä osana on molekyylibiologian osa-alue (Savonia 2016).

Opinnäytetyön tekeminen ja opinnäytetyön tuotoksen luominen kartoitti kokonaisvaltaisesti osaamistamme molekyylibiologian osa-alueeseen kuuluvan tiedon hallinnassa. Pehdyimme työtä tehdessämme alan kirjallisuuteen, julkaisuihin ja opetusmateriaaleihin, joilla kartoitimme omaa ammatillista osaamistamme ja tiedonhallintaa molekyylibiologian osalta. Työmme tuotokseen kuului myös hyvän

ja käyttökelpoisen opiskelumateriaalin tuottaminen, jonka perusteeksi etsimme tietoa verkko-opetusta ja opiskelumateriaali käsittelevistä lähteistä. Pedagoginen osaaminen ei kuulu tutkinto-ohjelmaamme, mutta saimme mahdollisuuden perehtyä tähän osa-alueeseen tavoitteenamme tuottaa hyvää verkko-oppimateriaalia. Tällöin materiaali on käytettävissä hankkeen vaatimalla tasolla sekä opetusmateriaalina jatkokäytettäväksi bioanalyttikko-opiskelijoille.

Hyvään verkko-opetukseen perehtyminen sai arvioimaan verkkokursseja, joille itse olemme osallistuneet. Huomasimme, että osaamme näin vaatia opettajilta enemmän, sekä tuoda esille, mikä toteutuksessa on voinut askarruttaa tai luoda epätietoisuutta. Erityisesti valinnais- ja kesäopintojen kohdalla kokonaan verkossa toteutetut opetukset ovat erittäin yleisiä. Huomasimme myös, että useat opettajat noudattavat myös verkkomateriaalia koskevia ohjeita. Esimerkiksi keskustelutehtävät ovat olleet yleisiä opiskelumme aikana.

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

AIRAKSINEN, Tiina. & VILKKA, Hanna. 2003. Toiminnallinen oppinäytetyö. Helsinki: Tammi.

ARENE. Ammattikorkeakoulujen oppinäytetöiden eettiset suositukset. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-24.] Saatavissa: http://www.arene.fi/wp-content/uploads/Raportit/2018/arene_ammattikorkeakoulujen-oppinaytetoiden-eettiset-suositukset.pdf?_t=1526903222

ATJONEN, Päivi. Arviointi flippauksen suunnitteluvaiheessa – Arviointi flippauksessa osa 2. [video]. [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/opintojakson-suunnittelu>

BOEDEKER, Mika. & VUORIJÄRVI, Aino. 2007. Asiantuntijaviestintä ja oppinäytetyötekstin rakenne. Teoksessa: TOLJAMO, Maisa. & VUORIJÄRVI, Aino. (Toim.) Ammattikorkeakoulun oppinäytetyö kehittämiskohteena. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu.

BROWN, Terence. A. 2010. Gene cloning and DNA analysis - an introduction. Oxford : Wiley-Blackwell

CHERIYDATH, Susha. 2018. History of Polymerase Chain Reaction. News Medical Life Sciences. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-9-22.] Saatavissa: [https://www.news-medical.net/life-sciences/History-of-Polymerase-Chain-Reaction-\(PCR\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/History-of-Polymerase-Chain-Reaction-(PCR).aspx)

CONE, Richard W. & FAIRFAX, Marilyn R. Protocol for Ultraviolet Irradiation of Surfaces to Reduce PCR Contamination. 1993. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-27.] Saatavilla: <https://genome.cshlp.org/content/3/3/S15.full.pdf>

EDX. 2019. Schools and partners. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-26.] Saatavissa: <https://www.edx.org/about-us>

Gene Education. 2019. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-14.] Saatavilla: <http://geneticeducation.co.in/what-are-the-different-components-used-in-the-pcr-reaction-buffer/>

HAAJANEN, Kari., PELKONEN, Jani., PÄRSSINEN, Raimo. & SUOMINEN, Ilari. 2010. Geenitekniikka. Turku: Turun ammattikorkeakoulu

HAPPONEN, Päivi., HOLOPAINEN, Mervi., SARIOLA, Hannu., SOTKAS, Panu., TENHUNEN, Antero., TIHTARINEN-ULMANEN, Maria. & VENÄLÄINEN, Juha. 2013. BIOS 5 – Bioteknologia. Helsinki: Sanoma Pro Oy

HOHENTAL, Tuula. & VARONEN, Mari. 2017. Verkkototeutuksen laatukriteerit. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-20.] Saatavissa: https://eamk.fi/globalassets/tutkimus-ja-kehitys--research-and-development/tki-projektien-lohkot-ja-tiedostot/eamk/teema-1/laatukriteerit/eamk_laaturiteerit_valmis.pdf

HORELLI-KUITUNEN, Nina. & ORPANA, Arto. 2016. Kromosomi- ja geenimuutosten laboratoriodiagnostiikka. Teoksessa: AITTOMÄKI, Kristiina., MOILANEN, Jukka. & PEROLA, Markus. (toim.) Lääketieteellinen genetiikka. Tallinna: Kustannus Oy Duodecim, 109-125.

HUMALOJA, Marika., PEURA, Pekka. & TOIVOLA, Markus. 2017. Flipped learning – käänteinen oppiminen. Helsinki: Edita Publishing Oy

HUOPONEN, Kirsi. & ORPANA, Arto. 2006. Geeni- ja kromosomimuutosten diagnostiikka. Teoksessa: AULA, Pertti., KÄÄRIÄINEN, Helena. & PALOTIE, Aarno. (toim.) Perinnöllisyyslääketiede. Hämeenlinna: Kustannus Oy Duodecim, 268-280.

KALLIALA, Eija. 2002. Verkkopettämisen käsikirja. Helsinki: Oy Finn Lectura Ab.

KOLI, Hanne. 2008. Verkkohjauksen käsikirja. Helsinki: Oy Finn Lectura Ab.

LEPPÄ, Sirpa. & VETTENRANRA, Kim. 2019. CAR-T-soluhoido – mitä ja millä hinnalla? Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-06.] Saatavissa: <https://www.duodecimlehti.fi/lehti/2019/12/duo14969?keyword=geeni>

AMON, Angelika., BERK, Arnold., BRETSCHER, Anthony., KAISER, Chris A., KRIEGER, Monty., LODISH, Harvey., PLOEGH, Hidde., & SCOTT, Matthew P. 2013. Molecular Cell Biology. 7th ed. New York; Basingstoke: W.H. Freeman ; Macmillan Higher Education.

NURMELA, Satu. & SUOMINEN, Riitta. 2011. Verkkopettaja. Helsinki: WSOYpro Oy

OLLIKKA, Pekka. & SUOMINEN, Ilari. 1997. Yhdistelmä-DNA-tekniikan perusteet. Helsinki: Opetushallitus ja tekijät.

PARKKARI, Jani. 2018. Designlapsia vai ratkaisu nälänhätään? Perimän saksiminen Crispr-tekniikalla on geenimuuntelun seuraava askel, ja se on jo otettu. Yle Uutiset. [verkkajulkaisu] [Viitattu 2019-10-06.] Saatavissa: <https://yle.fi/uutiset/3-10529880>

PESONEN, Erkki. 2018. Monivalintatehtävät oppimisen motivaattoreina. [video] [Viitattu 2019-10-24.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/ennakkomateriaalit>

PIETARINEN, J. 1997. Geenitutkimus ja etiikka. Teoksessa: LAUNIS, Veikko. & RÄIKKÄ, Juha. (toim.) Geenit ja etiikka. Helsinki: Oy Edita Ab.

PORTIN, Petter. 2006. Ne geenit! Ne geenit!. Turku: Kirja-Aurora.

READ, Andrew. & STRACHAN, Tom. 2011. Human Molecular Genetics. USA: Garland Science.

SAARELAINEN, Markku. Flippauksen taustaa opettajille. [video]. [Viitattu 2019-11-23.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/fi/web/flippaus/opetuksen-kehittajalle>

SAARELAINEN, Markku. 2018. Flipped classroom menetelmän ABC - Ydinaines ja osaamistavoitteet. [video] [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/opintojakson-suunnittelu>

SALONEN, Kari. 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen oppinäytetyöhön. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-27.] Saatavissa: <http://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522163738.pdf>

SAVONIA 2016. TB16SP Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma. Savonia-ammattikorkeakoulu. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-28.] Saatavissa: <https://portal.savonia.fi/amk/fi/node/209/Koulutusammattien%20opetussuunnitelmat%20http://portal.savonia.fi/amk/fi/opiskelijalle/-%20target=?yks=KS&kruid=1023&tab=1>

SAVONIA. 2019. Oppinäytetyön eettisyys ja luotettavuus. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-26.] Saatavissa: <https://reppu.savonia.fi/opinnaytetyo/amktutkinnot/Sivut/eettisyys-ja-luotettavuus.aspx>

Sigma Aldrich. PCR Master Mix. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-14.] Saatavilla: <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/molecular-biology/pcr/pcr-master-mix.html>

Sigma Aldrich. 2019. PCR Thermocyclers. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-26.] Saatavilla: <https://www.sigmaaldrich.com/labware/labware-products.html?TablePage=102931250>

SOINTU, Ercco. Ongelmaperustainen oppiminen. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/kontaktiopetus>

SOLUNETTI 2006a. RNA:n silmukointi. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-09-22.] Saatavissa: http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/rna-n_silmukointi/2/

SOLUNETTI 2006b. RT-PCR. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-05.] Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/rt-pcr/2/>

SOSIAALI- JA TERVEYSMINISTERIÖ. Geeniteknologian säätely. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-06.] Saatavissa: <https://stm.fi/geeniteknologia>

SUOMEN BIOANALYYTIKOT RY. 2017. Bioanalyytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet, 2. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2018-05-21.] Saatavissa: https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf

TAPANA, Pentti. 2010. Elävä solu. Helsinki: Gaudeamus

THERMO FISHER SCIENTIFIC. The History of PCR. [verkkojulkaisu] [Viitattu 19-09-22.] Saatavissa: <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/brands/thermo-scientific/molecular-biology/molecular-biology-learning-center/molecular-biology-resource-library/spotlight-articles/history-pcr.html>

THERMOFISHER. SYBR Safe DNA Gel Stain. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-26.] Saatavilla: <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/life-science/dna-rna-purification-analysis/nucleic-acid-gel-electrophoresis/dna-stains/sybr-safe.html>

TUTKIMUSEETTINEN NEUVOTTELUKUNTA. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-26.] Saatavissa: https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf

UEF. a. Flippauksen suunnittelu. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/opintojakson-suunnittelu>

UEF. b. Ennakkomateriaalit. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/ennakkomateriaalit>

UEF. c. Mitä tehdä kontaktiopetuksessa. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-20-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/kontaktiopetus>

VALTONEN, Teemu. Tutkiva oppiminen. [verkkojulkaisu] [Viitattu 2019-10-25.] Saatavissa: <http://www.uef.fi/web/flippaus/kontaktiopetus>

VIERULA, Hertta. 2015. 2015. CRISPR korjaa genomia tarkasti. Lääkärilehti. [verkkojulkaisu] [viitattu 2019-10-05] Saatavissa: <https://www.laakarilehti.fi/ajassa/ajankohtaista/crispr-korjaa-genomia-tarkasti-1/>

LIITE 1: PCR-VIDEON KÄSIKIRJOITUS

Video kuvataan ammattikorkeakoulun laboratoriotyöharjoitusluokassa käyttäen laadukasta älypuhelimenkameraa. Editointi tehdään Applen iMovie-ohjelmalla. Video editoidaan äänettömäksi ja siihen lisätään työskentelyvaiheiden tapahtumat tekstityksillä englanninkielellä.

1. Esitetään still-kuvissa tarvittavat materiaalit ja välineet.
 - a. PCR-laite, sentrifuugi, vortex, kylmäblokit, hansikkaat, puhdistusaine (DNA Away)
 - b. Steriilit putket ja pipetinkärjet, pipetit, jätteastia reaktioseoksen pipetointia varten
 - c. Steriilit kärjet, pipetti ja jätteastia DNA-templaatin lisäystä varten
2. Esitetään still-kuvana tarvittavat reagenssit.
 - a. dNTP, puskuri, steriili vesi, polymeraasientsyymi, DMSO, alukkeet
 - b. DNA-näytteet (myös positiivi- ja negatiivikontrolli)
3. Esitetään still-kuvana käytettävän ohjeistuksen tiedot sekä alla oleva taulukko, jossa lasketaan tarvittavien reagenssien määrä.

Component:	Wanted concentration	1x reaction mix (final amount 50 µl)	7x reaction mix (your sample amount + 2 extra for pipeting loss)
Water	-	27 µl	189 µl
5x phusion HF buffer	1x	10 µl	70 µl
10 mM dNTP	200 µM each	1 µl	7 µl
Primer C702 (10pmol/ul)	0,5 µM	2,5 µl	17,5 µl
Primer C703 (10pmol/ul)	0,5 µM	2,5 µl	17,5 µl
DMSO	3 %	1,5 µl	10,5 µl
Phusion DNA polymerase enzyme (2U/µl)	0,02 U/µl	0,5 µl	3,5 µl
Template (diluted to 50 ng/ul)	250 ng/50µl	5 µl	Will be added later

4. Muistutetaan noudattaa aseptista työskentelytapaa ja reagenssien pitämistä kylmäblokeilla työskentelyn aikana.
5. Aloitetaan työskentely puhdistamalla laminaari.
6. Otetaan reaktion pipetointiin tarvittavat mikroputket pois sterieleistä pakkauksista ja asetetaan ne kylmäblokeille.
7. Sentrifugoidaan käytettävät reagenssit.

8. Valmistetaan reaktioseos (pipetoidaan vesi, puskuri, dNTP, alukkeet, DMSO ja viimeisenä entsyymi).
9. Vorteksoidaan ja sentrifugoidaan valmistettu reaktioseos.
10. Pipetoidaan reaktioseos näytteille valmisteltuihin mikroputkiin.
11. Pipetoidaan negatiivikontrolliin negatiivinäyte eli vesi.
12. Siirytään toiseen, DNA-näytteiden lisäämiseen tarkoitettuun laminaariin ja pipetoidaan mikroputkiin positiivikontrolli sekä näytteet.
13. Vortexoidaan ja sentrifugoidaan näyteputket. Asetaan putket takaisin kylmäblokille kunnes ne asetetaan PCR-laitteeseen.
14. Asetetaan näyteputket PCR-laitteeseen ja käynnistetään ajo-ohjelma.
15. Esitetään still-kuva, jossa kerrotaan monistusreaktion jälkeen näytteitä säilytettävän kylmässä kunnes niistä voidaan suorittaa agarosigeelielektroforeesi