



Suvi Myllylä

OPPIMATERIAALIA DNA:N SEKVENSOINNISTA

Itseopiskelumateriaalin ja harjoitustyöohjeen tuottaminen DNA:n sekvensoinnista

OPPIMATERIAALIA DNA:N SEKVENSOINNISTA

Itseopiskelumateriaalin ja harjoitustyöohjeen tuottaminen DNA:n sekvensoinnista

Suvi Myllylä
Opinnäytetyö
Syksy 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tekijä: Suvi Myllylä

Opinnäytetyön nimi: Oppimateriaalia DNA:n sekvensoinnista

Työn ohjaajat: Paula Reponen & Annikki Savolainen

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2013

Sivumäärä: 27 + 1 liite

Opinnäytetyöni aiheena oli laatia oppimateriaalia Oulun seudun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman molekyylibiologian syventävälle opintojaksolle. Oppimateriaali sisältää itseopiskelumateriaalia uusista DNA:n sekvensointitekniikoista sekä työohjeen sekvensointiharjoitusta varten. Taustalla oli tarve saada ajantasalla olevaa oppimateriaalia bioanalyttikko-opiskelijoiden käyttöön.

Kyseessä oli tuotekehitysprojekti, jossa tavoitteena oli tuottaa laadukasta ja tarvetta vastaavaa oppimateriaalia. Itseopiskelumateriaalin tarkoituksena oli antaa opiskelijoille yleiskäsitys DNA:n sekvensoinnin kehityksestä ja erityisesti uusista tekniikoista. Materiaaliin sisältyvän harjoitustyöohjeen avulla opiskelijat voivat valmistautua harjoitustuntiin ja suorittaa DNA:n sekvensointityön onnistuneesti.

Työn viitekehys koostuu pääosin erilaisista sekvensointitekniikoista. Jotta opiskelijoille olisi materiaalista eniten hyötyä tulevaa työelämää ajatellen, sisällön pääpaino on uusimmilla ja kehitteillä olevilla menetelmillä. Materiaalin laatukriteereihin kuului muun muassa ajantasaisuus, minkä vuoksi pyrin käyttämään työssäni vain tuoreita ja luotettavia lähteitä.

Tuotteen laadukkuutta lisättiin koekäyttämällä tuotetta bioanalyttikko-opiskelijoilla. Erityisesti materiaalin ulkoasu parani käyttäjien antamien palautteiden perusteella tehdyissä korjauksissa. Käyttäjiltä saadun positiivisen palautteen lisäksi tuotteen onnistumisesta kertoivat sille asetettujen tavoitteiden täytyminen.

Projektin tuloksena syntyi laadukas ja tarkoitukseensa sopiva oppimateriaali. Tuotteen käytettävyyttä parantaa sen sähköinen julkaisumuoto, joka tekee siitä helposti levitettävän. Se myös lisää tuotteen käyttöikä, koska opettajalla on mahdollisuus tarvittaessa päivittää sisältöä. Materiaali tulee jatkossa olemaan käytössä molekyylibiologian syventävällä kurssilla.

Asiasanat: DNA:n sekvensointi, itseopiskelu, oppimateriaali, laatu.

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

Author: Suvi Myllylä
Title of thesis: Study Material of DNA Sequencing
Supervisors: Paula Reponen & Annikki Savolainen
Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2013
Number of pages: 27 + 1 appendix page

Molecular biology is a rapidly developing science. New methods and techniques are being created continuously. My thesis was based on a need to get updated study material for molecular biology studies at Oulu University of Applied Sciences.

The aim of the thesis was to create clear and up to date study material about DNA sequencing. The material was intended to be so high-quality that it could be used also for self-studying.

The material produced in this project consisted of two separate sections. One was a learning pack intended to be used for self-studying. In it I collected information about the development of sequencing from the earliest methods to the ones that are not yet widely used. The other part included work instructions for the practical part of sequencing studies. While creating the material, I also studied about the appearance of a good quality learning material to make the product as clear and consistent as possible. Before finishing the work instruction section, I tested it by doing the exercise myself. The material was also tested on the course where it was meant to be used and the students had a chance to give feedback of it.

The result of the process was a high quality study material. The positive feedback showed that it was user-friendly and suitable for its purposes. All the objectives set for it were also fulfilled. The next step for it is to be used on the molecular biology course.

Keywords: DNA sequencing, independent study, study material, quality.

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	6
2 DNA:N SEKVENSOINTI.....	7
2.1 Sangerin menetelmä	8
2.2 Automaattinen sekvensointi	10
2.3 454-menetelmä eli pyrosekvensointi.....	11
2.4 Solexa-menetelmä	12
2.5 HeliScope-menetelmä	13
2.6 Nanopore-menetelmä	14
3 TUOTEKEHITYSPROJEKTIN SUUNNITTELU	16
3.1 Projektin tavoitteet	17
3.2 Päätehtävät	18
4 OPPIMATERIAALIN SUUNNITTELU JA TOTEUTUS	19
4.1 Itseopiskelumateriaalin ja harjoitustunnin työohjeen laatiminen.....	19
4.2 Palautteen kerääminen	21
5 ARVIOINTI JA POHDINTA.....	22
LÄHTEET	24
LIITTEET.....	27

1 JOHDANTO

Opinnäytetyöni aiheena oli oppimateriaalin laatiminen Oulun seudun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmaan molekyylibiologian syventävälle kurssille. Työn muotona oli tuotekehitysprojekti, jossa valmistettiin itseopiskelumateriaalia DNA:n sekvensoinnista sekä suunniteltiin ja testattiin sekvensointityöohje harjoitustuntia varten. Idea aiheeseen tuli bioanalytiikan koulutusohjelman opettajalta Paula Reposelta. Työn tavoitteena oli vastata tarpeeseen saada molekyylibiologian opetukseen ajankohtaista tietoa uusista menetelmistä ja niiden kehityksestä. Materiaalin tarkoituksena on myös valmistaa opiskelijoita harjoitustyöhön ja auttaa heitä suorittamaan se onnistuneesti.

DNA:n sekvensointi tarkoittaa DNA-molekyylin emäsjärjestyksen selvittämistä. Se on eräs yleisimmistä molekyylibiologisessa laboratoriossa käytettävistä menetelmistä. Opinnäytetyössäni käyn läpi DNA:n sekvensoinnin kehityksen sen alusta nykyisiin ns. uuden sukupolven menetelmiin ja vasta kehitteillä oleviin tekniikoihin saakka. Sangerin sekvensointimenetelmä kehitettiin 1970-luvulla. Siitä lähtien DNA:n sekvensoinnin periaate on tekniikan paranteluista ja automatisoinnista huolimatta säilynyt pääpiirteittäin samanlaisena. Sekvensoinnin tarve ja vaatimukset kuitenkin kasvavat jatkuvasti, ja tulevaisuuden haasteena on löytää yhä nopeampia, halvempia ja luotettavampia menetelmiä. Kehitteillä on täysin uudenlaisia tekniikoita, joista arvellaan muotoutuvan tulevaisuuden käytetyimpiä työjuhtia DNA:n sekvensoinnin saralla. Oppimateriaalissa pyrin antamaan molekyylibiologian opiskelijoille yleissilmäyksen näistä mahdollisuuksista.

Oppimateriaalista oli määrä muodostua mahdollisimman laadukas ja tarkoitustaan palveleva kokonaisuus. Näitä ominaisuuksia kohti pyrittiin muun muassa asettamalla projektin alussa materiaalille tavoitteita ja arviointikriteerejä, jotka vaikuttivat projektin aikana materiaalia koskeviin ratkaisuihin. Tuotteen käytettävyys parani koekäytön myötä, kun kohderyhmä pääsi antamaan mielipiteensä materiaalista ennen lopullisen version valmistumista.

2 DNA:N SEKVENSOINTI

Ihmisen, kuten kaikkien muidenkin aitotumallisten eliöiden perintöaines on talletettu soluihin DNA:n muodossa. DNA, eli deoksiribonukleiinihappo sisältää kaiken sen informaation, jota solu tarvitsee elääkseen, tuottaakseen aminohappoja eli proteiinien rakennusosia ja jakaantuakseen. DNA sisältää neljää erilaista nukleotidia eli emästä; adeniinia (A), guaniinia (G), tyymiiniä (T) ja sytosiiniä (C). Nukleotidit ovat molekyyliä, jotka koostuvat sokeri-, fosfaatti- ja emäsosasta. DNA:n perusrakenteessa nukleotidit muodostavat toisiinsa peräkkäin liittymällä rihman, eli DNA-juosteen. Nukleotidien järjestys juosteessa on geneettinen koodi, jonka mukaan solun toimintaa ohjaavat proteiinit valmistetaan. Nukleotidiketjun emäsjärjestyksen selvittämistä kutsutaan sekvensoinniksi. (Ollikka & Suominen 2004, 1, 15-18) (Timmer 2009, 50)

Ensimmäiset DNA:n sekvensointimenetelmät kehitettiin 1970-luvulla. Tunnetuimmiksi kohosivat Maxam-Gilbertin kemiallinen menetelmä sekä Sangerin entsyymimenetelmä. Nykyisin Sanger on eniten käytetty sekvensointimenetelmä. Kemiallista menetelmää käytetään vain poikkeustapauksissa sen hitauden ja siinä tarvittavien myrkyllisten kemikaalien vuoksi. Sanger on kuitenkin saamassa haastajan niin kutsutuista uuden sukupolven sekvensointitekniikoista. (Sambrook & Russel 2001, 12.3-12.6) (Ollikka ym. 2004, 98)

Molekyylibiologian nopean kehityksen ansiosta sekvensointimenetelmät ovat parantuneet viime vuosikymmenien aikana. Sekvensointi on entistä halvempaa, nopeampaa ja virheettömämpää, minkä vuoksi myös sen käyttömahdollisuudet ovat laajentuneet. Sekvensointia hyödynnetään lähes kaikilla molekyylibiologian osaluilla, sekä esimerkiksi mikrobiologiassa ja rikostutkimuksessa. Sekvensointi on merkittävä työkalu erityisesti geenitekniikassa. Human genome project on 1990-luvulla aloitettu projekti, jossa sekvensoimalla selvitettiin kokonainen ihmisen perimä eli genomi. Projekti valmistui vuonna 2003. Projektin jälkeen työtä on jatkettu, ja myös muiden eliöiden genomeja on kartoitettu. (National Human Genome Research Institute 2011, hakupäivä 04.09.2011) (Sambrook ym. 2001, 12.3, 12.94)

Esimerkkinä tekniikan kehityksestä voidaan pitää ihmisgenomin kartoitusta. Alkuperäisessä Human genome project:ssa genomin kartoitukseen kului 13 vuotta ja 2,7 miljardia dollaria. Vuonna 2008, vastaava työ tehtiin viidessä kuukaudessa 1,5 miljoonan dollarin kuluilla. Samana vuonna US National Human Genome Research Institute alkoi rahoittaa ohjelmaa, jonka tavoitteena on mahdollistaa ihmisgenomin sekvensointi alle tuhannella dollarilla. (Dames, Durtschi & Voelkerding 2009, hakupäivä 04.01.2011)

2.1 Sangerin menetelmä

Biokemisti Frederik Sanger julkaisi vuonna 1977 kollegoidensa kanssa kehittämänsä entsyymaattisen DNA:n sekvensointimenetelmän. Menetelmä perustuu polymeerasientsyymiin ja dideoksinukleotideihin, joiden avulla luodaan sattumanvaraisesti eripituisia DNA-ketjun palasia eli fragmentteja. Fragmentit on mahdollista erotella niiden koon perusteella ja saada näin selville nukleotidien järjestys DNA-juosteessa. (Read & Strachan 2011, 217)

Normaalissa tilassa DNA-molekyylissä on kaksi toisiinsa sitoutunutta nukleotidijuostetta. Ne ovat kietoutuneena toistensa ympärille muodostaen kaksoiskierteisen rakenteen. Sekvensointia varten DNA, jonka sekvenssi halutaan selvittää on saatettava yksijuosteiseen muotoon eli juosteet on irrotettava toisistaan. Kaksoiskierteen avaamista ja juosteiden erottamista kutsutaan denaturaatioksi. Sen aikaansaamiseksi on monia keinoja, esimerkiksi näytteen lämpökäsittely. (Read ym. 2011, 217) (Ollikka ym. 2004, 20)

Seuraavassa annealing-vaiheessa yksijuosteisen DNA:n rinnalle aletaan luoda uutta juostetta. Denaturoitu DNA toimii mallina eli templaattina. Reaktiot tapahtuvat neljässä eri koeputkessa. Jokaiseen putkeen lisätään templaatti-DNA:ta, neljää erilaista deoksinukleotidia (dATP, dTTP, dCTP ja dDTP), oligonukleotidipimeeri eli aluke sekä polymeerasientsyymiä. Joko yhden deoksinukleotidin tai alukkeiden tulee olla leimattu esimerkiksi radioaktiivisella yhdisteellä, jotta reaktiotuotteet voitaisiin myöhemmässä vaiheessa visualisoida. (Read ym. 2011, 217) (Sambrook ym. 2001, 12.6) (Ollikka ym. 2004, 98-99)

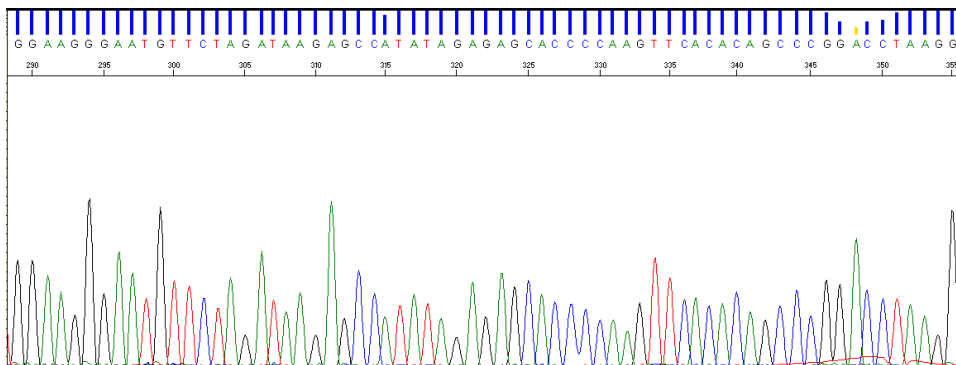
Jokaiseen putkeen tarvitaan lisäksi pieni määrä dideoksinukleotideja. Dideoksinukleotidit ovat muutoin samanlaisia kuin tavalliset nukleotidit, mutta niiden rakennetta on muokattu korvaamalla molekyylin 3' päässä oleva hydroksyyli-ryhmä vetyatomilla. Yhteen putkeen lisätään vain yhdenlaista dideoksinukleotidia (ddATP, ddTTP, ddCTP tai ddDTP). (Read ym. 2011, 217) (Sambrook ym. 2001, 12.6)

Putkissa alukkeet sitoutuvat DNA-templaattien päihin. Alukkeet tulee valita niin, että ne ovat spesifisiä juuri sekvensoitavalle DNA:lle. Sitoutumisen jälkeen polymeerasientsyymi alkaa syntetisoida deoksinukleotideista uutta juostetta templaatin rinnalle alukkeen jatkoksi. Nukleotidien sitoutuminen tapahtuu aina emäsparisäännön mukaisesti: A ja T liittyvät vastakkain, samoin G ja C. Juosteen syntetisointi jatkuu kunnes polymeerasi liittyy juosteeseen dideoksinukleotidin. Dideoksinukleotidin sitoutuminen päättää juosteen pitenemisen, koska siihen ei voida enää liittää uusia nukleotideja. Polymeerasientsyymin toimiessa on sattuman varaista liittykö ketjuun seuraavaksi deoksi- vai dideoksinukleotidi, ja mihin asti polymeerasi ehtii kopioida templaattia. Tämän seurauksena syntyy erimittaisia, ”valmiimmaksi” ja ”vähemmän valmiiksi” ehtineitä tuotteita. Jos templaattijuosteita on aluksi riittävän paljon, on todennäköistä, että kaikkia mahdollisia vaihtoehtoja syntyy vähintään yksi kappale. (Read ym. 2011, 217) (Sambrook ym. 2001, 12.6)

Detektointi eli tuotteiden havainnointi tapahtuu geelielektroforeesilla eli ajamalla näyte sähkökentässä polyakryyliamidigeelille. Jokaisen näyteputken sisältö pipetoidaan omaan paikkaansa geelillä. Koska DNA-molekyyli on sähköisesti varautunut, näytteet alkavat kulkeutua geelillä kun sen läpi ajetaan sähkövirta. Pidemmät fragmentit kulkeutuvat geelissä hitaammin kuin lyhyet, joten eri kokoiset fragmentit erottuvat toisistaan kun ajoa jatketaan riittävän kauan. Fragmenttien järjestys voidaan visualisoida röntgenfilmille radioaktiivisten leimojen avulla. Nukleotidisekvenssi luetaan sen mukaan missä järjestyksessä fragmentit ovat asettuneet geelille, ja riippuen minkä näyteputken kohdalla fragmentti on, saadaan selville mistä emäksestä on kyse. (Read ym. 2011, 217) (Sambrook ym. 2001, 12.6)

2.2 Automaattinen sekvensointi

1990-luvun alussa kehitettiin DNA:n sekvensointiin menetelmä, jossa näytteen detektoiminen tapahtuu fluoresoivalla leimalla. Reaktiot ovat samoja kuin manuaalisessa Sangerin sekvensoinnissa, mutta leimattuja eivät ole deoksinukleotidit tai alukeet, vaan dideoksinukleotidit. Reaktioita ei tarvitse myöskään suorittaa erillisissä koeputkissa. Kukin dideoksiryhmä on leimattu erilaisella fluoresoivalla leimalla. Kun leimatut fragmentit kulkevat geelillä tietyn pisteen, esimerkiksi laser-valon ohi, leimojen lähettämä fluoresenssi mitataan (kuvio1.). Erilaiset leimat emittoivat eri aallonpituuksilla, eli käytännössä näkyvät eri värisinä. Värien perusteella tiedetään, mikä emäs milloinkin on kyseessä. (Read ym. 2011, 218)



Kuvio 1. Automaattisesta sekvensaattorista saatavaa sekvenssidataa (Suvi Myllylä)

Aluksi automaattisissa sekvensaattoreissa käytettiin suuria polyakryyliamidigeelejä, kuten manuaalisessa sekvensoinnissakin. Myöhemmin laitteiden sekvensointikapasiteetti parani, kun siirryttiin kapillaarielektroforeesiin. Kapillaarielektroforeesissa näytteet ajetaan hyvin ohuen polyakryyliamidigeeliä sisältävän lasikapillaarin läpi. Detektointi tapahtuu samoin kuin suurempaa geeliä käytettäessä. (Read ym. 2011, 218)

2.3 454-menetelmä eli pyrosekvensointi

2000-luvun alkupuolella markkinoille on tuotu sekvensointimenetelmiä, joissa työlästä elektroforeesia ei enää tarvita. Uutta tekniikoissa on sekvenssin detektoiminen reaaliaikaisesti. Nukleotidit pystytään havainnoimaan samalla hetkellä kun ne liitetään templaattijuosteeseen. Vahvuus verrattuna entisiin menetelmiin on se, että yhtäaikaaisesti voidaan käsitellä suurempi määrä DNA-fragmentteja, jolloin analysointi nopeutuu. Ensimmäisen kyseisen menetelmän, pyrosekvensoinnin, kehitti 454 Life Sciences company. Roche Diagnostics on vuonna 2007 alkanut markkinoida pyrosekvensointiin perustuvaa analysaattoria Genome Sequencer FLX (kuvio 2.). Myöhemmin julkaistu samankaltainen menetelmä on Illumina companyn kehittämä Solexa. (Read ym. 2011, 219-220)



Kuvio 2. Roche Diagnostics Genome Sequencer FLX (Mukaellen Roche Diagnostics Corporation 2011, hakupäivä 04.01.2011)

Analysoinnin aluksi sekvensoitava DNA on fragmentoitava 300-800 emäsparin mittaisiksi kappaleiksi, joiden molempiin päihin liitetään spesifiset adapterit. Adapterit kiinnittävät kappaleet helmiin, joissa tapahtuu DNA:n monistus. Helmien pinnalla on paljon mahdollisia kiinnityskohtia fragmentille, kuitenkin yhteen helmeen kiinnittyy ensin vain yksi fragmentti. Näyte emulsioidaan lisäämällä siihen vesi-öljy-seos ja monistukseen tarvittavat reagenssit. (Roche Diagnostics Corporation 2011, hakupäivä 04.01.2011)

Emulsio-PCR:ssä kukin fragmentti kopioituu omassa helmessään, mikä vähentää kontaminaatoriskiä. PCR-reagenssit luovat uuden juosteen helmeen kiinnittyneen rinnalle. Syntynyt juoste irtoaa ja kiinnittyy toiseen kiinnityskohtaan, jolloin uutta juostetta aletaan taas muodostaa sen rinnalle. Kierto jatkuu kunnes fragmenttien kiinnityskohdat helmen pinnalla loppuvat ja PCR pysähtyy automaattisesti. Monistuminen tapahtuu samanaikaisesti kaikissa helmissä. PCR:n lopuksi näytteestä rikastetaan pois emulsioliuos. (Roche Diagnostics Corporation 2011, hakupäivä 04.01.2011)

Sekvensointia varten näyte ja sekvensointientsyymit ladataan PicoTiterPlate –sirulle, jolla oleviin kaivoihin helmet asettuvat. Yhteen kaivoon kulkeutuu vain yksi helmi. Siru asetetaan analysaattoriin, joka alkaa tuoda sirulle vuorotellen eri emäksiä. Aina kun helmessä olevaan fragmenttiin sopiva emäs tulee kohdalle, polymeraasientsyymi liittää sen juosteeseen. Emäksen kiinnittymisestä syntyy kemiluminosenssi-signaali, jonka analysaattorin kamera havaitsee. Signaalin voimakkuus riippuu liitettävien nukleotidien määrästä. (Roche Diagnostics Corporation 2011, hakupäivä 04.01.2011)

2.4 Solexa-menetelmä

Kuten 454-menetelmässäkin, laitteen toiminta perustuu reaaliaikaiseen DNA-synteesin havaitsemiseen. Sekvensoitava DNA pilkotaan muutamien satojen nukleotidien kappaleiksi, joiden päihin liitetään alukeadapterit. Kappaleet kiinnitetään levyille, joka on täynnä alukkeiden sitoutumiskohtia. (Dames ym. 2009, hakupäivä 04.01.2011)

Monistusvaiheessa kappaleen rinnalle syntetisoidaan uusi juoste. Syntynyt kaksoiskierre taipuu kaarelle niin, että toinen juoste tarrautuu lähellä olevaan alukkeeseen kiinnityskohtaan. Kaksoiskierre avautuu ja tuloksena on kaksi yksijuosteista ketjua valmiina uuteen kopiointiin. Monistusvaiheen edetessä eri kappaleista muodostuu ryhmiä. (Dames ym. 2009, hakupäivä 04.01.2011)

Sekvensointivaiheessa templaattien rinnalle syntetisoidaan uutta juostetta emäksillä, jotka on kaikki värjätty erilaisilla fluoresoivilla väreillä. Emäksen kiinnittyessä syntyy fluoresenssisignaali, jonka laite kuvaa. Eri väristen signaalien perusteella saadaan pääteltyä templaatin sekvenssi. (Dames ym. 2009, hakupäivä 04.01.2011)

2.5 HeliScope-menetelmä

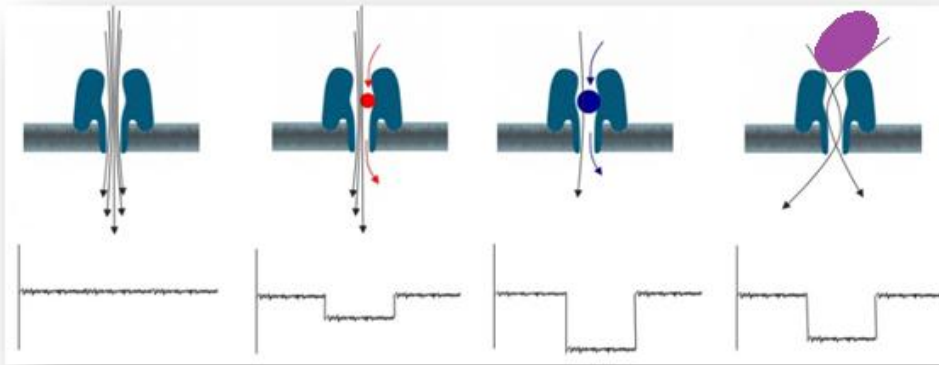
Toinen sekvensoinnin suunta 2000-luvulla on ollut pyrkimys kehittää menetelmä, jossa yksittäisiä DNA-molekyylejä voidaan sekvensoida ilman monistamista. Tässä onnistui ensimmäisenä Helicos Biosciences vuonna 2008 julkaistessaan HeliScope-analysaattorin. Menetelmä ei vaadi lainkaan templaatin monistusta PCR:llä, jolloin analysointi nopeutuu, kustannukset pienenevät ja PCR:sta johtuvat virheet vähenevät. Samanaikaisesti voidaan myös käsitellä valtava määrä DNA-juosteita. (Helicos Bioscience corporation 2011, hakupäivä 05.09.2011) (Read ym. 2011, 221)

Aluksi sekvensoitavat DNA-juosteet pilkotaan ja niiden päihin lisätään adapteriosat ja fluoresoiva leima. Adapterien avulla juosteet kiinnitetään flow cell – levyllä. Analysaattorin kamera havainnoi fluoresoivien leimojen avulla templaattien paikat levyllä. Fluoresoiva leima poistetaan. Levyllä tuodaan yhtä leimattua nukleotidia kerrallaan, ja polymeeraasi liittyy nukleotidit niihin templaatteihin, joihin kyseinen emäs on sopiva jatkoksi. Leimojen avulla analysaattori havainnoi ne juosteet, joihin emäkset liitettiin. Leimat ja sitoutumattomat nukleotidit pestään pois. Levyllä tuodaan seuraavaa nukleotidia. Kiertoa jatketaan, kunnes juosteet on sekvensoitu loppuun asti. (Helicos Bioscience corporation 2011, hakupäivä 05.09.2011)

2.6 Nanopore-menetelmä

Oxford technologies on kehittelemässä nanopore-tekniikkaan perustuvaa sekvensointimenetelmää. Nanoporet ovat kuin yhden molekyylin sensoreita, joilla voidaan tunnistaa ja rakenteellisesti tutkia biologisia polymeerejä, kuten DNA:ta, RNA:ta, polypeptidejä ja DNA-proteiini-komplekseja. Menetelmässä on monia etuja. Partikkeleiden tunnistamiseen ei tarvita kalliita leimoja ja optisia laitteita. Jopa yksittäinen DNA-molekyyli voidaan lukea, eikä sitä tarvitse monistaa ennen analysointia, mikä vähentää virheitä, nopeuttaa prosessia ja pienentää kuluja. (Ivanov, Instuli, McGilvery, Baldwin, McComb, Albrecht & Edel 2010, hakupäivä 02.01.2011) (Oxford Nanopore Technologies 2011, hakupäivä 02.01.2011)

Nanopore-tekniikka perustuu pieniin, nanometrien kokoisiin sähköä johtamattomalla kalvolla oleviin reikiin. Reiät tehdään asettamalla huokoisia proteiineja kaksoislipidikalvolle, jolloin on kyseessä biologinen nanopore. Reikien luomiseen käytettävä proteiini on yleisimmin alfa-hemolysiini, jonka rakenne on samankaltainen solukalvolla olevien kanavaproteiinien kanssa. Toinen vaihtoehto on tehdä reikiä kiinteästä materiaalista valmistetulle kalvolle. Reikien läpi johdetaan tietyn suuruinen sähkövirta. Lipidikerrosten välinen jännite-ero saa analyytit, kuten DNA:n, kulkeutumaan kalvon toiselle puolelle proteiinihuokosten kautta. Samalla molekyylit aiheuttavat muutoksia reikien läpi kulkevaan sähkövirtaan. Molekyyli osittain tukkii huokosen hetkellisesti. Virtauksen muutokset (kuvio 3.) mitataan reikien kohdalta. Kukin DNA:n emäs aiheuttaa tietyn suuruisen virtauseron, minkä perusteella ne voidaan jaotella A:ksi, T:ksi, G:ksi tai C:ksi. (Oxford Nanopore Technologies 2011, hakupäivä 02.01.2011) (Suominen, Pärssinen, Haajanen, Pelkonen 2010, 188)



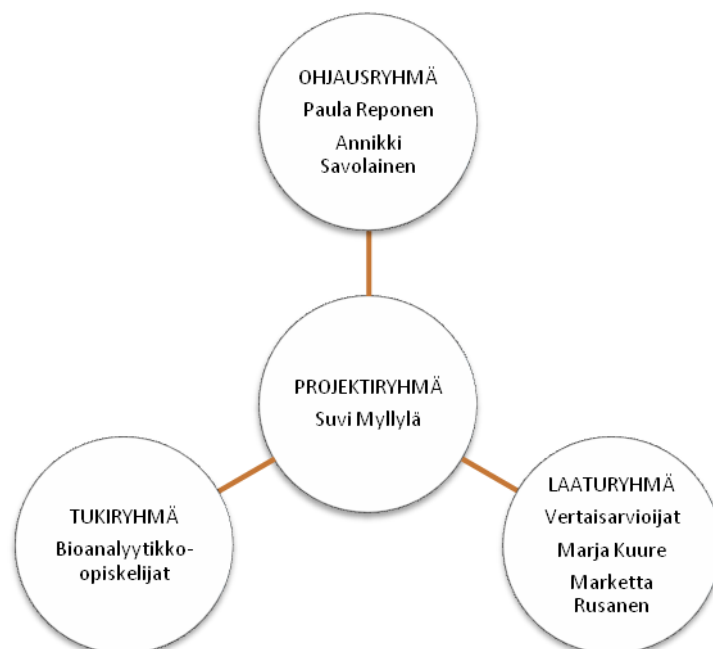
Kuvio 3. Virtauserojen synty. (Mukaellen Oxford Nanopore Technologies 2011, hakupäivä 02.01.2011)

Oxford technologies on kehittänyt kolme eri menetelmää, joilla DNA:ta voidaan sekvensoida nanoporeja käyttäen. Exonuclease sequencing-menetelmässä alfa-hemolysiiniin liitetään kovalenttisella sidoksella eksonukleasientsyymi. Entsyymi vangitsee DNA-rihman, katkaisee sen paloiksi ja syöttää reiän läpi emäksen kerrallaan. DNA strands –tekniikassa yksijuosteinen rihma syötetään kokonaisena reiän läpi. Tämän menetelmän ongelmana on juosteen liian nopea kulkeutuminen, jolloin emäksiä ei ehditä luotettavasti tunnistaa. Kehitteillä on tekniikoita, joilla nopeutta voitaisiin rajoittaa. Tällaisia olisivat muun muassa sähkövirran säätely ja entsyymien käyttö. Solid state nanopore – menetelmässä käytetään täysin synteettisesti valmistettuja kalvoja. Kalvojen materiaaliksi soveltuu esimerkiksi silikoni. Laajamittaisempi käyttö on kuitenkin mahdollista vasta tulevaisuudessa valmistustekniikoiden kehittyessä. (Oxford Nanopore Technologies 2011, hakupäivä 02.01.2011) (Read ym. 2011, 222.)

3 TUOTEKEHITYSPROJEKTIN SUUNNITTELU

Projektia varten muodostetaan tarkoituksenmukainen projektiorganisaatio. Projektiorganisaation muodostajana ja projektin johtajana toimii projektipäällikkö. Projektipäällikkö huolehtii projektin käynnistämisestä, projektsuunnitelman laatimisesta, projektin toimeenpanosta, loppuraportin laatimisesta sekä projektin päättämisestä. (Pelin 1990, 43, 48.)

Toimin itse projektipäällikkönä. Projektiorganisaatioon (kuvio 4.) kuului lisäksi ohjausryhmä, laaturyhmä sekä tukiryhmä. Projektin ohjausryhmä muodostui työtäni ohjaavista opettajista, eli lehtori Paula Reponesta ja osastonjohtaja Annikki Savolaisesta. Laaturyhmän muodostivat vertaisarvioijat Mari-Ella Välitalo, Henna Mikkonen ja Ulla-Maija Voutilainen sekä äidinkielen opettaja Marja Kuure ja englannin opettaja Marketta Rusanen, jotka tarjosivat tarvittaessa kielellistä ohjausta. Muut bioanalyttikko-opiskelijat muodostivat tukiryhmän, jotka edistivät opinnäytetyön etenemistä muun muassa koekäyttämällä työohjetta ja antamalla siitä palautetta.



Kuvio 4. Projektiorganisaatio

3.1 Projektin tavoitteet

Projektin käynnistysvaiheessa määritellään projektille tavoitteet (Pelin 1990, 63). Opinnäytetyöni *tulostavoitteena* (kuvio 5.) oli tuottaa ajankohtainen, selkeä ja opiskelijalähtöinen itseopiskelumateriaali. Molekyylibiologian nopean kehityksen takia tiedon ja lähteiden on oltava tuoreita. Sekvensoinnista kerrottaessa törmätään usein vierasperäisiin termeihin ja käsitteisiin, joiden selventäminen on tarpeellista. Opiskelijalähtöistä näkökulmaa tarvitaan, jotta materiaali kohtaisi kohderyhmän tarpeet ja edeltävän tietotason. Harjoitustunnilla käytettävästä työohjeesta halusin tehdä tarkan, loogisesti etenevän ja yksiselitteisen. Sekvensoinnissa tulosten laatuun vaikuttaa erityisesti näytteen valmisteluvaihe, koska siinä inhimillisten virheiden riski on suurin. Ohjeen tekeminen vuokaavion pohjalta parantaa sen loogisuutta.

Itseopiskelumateriaali	Harjoitustyöohje
<ul style="list-style-type: none">• Ajankohtaisuus• Selkeys• Opiskelijalähtöisyys	<ul style="list-style-type: none">• Tarkkuus• Loogisuus• Yksiselitteisyys

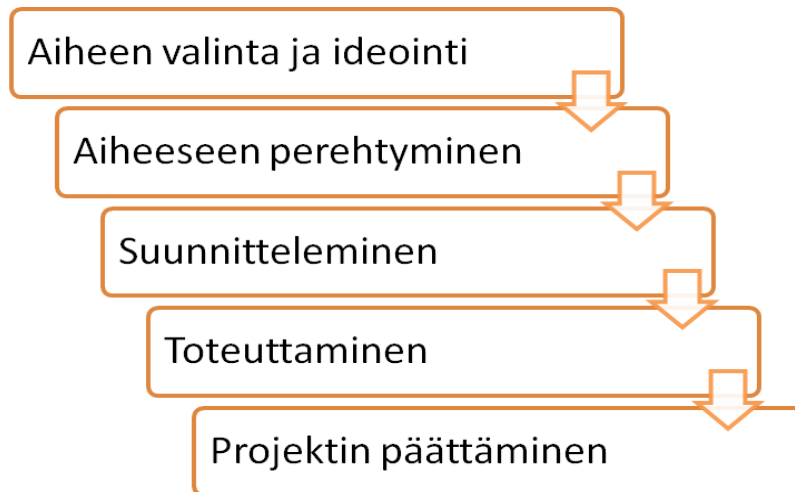
Kuvio 5. Oppimateriaalin tavoitteet

Toiminnallisena tavoitteena oli, että molekyylibiologian opiskelijat voivat materiaalin avulla tutustua itsenäisesti tuoreimpiin sekvensointitekniikoihin ja niiden käyttösovellutuksiin. Työohjeiden avulla he pystyvät valmistautumaan harjoitukseen. Harjoituksen sekvensointiajaja ei tehdä koulun tiloissa, joten laitteen käytöstä ja toimintaperiaatteista on hyödyllistä saada tietoa etukäteen.

Omina *oppimistavoitteinani* oli projektin myötä parantaa yhteistyö- ja neuvottelutaitojani, tiedonhaun ja suunnittelun kykyjäni sekä saada paremmat valmiudet pitkäjänteiseen projektityöskentelyyn erityisesti työelämän vaatimuksia ajatellen. Samalla halusin syventää ammatillista osaamistani molekyylibiologiassa.

3.2 Päätehtävät

Opinnäytetyöprojektin päätehtävät (kuvio 6.) olivat aiheen valinta, aiheeseen perehtyminen, suunnitteleminen, toteuttaminen ja projektin päättäminen. Aiheen valinnan ja aiheeseen perehtymisen välituloksena syntyi valmistava seminaarityö, jossa luotiin pohja projektin viitekehykselle. Suunnittelu- ja toteutusvaiheiden välituloksena syntyi projektisuunnitelma. Projektisuunnitelmassa määriteltiin muun muassa projektin tavoitteet ja toteutussuunnitelma. Toteutusvaiheeseen kuului itseopiskelumateriaalin ja harjoitustyöohjeen laadinta. Projektin päätösvaiheessa kerättiin palaute ja kirjoitettiin loppuraportti.



Kuvio 6. Projektin päätehtävät

4 OPPIMATERIAALIN SUUNNITTELU JA TOTEUTUS

Projektin aloitusvaiheessa päätimme yhdessä ohjaavien opettajien kanssa, että projektissa tuotettaisiin itseopiskeluun tarkoitettua materiaalia sekä työohje harjoitustuntia varten. Materiaalin suunnitteluun tarvittava teoriapohja syntyi valmistavaa seminaaria ja projektisuunnitelmaa laatiessa. Harjoitustyöhön oli myös olemassa vanha ohje, johon uusi ohje perustuu.

Projektin toteuttamisvaiheeseen kuului materiaalien valmistus. Suunnittelin ja kirjoitin itseopiskelumateriaalin aiemmin laatimani viitekehyksen pohjalta. Työohjetta varten kokeilin itse kyseistä sekvensointiharjoitusta ennen omien ohjeiden laatimista. Samalla valokuvasin eri työvaiheet materiaalia varten. Laadittuani alustavat materiaalit opiskelijat koekäyttivät niitä. Lopuksi projektin päätösvaiheessa korjasin materiaaleja saamani palautteen mukaan.

4.1 Itseopiskelumateriaalin ja harjoitustunnin työohjeen laatiminen

Laatua voidaan kuvailla eri tavoin. Laatu voi tarkoittaa tuotteen tai palvelun sopivuutta käyttötarkoitukseensa. Laatua on myös tuotteeseen tyytyväinen käyttäjä. (Sarala & Sarala 1996, 96.) Työni toiminnallisena tavoitteena oli, että molekyylibiologian opiskelijat voivat materiaalin avulla tutustua itsenäisesti sekvensointitekniikoihin, valmistautua harjoitukseen ja suorittaa harjoitustyön onnistuneesti. Materiaalia koskevia ratkaisuja tehdessäni yritin aina pyrkiä tähän tavoitteeseen. Miten voisoin parhaiten huomioida tuotteen käyttäjän tarpeet? Miten saisin tuotteesta mahdollisimman käyttökelpoisen?

Aineiston sisällön rajaaminen on haasteellista. Tilanteesta riippuen on päätettävä, kuinka laajat tiedot aiheesta tarjoaa käyttäjälle. Tiedon sopivan määrän lisäksi on tärkeää, että sisältö on virheetöntä ja ajan tasalla olevaa. (Koskinen-Ollonqvist, Parkkunen & Vertio 2001, 12.) Oppimateriaalin sisältöä laatiessani en halunnut syventyä liiallisesti yksittäisiin sekvensointitekniikoihin. Tavoitteenani oli enemmänkin tarjota yleissilmäys siihen, mitä sekvensointi on ollut, mitä se on nykyään, ja mitä mahdollisuuksia sillä on tulevaisuudessa. Uhkana oli, että materiaalista tulisi helposti liian raskas ja yksityiskohtainen itseopiskelua varten. Halusin kuitenkin esitellä muutamien sekvensointitekniikoiden peruseriaatteet. Lisäsin materiaalin loppuun lähteitä ja internetlinkkejä, joista käyttäjä halutessaan saisi lisätietoa. Sisällön oikeellisuuteen pyrin tarkalla lähdekritiikillä. Lähteiden tuli olla mahdollisimman tuoreita ja luotettavia. Etsin esimerkiksi tietoa analysointitekniikoista ja niiden periaatteista mieluiten suoraan valmistajan sivuilta.

Päätettyäni materiaalin sisällön, aloin hahmottelemaan sen ulkomuotoa. Tässä vaiheessa pidin mielessäni materiaalille asettamani tavoitteet: loogisuus, selkeys, yksiselitteisyys ja opiskelijälähtöisyys. Erityisesti harjoitustyön onnistumisen kannalta olisi oleellista, että käyttäjä ymmärtäisi oikein eri työvaiheet ja osaisi toimia ohjeen mukaisesti. Testasin itse harjoitustyötä, jotta varmistuin sen toimivuudesta, sain kuvia materiaalia varten sekä osasin kiinnittää ohjeissa erityistä huomiota haastavimpiin kohtiin.

Päädyin materiaalin tekemiseen Microsoft Power Point -ohjelmalla. Ohjelmalla oli helppo muokata tekstiä ja paljon kuvia sisältävää aineistoa. Tämä oli myös opettajan ja opiskelijan kannalta soveltuva julkaisumuoto. Sisältöä muotoillessa yritin lisätä selkeyttä kappaleiden pituudella ja muotoilulla, kuvien sijoittelulla, kaavioilla sekä tekstin sopivalla kirjasinkoolla ja rivivälillä. Työohjeen johdonmukaisuuteen pyrin laatimalla sen vuokaavion pohjalta.

4.2 Palautteen kerääminen

Halusin antaa tuotteen tuleville käyttäjille mahdollisuuden vaikuttaa materiaalin lopulliseen sisältöön ja ulkomuotoon. Oppimateriaalin alustavan version valmistuttua sitä koekäyttivät molekyylibiologian syventävän kurssin opiskelijat. He saivat luettavakseen itseopiskelumateriaalin ja suorittivat harjoitustyön laatimani ohjeen mukaisesti. Heille jaettiin myös palautelomakkeet (liite 1), joihin he saivat kirjoittaa mielipiteitään ja parannusehdotuksia.

Sain palautteita 12 kappaletta. Palaute oli pääasiassa positiivista. Erityisesti tiedon määrään ja tekstin selkeyteen oltiin tyytyväisiä. Useassa palautteessa todettiin myös, että kuvat ja kaaviot helpottivat asian ymmärtämistä. Osan mielestä joitakin kuvia olisi voinut jättää pois, jotta materiaali ei vaikuttaisi niin tiiviiltä. Eniten lisää selkeyttä kaivattiin työohjeen lopussa olevaan sekvenssin käsittely -osioon. Kahdessa palautteessa toivottiin lisää tietoa sekvenssin laatuun vaikuttavista tekijöistä. Eräässä palautteessa toivottiin myös, että lisätietolinkkeihin olisi lisätty hakupolku ja tieto siitä, mitä sivuilta tarkalleen ottaen kannattaa etsiä. Poimintoja palautteista:

"Työn tekeminen eteni sujuvasti ohjeiden avulla."

"Itseopiskelumateriaalin ulkoasu ja sisältö todella laadukas."

"Itseopiskelumateriaali oli sopivan informatiivinen, eikä liian pitkä."

"Mahdollisia virheitä olisi voinut käydä kattavammin."

"Kuvat rytmittävät työohjetta."

"Muotoiluun olisi voinut kiinnittää enemmän huomiota."

Tein palautteen perusteella materiaaleihin muutamia muutoksia. Yritin selkeyttää työohjetta ja erityisesti epäselväksi koettua sekvenssin käsittely -osiota lisäämällä materiaalin pituutta yhdellä sivulla ja jaottelemalla sisällön väljemmin. Muutin myös muutamia kohtia niin, että olennaiset asiat korostuvat tekstin keskeltä paremmin. Tarkensin ohjeeseen sellaisia kohtia, joista oli toivottu tarkempaa tietoa.

5 ARVIOINTI JA POHDINTA

Projektini tarkoituksena oli tuottaa laadukasta ja tarpeeseen vastaavaa oppimateriaalia syventävälle molekyylibiologian kurssille. Työ eteni aiheen valinnasta ja ideoinnista aiheeseen perehtymiseen, tuotteen suunnitteluun, tuotteen toteuttamiseen ja lopulta projektin päättämiseen. Aiheen valinta tapahtui opettajan tarjoamien vaihtoehtojen perusteella. Tartuin juuri tähän aiheeseen ehkä siksi, koska pidän molekyylibiologiaa yhtenä kiinnostavimmista bioanalyytikon osaamisalueista. Olin oikeassa, kun ajattelin, että molekyylibiologiaan liittyvä työ jaksaisi pitää kiinnostusta yllä koko pitkän projektin ajan. Kiinnostus aihetta kohtaan teki työn tekemisestä mielekäästä.

Aiheeseen perehtyminen oli melko työläs vaihe. Opiskeluiden aikana saamani perustiedot sekvenssoinnista auttoivat asiaa, mutta aiheeseen joutui syventymään paljon lisää. Sopivien lähteiden löytäminen oli mielestäni haastavaa. Työ oli hidasta myös sen takia, että suuri osa lähteistä oli englanninkielisiä. Tämä vaihe kuitenkin edisti itselleni asettamaani oppimistavoitetta: ammatillisen osaamisen syventämistä.

Projektin ehkä miellyttävien vaihe oli tuotteiden suunnittelu ja toteutus. Opiskelijan tarpeet oli helppo huomioida, koska olin itse ollut aiemmin samassa tilanteessa. Tässä vaiheessa myös tehty työ muuttui konkreettisemmaksi; aiemmin hankittu tieto muotoutui alustavaksi tuotteeksi. Työohjeen koekäyttö oli hauskaa ja auttoi materiaalin muotoilussa.

Eniten haasteita liittyi työn päätösvaiheeseen, eli materiaalin viimeistelyyn ja loppuraportin laatimiseen. Suurimmaksi ongelmaksi muodostui ajankäyttö. Työn tekeminen viivästyi huomattavasti alkuperäisestä suunnitelmasta. Olin suunnitellut alkuperäisen aikataulun liian tiukaksi, mistä seurasi loppupään tehtävien myöhästyminen ja lykkääntyminen. Uskon, että näistä vaikeuksista voi kuitenkin ottaa oppia. Oman työskentelytyylin ja sen heikkouksien realistisella tuntemisella toivottavasti välttään tulevaisuuden haasteissa vastaavanlaisilta ongelmilta.

Mielestäni tuottamani oppimateriaali on onnistunut. Tuotteelle asettamani tavoitteet, selkeys, tarkkuus ja loogisuus täytyivät kohtalaisen hyvin. Myös koekäyttäjät olivat pääsääntöisesti tyytyväisiä tuotteeseen, ja heidän antamansa palautteen perusteella tuote saatiin vieläkin toimivammaksi. Materiaalin ajankohtaisuus nopeasti kehittyvällä alalla ei ole pitkäikäistä, mutta sähköisen materiaalin yhtenä hyvänä puolena on sen helppo päivitettävyys. Tarkoituksena onkin, että tuotetta opetukseen käyttävä opettaja voi muuttaa sisältöä tarvittaessa. Erityisesti harjoitustyöohjeen laadusta kertoo myös se, että työn toiminnallinen tavoite täyttyi. Opiskelijat suorittivat harjoitustyön onnistuneesti työohjeen avustuksella. Toiveena on, että materiaali saisi tulevaisuudessakin olla käytössä molekyylibiologian kurssilla, ja sekä opettaja että opiskelijat saisivat siitä mahdollisimman suuren hyödyn.

Myös omat oppimistavoitteeni täytyivät. Projektityöskentelytaitojen karttuminen on hyödyksi tulevaa työelämää ajatellen. Projektin aikana kohdatut vaikeudet antavat arvokasta tuntemusta omista vahvuuksista ja heikkouksista. Ammatillinen osaaminen syventyi sekvensointiin liittyen, mutta myös englannin kielen taidot ja erityisesti oman alan sanasto laajentui. Yhteistyö- ja neuvottelutaidot olisivat luultavasti kehittyneet enemmän, jos työn tekeminen olisi tapahtunut parin kanssa. Tiedonhakutaitojen harjaannuttaminen oli erityisen tarpeellista, koska olen aiemmin kokenut tiedonhaun melko vaikeana.

Kaikenkaikkiaan projekti oli haasteellinen, mutta palkitseva kokemus. Vaikeuksista huolimatta pidän projektia onnistuneena, koska sitä kohtaan asetetut tavoitteet täytyivät. OAMK:n kannattaisi jatkossakin kannustaa opiskelijoita samankaltaisiin tuotekehitysprojekteihin myös muilla kuin molekyylibiologian osa-alueella. Tämänkaltaisten tuotteiden etuna on se, että opiskelijat saavat ymmärrettävässä ja tiivistetyssä muodossa päivityksen alan uusista tuulista. Saman tietomäärän hankkiminen omatoimisesti olisi huomattavasti työläämpää. Tuotteeni pääsee varsinaiseen tarkoitukseensa tulevaisuudessa, jolloin sitä toivottavasti hyödynnetään opetuksessa.

LÄHTEET

Applied Biosystems. 2011. 3130xl Genetic Analyzer. Hakupäivä 05.09.2011
<<https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab;jsessionid=VPxQTk5QQh5n9sTkprxtJvQfT8cc522GRSJnQ5h21xb7wQTnCyp5!-1720332180?cmd=catProductDetail&productID=3130XL&catID=601644&backButton=true>>

Biocenter Oulu. 2011. Core Facilities. Hakupäivä 05.09.2011
<http://www.biocenter oulu.fi/1-research_projects_and_facilities-2-core_facilities.html>

Biocenter Oulu. 2011. Gene Analysis Services. Hakupäivä 05.09.2011
<http://www.biocenter oulu.fi/1-research_projects_and_facilities-2-core_facilities-3-gene_analysis_service.html>

Dames, Durtschi & Voelkerding. 2009. Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. Hakupäivä 04.01.2011
<<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/55/4/641>>

Haajananen, K., Pelkonen, J., Pärssinen, R. & Suominen, I. 2010. Geenitekniikka. Turku: Turun ammattikorkeakoulu.

Helicos Bioscience corporation. 2011. True Single Molecule Sequencing. Hakupäivä 05.09.2011
<<http://www.helicosbio.com/Technology/TrueSingleMoleculeSequencing/tabid/64/Default.aspx>>

Ivanov & Instuli & McGilvery & Baldwin & McComb & Albrecht & Edel. 2010. DNA Tunneling Detector Embedded in a Nanopore. Hakupäivä 02.01.2011
<<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/nl103873a>>

Koskinen-Ollonqvist, P., Parkkunen, N. & Vertio, H. 2001. Terveysaineiston suunnittelun ja arvioinnin opas. Helsinki: Terveyden edistämisen keskus.

National Human Genome Research Institute. 2011. Hakupäivä 04.09.2011
<<http://www.genome.gov/10001177>>

Ollikka, P. & Suominen, I. 2004. Yhdistelmä-DNA-tekniikan perusteet. Helsinki: Hakapaino Oy.

Oxford Nanopore Technologies. 2011. Nanopores. Biosensors of Single Molecules. Hakupäivä 02.01.2011 <<http://www.nanoporetech.com/sections/index/16>>

Oxford Nanopore Technologies. 2011. DNA Sequencing (exonuclease). Hakupäivä 02.01.2011 <<http://www.nanoporetech.com/sequences>>

Oxford Nanopore Technologies. 2011. DNA sequencing (DNA strands). Hakupäivä 02.01.2011 <<http://www.nanoporetech.com/sections/index/80>>

Oxford Nanopore Technologies. 2011. DNA sequencing (solid state nanopores). Hakupäivä 02.01.2011 <<http://www.nanoporetech.com/sections/index/81>>

Oxford Nanopore Technologies. 2011. Nanopores for DNA sequencing. Hakupäivä 02.01.2011 <<http://www.nanoporetech.com/sections/index/82>>

Pelin, R. 1990. Projektin suunnittelu ja ohjaus – Käsikirja. 1. Painos. Hämeenlinna: Weilin + Göös, Karisto Oy:n kirjapaino.

Read, A. & Strachan, T. 2011. Human Molecular Genetics. New York: T&F informa.

Roche Diagnostics Corporation. 2011. How it Works. Hakupäivä 04.01.2011
<<http://454.com/products-solutions/how-it-works/index.asp>>

Roche Diagnostics Corporation. 2011. Sequencing Chemistry. Hakupäivä 04.01.2011
<<http://454.com/products-solutions/how-it-works/sequencing-chemistry.asp>>

Rosen, K. 2009. How DNA Sequencing Began. Hakupäivä 03.01.2011
<<http://www.suite101.com/content/how-dna-sequencing-began-a144578>>

Russel, D. & Sambrook, J. 2001. Molecular Cloning volume 2: A Laboratory Manual.
New York: Col Spring Harbor Laboratory Press.

Sarala, A. & Sarala, U. 1996. Oppiva organisaatio – oppimisen, laadun ja
tuotettavuuden yhdistäminen. 3. painos. Tampere: Tammer-paino.

Timmer, J. 2009. A brief guide to DNA sequencing. Hakupäivä 03.01.2011
<<http://arstechnica.com/science/guides/2009/09/a-brief-guide-to-dna-sequencing.ars>>

LIITTEET

Liite 1. Palautelomake.

Hei!

Olen Suvi Myllylä bio8sn-ryhmästä. Opinnäytetyöhöni kuuluu DNA:n sekvensointia käsittelevän itseopiskelumateriaalin ja sekvensointiharjoituksen työohjeen valmistaminen. Toivoisin, että auttaisitte minua parantamaan tuotoksiani oheisiin kysymyksiin vastamaalla. Voit jatkaa vastaustasi tarvittaessa paperin kääntöpuolelle. Kiitos vastauksista!

Mitä mieltä olet työohjeen ja materiaalin ulkoasusta ja yleisilmeestä?

Itseopiskelumateriaali

Mitkä olivat mielestäsi materiaalin hyviä / huonoja puolia?

Oliko jokin asia selitetty liian vaikeaselkoisesti? Mikä?

Mistä olisit toivonut lisää tietoa / mitä olisi voinut jättää pois?

Työohje

Oliko työn kulkua helppo seurata työohjeesta? Etenikö ohje loogisesti?

Mihin kohtiin tarvitsisi tarkennusta tai lisää selkeyttä?