

SAVONIA

ammattikorkeakoulu

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

MOLEKYYLIPATOLOGIAA BIOANALYYTIKKO-OPISKELIJOILLE

Verkko-oppimateriaalia kliinisen patologian syventävälle opintojaksolle

TEKIJÄT Katja Toppinen
 Petra Änäkkälä
 Niklas Malmi

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Tutkinto-ohjelma Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma			
Työn tekijät Katja Toppinen, Petra Änäkkälä ja Niklas Malmi			
Työn nimi Molekyylipatologiaa bioanalyttikko-opiskelijoille – Verkko-oppimateriaalia kliinisen patologian syventävälle opintojaksolle			
Päiväys	20.11.2022	Sivumäärä/Liitteet	42/0
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani Savonia-ammattikorkeakoulu			
Tiivistelmä			
<p>Patologia eli tautioppi tutkii sairauksia elimistö-, kudosa- ja solutasolla. Kliinisen patologian työ muodostuu kudosa- ja solunäytteistä tutkivasta histologiasta ja solunäytteistä tutkivasta sytologiasta. Molekyylipatologia on kliinisen patologian erikoisala, jossa tutkimuskohteena ovat näytteistä eristetyt nukleiinihapot eli DNA tai RNA. Molekyylipatologian merkitys osana kliinisen patologian diagnostiikkaa on kasvamassa.</p> <p>Opinnäytetyössä suunniteltiin ja toteutettiin verkko-oppimateriaalia Moodlen verkko-oppimisympäristöön. Toimeksiantajana opinnäytetyössä oli Savonia-ammattikorkeakoulu. Savonia-ammattikorkeakoulun kliinisen patologian syventävälle opintojaksolle oli tarve saada verkko-oppimateriaalia molekyylibiologian menetelmistä, joita hyödynnetään kliinisen patologian laboratoriossa. Aiheeksi tarkentui molekyylipatologia ja kohderyhmäksi patologiasta kiinnostuneet bioanalyttikko-opiskelijat.</p> <p>Opinnäytetyö toteutettiin kehittämistyönä. Kehittämistyö muodostui opinnäytetyöraportista ja konkreettisesta tuotoksesta. Kehittämistyön tarkoitus oli tuottaa verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian osuudesta patologian syventävälle opintojaksolle. Kehittämistyön tavoite oli kehittää bioanalyttikon koulutusta tarjoamalla verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian keskeisimpien menetelmien hyödyntämisestä patologian laboratoriossa.</p> <p>Verkko-oppimateriaaliin tuotettiin kolme osiota. Ensimmäiseen osioon tehtiin PowerPoint-esitys molekyylipatologian perusteista ja esitykseen pohjautuva tietotesti. Toiseen osioon valmistuivat Moodlen oppituntityökalulla tuotetut materiaalit ddPCR- ja NGS-menetelmistä. Kolmanteen osioon tehtiin artikkelitehtävä molekyylipatologian kliinisistä sovelluksista. Lisäksi verkko-oppimateriaaliin lisättiin aihealueeseen liittyvää lisämateriaalia tukemaan oppimista. Verkko-oppimateriaalista tuli laadukas ja monipuolinen kokonaisuus. Tiedon lisääntyessä sähköistä materiaalia on helppo päivittää. Jatkokehitysaiheena materiaalin sisältöä voisi laajentaa muihin molekyylipatologialla käytettyihin menetelmiin. Lisäksi verkko-oppimateriaalista voisi tehdä englanninkielisen version.</p>			
Avainsanat Molekyylipatologia, kliininen patologia, verkko-oppimateriaali, ddPCR, NGS			

Field of Study Social Services, Health and Sports	
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science	
Authors Katja Toppinen, Petra Änäkkälä and Niklas Malmi	
Title of Thesis Molecular Pathology for Biomedical Laboratory Science students – Online learning material for Clinical Pathology advanced course	
Date 20.11.2022	Pages/Appendices 42/0
Client Organisation/Partner Savonia University of Applied Sciences	
<p>Abstract</p> <p>Pathology studies diseases on organism-, tissue- and cellular level. The working field of clinical pathology includes histology, which examines tissue samples and cytology which examines cell samples. Molecular pathology is a special field of clinical pathology. The field examines isolated nucleic acids from samples, which are DNA or RNA. The use of molecular pathology is increasing as a part of clinical pathology diagnostics.</p> <p>The thesis focused on implementing online learning material to Moodle online learning environment. The client organization for the thesis was Savonia University of Applied Sciences. An advanced course of clinical pathology needed online learning material about molecular biology methods to be used in the laboratory of clinical pathology. The topic of thesis focused on molecular pathology and the target group was students in biomedical laboratory science.</p> <p>The thesis was done as a development work. The development work includes a thesis report and a concrete output. The purpose of the development work was to create online learning material of molecular pathology for an advanced course of pathology. The objective was to improve education for biomedical laboratory science students by creating online learning material about molecular pathology's most common methods in the pathology laboratory.</p> <p>The online learning material consists of three parts. The first part includes a PowerPoint presentation on the basics of molecular pathology and a test based on the PowerPoint. The second part includes lessons of ddPCR and NGS methods created with the Moodle lesson activity tool. The third part includes an article assignment which contains information about clinical applications of molecular pathology. The online learning material contained additional material of the topic to improve learning. The online learning material came out as high-quality and versatile entirety. As knowledge increases the online material is easy to update. The material could be further developed by expanding contents of other molecular pathology methods into the material. The material could also be translated from Finnish to English.</p>	
<p>Keywords</p> <p>Molecular Pathology, Clinical Pathology, online learning material, ddPCR, NGS</p>	

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	6
2	MOLEKYYLIPATOLOGIA	7
2.1	Molekyylipatologian rooli syöpädiagnostiikassa	7
2.2	Molekyylipatologian tutkimuksissa käytetyt näytemuodot.....	8
3	MOLEKYYLIPATOLOGIAN UUDET MENETELMÄT	10
3.1	Digitaalinen PCR	10
3.1.1	ddPCR-menetelmän periaate	10
3.1.2	ddPCR-menetelmän käyttökohteet molekyylipatologialla.....	11
3.1.3	ddPCR-menetelmän hyödyt, haasteet ja tulevaisuus	12
3.2	Uuden sukupolven sekvensointi	13
3.2.1	NGS-menetelmän periaate	13
3.2.2	Paneelisekvensoinnin käyttö molekyylipatologialla.....	14
3.2.3	Paneelisekvensoinnin hyödyt, haasteet ja tulevaisuus	15
4	VERKKO-OPPIMINEN	17
4.1	Motivaatio ja erilaiset oppimistyyli oppimisen perustana	17
4.2	Verkko-oppiminen opetuksessa	17
4.3	Laadukkaan verkko-oppimateriaalin piirteitä	18
4.4	Verkko-opintojakson suunnittelun työkaluja	20
5	KEHITTÄMISTYÖN TARKOITUS JA TAVOITE	21
6	KEHITTÄMISTYÖN TOTEUTUS.....	22
6.1	Kehittämistyön menetelmän kuvaus	22
6.2	Kehittämistyön suunnittelu	22
6.3	Verkko-oppimateriaalin toteutus.....	23
6.4	Kehittämistyön arviointi	25
7	POHDINTA.....	28
7.1	Kehittämistyön prosessin ja tuotoksen arviointi	28
7.2	Eettisyys ja luotettavuus.....	30
7.3	Ammatillinen kasvu	31
7.4	Hyödynnettävyys ja kehittämisideat	33
	LÄHTEET	34

KESKEISET LYHENTEET JA KÄSITTEET

Aluke	Primer; lyhyttä yksijuosteista DNA:ta, jolla määritetään monistettava alue kohde-DNA:ssa
cDNA	Complementary DNA; komplementaarinen eli vastakkainen DNA
cfDNA	Cell free DNA; solunulkoisen DNA, joka siirtyy elimistön soluista kehon nesteisiin fysiologisten ja patologisten prosessien myötä
ctDNA	Circulating tumor DNA; kiertävä kasvain-DNA, joka on syöpäsoluissa muodostuvaa cfDNA:ta
ddPCR	Droplet Digital Polymerase chain reaction; digitaalinen PCR-menetelmä, jossa nukleihinapponäyte jaetaan tuhansiin vesi-öljypisaroihin ennen PCR-reaktiota
DNA	Deoksiribonukleiinihappo
FFPE	Formalin-fixed paraffin-embedded; formaliinifikoitu ja parafiiniin valettu kudoksenäyte
Koetin	Probe; yksijuosteinen DNA- tai RNA-jakso, jolla on kohde-DNA:n vastakkainen emäsjärjestys
Mutaatio	Muutos geenin koostumuksessa
NGS	Next generation sequencing; uuden sukupolven sekvensointimenetelmät mahdollistavat useiden DNA-fragmenttien sekvensoinnin samanaikaisesti
Nestebiopsia	Minimaalisesti kajoava näytemuoto, jossa näytteenä ovat kehon nesteet, esimerkiksi plasma
Paneelisekvensointi	Haluttujen geenialueiden sekvensointi
Pistemutaatio	Yksittäisen emäksen mutaatio DNA:ssa
PCR	Polymerase chain reaction; polymeerasiketjureaktiossa monistetaan tutkittava geenialue miljooniksi kopioiksi ja monistustuotteesta selvitetään geenialueen rakennetta tai virheitä erilaisin menetelmin
RNA	Ribonukleiinihappo
Sekvensointi	Geenien emäsjärjestyksen selvittäminen

1 JOHDANTO

Patologia eli tautioppi tutkii sairauksiin liittyviä rakenteellisia ja toiminnallisia muutoksia solu-, kudosa- ja elimistötasolla (Mäkinen & Lehto 2012). Kliinisen patologian laboratorion työ koostuu kahdesta osa-alueesta, joita ovat kliininen histologia ja kliininen sytologia. Histologian laboratorion tutkimuksen kohteena ovat kudoksen näytteet, jotka voivat olla esimerkiksi tähytysten yhteydessä otettuja koealoja tai leikkausten yhteydessä poistettuja kasvaimia. Sytologian laboratorio tutkii erilaisia kehon nesteitä kuten virtsaa, ja näytteistä valmistetuilta objektilaseilta etsitään syöpäsoluja. (Suomen Bioanalyttikoliitto ry julkaisuaika tuntematon.)

Molekyylipatologian ja genetiikan merkitys diagnostiikassa on kasvamassa ja molekyyli-genetiikan työkalut tulevat osaksi patologian perinteistä diagnostiikkaa (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021c). Molekyylipatologia on laajasti määriteltynä molekyylien tutkimista sairaudessa (The Association of Clinical Pathologists 2022) ja molekyylipatologisella tutkimuksella selvitetään mutaatioita (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021b). Mutaatioilla tarkoitetaan muutoksia geenien koostumuksessa (The Association of Clinical Pathologists 2022). Uuden sukupolven sekvensointimenetelmät soveltuvat useiden mutaatioiden seulomiseen useissa geneeissä samanaikaisesti (Deharvengt & Tsongalis 2017, 720; D’Haene ym. 2015, 9) ja uusi erityisen herkkä droplet digital PCR -menetelmä soveltuu hyvin syöpämutaatioiden tutkimiseen (McEvoy ym. 2018, 248–249). Tutkimuksissa käytetään näytteestä eristettyä deoksiribonukleiinihappoa eli DNA:ta, ribonukleiinihappoa eli RNA:ta tai molempia (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021d). Molekyylipatologian tuottamalla tiedolla ohjataan syöpäpotilaiden hoitoa (Deharvengt & Tsongalis 2017, 719).

Opinnäytetyö on kehittämistyö ja sen toimeksiantaja on Savonia-ammattikorkeakoulu. Kehittämistyön tarkoitus on tuottaa verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian osuudesta patologian syventävälle opintojaksolle. Kehittämistyön tavoite on kehittää bioanalyttikon koulutusta tarjoamalla verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian keskeisimpien menetelmien hyödyntämisestä patologian laboratoriossa. Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikon tutkinto-ohjelmaan kuuluu pakollisiin ammattiotintoihin kliinisen patologian opintojakso, jolla käsitellään histologian ja sytologian perusteita (Savonia-ammattikorkeakoulu 2022b). Pakollisella opintojaksolla ei käsitellä molekyylipatologiaa tarkemmin, eikä opetussuunnitelmassa ole aikaisemmin ollut saatavilla syventävää opintojaksoa erikoisalaan. Histologian ja sytologian syventävällä opintojaksolla opiskelija syventää ja kehittää osaamistaan erikoisalalla (Savonia-ammattikorkeakoulu 2022b). Molekyylipatologian merkityksen kasvaessa patologian diagnostiikassa kehittämistyön kohderyhmän eli syventävän opintojakson valitsevien ja patologiasta kiinnostuneiden bioanalyttiko-opiskelijoiden on tärkeää tietää molekyylipatologian menetelmien käytöstä. Verkko-oppimateriaali vastaa tarpeeseen saada opintojaksolle molekyylipatologiaan liittyvää ajantasaista materiaalia.

2 MOLEKYYLIPATOLOGIA

2.1 Molekyylipatologian rooli syöpädiagnostiikassa

Syöpä on genomien eli perimän sairaus. Tämä tarkoittaa, että geenien toiminnassa tapahtuu muutoksia ennen syövän syntyä. (Kononen, Sundvall, Kontro & Rantala 2021, 1441.) Geneettisillä muutoksilla tarkoitetaan esimerkiksi DNA:n yksittäisten emästen mutaatioita eli pistemutaatioita. Geneettiset muutokset aiheuttavat yleensä joko syövän kasvua edistävien onkogeeneiden aktivoitumisen tai syövän kasvulta suojaavien supressorigeenien vaimentumisen. (Lappi-Blanco, Salmenkivi, Kytölä & Kononen 2016, 593.) Myös jo syntyneessä syövässä tapahtuu geneettistä muuntuvuutta (Isomursu, Kononen & Kuopio 2015, 424; Lappi-Blanco ym. 2016, 596).

Syövän nopea geneettinen muuntelu aiheuttaa kasvaimen heterogeenisuuden (Isomursu ym. 2015, 424). Tällöin kasvain koostuu erilaisista syöpäsolupopulaatioista. Heterogeenisuutta voi olla sekä yksittäisen kasvaimen sisällä että eri kasvaimien välillä. Kasvaimen heterogeenisuus vaikeuttaa syövän tehokasta ja yksilöllistä hoitoa, koska se edistää kasvaimen uusiutumista sekä etäpesäkkeiden kasvua. (Kapoor-Narula & Lenka 2022, 1–11.) Syövän heterogeenisuus johtaa myös sellaisten syöpäsolupopulaatioiden syntyyn, jotka ovat vastustuskykyisiä lääkkeille (Isomursu ym. 2015, 424; Kapoor-Narula & Lenka 2022, 7). Tämän takia heterogeenisuuden ymmärtäminen on tärkeää syöpähoidon hyötyjen maksimoimiseksi (Kapoor-Narula & Lenka 2022, 7).

Molekyylipatologian laboratorio tuottaa kriittistä diagnostista, ennusteellista ja hoidollista tietoa syöpäpotilaiden hoidon ohjaamiseksi (Deharvengt & Tsongalis 2017, 719). Työtä tehdään monialaisessa yhteistyössä ja molekyylipatologiset tutkimukset ovat usein keskitetty yliopistosairaaloihin tarvittavien henkilöstö- ja laitevaatimusten vuoksi (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021e). Suomessa molekyylipatologisia analyysejä voidaan tehdä patologian laboratorion lisäksi myös genetiikan laboratoriossa (Lappi-Blanco ym. 2016, 594). Testauksen tavoite on selvittää kaikki mutaatiot, jotka liittyvät diagnostiikkaan, hoitoon tai ennusteeseen (Kytölä ym. 2021b). Muutosten tunnistaminen mahdollistaa kohdennettujen yksilöityjen lääkehoitojen eli täsmälääkkeiden käytön (Lappi-Blanco ym. 2016, 593). Koska geneettinen tieto ja ymmärrys tämän tiedon soveltamisesta hoitoon lisääntyvät jatkuvasti, tavoitteiden saavuttamiseksi laboratorioden on mukautettava tutkimuksia lisääntyvään ja muuttuvaan tautitietoon. Molekyylipatologisten tutkimusten vastausaika on yleensä viidestä kymmeneen työpäivään. Noin puolet työpäivistä kuluu itse analyysiin ja tulosten tulkintaan. Toinen puolikas menee edustavan näytteen etsimisessä, edustavuuden arvioinnissa ja näytteen valmistelussa analyysiä varten. (Kytölä ym. 2021b.)

Molekyylipatologian ala hyödyntää proteiineja ja nukleiinihappoja analysoivia tutkimusmenetelmiä. Alan kehitykseen ovat vaikuttaneet merkittävästi niin sanotut uuden sukupolven sekvensointimenetelmät (next generation sequencing, NGS). (Kytölä ym. 2021e.) Menetelmillä on mahdollista sekvensoida useita DNA-fragmenteja samanaikaisesti (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021a). Sekvensointi tarkoittaa emäsjärjestyksen selvittämistä (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016). Yleisimmin käytettyjä menetelmiä molekyylipatologian laboratoriossa ovat polymeerasiketjureaktio (PCR) -pohjaiset menetelmät (Kytölä ym. 2021b). PCR-menetelmässä monistetaan tutkittava geenialue miljooniksi kopioiksi

ja monistustuotteesta on mahdollista selvittää geenialueen rakennetta tai virheitä erilaisin menetelmin (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016). PCR-menetelmien yleisyys johtuu niiden kustannusrakenteesta, helppoudesta, spesifisyydestä ja sensitiivisyydestä. Esimerkki PCR-menetelmistä on uusi droplet digital PCR (ddPCR) -menetelmä. (Kytölä ym. 2021b.) NGS- ja ddPCR-menetelmiä käydään tarkemmin läpi Molekyylipatologian uudet menetelmät -luvussa.

2.2 Molekyylipatologian tutkimuksissa käytetyt näytemuodot

Molekyylipatologisessa ja -geneettisessä tutkimuksessa käytettävää näytemateriaalia voi olla esimerkiksi veren valkosolut tai plasma, luuydin, kudoksenäyte tai sytologinen solunäyte. Onnistunut tutkimus edellyttää laadullisesti ja määrällisesti riittävän edustavaa tutkimusnäytettä. Näyte on otettava, käsiteltävä, valmistettava ja säilytettävä ohjeistuksen mukaisesti. Väärin toimiminen voi esimerkiksi tuhota tai merkittävästi vähentää mitattavan kohteen määrää ja pahimmillaan johtaa väärään tulkinintaan. (Kytölä ym. 2021d.) Patologi arvioi näytteiden riittävän laadullisen ja määrällisen edustavuuden, valitsee tutkimukseen sopivimman näytteen tai näytteen osa-alueen ja arvioi sen kasvainsolukon määrän (Lappi-Blanco ym. 2016, 594). Syöpäsolujen määrä ilmoitetaan prosenttiosuutena suhteessa muuhun solumäärään ja vaadittu syöpäsoluosuus vaihtelee analyysikohtaisesti (Kytölä ym. 2021d). Jos syöpäsolujen osuus näytteessä jää vähäiseksi, negatiivinen tulos ei ole luotettava (Boyd ym. 2020, 2679; Kytölä ym. 2021d).

Patologian laboratorioden näytteistä valtaosa on edelleen formaliinilla kiinnitettyjä eli fiksoituja, parafiiniin valettuja kudosplokkeja (Orte ym. 2021, 1433). Formaliinifiksaation tarkoitus on kiinnittää näytteessä olevat proteiinit ja pysäyttää entsyymien kudosta hajottava toiminta, mutta liian pitkä fiksaatioaika aiheuttaa nukleiinihappo-proteiinisidoksia, nukleiinihappomuutoksia ja nukleiinihappojen pilkkoutumista. Fiksaation aiheuttamat nukleiinihappomuutokset voivat sekoittaa näytteessä oleviin oikeisiin geenimuutoksiin. Formaliinifiksatu ja parafiiniin valetut (engl. formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) kudoksenäytteet sopivat kuitenkin patologian laboratorion rutiineihin, ja siksi myös PCR- ja NGS-tutkimukset tehdään tällä hetkellä pääsääntöisesti FFPE-näytteistä eristetystä nukleiinihaposta. (Kytölä ym. 2021d.)

Molekyylipatologisissa tutkimuksissa käytetään lähtömateriaalina näytteestä eristettyä DNA:ta, RNA:ta tai molempia. Suurimmissa laboratorioissa eristäminen on pitkälle automatisoitua. Tällöin eristetty nukleiinihappo on tasalaatuista ja useita kymmeniä näytteitä on mahdollista käsitellä samanaikaisesti ja nopeasti. Tutkimuksen onnistumiseksi eristetyn nukleiinihapon on oltava määrältään ja laadultaan riittävää. (Kytölä ym. 2021d.) Monet molekyylipatologian työvaiheet edellyttävät vaiheiden erottamista omiin tiloihinsa DNA- ja RNA-kontaminaatioiden estämiseksi. Erityisesti ennen PCR-monistusta ja sen jälkeen tapahtuvien vaiheiden erottaminen on tärkeää. (Cree ym. 2014, 927.)

Koska kudoksenäytteet vaativat kajoavia toimenpiteitä, syöpätaudin reaaliaikainen seuranta syövän nopean geneettisen muuntuvuuden osalta on hankalaa kudospohjaisilla tutkimuksilla (Isomursu ym. 2015, 424). Kudoksenäyte yhdestä kohdasta yksittäisestä kasvaimesta ei pysty kuvaamaan kasvaimen heterogeenisuutta. Kudoksenäytteiden ottaminen lisää potilaiden hoitokustannuksia ja potilaille näytteenotto on epämiellyttävä toimenpide, josta saattaa seurata komplikaatioita. (Diaz & Bardelli 2014,

581.) Joissakin tapauksissa kasvain voi sijaita alueella, josta ei ole turvallista ottaa näytettä. Näyte itsessään voi myös olla niukka ja epäedustava. (Isomursu ym. 2015, 424.)

Vaihtoehtoisesti kudoksenäytteiden sijaan voidaan käyttää nestebiopsiaa, joka on toistettavissa oleva, edullinen ja minimaalisesti kajoava näytemuoto. Sen avulla voidaan tutkia kasvaimen DNA:ta ja ymmärtää kasvaimen sisäistä heterogeenisuutta. (Mathai ym. 2019, 2–8.) Nestebiopsiasta on hyötyä myös silloin, kun kudoksen- tai solunäytteen saaminen kasvaimesta on vaikeaa (Boyd ym. 2020, 2675). Nestebiopsianäytteenä on useimmiten plasmanäyte, mutta muitakin kehon nesteitä, kuten virtsaa ja kystanestettä voidaan käyttää. Yleensä nestebiopsiassa tutkitaan solunulkoista DNA:ta (engl. cell-free DNA, cfDNA). (Kytölä, Kankainen & Ristimäki 2021f.)

cfDNA on lyhyttä DNA:ta, jota siirtyy elimistön soluista kehonesteisiin fysiologisten ja patologisten prosessien myötä. cfDNA:ta, jota muodostuu syöpäsoluissa, kutsutaan kiertäväksi kasvain-DNA:ksi (engl. circulating tumor DNA, ctDNA). ctDNA:ta muodostuu syöpäpotilailla malignien eli pahanlaatuisien solujen tuhoutuessa ja aktiivisen eritystoiminnan seurauksena. (Kytölä ym. 2021f.) ctDNA:n genomimuutokset ovat peräisin sekä primaarikasvaimista että etäisistä etäpesäkkeistä (Stewart 2018, 1). Syöpäpotilailla veren cfDNA:ta kohoaa ja ctDNA:n osuus on tästä yleensä vain murto-osan verran. ctDNA-tutkimuksissa käytetyn menetelmän tulee olla erityisen herkkä, jotta ctDNA:n vähäiset määrät pystytään havaitsemaan verestä. (Isomursu, ym. 2015, 424–430.)

Tavallisimmin cfDNA-tutkimukset tehdään herkällä ddPCR-menetelmällä, mutta myös laajempia NGS-paneelija voidaan käyttää mutaatioprofiilin kattavampaan tunnistukseen. cfDNA:n alhainen konsentraatio ja korkea pilkkoutumisaste rajoittavat kuitenkin laajempien tutkimusten tekoa. (Kytölä, ym. 2021f.) Verenkierrossa olevan ctDNA:n havaitsemista voidaan hyödyntää syövän primaari-diagnostiikassa, hoitovasteen seurannassa, kliinisissä mutaatiomäärityksissä, mahdollisen jäännöstaudin sekä syövän hoitoresistenttien muotojen havaitsemisessa (Isomursu ym. 2015, 424; Otandault 2019, 374). cfDNA:n käyttö syöpätutkimuksien ja hoitojen tukena on kasvavan mielenkiinnon kohteena ja kudoksenäytteisiin verrattuna sen käytöllä on useita puoltavia ominaisuuksia (Isomursu ym. 2015, 426).

3 MOLEKYYLIPATOLOGIAN UUDET MENETELMÄT

3.1 Digitaalinen PCR

Digitaalinen PCR (dPCR) on uusin edistysaskel PCR-teknologiassa (Cao ym. 2017, 459). Se on tarkka ja herkkä menetelmä, jonka avulla pystytään määrittämään tarkasti DNA-molekyylin kopioiden määrä alkuperäisestä näytteestä. Siinä näyte jaetaan tuhansiin tai jopa miljooniin reaktio-osioihin ennen DNA:n monistamista. (Baker 2012, 541.) Näyte voidaan jakaa reaktio-osioihin pisaroilla, mikrosvennyksillä, kanavilla tai tulostamalla (Cao ym. 2017, 461). Jos reaktio-osiossa on kohde-DNA:ta, se voidaan havaita fluoresenssina PCR:n lopussa (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 8).

Kun nukleiinihaponäyte (DNA tai RNA) jaetaan reaktio-osioihin pisaroilla, puhutaan Droplet Digital PCR (ddPCR) -menetelmästä. Siinä nukleiinihappojen monistus tapahtuu tuhansissa nanolitrin kokoisissa pisaroissa. Pisarat muodostetaan vesi-öljyemulsiolla, jolloin pisaroiden seinämät erottavat DNA-molekyylit toisistaan. (Bio-Rad Laboratories 2013a.) Menetelmässä tutkittava DNA tai RNA voidaan eristää FFPE- tai nestebiopsianäytteestä, esimerkiksi plasmasta (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 79–81).

3.1.1 ddPCR-menetelmän periaate

Ennen analysointia RNA-näyte muutetaan komplementaariseksi eli vastakkaiseksi DNA:ksi (engl. complementary DNA, cDNA) (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 83; The dMIQE Group & Huggett 2020, 1019). Eristetty DNA tai cDNA sekoitetaan alukkeiden ja koettimien kanssa seokseen, joka sisältää PCR:n loput tarvittavat komponentit (Bio-Rad Laboratories 2013a). Aluke (engl. primer) on lyhyttä yksijuosteista DNA:ta, jolla määritetään monistettava alue kohde-DNA:ssa (National Human Genome Research Institute 2022a). Koettimella (engl. probe) tarkoitetaan yksijuosteista DNA- tai RNA-jaksoa, jolla on kohde-DNA:n vastakkainen emäsjärjestys. Koetin leimataan tunnisteella, jonka avulla nähdään kohde-DNA:n sitoutuminen koettimeen. (National Human Genome Research Institute 2022b.) Koettimien lisäksi voidaan käyttää EvaGreen®-väriainetta. PCR-seoksen ollessa valmis näyte siirretään laitteelle, joka jakaa näytteen satunnaisesti 20 000 nanolitrin kokoiseen vesi-öljypisaraan. Pisaroiden teon jälkeen näyte siirretään 96-kuoppalevyille ja aloitetaan PCR-lämpösykli PCR-laitteella. (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 3–12.) Jokainen pisara toimii mikroreaktorina, jossa jokaisessa pisarassa PCR tapahtuu itsenäisesti (Quan, Sauzade & Brouzes 2018, 1).

Menetelmässä nukleiinihapposekvenssin monistuminen luetaan vasta PCR:n lopussa, jolloin monistus voidaan havaita pisaroissa fluoresenssina fluoresenssiväriaineiden tai -koettimien avulla. Hydrolyysikoettimet fluoresoivat pilkkoutuessaan PCR-syklin aikana ja EvaGreen®-väriaine fluoresoi sitoutuessaan kaksijuosteiseen DNA:han. Pisarat luetaan yksitellen pisaranlukijalla, joka mittaa pisaran fluoresenssin voimakkuuden. Positiiviset pisarat sisältävät vähintään yhden kopion kohde-DNA:ta ja negatiivisissa pisaroissa kohde-DNA:ta ei ole yhtään. QuantaSoft-ohjelmisto analysoi pisarat ja jakaa ne positiivisiin ja negatiivisiin niiden fluoresenssin intensiteetin perusteella sekä määrittää kohde-DNA:n lähtökonsentraation kopioita per mikrolitra. Fluoresenssisignaalin määrä on suoraan verrannollinen näytteestä monistetun kohde-DNA:n määrään. (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 5–44.)

Koska näyte jaetaan satunnaisesti pisaroihin, voi yhdessä positiivisessa pisarassa olla kohdemolekyyliä useampi kuin yksi. Tästä syystä analyysiohjelma hyödyntää Poisson-jakaumaa laskiessaan lähtökonsentraatiota. (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 50.) Poisson-jakauma kuvaa toisistaan riippumattomien tapahtumien todennäköisyysjakaumaa, kun tapahtumien keskimääräinen lukumäärä tunnetaan (Quan, Sauzade & Brouzes 2018, 6). Näin ollen Poisson-jakaumalla voidaan määrittää, millä todennäköisyydellä pisarassa on kohdemolekyyliä 0, 1, 2, 3 tai enemmän (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 53).

3.1.2 ddPCR-menetelmän käyttökohteet molekyylipatologiassa

ddPCR-menetelmää käytetään molekyylipatologiassa syöpädiagnostiikassa, koska sillä voidaan mitata vaikeasti havaittavia ja määrältään vähäisiä syöpämutaatioita (Sairaala Nova 2022b). Herkkyytensä ansiosta menetelmä havaitsee hyvin vähäiset mutaatiot pienestäkin määrästä potilasnäytettä (Decraene ym. 2018, 317). Syöpädiagnostiikassa ddPCR:ää sovelletaan kopioluvun vaihteluiden mittaamiseen ja seurantaan, harvinaisten mutaatioiden ja sekvenssien havaitsemiseen sekä geeniekspresiotutkimuksiin (Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon, 59–86). Syövässä ddPCR on varma menetelmä laskemaan cfDNA:n pistemutaatioiden määrää, kuvaamaan kasvaimen sisäistä heterogeenisuutta ja seuraamaan kasvaimessa tapahtuvia muutoksia hoidon aikana (Huerta ym. 2021, 5). Menetelmän avulla voidaan myös tunnistaa syövän alatyyppejä, optimoida lääkehoitosuunnitelmia, seurata jäännöstautia ja havaita syöpämutaatioita jo syövän varhaisessa vaiheessa (Bio-Rad Laboratories 2013b).

Suomessa ddPCR-menetelmää käytetään patologian laboratoriossa geenien BRAF-, EGFR- ja KRAS-mutaatioiden tutkimiseen plasman cfDNA:sta (Sairaala Nova 2022b). BRAF (engl. v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) -geeni ohjaa proteiinia, joka hallitsee solun kasvuun liittyviä solutoimintoja. Mutaatio geenissä saa solut jakautumaan hallitsemattomasti, mikä aiheuttaa normaalin solun muuttumisen syöpäsoluksi. (Johns Hopkins Medicine julkaisuaika tuntematon.) BRAF-geenin mutaatioita tutkitaan melanoomassa, keuhkosyövässä, kilpirauhassyövässä sekä paksusuolensyövässä BRAF-salpaajahoidon arvioimiseen (Sairaala Nova 2021a). EGFR (epidermaalisen kasvutekijän reseptori) osallistuu solujen kasvuun ja jakautumiseen. Mutaatio EGFR:n geenissä voi saada solun kasvamaan ja jakautumaan liian nopeasti, mikä johtaa syöpään. (Healthline Media 2021.) EGFR-geenin mutaatioita tutkitaan keuhkon ei-pienisoluisen karsinooman EGFR-tyrosiinkinasiestäjän hoitovasteen arvioimiseksi (Sairaala Nova 2021b). KRAS (engl. Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) -geeni ohjaa proteiinia, joka välittää solun kasvua, jakautumista ja kypsymistä ohjaavia signaaleja. Mutaatio muuttaa normaalin solun syöpäsoluksi. (MedLinePlus 2017.) KRAS-geenin mutaatioita tutkitaan metastoituneessa kolorektaalisyövässä sekä keuhkosyövässä (Sairaala Nova 2021c).

ddPCR-menetelmä on tällä hetkellä enemmän tutkimuskäytössä kuin diagnostiikassa (Cusenza, Bisagni, Rinaldini, Cattani & Frazzi 2021, 9). Viime vuosina on kuitenkin tehty paljon tutkimuksia ddPCR:n hyödyntämisessä syövän kliinisessä diagnostiikassa ja tulokset ovat olleet lupaavia (Gassa ym. 2021, 91; Heredia ym. 2013, 20; Holm ym. 2020, 2; Minato ym. 2021, 1). Tällä hetkellä ddPCR-menetelmää hyödynnetään useiden eri syöpätyyppien tutkimisessa, joista tärkeimmät ovat kolorektaali- ja keuhkosyöpä. Muita syöpiä, joiden tutkimisessa ddPCR-menetelmää on hyödynnetty, ovat

esimerkiksi haima-, rinta-, eturauhas- ja munasarjasyöpä sekä melanooma. (Olmedillas-López ym. 2021, 67.)

3.1.3 ddPCR-menetelmän hyödyt, haasteet ja tulevaisuus

ddPCR-menetelmän on tarkka ja herkkä menetelmä havaitsemaan ja määrittämään DNA-mutaatioiden määrää plasman ctDNA:sta (Holm ym. 2020, 1). Hyötyjä menetelmälle tuo se, että näyte jaetaan tuhansiin yksittäisiin reaktio-osioihin. Osiointi vähentää PCR-monistuksessa tapahtuvaa kilpailua, mikä vähentää PCR-reaktiota estävien aineiden vaikutusta ja parantaa huomattavasti erottelukykä. Monistaessa matalan mutaationukleotidin määrän monistustehokkuus paranee, eli mutaatiot eivät jää suuren määrän villityypin eli normaalin DNA:n alle monistaessa. (Basu 2017, 370.) Useat yksittäiset reaktio-osiot vähentävät myös ristikontaminaatioita ja mahdollistavat luotettavan ja tarkan mittauksen, koska pienetkin erot kohdesekvenssin kopioissa voidaan mitata (Deharvengt & Tsongalis 2017, 712). Mitä enemmän pisaroita on, sitä tarkempi tulos saadaan (MOgene 2021).

Koska reaktiutilavuudet ovat ddPCR:ssä nano- ja pikolitrojen luokkaa, reaktioihin tarvittavat näytteiden ja reagenssien määrät ovat minimaalisia. Tämä tekee menetelmästä kustannustehokkaan. Menetelmän etuna on myös absoluuttinen kvantitointi, eli kohde-DNA:n kopioiden kokonaislukumäärä näytetilavuutta kohti saadaan mitattua ilman standardikäyrää. Tämä tekee siitä ihanteellisen kohde-DNA:n mittauksiin. (MOgene 2021; Bio-Rad Laboratories 2013a.) Absoluuttisen kvantitoinnin ansiosta laboratorioden on helpompi saada toistettavia tuloksia (Basu 2017, 378). Menetelmää voidaan yhdistää myös muihin menetelmiin (Castellanos-Rizaldos ym. 2015, 291; Fan ym. 2016, 1).

Vaikka ddPCR-menetelmä kasvattaa suosiotaan, liittyy sen käyttöön rajoitteita (Castellanos-Rizaldos ym. 2015, 284). Suurin haaste menetelmässä on sen rajallinen kapasiteetti analysoida useita genomimuutoksia samanaikaisesti (Holm ym. 2020, 10). Sillä voidaan havaita vain aiemmin tunnettuja mutaatioita (Castellanos-Rizaldos ym. 2015, 285; Huerta ym. 2021, 8; Gassa ym. 2021, 95). Menetelmä voi antaa myös vääriä negatiivisia ja positiivisia tuloksia (Zhu ym. 2016, 292; Galbiati ym. 2019, 142). Analysoitavien molekyylien määrä ja väärien positiivisten tuloksien määrä mutaatiomäärityksissä rajoittavat menetelmän herkkyyttä (Galbiati ym. 2019, 142). Mitä vähemmän analysoitavia molekyyliä on näytteessä, sitä epätodennäköisemmin mutaatio voidaan osoittaa (Sairaala Nova 2022a). Tällä hetkellä ddPCR:n käyttö on kalliimpaa kuin reaaliaikaisen PCR -menetelmän (engl. real-time PCR, RT-PCR), mikä rajoittaa sen käyttöä laboratorioissa. Menetelmän käyttöä rajoittaa myös kaupallisten laitteiden ja reagenssien puuttuminen. (Chen ym. 2021, 160.)

Teknologia kehittyy nopeasti ja menetelmän parempaa kykyä multipleksointiin eli usean kohteen samanaikaiseen analysointiin samasta näytteestä kehitellään parhaillaan. Tulevaisuudessa paremmalla multipleksointikyvyllä ddPCR-menetelmää voidaan soveltaa laajemmin kliinisissä tutkimuksissa, jolloin sen käyttö on kliinisesti hyödyllisempää. Menetelmän kehityksen ja uusien sovellusten myötä yksilöllisten hoitojen saaminen lisääntyy, tautien diagnosointi helpottuu ja menetelmän saatavuus paranee. (Huerta ym. 2021, 10.) Koska menetelmän laitteita on ollut markkinoilla noin 10 vuotta, niiden hinta tulee laskemaan tulevaisuudessa (Basu 2017, 378). Hintojen ollessa kohtuulliset, ddPCR:n sovelluksia tulee olemaan enemmän sairaaloissa ja laboratorioissa. Tällöin voidaan tuottaa entistä herkempiä, tarkempia ja luotettavampia kliinisiä diagnoosituloksia. (Li ym. 2018, 6.) Myös

kaupallisten alustojen saatavuuden parantuessa ddPCR:n käyttö yleistyy (Castellanos-Rizaldos ym. 2015, 291).

3.2 Uuden sukupolven sekvensointi

Rinnakkaissekvensointia hyödyntäviä tutkimusmenetelmiä kutsutaan yleisesti uuden sukupolven sekvensoinniksi (next generation sequencing, NGS) tai massiiviseksi rinnakkaissekvensoinniksi (Kytölä ym. 2021a). Sekvensoinnilla tarkoitetaan geenien emäsjärjestyksen selvittämistä (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016). Menetelmien avulla useita toisistaan riippumattomia DNA-fragmentteja on mahdollista sekvensoida samaan aikaan (Kytölä ym. 2021a). Käytetyimmät NGS-alustat ovat Illuminan ja ThermoFisherin valmistamia (Hu, Chitnis, Monos & Dinh 2021, 801; Jennings ym. 2017, 347), mutta Illuminan sekvensointitekniikka on tällä hetkellä tarkin (Hu ym. 2021, 803).

Pääsääntöisesti NGS-tutkimuksiin käytetään FFPE-näytteistä eristettyä nukleiinihappoa eli DNA:ta tai RNA:ta (Kytölä ym. 2021d). Jos lähtömateriaalina on RNA:ta, se muutetaan cDNA:ksi (Deharvengt & Tsongalis 2017, 716). Tutkimuksissa voidaan käyttää näytteenä myös esimerkiksi nestebiopsiaa, josta on saatu edustavuudeltaan hyviä tutkimustuloksia (Boyd ym. 2020, 2679). Varsinainen NGS-tönnöky voidaan jakaa neljään päävaiheeseen, joita ovat kirjaston valmistelu, templaattien eli DNA-mallien monistaminen, sekvensointi ja tietojen analysointi (Deharvengt & Tsongalis 2017, 715).

3.2.1 NGS-menetelmän periaate

Templaatti-kirjasto muodostuu tutkittavista kohdemolekyyleistä. Kirjasto voidaan muodostaa PCR-reaktioiden avulla monistamalla kohteet lyhyinä fragmentteina, tai hajottaa kohde-DNA sattumanvaraisesti esimerkiksi entsyymeillä tai ultraäänellä ja poimia oikeankokoiset fragmentit. Jos sekvensointi halutaan kohdistaa vain tiettyihin genomin osiin, halutut fragmentit voidaan kerätä erillisillä näitä alueita varten suunnitelluilla koettimilla. (Deharvengt & Tsongalis 2017, 716; Horelli-Kuitunen & Orpana 2016.) Fragmenttien päihin liitetään vielä apupalat eli adapterit, jotka sisältävät kullekin potilaalle ominaisen tunnistesekvenssin. Adapterien ansiosta potilaiden näytteet voidaan yhdistää samaan reaktioon, koska potilaiden fragmentit tunnistetaan valmiista sekvenssistä tunnistekoodin avulla. (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016; Sairaala Nova 2022a.)

Templaattien monistamisessa jokainen kirjaston kohdemolekyylä käy läpi klonaalisen monistuksen, jossa yhteen paikkaan muodostuu paljon saman sekvenssin sisältäviä fragmentteja. Tällöin saadaan aikaan riittävän vahva signaali luotettavaa mittaamista varten. (Deharvengt & Tsongalis 2017, 716; Horelli-Kuitunen & Orpana 2016.) Monistettava kirjasto ladataan virtauskammioon (engl. flow cell). Virtauskammio on lasilevy, jossa on laitealustan mukaan yksi, kaksi tai kahdeksan toisistaan erotettua kaistaa. Yksijuosteiset DNA-fragmentit kiinnittyvät adapterien avulla adaptereille vastakkaisiin oligonukleotideihin eli lyhyisiin nukleotidiketjuihin, jotka ovat kiinnitetty virtauskammion pintaan. Nämä oligonukleotidit toimivat alukkeina eli aloituskohtina PCR-monistuksessa. Monistus tapahtuu silta-PCR:llä. Kiinnittyneiden DNA-fragmenttien vastakkaiset päät taipuvat sillalta näyttävään kaareen ja kiinnittyvät viereisiin oligonukleotideihin. Tämän jälkeen toistuvat PCR-reaktion denaturointi- ja pidennyssykli, jotka johtavat yksittäisten molekyylien monistumiseen klustereiksi eli identtisten templaattimolekyylien ryppäiksi. Klusterien muodostamisen jälkeen templaattit ovat valmiita sekvensointia varten. (Illumina 2017, 4–14.)

Sekvensointi synteessin avulla perustuu palautuviin lopetus (engl. reversible terminator) -nukleotideihin. Fluoresenssilla leimatut deoksiribonukleotiditriposfaatit (engl. deoxyribonucleotide triphosphate, dNTP) liittyvät DNA-polymeraasin avulla syntyviin DNA-juosteisiin. Jokaisessa sekvensointisyklissä nukleiinihappoketjuun lisätään yksi leimattu dNTP. Lisäämisen jälkeen ketjuun liittynyt nukleotidin emäs tunnustetaan fluoresoivan leiman avulla, jonka jälkeen leima pilkkoutuu entsyymaattisesti. Tämän jälkeen voidaan aloittaa uusi sykli. (Illumina 2017, 4–14.)

NGS-laitteen tuottama data koostuu pääasiassa miljoonista raaosta sekvenssilukemista koostuvasta tekstitiedostosta (Deharvengt & Tsongalis 2017, 718). Sekvensoinnin jälkeen potilaiden DNA-sekvenssit on mahdollista erotella tunnistussekvenssien avulla, jonka jälkeen ne käyvät läpi monimutkaisen datan käsittelyprosessin (Sairaala Nova 2022a). Prosessissa saatuja sekvenssejä verrataan ihmisen referenssigenomiin, eli tunnettuun normaaliin sekvenssiin (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016; Sairaala Nova 2022a). Tehokkailla analyysiohjelmilla on mahdollista havaita yhdenkin nukleotidin erot luotettavasti (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016). Tulokseksi saadaan varianttilista, josta nähdään jokainen sekvenssikohta, jossa näytteen DNA eroaa ihmisen referenssisekvenssistä. Tulosten tulkinnaassa käytetään apuna erilaisia tietokantoja. (Sairaala Nova 2022a.)

3.2.2 Paneelisekvensoinnin käyttö molekyylipatologiassa

DNA-pohjaisia rinnakkaisekvensointimenetelmiä on erilaisia. Koko genomien sekvensointi (engl. whole genome sequencing) kattaa noin 90 % koko genomista. (Kytölä ym. 2021a.) Eksomisekvensoinnissa (engl. whole exome sequencing, WES) sekvensoidaan vain perimän ilmentyvä osa eli noin 1,5 % koko genomista (Horelli-Kuitunen & Orpana 2016). Paneelisekvensoinnissa sekvensoidaan halutut geenialueet (Illumina 2017, 9). Nämä valitut alueet voidaan seuloa samanaikaisesti (Froyen ym. 2016, 2).

RNA-pohjaisella sekvensoinnilla on merkittävä rooli hoidon kohteena olevien fuusiogeenien eli kahdesta geenistä muodostuneiden geenien tunnistuksessa (Kytölä ym. 2021a). Fuusiogeenien tunnistamista varten tarvitaan oma RNA-pohjainen paneeli (Boyd ym. 2020, 2679). Useissa laboratorioissa käytetään kaupallisia kohdennettuja paneeleita, joissa on muutamia kymmeniä geenejä (Kytölä ym. 2021a).

Koko genomien tai eksomin sekvensoinnin diagnostinen käyttö ei ole tällä hetkellä suositeltavaa. Syynä tähän ovat esimerkiksi korkeat kustannukset ja diagnostisten kasvainnäytteiden sekvensoinnissa tarvittava suuri lukusyvyys (engl. coverage, eli peitto tai lukusyvyys). (Froyen ym. 2016, 2.) Lukusyvyys tarkoittaa sitä, kuinka monta kertaa yksittäinen emäs on sekvensoitu. Lukusyvyyden täytyy olla riittävä, jotta sekvenssivariantit voidaan havaita herkästi ja spesifisesti. (Jennings ym. 2017, 349–350.) Lisäksi koko genomien tai eksomin sekvensoinnin haasteena ovat suurten tietomäärien hallinta ja varastointi ja kysymys siitä, miten satunnaisia löydöksiä käsitellään. Toistaiseksi paneelisekvensointi on paljon suotuisampaa diagnostisille laboratorioille. (Froyen ym. 2016, 2.)

Paneelisekvensointi on sekvensointimenetelmistä nopein. Se kattaa vähiten geenialueita, mutta tuottaa suurimman lukusyvyyden ja voidaan kohdentaa muutamasta geenistä useisiin satoihin geeneihin. Paneeleilla voidaan tunnistaa pistemutaatiot, lyhyet indelit ja rajallisesti kopiolumuutoksia. (Kytölä ym. 2021a.) Indeli voi olla nukleiinihapposekvenssin lisäys tai poistuma (Hsiao, Aisner &

Ewalt 2018, 172). Kohdennettujen geenipaneelien tuottama tieto voi antaa ennusteita tietystä kasvaimesta, tietoa kasvaimen diagnostisesta luokittelusta tai ohjata hoidollisia päätöksiä. Hoidollisten kohteiden etsimiseen suunnitellut paneelit suunnitellaan yleensä yleissyöpäpaneeleiksi. Ne sisältävät suuren määrän geenejä, mukaan lukien monia geenejä, joilla on tieteellistä näyttöä hoitovasteesta. Diagnoosiin ja potilaan ennusteeseen suunnitellut paneelit ovat yleensä kasvainkohtaisia, yleensä pienempiä kooltaan ja sisältävät vain ne geenit, joilla on suora yhteys kasvaimen syöpäbiologiaan. (Jennings ym. 2017, 342–346.)

NGS-analytiikkaan on valittavana kaupallisia paneeleja, jotka vaihtelevat laajuudeltaan (Orte ym. 2021, 1434). Laboratoriot voivat myös suunnitella paneeleja itse. Itse suunnitelluissa paneeleissa on etuna niiden sisältämien kohdealueiden räätälöitävyys ja nopea päivitettävyys. Paneeleihin on mahdollista sisällyttää esimerkiksi kansallisesti merkittäviä tautialueita. (Kytölä ym. 2021a.) Yksittäiset geenipaneelit voivat keskittyä kiinteisiin kasvaimiin tai hematologisiin pahanlaatuisiin kasvaimiin. Ne voidaan myös teknisesti suunnitella tutkimaan molempia, jolloin tulkinta keskittyy kasvaimen fenotyyppiin eli ilmiäsuun. (Jennings ym. 2017, 342.) Yleisimpiä laboratorioden käyttämiä paneeleja ovat esimerkiksi hematologinen paneeli, rintasyöpäpaneeli ja kolorektaali-keuhkosyöpä-melanoomapaneeli. Esimerkiksi kolorektaali-keuhkosyöpä-melanoomapaneeliin kuuluvat muun muassa geenit KRAS, BRAF ja EGFR. (Kytölä ym. 2021a.)

3.2.3 Paneelisekvensoinnin hyödyt, haasteet ja tulevaisuus

NGS:n suuri etu on sen kyky seuloa useita mutaatioita useissa geeneissä samanaikaisesti ilman tarvetta tehdä useita peräkkäisiä testejä (Deharvengt & Tsongalis 2017, 720; D’Haene ym. 2015, 9). Tämä säästää myös arvokkaita näytteitä (Deharvengt & Tsongalis 2017, 720). NGS-menetelmällä on mahdollista tutkia pieniäkin näytteitä (Boyd ym. 2020, 2679; McDonough ym. 2019, 13; Sussman ym. 2018, 62). Kuitenkin esimerkiksi kasvainbiopsioista tehdyllä NGS:llä voidaan arvioida DNA- ja RNA-muutoksia vain pienessä osassa kasvainsoluja tiettyinä ajankohtana, jolloin suuri osa kasvaimen solukosta jää tutkimatta (Horak, Fröhling & Glimm 2016, 6).

Kohdennetuissa paneeleissa tutkitaan geenejä, joilla tiedetään olevan toiminnallinen rooli syövän syntymisessä. Tästä syystä paneelien avulla on suurempi mahdollisuus löytää kliinisesti merkityksellisiä muutoksia ja pienempi todennäköisyys havaita tuntemattomia tai vain vähän patogeenisiä eli sairautta aiheuttavia muutoksia. (Horak ym. 2016, 4.) Geenipaneelien sekvensointi- ja lausumisprosessi on nopea ja niillä on korkea lukusyvyyden ansiosta on mahdollista tunnistaa harvinaisia variantteja (Illumina 2017, 9).

Kohdennettujen geenipaneelien rajoite on se, että niistä puuttuu valtaosa genomitiedosta. Tämä johtaa siihen, ettei monimutkaisia genomipoikkeavuuksia tai mutaatioita ennalta valitun paneelin ulkopuolisissa geeneissä havaita. (Horak ym. 2016, 4.) Syövän genomitiedon määrä myös kasvaa päivittäin, joten geenipoikkeavuuksien merkitys hoidon, diagnoosin ja ennusteen kannalta edellyttää jatkuvaa uudelleenarviointia (Sunami ym. 2019, 1489). Varianttien eli geenimuunnosten luokittelu on haastavaa erityisesti niiden varianttien osalta, joista ei ole saatavissa tietoa tai sitä on rajoitetusti esimerkiksi tietokannoissa (Froyen ym. 2016, 13).

Siirtyminen uuden sukupolven sekvensointiin on haastavaa useimmille diagnostisille laboratorioille. Diagnostiikan hyväksyntää varten ei ole olemassa vakiintuneita kriteerejä, koska menetelmät ja diagnostiikan tavoitteet vaihtelevat suuresti. (Froyen ym. 2016, 1.) Suomessa NGS-analytiikkaan ei ole olemassa tällä hetkellä kansallista ohjeistusta (Orte ym. 2021, 1434). Kliinisen NGS-analytiikan hyväksyminen perustuu pääasiassa useiden valtuutettujen organisaatioiden laatimiin ohjeisiin, mutta näiden ohjeiden soveltaminen voi vaihdella huomattavasti (Froyen ym. 2016, 12). NGS-pohjaiset testit ovat myös vielä melko kalliita. NGS:n kustannukset riippuvat pääasiassa tutkittujen geenien määrästä ja siitä, ovatko räätälöidyt geenipaneelit edullisia vai kalliita. (Hussen ym. 2022, 11.)

Koska sekvensoinnin kustannusten ennustetaan laskevan entisestään, syöpägenomien sekvensointi kliinisessä käytössä yleistyy (Horak ym. 2016, 8). Kehittyvä teknologia ja laskevat kustannukset mahdollistavat yhä useampien näytteiden sekvensoinnin aiempaa laajemman geenijoukon suhteen ja aiempaa harvinaisempien mutaatioiden löytämiseksi. Alati pienemmistä näytemääristä suoritettavien sekvenssianalyysien myötä on mahdollista kartoittaa geenimuutoksia useammasta kohdasta kasvainta sekä mallintaa ja jopa ennustaa kasvainten syöpäevoluutiota. (Kytölä ym. 2021c.) Vaikka nykyiset NGS-teknologiat tarjoavat paljon erilaisia testausvaihtoehtoja, uusia tekniikoita kehitetään jatkuvasti. Kehitteillä olevat teknologiat mahdollistavat muun muassa paremman kyvyn havaita suu-rempiä muutoksia perimässä. (Hsiao ym. 2018, 169.)

4 VERKKO-OPPIMINEN

4.1 Motivaatio ja erilaiset oppimistyyliä oppimisen perustana

Oppiminen lähtee liikkeelle motivaatiosta (Huhtanen 2019, 5). Opiskelijan motivaatiota ja oppimisprosessia ohjaa opiskelijan kiinnostuksen kohde, arvostus, työskentelytapa, tunteet ja käsitys itsestä oppijana. Opiskelijan oppimista voidaan tukea ja lisätä kiinnostuksen kohteita positiivisella ja realistisella palautteella. Lisäksi palaute ja ohjaus vaikuttavat opiskelijan motivaatioon ja asenteeseen. Opiskelijan osaamisen kehittymiseen liittyy ympäristön ja oppijan välinen vuorovaikutus sekä työskentelytapa. Opettamisella voidaan tukea opiskelijoita tunnistamaan omat vahvuudet ja kehittämismahdollisuudet sekä saada opiskelija arvostamaan itseään. (Halinen ym. 2016, Luku 3.)

Erilaisia oppimistyyliä on useita ja oppija voi käyttää niitä jokaista omalla tavallaan, jolloin hän voi muokata itselleen sopivan oppimisympäristön (Kupias & Koski 2012, luku 2.3). Oppimistyylien avulla opittavia asioita lähestytään sekä hankitaan tietoa ja käsitellään sitä. Opiskelijan oma oppimistyyli on opiskelijalle mielekkäin tapa opetella uusia asioita. Oppimistyyli kehittyy ja muokkautuu erilaisien oppimistilanteiden ja -ympäristöiden avulla koko eliniän ajan. (Elomaan koulu julkaisuaika tuntematon.) Oppimista pidetään syklisenä prosessina, jonka avulla saadaan uusia kokemuksia ja sykli voidaan aloittaa aina uudelleen. Hyvä oppiminen sisältää omakohtaisen kokemuksen, kokemuksen pohittamisen, käsitteellistämisen tai yleistämisen sekä aktiivisen kokeilevan toiminnan. (Kupias & Koski 2012, luku 2.3.)

Oppimistyylien jako perustuu yleisimmin aisteihin. Visuaaliset henkilöt oppivat näön avulla. Heidän oppimistaan tukevat ajatuskartat, piirroksat ja kuvat. Auditiviset henkilöt hyötyvät eniten kuuloaisista. Auditiviset oppijat muistavat asioita keskustelujen avulla ja oppivat parhaiten kuuntelemalla. Kinesteettiset oppijat taas oppivat tuntoaistin kautta ja he hyötyvät eniten oppimisesta kehon avulla, esimerkiksi liikkumalla. Oppimistyyliä voidaan jaotella aistikanaviin perustuvien tyylien lisäksi useampiin alaluokkiin esimerkiksi sosiologisten roolien avulla, jolloin jako perustuu opiskelijan toimintaan ryhmässä. Toiset taas oppivat paneutumalla yksityiskohtiin ja toiset asioiden kokonaiskuvaan. Yksilölliset oppimistyyliä puolestaan huomioivat opiskelijan vahvuuksia erilaisissa tehtävissä. Oppimistyyliä eivät kuitenkaan tarkoita sitä, että jokainen oppisi vain omaa oppimistyyliään hyväksi käyttäen. Yhdistämällä oppimistyyliä ja käyttäen useampia aisteja oppiminen on tehokkaampaa. (Uplus 2022.)

4.2 Verkko-oppiminen opetuksessa

Verkossa tapahtuva oppiminen eli verkko-oppiminen antaa opiskelijalle mahdollisuuden valita itsemmissä, milloin ja millä tavalla oppiminen tapahtuu (Müller, Stahl, Alder & Müller 2018, 44; Sajaniemi 2016; Tapola & Veermans 2012, 76). Verkko-oppiminen mahdollistaa siis oman oppimisen rakentamisen (Sajaniemi 2016; Tapola & Veermans 2012, 76). Oman oppimisen rakentaminen voi tukea opiskelijan kiinnostusta opiskeltavaan aiheeseen (Tapola & Veermans 2012, 76). Teknologian kehityksessä ja verkko-oppimisympäristöjen lisääntyessä opetuksessa on huomioitava verkko-oppimisympäristöjen käyttömahdollisuudet (Sajaniemi 2016). Verkko-opintojaksot suoritetaan kokonaan internetin välityksellä ja useimmiten verkko-oppimisympäristöissä tai -alustoissa, kuten Moodlea (Huhtanen 2019, 12).

Verkko-opintojakson sisältöä pilkotaan erillisiin moduuleihin eli osiin, joissa on vain yksi aihealue osiossaan. Moduulit voivat sisältää erilaisia aktiviteetteja kuten videoita, luentoja tai tekstejä. (Huhtanen 2019, 11.) Korkeakouluissa opiskelijoiden akateeminen suoriutuminen toimii indikaattorina oppimisen laadulle. Opiskelijoiden akateemisia saavutuksia mitataan esimerkiksi tehtävillä ja kokeilla. (Magulod 2019, 186.) Verkko-opintojaksoon on mahdollista luoda monenlaisia tehtäviä, joita voi olla esimerkiksi essee, raportti, oppimispäiväkirja, projekti, verkkokeskustelu, monivalintatehtävä tai tentti (Marstio 2020, 30–31). Verkko-opintojaksot voivat edellyttää osallistumista tiettyyn aikaan, olla jatkuvasti avoinna tai opiskelijan aikataulun mukaan. Verkko-opintojakso sisältää yleensä silti tehtävien palautuspäivät. (Huhtanen 2019, 11–12.) Verkko-opintojakson hyviä puolia on se, että niiden materiaali on saatavilla koko opintojakson ajan ja opiskelija voi itse perehtyä materiaaliin omalla tahdilla ja tarpeen tullen myös palata materiaaliin (Marstio 2020, 22).

Verkko-oppimateriaali on materiaalia, joka on sähköisesti saatavilla erilaisille laitteille kuten tietokoneelle (Mikkilä-Erdmann 2017, luku 1). Materiaalia on saatavilla verkossa erilaisissa muodoissa (Marstio 2020, 22; Mikkilä-Erdmann 2017, luku 1). Verkko-oppimateriaalia voi olla esimerkiksi kirjan tapaisena pdf-tiedostona tai visuaalisena materiaalina, kuten videoina (Mikkilä-Erdmann 2017, luku 1). Videot ovat hyviä asioiden havainnollistamisessa ja tekstitysten avulla voidaan käyttää myös erikielisiä videoita. Lisäksi materiaalia voivat olla esimerkiksi podcastit, artikkelit, blogit tai oppikirjat. (Marstio 2020, 22.)

Oppimisaihiot ovat joustavia materiaaleja, jotka tukevat oppimista (Ilomäki 2012b, 5). Oppimisaihioksi voidaan luokitella kaikenlainen digitaalinen materiaali, jonka alkuperäinen käyttötarkoitus ei ole opetuskäyttö. Tällaista materiaalia voi olla esimerkiksi verkkolehdet. Oppimisaihiot voivat olla kooltaan erikokoisia aina kokonaisesta opintojaksosta yksittäiseen tehtävään. Oppimisaihiolla ei ole pedagogisesti oikeaa muotoa, vaan niiden pedagoginen arvo riippuu muusta oppimisympäristöstä. Pedagogisesti suunnitellulla aihioilla pystytään kuitenkin tukemaan tiettyä opiskelutapaa. Oppimisaihiota on erilaisia ja tärkeintä on valita materiaaliin ja käyttäjille sopiva tyyli. Perinteistä oppimateriaalia ja oppimisaihiota voidaan käyttää toisiaan tukevinä elementteinä. (Jaakkola, Nirhamo, Nurmi & Lehtinen 2012, 13.)

Arviointiaihiossa opiskelija pystyy itse arvioimaan omaa oppimistaan. Arviointiaihiossa opiskelija saa arvosanan tai palautteen suorituksesta tietokoneen avulla. Tietokoneen arvostelemissa suorituksia ei voi kuitenkaan käyttää kokonaisvaltaisessa arvioinnissa. Arviointiaihion tavoite onkin opiskelijan ohjaaminen ja motivointi. Tietolähde on aineisto, jossa voidaan tekstin lisäksi käyttää esimerkiksi kuvia, animaatioita tai videoita havainnollistamaan asiaa. Avoin toiminta -aihiot koostuvat erilaisista tehtävistä tai harjoituksista. Tehtävät tai harjoitukset sisältävät esimerkiksi avoimia kysymyksiä ja opiskelijoiden täytyy itsenäisesti löytää kysymyksiin vastaukset. Opiskelijoiden vastauksia tämän tyyppisissä tehtävissä on hankala ennakoida. (Jaakkola ym. 2012, 14–18.)

4.3 Laadukkaan verkko-oppimateriaalin piirteitä

Laadukkaaseen verkko-oppimateriaaliin kuuluu joustava käytettävyys opiskelijan osaamisen, kiinnostuksen ja tarpeiden mukaisesti. Verkko-oppimateriaalin tulee tukea yhteisöllisyyttä ja pitkäkestoista

työskentelyä, sekä aktivoida opiskelijaa ajattelemaan ja keskittymään materiaalin ydinasioihin. Materiaalin on myös tuettava oppimistaitojen kehittymistä. Verkko-oppimateriaalin on oltava teknisesti helppokäyttöistä ja on huomioitava, että ulkoasu on pedagogista ja sisältö tukee tavoitteita. Verkko-oppimateriaali on usein teknologia johdannaista, jolloin ilman pedagogista suunnittelua verkko-oppimateriaali voi olla pahimmillaan vain verkkokirjoja tai -julkaisuja. (Ilomäki 2012a, 10–11.) Materiaalin pedagogisessa laadussa yhdistyvät visuaalinen mielekkyys oppimisen kannalta keskeiseen sisältöön, mielekkäät tehtävät sekä teknisesti toimiva ja hyvin toteutettu kokonaisuus (Opetushallitus julkaisuaika tuntematon). Verkko-opintojakson sisällön olisi hyvä olla mahdollisimman selkeää ja helposti seurattavaa (Huhtanen 2019, 11–12).

Oppimisessa on hyvä huomioida, että liian monimutkaiset asiat saattavat aiheuttaa oppijalle motivaation puutetta. Tätä voidaan ehkäistä kertomalla vain olennaisimmat asiat. Monet opiskelijat voivat haluta kuitenkin tietää lisää aiheesta, jolloin lisämateriaalia on hyvä olla saatavilla. (Kupias & Koski 2012, luku 2.2.) Lisäksi verkko-oppimateriaaliin kerättyyn tietoon on tärkeää liittää lähteet. Lähteiden avulla opiskelija saa käsityksen, että tiedosta voi olla erilaisia näkemyksiä. Lähteiden avulla opiskelija voi myös halutessaan etsiä lisätietoa aiheesta. Kun oppimateriaalia yksinkertaistetaan sisältämään vain aiheeseen liittyvät asiat, tieto voi irtaantua alkuperäisestä tiedosta. Lisäämällä oppimateriaaliin lähteitä tai yksinkertaistamatonta materiaalia oppimateriaaliin saadaan tuotua moniulotteisuutta. Oppimateriaalin on myös pyrittävä esittämään aihe kokonaisuutena. Kokonaisuus muodostuu yksittäisistä tiedoista ja niitä yhdistäessä opiskelija pystyy yhdistämään yksittäiset tiedot osana isompaa kokonaisuutta. Oppimateriaalin on tarkoitus olla mielekäs ja perustua yhteen teemaan. (Paavola, Ilomäki & Lakkala 2012, 47–51.)

Opiskelijan mielenkiintoa opittavaan asiaan voidaan lisätä multimedian käytön avulla. Opiskelijan tilannekohtainen motivaatio asiaan vaatii jonkin kiinnostuksen kohteen tehtävässä tai työskentelytavassa. Opiskelijan kiinnostuksen herättäviä asioita tehtävässä tai verkko-oppimateriaalissa voivat olla esimerkiksi uudet tai intensiiviset elementit. Multimedian avulla on mahdollista sisällyttää näitä elementtejä verkko-oppimateriaaliin ja tehtäviin. (Tapola & Veermans 2012, 75–76.) Oppimateriaalin aihetta voidaan käsitellä moninaisesti hyödyntämällä kuvia, tekstiä ja videota (Paavola, Ilomäki & Lakkala 2012, 50). Monipuolistamalla materiaalia voidaan mahdollistaa erilaisten oppimistyylien käyttö (Salminen, Saaranen & Sormunen 2018, luku 6). Verkko-oppimateriaalissa käytetty haastattelu antaa opiskelijalle asiantuntijälähtöisen näkökulman (Ilomäki 2012c, 66). Lisäksi haastattelun avulla voidaan yhdistää teoriaa ja käsitteitä (Paavola, Ilomäki & Lakkala 2012, 50).

Verkko-oppimateriaalissa on huomioitava, kuinka siihen saadaan luotua myös sosiaalinen vuorovaikutus (Sajaniemi 2016). Verkko-opintojaksolla vuorovaikutus ei ole samanlaista kuin lähiopetuksessa, mikä voi laskea opiskelijan motivaatiota. Verkko-opintojaksolla opiskelijalle ei tule puuttuvan vuorovaikutuksen takia myöskään yhteisöllisyyden tunnetta. Vuorovaikutusta voidaan lisätä verkko-oppimateriaaliin opiskelijoiden tuotoksien arvioinnilla. (Huhtanen 2019, 9–12.) Myös opettajan tuki ja ohjaus vaikuttavat verkko-oppimisessa paljon opiskelijan motivaatioon. Ohjauksella voidaan välttää opiskelijan joutuminen sivuraiteille, mikäli verkko-oppimateriaalissa on kiinnostavaa ja yksityiskohtaista lisämateriaalia. (Tapola & Veermans 2012, 78.)

Palautteella on motivoiva vaikutus opiskelijoihin, koska se tukee ja voi lisätä kiinnostusta tehtävään ja kasvattaa omiin kykyihin uskomista (Tapola & Veermans 2012, 76). Palautteen saaminen kehittää myös reflektointia omasta toiminnasta ja työstä (Lakkala & Veermans 2012, 69). Opiskelijan saama rakentava palaute tehtävän aikana lisää opiskelijan kiinnostuksen säilymistä tehtävään. Opiskelijan tilannekohtaiseen motivaatioon liittyy myös opiskelijan oma mielenkiinto oppimiseen ja hänen tavoitteensa sekä kiinnostuksensa asiaan. Opiskelijan kiinnostus aihealueeseen voi auttaa opiskelijaa pitämään mielenkiinnon tehtävään, vaikka tehtävän ominaisuudet eivät tuntuisi opiskelijasta kiinnostavilta. (Tapola & Veermans 2012, 75–77.)

4.4 Verkko-opintojakson suunnittelun työkaluja

Verkko-opintojakson muotoiluun ja suunnitteluun on käytössä erilaisia työkaluja. Verkko-opintojakson suunnittelussa voidaan käyttää erilaisia runkoja ja ne voidaan muokata omaan verkko-opintojaksoon sopiviksi. Opintojakson suunnitteluvaiheessa voi helposti käydä niin, että lisää liikaa materiaalia ja asioita, joita opiskelijan olisi osattava. Yksi työkaluista verkko-opintojakson suunnitteluun on työmäärän mitoittamisen työpohja. Työpohjan avulla mitoitetaan kurssin opintopisteet ja yksi opintopiste vastaa tuntimäärältään 27 tuntia opiskelua. Materiaali ja opiskelijoiden oppimiserot vaikuttavat kurssin suoritusajkaan, mutta menetelmällä saadaan kuitenkin suuntaa antava aika. Työpohjassa arvioidaan laajuutta, kuten sivumäärää ja tehtävien laajuutta sekä määrää. Tuntimäärä jaetaan lopuksi luvulla 27, jotta saadaan opintopisteiden määrä. (Huhtanen 2019, 28.)

Ydinainesanalyysin avulla voidaan rajata materiaalia. Ydinainesanalyysi auttaa verkko-opintojakson suunnittelijaa pohtimaan, mitkä asiat ovat opiskelijalle oleellista tietoa ja mitkä lisätietoa. (Huhtanen 2019, 22.) Ydinainesanalyysi on tarkoitettu korkeakoulutututkinnon opetuksen suunnitteluun ja kehittämiseen. Sen avulla voidaan suhteuttaa opiskelijan oppimisaika ja opetussuunnitelman vaatimukset opintojaksolla käsiteltävään asiaan. Ydinainekseen kuuluvat tiedot ja taidot, jotka opiskelijan on osattava esimerkiksi tulevien opintojaksojen pohjatiedoksi. Ydinainesanalyysissä opittavat asiat luokitellaan tärkeyden mukaan. Tiedot voidaan luokitella esimerkiksi kolmeen eri luokkaan, jotka ovat ydinaines, täydentävä tietous ja erityistietämys. Ydinainesanalyysin avulla voidaan selventää verkko-oppimateriaalin sisältämiä asioita. Ydinainekseen kuuluvat asiat ovat sellaisia, jotka opintojakson päätyttyä opiskelijoiden täytyy osata. Täydentävä tietämys sisältää asioita, jotka voivat olla tarpeellisia ja erityistietämykseen kuuluvat asiat ovat ydinainesta ja täydentävää tietämystä tukevia yksityiskohtia. (Karjalainen & Jaakkola 1999.)

5 KEHITTÄMISTYÖN TARKOITUS JA TAVOITE

Kehittämistyön tarkoitus on tuottaa verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian osuudesta patologian syventävälle opintojaksolle. Syventävä opintojakso on tarkoitettu bioanalyttikko-opiskelijoille, jotka ovat jo suorittaneet kliinisen patologian pakollisen opintojakson. Syventävä opintojakso on Moodle-oppimisympäristössä tehtävä verkko-opintojakso, joka suoritetaan itsenäisesti ilman lähiopetusta. Opintojaksolla on monta eri osa-aluetta, ja verkko-oppimateriaali tehdään molekyylipatologian osuuteen.

Kehittämistyön tavoite on kehittää bioanalyttikon koulutusta tarjoamalla verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian keskeisimpien menetelmien hyödyntämisestä patologian laboratoriossa. Koska molekyylipatologian merkitys patologian laboratoriossa kasvaa, opiskelijan on hyvä tietää alan keskeisimmät menetelmät ja niiden hyödyntäminen. Verkko-oppimateriaalin teossa huomioidaan erilaiset oppimistyyliä ja materiaalista tehdään mahdollisimman monipuolinen ja laadukas. Tällöin opiskelija pystyy opiskelemaan asioita hyvin itsenäisesti ja syventämään tietojansa itselleen sopivalla tavalla.

6 KEHITTÄMISTYÖN TOTEUTUS

6.1 Kehittämistyön menetelmän kuvaus

Tämä opinnäytetyö on menetelmältään kehittämistyö. Kehittämistyö vastaa johonkin tunnistettuun tarpeeseen ja se muodostuu opinnäytetyöraportista ja syntyvästä konkreettista tuotoksesta, joka voi olla esimerkiksi opas, esite tai kirja (Salonen 2013, 18–19; Vilka 2021, 32). Tämän kehittämistyön tuotos on verkko-oppimateriaali molekyylibiologiasta. Raportti on kirjallinen selostus kehittämistoiminnasta ja kokonaiskuvaus opituista asioista. Tarvelähtöisyyden lisäksi kehittämistoimintaan kuuluu tavoitteiden tarkoituksenmukaisuus ja riittävän täsmällinen suunnittelu. Kehittämistoiminnan on myös perustuttava näyttöön tai tutkittuun tietoon. (Salonen, Eloranta, Hautala & Kinos 2017, 60–65.)

Kehittämistyö voidaan kuvata prosessina, joka koostuu toisiaan seuraavista vaiheista. Tämä perustuu siihen, että kehittäminen on aikaa vievää ja siinä on usein selkeät vaiheet. Prosessimainen tarkastelu auttaa järjestelmällisesti toimimisessa ja niiden asioiden huomioon ottamisessa, jotka pitäisi tehdä kussakin vaiheessa ennen kuin siirrytään seuraavaan vaiheeseen. Kehittämistyö on mahdollista ymmärtää yksinkertaisena muutostyön prosessina. Prosessin vaiheita ovat suunnittelu, toteutus ja arviointi. (Ojasalo, Moilanen, Ritalahti 2015, 22.) Kuitenkaan todellisuudessa kehittämistyön prosessi ei ole näin suoraviivainen ja yksinkertainen (Salonen 2013, 15). Esimerkiksi arviointia tapahtuu myös muissa vaiheissa, jolloin se lähinnä toimii kehittämistyön suuntaamisessa (Ojasalo ym. 2015, 47). Kehittämisprosessissa kietoutuu toisiinsa toiminnan kehittäminen ja asiantuntijaksi kirjoittaminen (Kostamo, Airaksinen & Vilka 2022, 18).

6.2 Kehittämistyön suunnittelu

Kehittämistoiminta lähtee liikkeelle kehittämistarpeen tunnistamisesta (Salonen ym. 2017, 56). Suunnitteluvaiheessa kehittämiselle asetetaan tavoitteet ja suunnitellaan, miten päästäisiin haluttuihin tavoitteisiin (Ojasalo ym. 2015, 22). Suunnitteluvaiheessa määritellään aihealue, kohderyhmä, kehittämisen toimintaympäristö ja tietoperusta sekä suunnitellaan opinnäytetyöteksti ja muut sen yhteyteen kuuluvat tekstit (Kostamo ym. 2022, 18). Tietoperusta on se olemassa oleva tieto, johon kehittämistyön suunnittelu ja toteutus perustuu (Ojasalo ym. 2015, 34). Työskentely täytyy suunnitella mahdollisimman huolellisesti (Salonen 2013, 17).

Kehittämistyön suunnittelu alkoi keväällä 2021 miettimällä kiinnostavaa aihetta. Valmis aihe löytyi Savonia-ammattikorkeakoululta, jossa tehtäisiin oppimateriaalia molekyylibiologian osuudesta uudelle kliinisen patologian syventävälle opintojaksolle. Aihe oli mielenkiintoinen ja uuden oppimateriaalin luominen motivoi. Lisäksi patologia aiheena oli ollut kaikille ryhmän jäsenille mieluinen. Aiheeksi valittiin tämä ja valinnan jälkeen aihekuvauksen teko alkoi samana keväänä.

Aihekuvauksessa esiteltiin työn tilaaja, muotoiltiin työn alustava tarkoitus ja tavoite sekä määriteltiin työ kehittämistyöksi. Kehittämistyössä tultaisiin tekemään verkko-oppimateriaalia uudelle syventävälle opintojaksolle Moodlen verkko-oppimisympäristöön. Kohderyhmäksi valikoitui bioanalyttikko-opiskelijat, jotka valitsevat syventävän verkko-opintojakson ja ovat kiinnostuneet patologiasta. Sa-

malla aihetta rajattiin molekyylipatologiaan syöpädiagnostiikassa, siellä käytettäviin yleisiin näyte-muotoihin sekä kahteen käytettävään menetelmään, NGS- ja ddPCR-menetelmään. Rajaaminen oli perusteltua, koska muuten aihe olisi ollut liian laaja. Näytetyypeiksi valittiin FFPE sekä nestebiopsia. FFPE on yleisin käytetty näytetyyppi molekyylipatologialla (Orte ym. 2021, 1433) ja nestebiopsian käyttö on kasvavana mielenkiinnon kohteena (Isomursu ym. 2015, 426). Työ rajattiin kahteen me- netelmään, koska työn tilaaja halusi tuotoksessa kerrottavan kahdesta keskeisimmästä menetel- mästä molekyylipatologialla. Erityisen herkkä ddPCR-menetelmä soveltuu hyvin syöpämutaatioiden tutkimiseen (McEvoy ym. 2018, 248–249) ja NGS-menetelmät ovat vaikuttaneet merkittävästi mole- kyylipatologian alan kehitykseen (Kytölä ym. 2021e). Teorian painopiste on menetelmissä, koska bioanalyttikko-opiskelijoiden on hyvä tietää molekyylipatologian menetelmien käytöstä niiden merki- tyksen kasvaessa. Materiaalissa käsiteltäisiin mahdollisimman olennaisia asioita. Aihekuvaussessa suunniteltiin myös työn aikataulu, jossa päätettiin kehittämistyön olevan kokonaan valmis viimeis- tään marraskuussa 2022. Aihekuvaus valmistui ja hyväksyttiin keväällä 2021.

Suunnitteluvaiheeseen kuuluu kirjallisen kehittämissuunnitelman eli opinnäytetyösuunnitelman teke- minen, jossa työskentely tulee suunnitella mahdollisimman huolellisesti (Salonen 2013, 17). Suunni- telmien mukaan työsuunnitelman teko aloitettiin syksyllä 2021, johon muokattiin työn lopullinen tar- koitus ja tavoite. Tuotettavan verkko-oppimateriaalin tuli olla laadukas ja monipuolinen, jotta siitä olisi erilaisille oppijoille mahdollisimman paljon hyötyä. Monipuoliset oppimateriaalit tehostavat oppi- mista (Uplus 2022). Oppimateriaaliin suunniteltiin erilaisia tehtäviä ja oppimismateriaaleja, jotka tu- kisivat mahdollisimman hyvin erilaisia oppijoita.

Luotettavaa tietoa kehittämistyöhön etsittiin luotettavista terveysalan kotimaisista sekä kansainväli- sistä tietokannoista, joita ovat esimerkiksi PubMed, ScienceDirect ja Terveysportti. Myös Savonia- Finnasta löytyvää kirjallisuutta hyödynnettiin. Tiedonhaku rajattiin mahdollisimman ajantasaiseen materiaaliin, välttämällä yli kymmenen vuotta vanhoja sekä kaupallisia lähteitä. Hakusanoina käytettiin esimerkiksi sanoja patologia, pathology, syöpädiagnostiikka, cancer diagnostics, molekyylipatologia, molecular pathology, droplet digital PCR, ddPCR, next generation sequencing, NGS, oppimisen psy- kologia, oppiminen, oppimistyyli, learning style, verkkomateriaali, e-materiaali ja verkkokurssi. Läh- teitä haettiin myös käyttämällä useampaa hakusanaa yhtä aikaa.

Teoriatietoa syventäessä varsinkin menetelmien osalta kävi ilmi, että aihe oli liian laaja rajauksesta huolimatta. Teoriatietoa oli paljon ja tutkimustietoa oli viime vuosina tullut valtavasti. Koska kohde- ryhmänä olivat bioanalyttikko-opiskelijat, päätettiin menetelmien osalta keskittyä mahdollisimman työelämälähtöiseen ja olennaiseen tietoperustaan. Lisäksi menetelmien teoriaosuus muuhun teori- aan nähden olisi ollut liian laaja, jos jokainen työvaihe olisi kirjoitettu tarkasti. Tästä syystä menetel- mien periaatteet yksinkertaistettiin ja selitettiin pääpiirteittäin sillä tasolla, joka on riittävä bioanalyt- tikoille. Työsuunnitelma valmistui ja hyväksyttiin helmikuussa 2022, jonka jälkeen tehtiin ohjaus- ja hankeistamissopimus.

6.3 Verkko-oppimateriaalin toteutus

Toteutusvaihe alkaa suunnitelman hyväksymisen jälkeen. Vaiheessa edetään tehdyn suunnitelman mukaan, joka voi tarkentua toteutuksen edetessä. Työskentelyn tueksi tehdään muistiinpanoja ja

tuotetaan erilaisia materiaaleja. Materiaalit dokumentoidaan huolellisesti, jotta niihin on mahdollista palata viimeistään arviointivaiheen aikana. (Salonen ym. 2017, 62.) Tuotoksen tuottamisessa käytetyt ratkaisut perustuvat lähdeaineistoon, aiempiin tutkimuksiin ja tarvittaessa myös itse koottuihin tutkimusaineistoihin (Vilka 2021, 32).

Tuotoksen tekeminen aloitettiin heti työsuunnitelman hyväksymisen jälkeen. Moodleen avattiin kurssipohja, jonne työn tekijöillä oli opettajan oikeudet materiaalin lisäämiseksi. Apuna materiaalin tekemiseen hyödynnettiin Mediamasterin sivuja Moodlen omien ohjeistusten lisäksi. Sivulla on esimerkiksi tietoa eri työkaluista sekä kurssipohjalla käytettävistä aktiviteeteista ja aineistoista (Mediamasteri julkaisuaika tuntematon). Koska materiaalin tuli olla monipuolista huomioiden erilaiset oppijat, useiden työkalujen hyödyntäminen Moodlella oli suotavaa. Oppimateriaalia tehtiin rinnakkain raporttia kirjoittaessa, jotta teoriaosiot olisivat molemmissa yhtenäiset.

Kurssipohjalle tehtiin PowerPoint-esitys molekyylipatologian teoriasta ja siellä käytettävistä näytetyypeistä, joista koottiin lyhyt tietotesti keskeisimmistä asioista. Tietotestin läpi saamiseksi asetettiin hyväksymisraja. Esitykseen hyödynnettiin haastattelua molekyylibiologilta, joka työskentelee kliinisen patologian laboratoriossa. Idea haastattelulle saatiin työn tilaajalta, koska sen avulla materiaaliin saataisiin tarkempi kuvaus työelämästä. Yksi ryhmän jäsenistä suoritti kliinisen patologian harjoittelun molekyylibiologin työpaikalla, joten suostumuksen kysyminen haastattelulle oli helppoa. Sähköpostitse lähetetyt kysymykset liittyivät molekyylipatologian kehitykseen ja bioanalyytikon työtehtäviin patologian laboratoriossa. Haastattelua ei käytetty kehittämistyön raportissa, koska sen käyttäminen rajattiin vain Savonian opetuskäyttöön.

Valittujen menetelmien osalta hyödynnettiin kurssipohjalla oppituntityökalua, jossa teoriaosioiden väliin oli mahdollista lisätä kysymyksiä. Oppitunneilla käytiin läpi menetelmien periaatteet, käyttö molekyylipatologialla sekä hyödyt, haasteet ja tulevaisuuden näkymät. Kysymykset oppitunneissa liittyivät teorian olennaisiin asioihin, jotka opiskelijoiden haluttiin erityisesti oppivan. Kysymykset sijoitettiin teoriaosioiden väleihin ja opiskelijan täytyi osata vastata niihin juuri lukemansa teorian pohjalta. Tietotestiin ja oppitunteihin asetettiin hyväksymisraja, jotta opiskelijat lukisivat teoriaosiot huolella saadakseen osiot hyväksytysti suoritettua. Kysymykset olivat monivalintakysymyksiä, oikein/väärin -väittämiä sekä yhdistämistehtäviä. Opiskelijalle annettiin mahdollisuus uusia oppituntia niin monta kertaa kuin hän halusi. Koska menetelmät ovat olennainen osa oppimateriaalia, haluttiin mahdollistaa teorian rajaton lukumahdollisuus. Oppituntien kysymysten vastauksien perään lisättiin palaute. Palautteella on motivoiva vaikutus opiskelijoihin, koska se tukee ja voi lisätä kiinnostusta tehtävään ja kasvattaa omiin kykyihin uskomista (Tapola & Veermans 2012, 76). Palautteen saaminen kehittää myös reflektointia omasta toiminnasta ja työstä (Lakkala & Veermans 2012, 69). Oppitunteihin sekä PowerPoint-esitykseen lisättiin myös kuvia havainnollistamaan paremmin teoriaa ja tuomaan parempaa visuaalista ilmettä.

Teorioiden tueksi Moodleen lisättiin lyhyitä videoita liittyen menetelmiin, molekyylipatologiaan sekä nestebiopsiaan. Moodleen laitettiin myös lisämateriaaleja, joiden avulla opiskelija voi halutessaan syventää tietoaan menetelmistä. Lisäksi tehtiin artikkelitehtävä täsmäläkkeisiin liittyvistä artikkeleista, joissa käsitellään myös yleisesti molekyylipatologiaa. Tehtävässä opiskelijan tulee vastata annettuihin kysymyksiin ja lisäksi käyttää omaa pohdintaa. Artikkelitehtävän mallivastaukset koostettiin

pdf-tiedostolle, joka piilotettiin alustalle opettajan avuksi arviointiin. Opiskelija saa tehtävästä opettajalta kirjallisen palautteen, mikä lisää vuorovaikutusta opintojakson aikana. Vuorovaikutuksen ansiosta opiskelijan reflektointitaidot omasta työstä ja toiminnasta kehittyvät (Lakkala & Veermans 2012, 69).

Oppimateriaalin alkuun suunniteltu kertaosuosuus PCR-menetelmästä päätettiin jättää pois, koska menetelmä käsitellään hyvin jo pakollisilla opintojaksoilla ja sen pitäisi olla tällöin kaikilla hallussa. Lopputentistä luovuttiin työn tilaajan pyynnöstä, koska materiaalista olisi tullut sen kanssa liian laaja. Myös suunniteltu keskustelutehtävä jätettiin pois, joka korvattiin artikkelitehtävällä. Keskustelutehtävässä opiskelijan oli tarkoitus saada palautetta ja vuorovaikutusta opintojaksoa suorittaessa, mutta nämä toteutuivat artikkelitehtävässä. Keskustelutehtävän suunnittelussa oli haasteita, koska opintojakson aikataulua ja osallistujamäärää ei varmuudelta tiedetty silloin. Oppimateriaalin valmistuminen suunniteltiin alun perin keväälle, mutta se valmistui vasta syyskuun lopulla 2022, juuri ennen syventävän opintojakson alkamista.

6.4 Kehittämistyön arviointi

Arviointi osoittaa, miten kehittämistyö onnistui (Ojasalo ym. 2015, 47). Arvioinnissa arvioidaan syntyneitä tuotoksia ja se voidaan tarvittaessa palauttaa takaisin toteutuksen vaiheeseen (Salonen 2013, 18). Työn edetessä työn tilaajalta pyydettiin palautetta useaan kertaan, jonka perusteella oppimateriaalia muokattiin. Palautteen perusteella materiaaleihin lisättiin enemmän kuvia, jotta niitä olisi mukavampi lukea. Oppituntien teksteissä olevia käsitteitä lihavoitiin, jotta ne erottuisivat paremmin muun tekstin joukosta. Kysymyksiä muokattiin oppitunneissa siten, että ne olisivat selkeämpiä eivätkä olisi niin helposti arvattavia. PowerPoint-esityksen diojen tekstimääriä vähennettiin, jotta yhdessä diassa ei olisi liian paljon tekstiä.

Kehittämistyöhön liittyy käytännön merkitys ihmisille, joita tuotos koskee. Esimerkiksi käyttäjiä voi ottaa mukaan kehittämiseen palautteen antajina. Osallistamisella edistetään tuotoksen toteuttamista kohderyhmälle. (Vilkkä 2021, 34.) Kun työn tilaajan pyytämät muutokset oli tehty, kerättiin oppimateriaalista palautetta kohderyhmältä. Oppimateriaalin pilotointiin kysyttiin vapaamuotoisesti kolmannen ja neljännen vuoden bioanalyttikko-opiskelijoita WhatsApp-ryhmissä. Opiskelijoita kannustettiin sillä, että pilotoinnin suorittavien ei enää varsinaisella syventävällä kliinisen patologian opintojaksolla tarvitsisi tehdä molekyylipatologian osuutta. Pilotointiin osallistui alussa kuusi opiskelijaa, joista neljä suoritti lopulta pilotoinnin. Pilotointi oli täysin vapaaehtoista.

Arvioinnissa kerätään suunnitelmallisesti tietoa ja analysoidaan sitä (Ojasalo ym. 2015, 47). Palaute kerättiin pilotointiin osallistuneilta opiskelijoilta sähköpostitse. Palaute päädyttiin keräämään sähköpostilla, koska osallistujien nimet olivat jo tiedossa ja heitä oli niin vähän, että palautteen pyytämistä anonyymina ei nähty tarpeelliseksi. Lisäksi kysymykset olivat pelkästään avoimia kysymyksiä, joihin esimerkiksi Webropolin kautta kerättyinä ei välttämättä vastattaisi yhtä kattavasti. Palautteessa kysyttiin oppimateriaalin tekemiseen käytetystä ajasta, tehtävien tekemisen mielekkyydestä, sisällön keskeisyydestä oppimisen kannalta, visuaalisesta ilmeestä, teknisestä toimivuudesta sekä oppimateriaalin toteutusta kokonaisuutena. Palautekysymyksiä suunnittelussa käytettiin apuna Opetushallituksen e-oppimateriaalin laatukriteerejä. E-oppimateriaalin laatukriteerit antavat ohjeita hyvästä e-

oppimateriaalista ja pedagogisista oppimateriaalin ominaisuuksista. Materiaalin pedagogisessa laadussa yhdistyvät visuaalinen mielekkyys oppimisen kannalta keskeiseen sisältöön, mielekkäät tehtävät sekä teknisesti toimiva ja hyvin toteutettu kokonaisuus. (Opetushallitus julkaisu-aika tuntematon.)

Palaute oli pääosin hyvää. Kaikki tehtävät olivat olleet mielekkäitä, joista oppitunnit oli koettu mielekkäimmiksi. Sisällöllisesti materiaali oli kaikkien osallistujien mielestä keskeistä oppimisen kannalta sekä materiaali oli visuaalisesti selkeä ja mielekäs. Positiivista palautetta tuli kuvista ja videoista, jotka auttoivat tekstin ymmärtämisessä ja tekivät oppimateriaalin läpi käymisestä mukavampaa. Palautteessa mainittiin myös, että oppitunneissa lihavoidut, keskeiset käsitteet olivat hyvä juttu. Kokonaisuutena tuotos oli tuotettu opiskelijoiden mielestä hyvin ja tehtävien monipuolisuus sekä niiden toistensa tukeminen lisäsivät mielekkyyttä. Hyvää oli myös se, että materiaalia oli sekä suomeksi että englanniksi. Materiaali toimi kaikilla teknisesti hyvin, vaikkakin oppituntien suoritukset eivät jälkikäteen katsoessa näkyneet suoritettuina. Suoritukset sai kuitenkin näkyviin Moodlen arviointikirjasta lisätoimintojen kautta. Palautetta tulikin yhdeltä opiskelijalta siitä, ettei oppituntien tuloksia ja arvosanaa päässyt jälkikäteen tarkastelemaan kätevästi. Ainoana kehitysideana tuli, että muutamia kysymyksiä muotoiltaisiin eri tavalla NGS-menetelmän oppitunnilta, jotta ne olisivat helpommin ymmärrettävissä.

Pilotoinnissa oppimateriaalin tekemiseen käytetty aika ei yltänyt yhden opintopisteen 27 tunnin ohjeelliseen määrään. Yhdellä opiskelijalla oli mennyt oppimateriaalin tekemiseen yhteensä kahdeksan tuntia, kun toisella oli mennyt noin kymmenen tuntia. Kolmas taas kertoi käyttäneensä materiaalin tekemiseen kohtuullisen paljon aikaa ja tehneensä sitä useampana päivänä. Neljäs kertoi tehneensä materiaalia vain yhtenä päivänä, tosin hänellä oli mennyt melkein koko päivä kaiken tekemiseen. Toisaalta samassa palautteessa kerrottiin, että asiat olisivat jääneet paremmin mieleen, jos tekemiseen olisi käytetty enemmän aikaa. Myös toisessa palautteessa mainittiin, että perehtymällä paremmin esimerkiksi videoihin, oppimateriaalin tekemiseen olisi saanut käytettyä paljon enemmän aikaa. Materiaalia ei lisätty kuitenkaan enempää, koska koko opintojakson työmäärä ja laajuus täytyi huomioida. Materiaalin sisällön lisäksi suoritusaikaan vaikuttavat opiskelijoiden oppimiserot (Huhtanen 2019, 28).

Pilotoinnin jälkeen oppimateriaaliin tehtiin muutoksia opiskelijoiden sekä vielä työn tilaajan antaman palautteen perusteella. NGS-menetelmän oppituntien teoriaa tiivistettiin ja kysymyksiä muotoiltiin helpommin ymmärrettäväksi. Oppituntien asetuksia yritettiin muokata siten, että suoritukset ja arvosanat olisivat jälkikäteen näkyneet selkeämmin, mutta tämä ei Moodlen asetusten takia onnistunut. Oppituntien oikeita vastauksia ei ollut myöskään mahdollista saada suorituksen jälkeen näkyviin. Opiskelijoille avattiin kuitenkin hyväksytyyn suoritukseen jälkeen oppituntien valikko, jolloin opiskelijan oli mahdollista käydä teoriaosiot missä järjestyksessä tahansa ja kerrata vain epäselväksi jääneet osiot. Materiaalien, erityisesti PowerPoint-esityksen fonttikokoa muutettiin paikoin isommaksi, jotta lukeminen helpottuisi. Esitykseen avattiin myös lyhenteiden englanninkieliset nimet, jotta ne jäisivät paremmin mieleen. Oppituntien arvioinnin osalta hyväksymisrajat muutettiin selkeyden vuoksi sa-

maan prosenttimäärään, mutta numerolliseksi arviointia ei pystytty aikataulullisista syistä muuttamaan. Artikkelitehtävän arviointi muutettiin kuitenkin numerolliseksi, jotta koko opintojakson numerollinen arviointi olisi opettajalle mahdollista.

7 POHDINTA

7.1 Kehittämistyön prosessin ja tuotoksen arviointi

Kehittämistyön arviointiin voi kuulua kehittämistyön suunnittelun, tavoitteiden selkeyden ja niiden saavuttamisen, kehittämisessä käytettyjen menetelmien, toiminnan johdonmukaisuuden sekä vuorovaikutuksen ja sitoutumisen tarkastelu. Kehittämistyön tuotoksen arviointikriteereinä voi olla lopputuloksen merkittävyys, yksinkertaisuus, helppokäyttöisyys, sovellettavuus muihin yhteyksiin, toistettavuus ja neutraalisuus. (Ojasalo ym. 2015, 47.) Kehittäminen on suoritettu onnistuneesti loppuun, kun sen tavoitteet ja tulokset on saavutettu ja raportti on kirjoitettu valmiiksi. Kehittämisen tuloksen tulee tuottaa aina lisäarvoa innovaatiomääritelmän mukaisesti (Salonen ym. 2017, 63–66.)

Opinnäytetyöprosessiin kuuluu tutkimuksellinen työote ja teoreettisen tiedon yhdistäminen käytännön kehittämistyöhön (Savonia-ammattikorkeakoulu 2022a). Kehittämistyö toteutettiin luotettavan lähdemateriaalin avulla. Lähteitä käytettiin monipuolisesti ja mahdollisuuksien mukaan sama tieto etsittiin useasta eri lähteestä. Lähteisiin kuuluu esimerkiksi kirjoja, artikkeleita, tutkimuksia ja ohjeistuksia. Kehittämistyön prosessissa noudatettiin Savonian ohjeistuksia. Kehittämistyön aiheen rajaaminen, rajauksessa pysyminen ja työn suunnittelu oli haastavaa, koska tietoa on saatavilla paljon niin molekyylipatologian aihepiiristä kuin oppimisestakin ja oleellisen tiedon löytäminen ei ollut helppoa. Lisäksi luotettavien lähteiden etsiminen ja lähdemerkintöjen tekeminen lähdeluetteloon oli ajoittain vaikeaa. Erityisen haastavia olivat englanninkieliset lähteet, koska niiden lukeminen, ymmärtäminen ja kääntäminen suomeksi oli työlästä. Kaikille englannin kielestä tuleville käsitteille ei ole myöskään suomenkielistä vastinetta ja siksi käsitteiden kirjoittaminen auki oli hankalaa. Lisäksi verkko-oppimiseen liittyvät käsitteet eivät ole vakiintuneita, joka tuotti ongelmia teorian kirjoittamisessa.

Kehittämistyölle muodostui selkeä tarkoitus ja tavoite. Kehittämistyön tarkoitus oli tuottaa verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian osuudesta patologian syventävälle opintojaksolle. Kehittämistyön tavoite oli kehittää bioanalyytikon koulutusta tarjoamalla verkko-oppimateriaalia molekyylipatologian keskeisimpien menetelmien hyödyntämisestä patologian laboratoriossa. Bioanalyytikon koulutuksessa molekyylipatologiaa ei ole juurikaan käsitelty, joten oppimateriaalin suunnittelussa keskityttiin tuomaan uutta tietoa opetukseen. Oppimateriaalille annettu opiskelijan oppimiseen liittyvä sisällöllinen tavoite oli tarjota ydinasiat molekyylipatologiasta, sen menetelmistä ja niiden käytöstä syöpädiagnostiikassa. Verkko-oppimateriaaliin kerätty tieto molekyylipatologiasta täytti materiaalille asetetun tavoitteen ja uudella tiedolla kehitettiin koulutusta. Kehittämistyö vastaa näin myös innovaatiomääritelmään tuotoksen tuodessa lisäarvoa koulutukselle. Uusi tieto voi myös lisätä opiskelijoiden kiinnostusta kliinistä patologiaa kohtaan. Tuotoksen tekijät osallistuivat samalla syventävien opintojaksojen valikoiman kehittämiseen.

Verkko-oppimateriaalin suunnittelussa huomioitiin erilaiset oppimistyyli, monipuolisuus ja laadukkuus. Materiaalin teossa hyödynnettiin myös tekijöiden omaa kokemusta eri opettajien opintojaksoilla käyttämistä materiaaleista ja tehtävistä. Oppimateriaalin aihetta voidaan käsitellä moninaisesti hyödyntämällä kuvia, tekstiä ja videota (Paavola ym. 2012, 50). Monipuolistamalla materiaalia voi-

daan mahdollistaa erilaisten oppimistyylien käyttö (Salminen ym. 2018, luku 6). Yhdistämällä oppimistyyliä ja käyttäen useampia aisteja oppiminen on tehokkaampaa (Uplus 2022). Verkko-oppimateriaalin teossa hyödynnettiin tekstiä, kuvia ja videoita. Näkemisen avulla oppimista tukivat erilaiset kuvat ja videot, äänen avulla oppimista videot. Lisäksi erilaiset tehtävät ja lisämateriaali lisäsivät materiaalin monipuolisuutta. Koska tuotettava materiaali oli osa verkko-opintojaksoa, kaikkia oppijoita ei ollut mahdollista tukea. Esimerkiksi tuntoaistin ja käytännön kautta oppimista verkko-oppimateriaaliin ei voitu toteuttaa.

Verkko-oppimateriaalin teossa toteutuu erilaiset laatukriteerit. Verkko-oppimateriaalissa joustavuutta mahdollistettiin lisäämällä oppituntien valikot, jolloin myös niiden teoriat ovat vapaasti saatavilla hyväksytyin suorituksen jälkeen. Vuorovaikutusta tuotiin mukaan opettajan kirjallisella palautteella artikkelitehtävään. Lisäksi artikkelitehtävä tukee pitkäkestoista työskentelyä ja vaatii opiskelijan omaa ajattelua ja pohdintaa. Verkko-oppimateriaalin teoria ja suunnitellut tehtävät keskittyvät opiskeltavan aiheen eli molekyylipatologian ydinasioihin. Oppimateriaalissa kiinnitettiin huomiota erityisesti visuaalisuuteen ja materiaalin kokonaisuuteen. Verkko-oppimateriaalin rakenne muotoiltiin selkeäksi ja helppokäyttöiseksi. Esimerkiksi oppitunnit etenevät selkeästi osiosta seuraavaan. Materiaalit etenevät suoritusjärjestyksessä ja niiden yhteyteen kirjoitettiin ohjetekstejä. Ohjaavat tekstit kirjoitettiin niin, että verkko-oppimateriaalissa eteneminen olisi opiskelijoille mahdollisimman helppoa. Ohjauksen avulla opiskelija voidaan ohjata keskittymään oleelliseen, jos verkko-oppimateriaalissa on lisämateriaalia (Tapola & Veermans, 78). Tehtävien tekninen toimivuus tarkistettiin ennen pilotointia useaan kertaan. Pilotoinnin palautteen perusteella materiaalista tuli visuaalisuudeltaan ja tehtäviltään mielekäs, teknisesti toimiva ja hyvin toteutettu kokonaisuus.

Sitoutuminen prosessiin oli ajoittain haastavaa aikataulullisten ongelmien ja henkilökohtaisten syiden takia. Työn tekemistä jaettiin paljon osiin, koska yhteisen työskentelyajan järjestämisessä oli haasteita. Prosessin loppupuolella todettiin, että yhteisiä työskentelyhetkiä olisi kannattanut järjestää enemmän. Tämä olisi todennäköisesti vahvistanut sitoutumista prosessiin myös haastavissa hetkissä ja mahdollisesti ehkäissyt niiden syntymistä. Kehittämistyön tekijöiden kesken pyrittiin aktiiviseen vuorovaikutukseen läpi koko prosessin ja työn tilaajan kanssa keskusteltiin aina, kun se oli tarpeellista. Työn tilaajan ja työn tekijöiden keskinäinen tuki auttoivat pääsemään haasteiden yli ja viemään kehittämistyöprosessia eteenpäin. Lisäksi mielenkiintoinen aihe motivoi työskentelemään ja teki siitä huomattavasti mukavampaa.

Kehittämistyön aikataulu toteutui kaikissa muissa työn vaiheissa, paitsi toteutusvaiheessa. Koska verkko-oppimateriaalin viimeistelyyn meni suunniteltua enemmän aikaa, ei raportin kirjoittamiselle jäänyt niin paljon aikaa kuin aluksi oli ajateltu. Lisäksi kehittämistyön työskentelyn tueksi tehdyt muistiinpanot olisivat saaneet olla vielä tarkempia, jotta prosessin auki kirjoittaminen olisi ollut helpompaa. Tästä huolimatta kehittämistyön prosessi eteni johdonmukaisesti ja yhteistyötä tekemällä prosessista saatiin lopulta kirjoitettua oleelliset asiat. Kehittämistyön prosessi oli kaiken kaikkiaan haastava mutta myös antoisa. Pilotoinnista saatujen palautteiden ja työn tilaajan antamien kommenttien perusteella verkko-oppimateriaalista onnistuttiin tekemään bioanalyttikko-opiskelijoita pal-

veleva kokonaisuus laajasta aiheesta huolimatta. Kehittämistyölle asetetut tarkoitus ja tavoite täyttyivät. Lisäksi verkko-oppimateriaalille asetettu sisältötavoite täyttyi, jolloin opiskelijan on mahdollista oppia materiaalin ydinasiat.

Molekyylipatologia on aiheena ajankohtainen ja merkittävä. Lähivuosina aiheesta on tullut muun muassa paljon tutkimuksia ja artikkeleita. Molekyylipatologialla on tärkeä rooli syöpäpotilaiden hoitoa ohjaavan tiedon tuottajana (Deharvengt & Tsongalis 2017, 719). Geenimuutosten tunnistamisella mahdollistetaan kohdennettujen yksilöityjen lääkehoitojen käyttö (Lappi-Blanco ym. 2016, 593). Molekyylipatologia on siis myös yhteiskunnallisesti merkittävä aihe, koska syöpädiagnostiikan ja hoitojen kehittyminen vaikuttaa muun muassa syöpää sairastavien ja sairastuvien ihmisten elämään. Merkittävydestään huolimatta molekyylipatologia on patologian erikoisala, joten lopulta vain pieni osa bioanalyttikko-opiskelijoista voi hyödyntää verkko-oppimateriaalista oppimiaan tietoja. Tuotetulla verkko-oppimateriaalilla kehitettiin kuitenkin koulutusta muuttuvan työelämän tarpeeseen, jossa molekyylipatologian käyttö on kasvamassa.

7.2 Eettisyys ja luotettavuus

Bioanalyttikon eettisiin ohjeisiin kuuluu ammatin ja koulutuksen kehittäminen sekä ammatin arvostuksen ja luottamuksen säilyttäminen omalla toiminnalla ja käyttäytymisellä (Suomen Bioanalyttikkoliitto ry 2017, 3). Kehittämistyö noudattaa näitä ohjeita ja tukee bioanalyttikon koulutuksen kehittämistä uudella verkko-oppimateriaalilla molekyylipatologian menetelmistä ja niiden hyödyntämisestä patologian laboratoriossa. Hallitsemalla luotettavan ja ajantasaisen teorian tiedon bioanalyttikko ylläpitää luottamusta ja arvostusta alaansa kohtaan. Vilkan mukaan oman tekemisen hallitseminen osoitetaan opinnäytetyön suunnitelmallisuudella. Suunnitelmallisuus lisää myös työn luotettavuutta, uskottavuutta sekä todennettavuutta. Työn aineiston hallitseminen osoitetaan kuvailemalla aineiston suunnittelua, kokoamista, käsittelyä sekä säilyttämistä. Eettinen vastuu käytännöistä ja ratkaisuksista aineiston kokoamiseen on opinnäytetyöntekijöillä. (Vilka 2021, 117–119.)

Opinnäytetyötä tehdessä tulee noudattaa tutkimuseettistä ohjetta hyvästä tieteellisestä käytännöstä. Toimintatapojen perustana on rehellisyys, tarkkuus ja huolellisuus tutkimustulosten esittämisessä ja arvioinnissa. Tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmät ovat eettisesti kestäviä ja soveltavat tieteellisen tutkimuksen kriteerejä. Tarvittavat tutkimusluvut tulee hankkia ja tietyillä aloilla vaaditaan eettisen ennakoarvioinnin tekemistä. (TENK 2012, 6.) Tätä kehittämistyötä varten ei tarvinnut tehdä eettistä ennakoarviointia, tietosuojaselostetta tai tutkimuslupaa.

Kehittämistyön raporttiosa julkaistaan Theseukseen, jolloin se on kaikille vapaasti luettavissa. Koska opinnäytetyö on julkinen asiakirja, se ei saa sisältää salaista aineistoa (Arene ry 2018, 24). Aineiston kokoamiseen ja tarkoitukseen liittyen tulee aina antaa tietoja kehittämiskohteen henkilöille, koska osallistuminen perustuu aina suostumukseen ja vapaaehtoisuuteen. Tiedon kerääminen salaa opinnäytetyöhön loukkaa ihmisen yksityisyyttä. (Vilka 2021, 115–116.) Kehittämistyössä ei käsitelty henkilötietoja tai liike- ja ammattisalaisuuksia. Molekyylibiologin haastatteluun kysyttiin suostumus suullisesti ja kerrottiin mitä tietoja kerätään ja mihin tarkoitukseen. Häneltä kerättyjä tietoja käytetään vain koulutuskäytössä, jotka voivat vain syventävälle opintojaksolle lisätyt Savonian bioanalyttikko-opiskelijat nähdä. Työn tuotos on tarkoitettu vain Savonian käyttöön, eikä sitä julkaista

Theseukseen. Pilotointia varten tarvittiin osallistuvien opiskelijoiden nimet ja sähköpostiosoitteet, jotta heidät saatiin lisättyä kehittämistyön kurssipohjalle. Pilotoinnin palaute kerättiin opiskelijoilta sähköpostitse, mutta heidän henkilötietojaan ei käytetty kehittämistyössä.

Opinnäytetyön luotettavuuteen ja laatuun voidaan vaikuttaa käyttämällä lähdekritiikkiä, eli arvioimalla käytettyjä lähteitä ja aineistoja. Koska käytetyt aineistot ja lähteet vaikuttavat työn luotettavuuteen ja laadukkuuteen, ne vaikuttavat myös työn hyödynnettävyyteen. Lähdekritiikissä tarkastellaan työn julkaisuaikaa ja tiedon ajantasaisuutta. Verkkolähteitä käytettäessä tulee huomioida myös tuotetun aineiston tai tekstin tarkoitus sekä julkaisupaikka. Lisäksi laadukkaasta sisällöstä kertoo vertaisarviointi merkintä, eli tekstiä on arvioinut vähintään kaksi ulkopuolista erityisasiantuntijaa. (Vilka 2021, 120–121.) Kehittämistyössä käytettiin mahdollisimman uusia artikkeleja ja julkaisuja. Lisäksi työssä pyrittiin välttämään kaupallisia lähteitä ja tiedonhaussa käytettiin luotettavia tietokantoja. Työssä hyödynnettiin myös vertaisarvioituja tutkimusartikkeleja.

Hyvän tieteellisen käytännön mukaan toisten tekemää työtä ja saavutuksia tulee kunnioittaa viittamalla niihin asianmukaisella tavalla (TENK 2012, 6). Toisen henkilön työn luvaton lainaaminen eli plagiointi loukkaa hyvää tieteellistä käytäntöä (TENK 2012, 9). Kun kehittämistyössä käytettiin toisen henkilön tuottamaa aineistoa, viitattiin aineistoon Savonian raportointiohjeen mukaisesti. Jotta hyvä tieteellinen käytäntö toteutuisi, oppilaitokset ovat ottaneet käytettyjen lähteiden, tekstin alkuperäisyyden sekä yhtäläisyyden tarkistuksen käyttöön (Vilka 2021, 202). Tästä syystä tutkimusvilpin ehkäisemiseksi ja tunnistamiseksi kehittämistyö tarkistettiin työsuunnitelma- ja raporttivaiheessa Turnitin-plagiaatintunnistusjärjestelmässä Savonian ohjeistuksen mukaisesti ennen hyväksymistä. Plagiaatintunnistusta voidaan käyttää myös tekstin työstämävaiheessa eettisyyden arviointiin (Vilka 2021, 202). Kehittämistyön raportti käytettiin Turnitin-plagiaatintunnistusjärjestelmässä raportin työstämisen loppuvaiheessa. Eettistä herkkyyttä osoittaa hyvän tieteellisen käytännön pohtiminen ja sen noudattaminen. Se johtaa yleensä toisten työn käyttämiseen kunnioittavasti ja asianmukaisesti ja huolelliseen, rehelliseen ja tarkkaan työskentelyyn. (Vilka 2021, 122.)

Tekijänoikeudet syntyvät opinnäytetyön tehneille opiskelijoille, mutta opiskelijat voivat halutessaan luovuttaa tekijänoikeutensa eteenpäin. Opinnäytetyön lisäksi opinnäytetyöntekijät voivat tuottaa työssään materiaalia, joita tekijänoikeussuoja koskee. Näiden omistuksesta ja käytöstä sovitaan etukäteen kirjallisesti, jolloin voidaan soveltaa TENKin ohjetta tieteellisten julkaisuiden tekijyydestä. (Arene ry 2018, 21–22.) Työsuunnitelman jälkeen jokainen kehittämistyön jäsen teki ohjaus- ja hankkeistamissopimuksen, jossa sovittiin työn vastuut ja velvollisuudet. Työn tilaaja sai tällöin tekijänoikeudet tuotettuun materiaaliin.

7.3 Ammatillinen kasvu

Savonian opetussuunnitelmat mahdollistavat opetuksen ja työelämälähtöisen tutkimus- ja kehittämistoiminnan yhdistymisen. Bioanalytiikan opetussuunnitelman tarkoitus on tuottaa työelämässä vaadittu osaaminen ja varmistaa opiskelijan asiantuntijuuden kehittyminen. Neljäntenä vuonna opiskelija osoittaa opinnäytetyöprosessissa tutkimuksellisen työotteen hallitsemisen ja kyvyn yhdistää teoreettisen tiedon käytännön kehittämistyöhön. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2022a.) Ammatillisen oppimisen kannalta kehittämistyön toteutus on tärkeä toiminnassa oppimisen vaihe (Salonen 2013,

18). Kehittämistyön työstäminen aktivoi suunnitelmallisuutta, vastuullisuutta, itsenäisyyttä, vuorovaikutteisuutta, epävarmuuden sietoa, sitkeyttä ja itsensä kehittämistä (Salonen 2013, 18; Salonen, Eloranta, Hautala & Kinos 2017, 62).

Bioanalytikkokoulutuksen osaamistavoite on, että koulutus tuo bioanalytikolle laaja-alaisen ja vahvan kliinisen laboratoriotyön, tiedon soveltamisen, kehittämisen ja arvioinnin osaamisen sekä valmiuden jatkuvaan oppimiseen ja kansainväliseen toimintaan. Bioanalytikon täytyy ottaa vastuu omasta ammatillisesta kehittämisestään. Bioanalytikon osaamiseen kuuluu muun muassa oman osaamisen ja oppimistapojen arviointi ja kehittäminen, tiedon kriittinen hankkiminen, käsittely ja arviointi ja hän pystyy ottamaan vastuuta ryhmän oppimisesta ja opitun jakamisesta. Bioanalytikko pystyy luovaan ongelmanratkaisuun ja työtapojen kehittämiseen, osaa projekteissa työskentelyn ja tutkimus- ja kehittämishankkeiden toteutuksen soveltaen alan tietoa ja menetelmiä. Bioanalytikolla on alansa työtehtävissä ja niissä kehittämisessä tarvittava kielitaito. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2022c.)

Kehittämistyö vaati ottamaan alusta asti vastuuta työskentelystä, koska työn tilaaja antoi paljon vapautta tuotoksen suunnittelussa ja toteutuksessa. Työn tilaaja auttoi ideoimaan verkko-oppimateriaalia, mutta päätös materiaalin sisällöstä ja rakenteesta jäi työn tekijöille. Esimerkiksi sisältöön valittavia menetelmiä oli useita, mutta niiden valintaan vaikutti menetelmän merkittävyys molekyylipatologian alalle. Kehittämistyössä tehty tiedonhaku kehitti tiedon etsimisen, arvioinnin ja käsittelyn taitoja. Esimerkiksi aiheeseen kuuluvan tiedon etsiminen tietokannoista oikeilla hakusanoilla ja tiedon luotettavuuden arviointi kehittyi. Molekyylipatologiaan ja verkko-oppimiseen liittyvän tiedon lukeminen toi tekijöille paljon uutta tietoa. Kehittämistyön kirjoittamisen myötä tiedon käsittelyn ja tekstin tuottamisen taidot kehittyivät. Lisäksi kehittämistyön tekeminen opetti oman osaamisen, toiminnan ja argumentoinnin kriittistä arviointia.

Työn tekeminen kehitti englannin kielen taitoa. Koska suomenkielisiä lähteitä löytyi vähän, suurin osa käytetyistä lähteistä varsinkin menetelmien osalta olivat englanninkielisiä. Englanninkielisten lähteiden runsas käyttö kehitti tekstin lukutaitoa sekä englannin kielen ammattisanastoa. Bioanalytikon alaa koskevaa tietoa on paljon englanniksi, joten englannin kielen osaaminen on tärkeää. Englannin kielen osaamisen kehittyminen vahvistaa myös mahdollisuuksia työskennellä kansainvälisesti. Suomessa englannin kielen taitoa voidaan tarvita työelämässä asiakkaiden sekä työkavereiden kanssa sekä laitteiden ja menetelmien englanninkielisten työ- ja käyttöohjeiden lukemiseen.

Työskentely kehitti ryhmätyötaitoja, kun työtä tehdessä hyödynnettiin jokaisen ryhmän jäsenen vahvuuksia ja eteen tulleita ongelmia ratkottiin yhdessä. Löydettyä tietoa jaettiin ja opetettiin ryhmän jäsenten kesken. Opinnäytetyöprosessissa opittiin tarpeellisia taitoja projekteissa työskentelyä ja tutkimus- ja kehittämishankkeiden toteuttamista varten. Omaan osaamista voidaan hyödyntää muun muassa työelämässä työohjeiden kirjoittamiseen sekä tiedon jakamiseen huomioiden erilaiset oppijat. Tietoa voidaan jakaa opiskelijaohjauksessa sekä kouluttamalla muita terveydenhuollon ammattilaisia huomioiden erilaiset oppimistavat.

7.4 Hyödynnettävyys ja kehittämisideat

Molekyylipatologian verkko-oppimateriaalista tuli monipuolinen ja ajantasaisen tiedon tarpeeseen vastaava kokonaisuus, jolla kehitettiin bioanalyttikon koulutusta tuomalla uutta tietoa uudelle opintojaksolle. Materiaalista on erityisesti hyötyä kliinisestä patologiasta kiinnostuneille bioanalyttikkoopiskelijoille, jotka työllistyvät molekyylipatologian laboratorioon tai menetelmiä hyödyntäviin laboratorioihin. Kehittämistyöhön pääsevät tutustumaan halutessaan myös esimerkiksi jo valmistuneet bioanalyttikot tai muut aiheesta kiinnostuneet, koska kehittämistyön raportti julkaistaan Theseuksessa.

Tiedon lisääntyminen tuo jatkossakin haasteen verkko-oppimateriaalin ajantasaisena pitämiseen. Työn tilaajan on kuitenkin helppo päivittää materiaalia, kun se on sähköisessä muodossa. Hän voi myös esimerkiksi korvata tehtäviä uusilla. Vuorovaikutuksen lisäämiseksi materiaaliin voisi lisätä esimerkiksi nyt materiaalista pois jätetyn keskustelutehtävän. Työn tilaajan on myös helppo siirtää verkko-oppimateriaalin sisältöä tarvittaessa toiselle opintojaksolle, esimerkiksi jos teoriaa on tarve käydä jo pakollisella opintojaksolla. Sisällön siirtäminen saattaisi olla tarpeellista molekyylipatologian menetelmien käytön lisääntyessä diagnostiikassa merkittävästi. Tulevaisuudessa molekyylipatologiasta voisi tarvittaessa tehdä myös oman opintojakson, sisältäen käytännön harjoittelun. Jatkokehityksaiheena verkko-oppimateriaaliin voisi lisätä sisältöä muista molekyylipatologialla käytetyistä menetelmistä. Lisäksi materiaalin voisi kääntää englanniksi, jolloin se olisi käytettävissä myös kansainvälisessä opetuksessa.

LÄHTEET

- The Association of Clinical Pathologists 2022. Molecular Pathology. Verkkojulkaisu. <https://pathologists.org.uk/specialities/molecular-pathology/>. Viitattu 27.9.2022.
- Arene ry 2018. Ammattikorkeakoulujen opinnäytetöiden eettiset suositukset. Pdf-tiedosto. Ammattikorkeakoulujen rehtorineuvosto. Julkaistu 21.5.2018. Päivitetty 9.1.2020. <https://www.arene.fi/julkaisut/raportit/opinnaytetoiden-eettiset-suositukset/>. Viitattu 12.1.2022.
- Baker, Monya 2012. Digital PCR hits its stride. *Nature Methods* 9, 541–544. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2027>. Viitattu 22.7.2022.
- Basu, Amar S. 2017. Digital Assays Part I: Partitioning Statistics and Digital PCR. *SLAS Technology* 22, 369–386. <https://doi.org/10.1177/2472630317705680>. Viitattu 4.4.2022.
- Bio-Rad Laboratories 2013a. Droplet Digital PCR (ddPCR) Technology. Verkkojulkaisu. <https://www.bio-rad.com/en-fi/life-science/learning-center/introduction-to-digital-pcr/what-is-droplet-digital-pcr?ID=MDV31M4VY>. Viitattu 12.1.2022.
- Bio-Rad Laboratories 2013b. Using Droplet Digital™ PCR for Cancer and Liquid Biopsy Studies. Video. Youtube-videopalvelu, julkaistu 31.12.2013. https://www.youtube.com/watch?v=pa2JMWa_5IY. Viitattu 31.7.2022.
- Bio-Rad Laboratories julkaisuaika tuntematon. Droplet Digital™ PCR Applications Guide. Pdf-tiedosto. https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6407.pdf. Viitattu 31.1.2022.
- Boyd, Sonja, Rönty, Mikko, Peltola, Katriina, Seppänen, Hanna, Kytölä, Soili, Ristimäki, Ari, Färkkilä, Martti & Arola, Johanna 2020. Molekyylipatologia apuna haima-, sappitie- ja maksasyövän diagnostiikassa. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 136, 2675–2681. <https://www.duodecimlehti.fi/duo15915>. Viitattu 24.1.2022.
- Cao, Lei, Cui, Xingue, Hu, Jie, Li, Zedong, Choi, Jane Ru, Yang, Qingzhen, Lin, Min, Li, Ying Hui & Xu, Feng 2017. Advances in digital polymerase chain reaction (dPCR) and its emerging biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics* 90, 459–474. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.082>. Viitattu 28.9.2022.
- Castellanos-Rizaldos, Elena, Paweletz, Cloud, Song, Chen, Oxnard, Geaoffrey R., Mamon, Harvey, Jänne, Pasi A. & Makrigiorgos, G. Mike 2015. Enhanced Ratio of Signals Enables Digital Mutation Scanning for Rare Allele Detection. *The Journal of Molecular Diagnostics* 17, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.12.003>. Viitattu 2.2.2022.
- Chen, Biao, Jiang, Yufeng, Cao, Xiaohua, Liu, Chen, Zhang, Ning & Shi, Dongmei 2021. Droplet digital PCR as an emerging tool in detecting pathogens nucleic acids in infectious diseases. *Clinica Chimica Acta* 517, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.02.008>. Viitattu 16.9.2022.
- Cree, Ian A, Deans, Zandra, Ligtenberg, Marjolijn J L, Normanno, Nicola, Edsjö, Anders, Rouleau, Etienne, Solé, Francesc, Thunnissen, Erik, Timens, Wim, Schuurin, Ed, Dequeker, Elisabeth, Murray, Samuel, Dietel, Manfred, Groenen, Patricia & Van Krieken J Han for the European Society of Pathology Task Force on Quality Assurance in Molecular Pathology and the Royal College of Pathologists 2014. Guidance for laboratories performing molecular pathology for cancer patients. *Journal of Clinical Pathology* 67, 923–931. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2014-202404>. Viitattu 18.9.2022.
- Cusenza, Vincenza Ylenia, Bisagni, Alessandra, Rinaldini, Monia, Cattani, Chiara & Frazzi, Raffaele 2021. Copy Number Variation and Rearrangements Assessment in Cancer: Comparison of Droplet Digital PCR with the Current Approaches. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms22094732>. Viitattu 1.8.2022.

Decraene, Charles, Silveira, Amanda B., Bidard, François-Clément, Vallée, Audrey, Michel, Marc, Melaabi, Samia, Vincent-Salomon, Anne, Saliou, Adrien, Hoyu, Alexandre, Milder, Lantz, Olivier, Ychou, Marc, Denis, Marc G., Pierga, Jean-Yves, Stern, Marc-Henri & Proudhon, Charlotte 2018. Multiple Hotspot Mutations Scanning by Single Droplet Digital PCR. *Clinical Chemistry* 64, 317–328. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.272518>. Viitattu 12.1.2022.

Deharvengt, Sophie J. & Tsongalis, Gregory J. 2017. Molecular Assessment of Human Diseases in the Clinical Laboratory. Teoksessa William B. Coleman & Gregory J. Tsongalis (toim.) *Molecular Pathology. The Molecular Basis of Human Disease*. E-kirja. 2. painos. London: Academic Press, 709–730. Viitattu 24.11.2021.

D'Haene, Nicky, Le Mercier, Marie, De Nève, Nancy, Blanchard, Oriane, Delaunoy, Mélanie, El Housni, Hakim, Dessars, Barbara, Heimann, Pierre, Rimmelink, Myriam, Demetter, Pieter, Tejpar, Sabine & Salmon, Isabelle 2015. Clinical Validation of Targeted Next Generation Sequencing for Colon and Lung Cancers. *Public Library of Science ONE* 10 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138245>. Viitattu 11.1.2022.

Diaz, Luis A. Jr & Bardelli, Alberto. Liquid Biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *Journal of Clinical Oncology* 32, 579–586. <https://doi.org/10.1200/jco.2012.45.2011>. Viitattu 22.9.2022.

The dMIQE Group & Huggett, Jim 2020. The Digital MIQE Guidelines Update: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clinical Chemistry* 66, 1012–1029. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa125>. Viitattu 30.6.2022.

Elomaan koulu julkaisuaika tuntematon. Oppimistyyli. Verkkójulkaisu. Peda.net. <https://peda.net/hirvensalmi/elomaan-koulu/y%C3%A4koulu/oppiaineet/oppilaan-ohjaus/7-luokka/oppimistyyli2/oppimistyyli>. Viitattu 2.11.2022.

Fan, Yi-Qiang, Wang, Mei, Gao, Feng, Zhuang, Jian, Tang, Gang, & Zhang, Ya-Kun 2016. Recent Development of Droplet Microfluidics in Digital Polymerase Chain Reaction. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 44, 1300–1307. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(16\)60953-2](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(16)60953-2). Viitattu 19.6.2022.

Froyen, Guy, Broekmans, An, Hillen, Femke, Pat, Karin, Achten, Ruth, Mebis, Jeroen, Rummens, Jean-Luc, Willemsse, Johan & Maes, Brigitte 2016. Validation and Application of a Custom-Designed Targeted Next-Generation Sequencing Panel for the Diagnostic Mutational Profiling of Solid Tumors. *Public Library of Science ONE* 11 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154038>. Viitattu 9.8.2022.

Galbiati, Silvia, Damin, Francesco, Burgio, Valentina, Brisci, Angela, Soriani, Nadia, Belcastro, Bernadette, Di Resta, Chiara, Gianni, Luca, Chiari, Marcella, Ronzoni, Monica & Ferrari, Maurizio 2019. Evaluation of three advanced methodologies, COLD-PCR, microarray and ddPCR, for identifying the mutational status by liquid biopsies in metastatic colorectal cancer patients. *Clinica Chimica Acta* 489, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.12.004>. Viitattu 2.2.2022.

Gassa, Asmae, Fassunke, Jana, Schueten, Sarah, Kuhlmann, Luca, Scherer, Marie, Qien, Jie, Zhao, Yue, Michel, Max, Loeser, Hike, Wolf, Juergen, Buettner, Reinhard, Doerr, Fabian, Heldwein, Matthias, Hagemeyer, Lars, Frank, Konrad, Merkelbach-Bruse, Sabine, Quaas, Alexander, Bruns, Christiane, Hekmat, Khosro, Weiss, Jonathan, Wahlers, Thorsten & Alakus, Hakan 2021. Detection of circulating tumor DNA by digital droplet PCR in resectable lung cancer as a predictive tool for recurrence. *Lung Cancer* 151, 91–96. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2020.10.019>. Viitattu 31.7.2022.

Halinen, Irmeli, Hotulainen, Risto, Kauppinen, Eija, Nilivaara, Päivi, Raami, Asta & Vainikainen, Mari-Pauliina 2016. *Ajattelun taidot ja oppiminen*. E-kirja. Jyväskylä: PS-kustannus. Viitattu 31.10.2022.

Healthline Media 2021. An Overview of EGFR Mutation Lung Cancer. Verkkójulkaisu. Päivitetty 21.4.2021. <https://www.healthline.com/health/lung-cancer/egfr-mutation-lung-cancer>. Viitattu 5.9.2022.

- Heredia, Nicholas J., Belgrader Phillip, Wang, Shenglong, Koehler, Ryan, Regan, Jack, Cosman, Angela M., Saxonov, Serge, Hindson, Benjamin, Tanner, Stephanie C., Brown, Alexandra S. & Karlin-Neumann, George 2013. Droplet Digital™ PCR quantitation of HER2 expression in FFPE breast cancer samples. *Methods* 59, 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.09.012>. Viitattu 31.7.2022.
- Holm, Matilda, Andersson, Emma, Osterlund, Emerik, Ovissi, Ali, Soveri, Leena-Maija, Anttonen, Anna-Kaisa, Kytölä, Soili, Aittomäki, Kristiina, Osterlund, Pia & Ristimäki, Ari 2020. Detection of KRAS mutations in liquid biopsies from metastatic colorectal cancer patients using droplet digital PCR, Idylla, and next generation sequencing. *Public Library of Science ONE* 15 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239819>. Viitattu 10.1.2022.
- Horak, Peter, Fröhling, Stefan & Glimm, Hanno 2016. Integrating next-generation sequencing into clinical oncology: strategies, promises and pitfalls. *ESMO Open* 1 (5). <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2016-000094>. Viitattu 10.8.2022.
- Horelli-Kuitunen, Nina & Orpana, Arto 2016. Geenitestauksen menetelmiä. Teoksessa Kristiina Aittomäki, Jukka Moilanen & Markus Perola (toim.) *Lääketieteellinen genetiikka*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 4.4.2022.
- Hsiao, Susan J., Aisner, Dara L. & Ewalt, Mark D. 2018. Clinical Next-Generation Sequencing Assays for Solid Tumors: Current Practices, Technological Advances, and Challenges in Clinical Practice. *Advances in Molecular Pathology* 1, 167–182. <https://doi.org/10.1016/j.yamp.2018.07.008>. Viitattu 18.8.2022.
- Hu, Taishan, Chitnis, Nilesh, Monos, Dimitri & Dinh, Anh 2021. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology* 82, 801–811. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>. Viitattu 13.8.2022.
- Huerta, Marisol, Roselló, Susana, Sabater, Luis, Ferrer, Ana, Tarazona, Noelia, Roda, Desamparados, Gambardella, Valentina, Alfaro-Cervelló, Clara, Garcés-Albir, Marina, Cervantes, Andrés & Ibarrola-Villava, Maider 2021. Circulating Tumor DNA Detection by Digital-Droplet PCR in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Systematic Review. *Cancers* 2021, 13 (5). <https://doi.org/10.3390/cancers13050994>. Viitattu 18.8.2022.
- Huhtanen, Akseli 2019. Verkko-oppimisen muotoilukirja. Käytännön työkaluja laadukkaaseen verkko-oppimisen muotoiluun. Verkkokirja. Aalto-yliopisto. <https://fitech.io/app/uploads/2019/09/Verkko-oppimisen-muotoilukirja-v-1.4.1-web.pdf>. Viitattu 22.9.2022.
- Hussen, Bashdar Mahmud, Abdullah, Sara Tharwat, Salihi, Abbas, Sabir, Dana Khdr, Sidiq, Karzan R., Rasul, Mohammed Fatih, Hidayat, Hazha Jamal, Ghafouri-Fard, Soudeh, Taheri, Mohammad & Jamali, Elena 2022. The emerging roles of NGS in clinical oncology and personalized medicine. *Pathology – Research and Practice* 230. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.153760>. Viitattu 15.8.2022.
- Illumina 2017. An introduction to Next-Generation Sequencing Technology. Pdf-tiedosto. https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf. Viitattu 5.4.2022.
- Ilomäki, Liisa 2012a. Erilaiset e-oppimateriaalit. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) *Laatua e-oppimateriaaleihin*. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 7–11. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatua_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 6.5.2021.
- Ilomäki, Liisa 2012b. Johdanto. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) *Laatua e-oppimateriaaleihin*. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 5–6. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatua_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 12.11.2021.

- Ilomäki, Liisa 2012c. Ohjaa asiantuntijamaiseen työskentelyyn. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) Laatu e-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 64–67. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatu_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 12.11.2021.
- Isomursu, Aleks, Kononen, Juha & Kuopio, Teijo 2015. Verenkierron solunulkoinen DNA syövän merkkiaineena. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 131, 424–432. <https://www.duodecimlehti.fi/lehti/2015/5/duo12134>. Viitattu 10.1.2022.
- Jaakkola, Tomi, Nirhamo, Lassi, Nurmi, Sami & Lehtinen, Erno 2012. Erilaiset oppimisaihiot osana joustavaa kokonaisuutta. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) Laatu e-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 12–24. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatu_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 12.11.2022.
- Jennings, Lawrence J., Arcila, Maria E., Corless, Christopher, Kamel-Reid, Suzanne, Lubin, Ira M., Pfeifer, John, Temple-Smolkin, Robyn L., Voelkerding, Karl V. & Nikiforova, Marina N. 2017. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing–Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *The Journal of Molecular Diagnostics* 19, 341–365. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.01.011>. Viitattu 9.8.2022.
- Johns Hopkins Medicine julkaisuaika tuntematon. BRAF Mutation and Cancer. Verkkójulkaisu. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/braf-mutation-and-cancer>. Viitattu 5.9.2022.
- Kapoor-Narula, Upasana & Lenka, Nibedita 2022. Cancer stem cells and tumor heterogeneity: Deciphering the role in tumor progression and metastasis. *Cytokine* 157. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.155968>. Viitattu 26.9.2022.
- Karjalainen, A. & Jaakkola, E. 1999. Ydinainesanalyysi. Verkkójulkaisu. Oulun yliopisto. https://www oulu.fi/koulutuspalvelut/julkaisut_ja_materiaalit/verkkomateriaaleja/ydinainesanalyysi.htm. Viitattu 23.9.2022.
- Kononen, Juha, Sundvall, Maria, Kontro, Mika & Rantala, Juha 2021. Ex vivo -mallit ja nestebiopsia yksilöllistetyssä syövänhoidossa. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 137, 1441–1448. <https://www.duodecimlehti.fi/duo16314>. Viitattu 18.9.2022.
- Kostamo, Pipsa, Airaksinen, Tiina & Vilka, Hanna 2022. Kirjoita itsesi asiantuntijaksi. Opas toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Helsinki: Art House.
- Kupias, Päivi & Koski, Mia 2012. Hyvä kouluttaja. E-kirja. Helsinki: Sanoma Pro. Viitattu 25.1.2022.
- Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021a. Massiivisella rinnakkaissekvensoinnilla kohti laajempia tutkimuksia. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 20.1.2022.
- Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021b. Molekyyli-genetiikan tutkimusmenetelmät. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 24.1.2022.
- Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021c. Molekyyli-patologian tulevaisuus. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 7.5.2021.

Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021d. Molekyylipatologinen näyte ja sen edustavuus. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 11.1.2022.

Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021e. Molekyylipatologisten ja -geneettisten menetelmien merkitys patologiassa. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 5.5.2021.

Kytölä, Soili, Kankainen, Matti & Ristimäki, Ari 2021f. Nestebiopsia ja muita uusia tutkimusmenetelmiä. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 24.1.2022.

Lakkala, Minna & Veermans, Marjaana 2012. Tue tietoista oppimista, itsesäätelyä ja metakognitiota. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) Laatu e-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 68–73. https://www.ooph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatu_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 9.11.2022.

Lappi-Blanco, Elisa, Salmenkivi, Kaisa, Kytölä, Soili & Kononen, Juha 2016. Keuhkosyövän molekyylipatologinen diagnostiikka edellyttää perustietoja myös klinikoilta. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 132, 593–599. <https://www.duodecimlehti.fi/duo13030>. Viitattu 18.9.2022.

Li, Haiyi, Bai, Ruolan, Zhao, Zhenyu, Tao, Lvyan, Ma, Mingbiao, Ji, Zhenhua, Jian, Miaomiao, Ding, Zhe, Dai, Xiting, Bao, Fukai & Liu, Aihua 2018. Application of droplet digital PCR to detect the pathogens of infectious diseases. Bioscience Reports 38 (6). <https://doi.org/10.1042/BSR20181170>. Viitattu 22.9.2022.

Magulod Jr., Gilbert 2019. Learning styles, study habits and academic performance of Filipino University students in applied science courses: Implications for instruction. Journal of Technology and Science Education 9, 184–198. <http://dx.doi.org/10.3926/jotse.504>. Viitattu 22.10.2022.

Marstio, Tuija 2020. Verkko-opinnon muotoilu. Käsikirja. Verkkokirja. Laurea-ammattikorkeakoulu. Laurea-julkaisut 134. <https://urn.fi/URN:ISBN:978-951-799-568-9>. Viitattu 25.1.2022.

Mathai, Roshni Ann, Vidya, Ryali Valli Sri, Reddy, B. Shrikar, Thomas, Levin, Udupa, Karthik, Kolesar, Jill & Rao, Mahadev 2019. Potential Utility of Liquid Biopsy as a Diagnostic and Prognostic Tool for the Assessment of Solid Tumors: Implications in the Precision Oncology. Journal of Clinical Medicine 8 (3). <https://doi.org/10.3390/jcm8030373>. Viitattu 22.9.2022.

McDonough, Samantha J., Bhagwate, Aditya, Sun, Zhifu, Wang, Chen, Zschunke, Michael, Gorman, Joshua A., Kopp, Karla J. & Cunningham, Julie M. 2019. Use of FFPE-derived DNA in next generation sequencing: DNA extraction methods. Public Library of Science ONE 14 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211400>. Viitattu 11.1.2022.

McEvoy, Asleigh C., Wood, Benjamin A., Ardakani, Nima M., Pereira, Michelle R., Pearce, Robert, Cowell, Lester, Robinson, Cleo, Grieu-Iacopetta, Fabienne, Spicer, Alexander J., Amanuel, Benhur, Ziman, Melanie & Gray, Elin S. 2018. Droplet Digital PCR for Mutation Detection in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Melanoma Tissues: A Comparison with Sanger Sequencing and Pyrosequencing. The Journal of Molecular Diagnostics 20, 240–252. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.11.009>. Viitattu 4.2.2022.

Mediamaisteri julkaisu aika tuntematon. Tehtävätyypit & sisällöt. Verkkajulkaisu. [https://help.media-
maisteri.com/teht%C3%A4v%C3%A4tyypit-sis%C3%A4ll%C3%B6t](https://help.media-
maisteri.com/teht%C3%A4v%C3%A4tyypit-sis%C3%A4ll%C3%B6t). Viitattu 2.11.2022.

- MedLinePlus 2017. KRAS gene. Verkkojulkaisu. National Library of Medicine. Päivitetty 1.12.2017. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/kras/>. Viitattu 5.9.2022.
- Mikkilä-Erdmann, Mirjamaija 2017. Digitaalisen oppimateriaalin mahdollisuudet. Teoksessa Hannu Savolainen, Risto Viikko & Leena Vähäkylä (toim.) Oppimisen tulevaisuus. E-kirja. Helsinki: Gaudeamus. Viitattu 3.5.2021.
- Minato, Takamichi, Ito, Shin, Li, Bin, Fujimori, Haruna, Mochizuki, Mai, Yamaguchi, Kazunori, Tamai, Keiichi, Shimada, Muneaki, Tokunaga, Hideki, Shigeta, Shogo, Sato, Ikuro, Shima, Hiroshi, Yamada, Hidekazu, Yaegashi, Nobuo & Yasuda, Jun 2021. Liquid biopsy with droplet digital PCR targeted to specific mutations in plasma cell-free tumor DNA can detect ovarian cancer recurrence earlier than CA125. *Gynecologic Oncology Reports* 38. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2021.100847>. Viitattu 31.7.2022.
- MOgene 2021. What Are the Advantages of ddPCR Over Other PCR Variants? Verkkojulkaisu. <https://mogene.com/what-are-the-advantages-of-ddpcr-over-other-pcr-variants/>. Viitattu 5.9.2022.
- Müller, Claude, Stahl, Michael, Alder, Mark & Müller, Maximilian 2018. Learning Effectiveness and Students' Perceptions in A Flexible Learning Course. *European Journal of Open, Distance and E-Learning* 21 (2), 44–52. <https://doi.org/10.2478/eurodl-2018-0006>. Viitattu 22.10.2022.
- Mäkinen, Markus & Lehto Veli-Pekka 2012. Patologian varhaisvaiheet. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. E-kirja. Päivitetty 4.5.2021. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 27.4.2021.
- National Human Genome Research Institute 2022a. Primer. Verkkojulkaisu. Päivitetty 10.5.2022. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Primer>. Viitattu 5.11.2022.
- National Human Genome Research Institute 2022b. Probe. Verkkojulkaisu. Päivitetty 10.5.2022. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Probe>. Viitattu 5.11.2022.
- Normanno, Nicola, Cervantes, Andres, Ciardiello, Fortunato, De Luca, Antonella & Pinto, Carmine 2018. The liquid biopsy in the management of colorectal cancer patients: Current applications and future scenarios. *Cancer Treatment Reviews* 70, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.07.007>. Viitattu 24.1.2022.
- Nurmi, Sami 2012. Tue käsitteellistä muutosta. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) Laatus e-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 57–59. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatus_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 12.11.2022.
- Ojasalo, Katri, Moilanen, Teemu & Ritalahti, Jarmo 2015. Kehittämistyön menetelmät. Uudenlaista osaamista liiketoimintaan. E-kirja. 3.–4. painos. Helsinki: Sanoma Pro. Viitattu 2.10.2022.
- Olmedillas-López, Susana, Olivera-Salazar, Rocío, García-Arranz, Mariano & García-Olmo, Damián 2022. Current and Emerging Applications of Droplet Digital PCR in Oncology: An Updated Review. *Molecular Diagnosis & Therapy* 26, 61–87. <https://doi.org/10.1007/s40291-021-00562-2>. Viitattu 11.1.2022.
- Opetushallitus julkaisuaika tuntematon. E-oppimateriaalin laatukriteerit. Verkkojulkaisu. <https://www.oph.fi/fi/julkaisut/e-oppimateriaalin-laatukriteerit>. Viitattu 2.11.2022.
- Orte, Katri, Vainio, Paula, Mirtti, Tuomas, Taimen, Pekka, Arola, Johanna & Kallajoki, Markku 2021. Molekyylipatologia osana syöpäpotilaan hoitoa. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 137, 1433–1435. <https://www.duodecimlehti.fi/duo16298>. Viitattu 11.1.2022.

- Otandault, A., Anker, P., Al Amir Dache, Z., Guillaumon, V., Meddeb, R., Pastor, B., Pisareva, E., Sanchez, C., Tanos, R., Tusch, G., Schwarzenbach, H. & Thierry, A.R. 2019. Recent advances in circulating nucleic acids in oncology. *Annals of Oncology* 30, 374–384. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz031>. Viitattu 24.1.2022.
- Paavola, Sami, Ilomäki, Liisa & Lakkala, Minna 2012. Tiedon esittäminen verkko-oppimateriaalissa. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) *Laatua e-oppimateriaaleihin*. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. *Oppaat ja käsikirjat* 2012:5, 44–53. https://www.opi.fi/sites/default/files/documents/144415_laatua_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 12.11.2022.
- Quan, Phenix-Lan, Sauzade, Martin & Brouzes, Eric 2018. dPCR: A Technology Review. *Sensors* 18 (4). <https://doi.org/10.3390/s18041271>. Viitattu 28.7.2022.
- Sairaala Nova 2021a. BRAF-geenin mutaatiotutkimus, solunulkoinen (free) DNA. Verkojulkaisu. Päivitetty 1.2.2022. [https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Ammattilaisille/Patologian_tutkimusohjeet/BRAFgeenin_mutaatiotutkimus_plasma\(63416\)](https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Ammattilaisille/Patologian_tutkimusohjeet/BRAFgeenin_mutaatiotutkimus_plasma(63416)). Viitattu 4.8.2022.
- Sairaala Nova 2021b. EGFR-geenin mutaatiotutkimus, solunulkoinen (free) DNA. Verkojulkaisu. Päivitetty 6.5.2022. https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Ammattilaisille/Patologian_tutkimusohjeet/EGFRgeenin_mutaatiotutkimus_plasma. Viitattu 4.8.2022.
- Sairaala Nova 2021c. KRAS-geenin mutaatiotutkimus, solunulkoinen (free) DNA. Verkojulkaisu. Päivitetty 20.6.2022. https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Ammattilaisille/Patologian_tutkimusohjeet/KRASgeenin_mutaatiotutkimus_plasma. Viitattu 4.8.2022.
- Sairaala Nova 2022a. Molekyylipatologia, menetelmät. Verkojulkaisu. Päivitetty 1.2.2022. https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Hoito_ja_tutkimukset/Erikoisalat/Patologia/Molekyylipatologia_menetelmat. Viitattu 31.7.2022.
- Sairaala Nova 2022b. Molekyylipatologia, nestebiopsia. Verkojulkaisu. Päivitetty 1.2.2022. https://www.sairalanova.fi/fi-FI/Hoito_ja_tutkimukset/Erikoisalat/Patologia/Molekyylipatologia_nestebiopsia. Viitattu 31.7.2022.
- Sajaniemi, Nina 2016. Vanhat aivot, uudet oppimisympäristöt – digitalisaatio evoluution haastajana. Teoksessa Annarilla Ahtola (toim.) *Psyykinen hyvinvointi ja oppiminen*. E-kirja. Jyväskylä: PS-kustannus. Viitattu 2.11.2022.
- Salminen, Leena, Saaranen, Terhi & Sormunen, Marjorita 2018. Oppimisympäristöt ja opetusmenetelmät opettajan työssä. Teoksessa Terhi Saaranen, Meeri Koivula, Heidi Ruotsalainen, Carola Wärnå-Furu & Leena Salminen (toim.) *Terveysalan opettajan käsikirja*. E-kirja. Helsinki: Tietosanomaa. Viitattu 22.10.2022.
- Salonen, Kari 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Opas opiskelijoille, opettajille ja TKI-henkilöstölle. Verkkokirja. Turun ammattikorkeakoulu. Turun ammattikorkeakoulun puheenvuoroja 72. <http://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522163738.pdf>. Viitattu 2.10.2022.
- Salonen, Kari, Eloranta, Sini, Hautala, Tiina & Kinos, Sirppa 2017. Kehittämistoiminta ja kehittämisen menetelmiä ammatillisessa korkeakoulutuksessa. Verkkokirja. Turun ammattikorkeakoulu. Turun ammattikorkeakoulun oppimateriaaleja 108. <https://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522166494.pdf>. Viitattu 2.10.2022.
- Savonia-ammattikorkeakoulu 2022a. TB19SP Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma, asiantuntijuuden kehittyminen. Verkojulkaisu. <https://www.savonia.fi/opiskele-tutkinto/tutkinnot-ja-hakeminen/opetus-suunnitelmat/?yks=KS&krtid=1240&tab=4>. Viitattu 5.11.2022.
- Savonia-ammattikorkeakoulu 2022b. TB19SP Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma, opintojaksotaulukko. Verkojulkaisu. <https://www.savonia.fi/opiskele-tutkinto/tutkinnot-ja-hakeminen/opetus-suunnitelmat/?yks=KS&krtid=1240>. Viitattu 5.11.2022.

- Savonia-ammattikorkeakoulu 2022c. TB19SP Bioanalyttikon tutkinto-ohjelma, osaamistavoitteet. Verkkojulkaisu. <https://www.savonia.fi/opiskele-tutkinto/tutkinnot-ja-hakeminen/opetusuunnitelmat/?yks=KS&krtid=1240&tab=2>. Viitattu 5.11.2022.
- Stewart, Caitlin M., Kothari, Prachi D., Mouliere, Florent, Mair, Richard, Somnay, Saira, Benayed, Ryma, Zehir, Ahmet, Weigelt, Britta, Dawson, Sarah-Jane, Arcila, Maria E., Berger, Michael F. & Tsui, Dana WY 2018. The value of cell-free DNA for molecular pathology. *The Journal of Pathology* 244, 616–627. <https://doi.org/10.1002/path.5048>. Viitattu 27.4.2021.
- Sunami, Kuniko, Ichikawa, Hitoshi, Kubo, Takashi, Kato, Mamoru, Fujiwara, Yutaka, Shimomura, Akihiko, Koyama, Takafumi, Kakishima, Hiroki, Kitami, Mayuko, Matsushita, Hiromichi, Furukawa, Eisaku, Narushima, Daichi, Nagai, Momoko, Taniguchi, Hirokazu, Motoi, Noriko, Sekine, Shigeki, Maeshima, Akiko, Mori, Taisuke, Watanabe, Reiko, Yoshida, Masayuki, Yoshida, Akihiko, Yoshida, Hiroshi, Satomi, Kaishi, Sukeda, Aoi, Hashimoto, Taiki, Shimizu, Toshio, Iwasa, Satoru, Yonemori, Kan, Kato, Ken, Morizane, Chigusa, Ogawa, Chitose, Tanabe, Noriko, Sugano, Kokichi, Hiraoka, Nobuyoshi, Tamura, Kenji, Yoshida, Teruhiko, Fujiwara, Yasuhiro, Ochiai, Atsushi, Yamamoto, Noboru & Kohno, Takashi 2019. Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting: A hospital-based study. *Cancer Science* 110, 1480–1490. <https://doi.org/10.1111/cas.13969>. Viitattu 11.1.2022.
- Suomen Bioanalyttikkoliitto ry julkaisuaika tuntematon. Kliininen histologia ja sytologia. Verkkojulkaisu. <https://www.bioanalyttikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalyttikko/bioanalyttikon-koulutus/erikoisalatkliininen-histologia-ja-sytologi/>. Viitattu 29.4.2021.
- Suomen Bioanalyttikkoliitto ry 2017. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Pdf-tiedosto. Päivitetty 26.8.2017. https://www.bioanalyttikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf. Viitattu 7.5.2021.
- Sussman, Robyn T., Shaffer, Sydney, Azzato, Elizabeth M., DeSloover, Daniel, Farooqi, Midhat S., Meyer, Anders, Lieberman, David B., Bigdeli, Ashkan, Paolillo, Carmela, Ganapathy, Karthik, Sukhadia, Shrey, Rosenbaum, Jason N., Daber, Robert D. & Morrisette, Jennifer J.D. 2018. Validation of a next-generation sequencing oncology panel optimized for low input DNA. *Cancer Genetics* 228, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2018.08.004>. Viitattu 18.8.2022.
- Tapola, Anna & Veermans, Marjaana 2012. Herätä ja tue kiinnostusta ja motivaatiota. Teoksessa Liisa Ilomäki (toim.) Laatu e-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Verkkokirja. Opetushallitus. Oppaat ja käsikirjat 2012:5, 74–81. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatu_e-oppimateriaaleihin_2.pdf. Viitattu 8.11.2022.
- TENK 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Pdf-tiedosto. Tutkimuseettinen neuvottelukunta. Julkaistu 14.11.2012. https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf. Viitattu 7.5.2021.
- Uplus 2022. Oppimistyylit – Onko niitä olemassa? Verkkojulkaisu. <https://www.uplus.fi/oppimistyylit-onko-niita-olemassa/>. Viitattu 1.11.2022.
- Van Casteren, Kaat, Keppens, Cleo, Schuurin, Ed, Deans, Zandra C., Normanno, Nicola, Patton, Simon J., Dequeker, Elisabet M.C., in collaboration with the International Quality Network for Pathology ctDNA Working Group & the European Society of Pathology Foundation Assessors 2020. External Quality Assessment Schemes for Biomarker Testing in Oncology: Comparison of Performance between Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded–Tissue and Cell-Free Tumor DNA in Plasma. *The Journal of Molecular Diagnostics* 22, 736–747. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.02.011>. Viitattu 24.1.2022.
- Vilkka, Hanna 2021. Näin onnistut oppinäytetyössä. Ratkaisut tutkimuksen umpikujiin. Jyväskylä: PS-kustannus.

Xue, Vivian Weiwen, Wong, Cesar Sze Chuen & Cho, William Chi Shing 2019. Early detection and monitoring of cancer in liquid biopsy: advances and challenges. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 19, 273-276. <https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1583104>. Viitattu 22.9.2022.

Zhu, Yazhen, Lu, Dan, Lira, Maruja E., Xu, Qing, Du, Yunzhi, Xiong, Jianghong, Mao, Mao, Chung, Hyun Cheol & Zheng, Guangjuan 2016. Droplet digital polymerase chain reaction detection of HER2 amplification in formalin fixed paraffin embedded breast and gastric carcinoma samples. *Experimental and Molecular Pathology* 100, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.11.027>. Viitattu 2.2.2022.