

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

2023

Alina Kuutti, Wilma Gestrin ja Åsa Kumpulainen

KROMOSOMISTON DIAGNOSTIIKKA

– Verkkototeutus molekyyli­genetiikan syventävälle
opintojaksolle



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bioanalytikkokoulutus

2023 | 35 sivua

Alina Kuutti, Wilma Gestrin ja Åsa Kumpulainen

Kromosomiston diagnostiikka

- Verkkototeutus molekyyli­genetiikan syventävälle opintojaksolle

Tässä opinnäytetyössä käsitellään solunjakautumista, erilaisia periytymistapoja, yleisemmin tunnettuja sekä harvinaisempia geenimutaatioita ja molekyyli­genetiikan diagnostiikkaa ja menetelmiä.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa verkko-oppimateriaalia Turun ammattikorkeakoululle. Verkkototeutus on tarkoitettu bioanalytiikan opiskelijoille, jotka haluavat syventyä molekyyli­genetiikkaan. Molekyyli­genetiikan syventävälle opintojaksolle haluttiin lisätä tarjontaa, joten opinnäytetyö on tehty tätä tarkoitusta varten.

Opinnäytetyön oppimateriaali rakennettiin itslearnin-alustalle, joka antaa opiskelijoille mahdollisuuden edetä omaan tahtiin opiskelijoiden henkilökohtaisten tavoitteiden mukaisesti.

Itslearning-alustan oppimateriaali koostuu kirjallisuusosioista, erilaisista tehtävistä ja lopputentistä. Materiaalissa keskitytään erityisesti periytymiseen, geenivirheisiin sekä laboratorion diagnostiikkaan.

Asiasanat:

diagnostiikka, genetiikka, kromosomi, periytyminen, solu- ja molekyylibiologia, verkko-oppimateriaali

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biomedical laboratory science

2023 | 35 pages

Alina Kuutti, Wilma Gestrin ja Åsa Kumpulainen

Chromosome sets diagnostics

-Online study material for molecular genetics -advanced course

This thesis will discuss cell division, different methods of inheritance, commonly known and rarer gene mutations, as well as, molecular genetics diagnostics and methods.

The purpose of this thesis is to produce online learning material for the Turku University of Applied Sciences. This online learning material is intended for biomedical laboratory science students who want to deepen their knowledge of molecular genetics.

The learning material for the thesis is built on the itslearning platform, which gives students the opportunity to progress at their own pace in accordance with the students' personal goals.

The itslearning online material consists of a literature section, various tasks and a final exam. The material focuses especially on inheritance, genetic mutations and laboratory diagnostics.

Keywords:

diagnostics, genetics, chromosome, inheritance, cellular and molecular biology, online learning

Sisältö

| | |
|---|-----------|
| Käytetyt lyhenteet ja sanasto | 6 |
| 1 Johdanto | 7 |
| 2 Solunjakautuminen ja periytyminen | 8 |
| 2.1 Mitoosi | 8 |
| 2.2 Meioosi | 9 |
| 2.2.1 Meioosi tuottaa monimuotoisuutta | 10 |
| 2.3 Autosominen periytyminen | 10 |
| 2.4 X-kromosomaalinen periytyminen | 11 |
| 2.5 Mosaikismi | 13 |
| 3 Geenivirheet ja kromosomihäiriöt | 14 |
| 3.1 Huntingtonin tauti | 14 |
| 3.2 Von Willebrandin tauti | 15 |
| 3.3 Kystinen fibroosi | 15 |
| 3.4 Tay-Sachs'n tauti | 16 |
| 3.5 Kromosomihäiriöt | 16 |
| 4 Diagnostiikka | 18 |
| 4.1 Geenitutkimukset | 18 |
| 4.2 Kromosomitutkimukset | 19 |
| 4.3 Näyttemateriaali | 19 |
| 4.4 DNA eristys | 20 |
| 4.5 Elektroforeesi | 20 |
| 4.6 Diagnostiset menetelmät | 21 |
| 4.6.1 Sekvensointimenetelmät | 21 |
| 4.6.2 Fragmenttianalyysi | 22 |
| 4.6.3 Hybridisaatiomenetelmät | 23 |
| 4.6.4 Soluviljely | 24 |
| 5 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 6 Opinnäytetyön käytännön toteutus | 27 |
| 6.1 Laadukas verkko-oppimateriaali | 27 |
| 6.2 Opinnäytetyön toteutus | 27 |
| 6.3 Metodologiset lähtökohdat | 30 |
| 6.4 Eettiset lähtökohdat | 31 |
| 7 Pohdinta | 32 |
| Lähteet | 33 |

Kuvat

| | |
|--|----|
| Kuva 1 Verkkoalustan näkymä..... | 29 |
| Kuva 2 Diagnostiikka-osion näkymä | 29 |
| Kuva 3 Opinnäytetyön prosessin kulku | 30 |

Käytetyt lyhenteet ja sanasto

| | |
|-------------------|---|
| Biopsia | Koepala kudoksesta |
| Diploidi | Solu, joka sisältää jokaista kromosomia kaksi kappaletta (ihmisellä $2n = 46$ kromosomia) |
| Genotyyppi | Yksilön koko geneettinen rakenne |
| Haploidi | Solu, joka sisältää jokaista kromosomia yhden kappaleen (ihmisellä $n = 23$ kromosomia). Esimerkiksi sukusolut. |
| Kromatidi | Yksi kromosomin kahdesta identtisestä puolikkaasta, joka on kopioutunut solunjakautumisen aikana. |
| Mutaatio | Geneettinen virhe solun DNA:ssa |
| NGS | Next-generation sequencing – Uuden sukupolven sekvensointi |
| Sentromeeri | Kromosomin tiivistynyt alue, joka pitää vastinkromatidit kiinni toisissaan. |
| Somaattiset solut | Kehon kaikki solut, lukuunottamatta sukusoluja. |

1 Johdanto

Molekyyligenetiikka on nopeasti kasvava ja kehittyvä tieteenala, jolla on iso merkitys sairauksien diagnostiikassa, patogeneesin eli taudin kulun ja sen etenemisen seuraamisessa ja siihen tarvittavien markkerien löytämisessä. Molekyyligenetiikan kehittyminen auttaa hoitohenkilökuntaa myös parhaiden hoitomuotojen valitsemisessa sekä uusien laboratorion menetelmien keksimisessä. (Kassem et al., 2012.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda oppimateriaalia Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen molekyyligenetiikan syventävien opintojen itslearning-alustalle. Syventävän toteutuksen aiheena on solunjakautuminen ja kromosomiston diagnostiikka. Opinnäytetyön tekijät valitsivat aiheen, jonka ajateltiin syventävän jo aikaisemmin opinnoissa opittua asiaa, sekä tarjoavan opiskelijalle paremmat valmiudet työelämään.

Materiaali koostuu kirjallisesta osuudesta, tehtävistä sekä tentistä. Tentistä on tehty eri vaihtoehtoja uusintojen ja verkkototeutuksen pidempiaikaisen hyödyntämisen mahdollistamiseksi. Syventävien opintojen suorittaminen tehtävä- ja tenttimuodossa verkko-oppimisalustalla on uusi molekyyligenetiikan syventävien opintojen muoto aiempien vaihtoehtojen rinnalla, joka antaa opiskelijoille mahdollisuuden suorittaa syventävä verkkototeutus oman aikataulun mukaan.

.

2 Solunjakautuminen ja periytyminen

Kaikkien solujen elämässä vaihtelee interfaasi ja solunjakautuminen. Interfaasin aikana solu kasvaa kokoa ja DNA kahdentuu. Kaikki somaattiset solut jakautuvat mitoosin kautta. Tällöin yhdestä diploidista solusta syntyy kaksi diploidista tytärsolua. (Heino & Vuento, 2020, 278.) Sukusolut syntyvät tästä poikkeavalla jakautumisella, jota kutsutaan meioosiksi. Meioosin tarkoituksena on tuottaa haploideja soluja. (Heino & Vuento, 2020, 285-286.)

Periytymistä tutkitaan sukuhistorian kautta, ja kun geenivirhe on löydetty, voidaan varmistua periytymistavasta. Mendelöivien eli monogeenisten sairauksien periytymistavat ovat autosomaalisesti vallitseva ja peittyvä, X-kromosomaalisesti vallitseva ja peittyvä sekä harvoin Y-kromosomaalinen. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

2.1 Mitoosi

Mitoosi on yksivaiheinen tapahtuma, jossa solu jakautuu. Mitoosissa diploidinen solu jakaantuu kerran, josta muodostuu kaksi identtistä diploidista solua. Mitoosin tarkoituksena on eliön kasvu sekä vanhojen solujen korvaaminen uusilla. (Aittomäki et al., 2016, kappale 2.)

Mitoosi voidaan jakaa viiteen eri vaiheeseen, jotka ovat profaasi, prometafaasi, metafaasi, anafaasi ja telofaasi (Heino & Vuento, 2020, 281). Profaasi on mitoosin ensimmäinen vaihe, jossa muodostuvat suuntaa pitävät sukkularihmat eli toiselta nimeltään mikrotubulukset, kromosomit pakkautuvat ja lyhenevät huomattavasti, sekä tumakotelo hajoaa. Myös sentromeeri kaventuu. Profaasi päättyy tumakotelon hävitessä. (Aula et al., 2006, 34; Heino & Vuento, 2020, 281.) Prometafaasivaiheessa mikrotubulukset muodostavat mitoosisukkulan. Mikrotubulukset muodostavat kromosomien sentromeerikohdalle kinetokorin, johon ne kiinnittyvät. (Heino & Vuento, 2020, 281.)

Metafaasivaiheessa tumajyvän häviää ja sentrosomit syntyvät. Sentrosomi auttaa sukkularihmoja muodostamaan köysistön eli mitoosisukkulan ja

ohjaamaan kromosomit solun keskusta. Kromosomien ollessa solun puolivälissä, ne muodostavat metafaasilevyn, eli kuvion, joka pystytään havaitsemaan mikroskoopilla ja tätä vaihetta kutsutaan metafaasiksi. (Aula et al., 2006, 34.)

Siirryttäessä metafaasista anafaasiin, eli mitoosin myöhäisvaiheeseen, kromatidien varret kääntyvät vastakkaisia napoja kohti vain sentromeerin ollessa jakautumistasossa. Anafaasissa sisarkromatidit eroavat toisistaan, ja sukkularihmat ohjaavat ne vastakkaisille navoille, joissa identtiset kromosomit ovat nyt solun vastakkaisissa päissä. (Aula et al., 2006, 34.)

Telofaasissa eli mitoosin loppuvaiheessa syntyy supistusvoima, joka muodostaa mikroskoopissa havaittavan supistusrenkaan. Tämä supistusvoima saa solun jakautumaan kahtia, jolloin syntyy kaksi diploidista solua, joiden DNA on puoliintunut. (Aula et al., 2006, 34.)

2.2 Meioosi

Kaikki sukusolut eli gameetit syntyvät meioosin kautta. Meioosi on prosessi, jonka seurauksena yhdestä diploidista solusta syntyy kahden jakautumisen kautta neljä haploidista solua. Kumpikin jako jaetaan edelleen viiteen osaan kuten mitoosissa eli profaasiin, prometafaasiin, metafaasiin, anafaasiin ja telofaasiin. (Alberts et al., 2002.)

Ennen solun jakautumista kromosomit kahdentuvat muodostaen kaksi sisarkromatidia, jotka pariutuvat vastinkromosomiensa kanssa. Ensimmäisen jaon aikana ihmisellä 46 kahdentunutta kromosomia jakautuu, jolloin syntyy kaksi solua, jotka sisältävät 23 kahdentunutta kromosomia. Toisen jaon aikana sisarkromatidit erkanevat, jolloin muodostuu neljä kromosomia, jotka sisältävät 23 kromosomia. (Alberts et al., 2002.)

Jo meioosin alkuvaiheessa voi kuitenkin tapahtua ratkaisevia virheitä. Meioosin ensimmäisessä vaiheessa kromosomien uudelleenjärjestäytymisessä muodostuu kiasma, joka kiinnittää kromosomit toisiinsa. Jos kiasman asettelussa tai kokoonpanossa tapahtuu virhe, se voi häiritä homologien asettumista ja

liikkumista vastakkaisille navoille. (Potapova & Gorbsky, 2017.) Tällaiset virheet kromosomien jakautumisessa voivat johtaa kromosomien poikkeaviin lukumääriin muodostuneissa sukusoluissa, mikä suurimmassa osassa tapauksista johtaa keskenmenoon. Poikkeavat määrät kromosomeja voivat kuitenkin aiheuttaa myös erilaisia oireyhtymiä. (Alberts et al., 2002.)

2.2.1 Meioosi tuottaa monimuotoisuutta

Meioosi tuottaa monimuotoisuutta kahdella eri tavalla: tekijäinvaihdunnan kautta ja kromosomien sattumanvaraisella jakautumisella tytärsolujen kesken. Sukusolut sisältävät kutakin kromosomia vain yhden kappaleen, joista toinen on alun perin peritty isältä ja toinen äidiltä. Meioosin ensimmäisen jaon aikana kromosomit asettautuvat jakotasoon sattumanvaraisesti, jolloin äidiltä ja isältä perityt kromosomit jakautuvat tytärsolujen kesken myös sattumanvaraisesti. Tämä tuottaa geneettistä monimuotoisuutta lajissa. (Alberts et al., 2002.)

Monimuotoisuutta luo tämän lisäksi myös kromosomien välillä tapahtuva tekijäinvaihdunta. Sitä tapahtuu meioosin ensimmäisen jaon profaasin aikana, kun vastinkromosomit pariutuvat ja kiinnittyvät toisiinsa kiasmojen kohdilla. Näissä kohdissa DNA:n kaksoiskierre katkeaa kummassakin kromatidissa ja fragmentit vaihtavat keskenään paikkoja. (Alberts et al., 2002.)

2.3 Autosominen periytyminen

Autosomeilla viitataan kromosomeihin 1–22, jotka on numeroitu järjestykseen niiden lyhenevän pituuden perusteella ja jaettu ryhmiin niiden muodon ja sentromeerin perusteella. Jokaisella kromosomilla on myös sille ominaiset raidat, jonka perusteella se voidaan tunnistaa. Autosomit voivat periä vallitsevasti eli dominantisti, tai peittyvästi eli resessiivisesti. Dominantti periytyminen tarkoittaa sitä, että sairauden ilmenemiseen riittää se, että vain toisessa alleelissa on mutaatio. Resessiivinen periytyminen taas sitä, että molemmissa alleeleissa on mutaatio. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Autosomisesti dominanttien mutaatioiden periytymisessä ei ole eroa sukupuolten välillä. Dominantin mutaation perinyt henkilö voi olla heterozygootti (mutaatio vain toisessa alleelissa) tai homozygootti (mutaatio molemmissa alleeleissa). Riippuen taudista, on mahdollista, että homozygootin henkilön taudinkuva on vaikeampi kuin heterozygootin. Sairaana henkilön lasten riski periä sairaus on 50 %. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Autosomisesti resessiiviseen tautiin sairastuneen lapsen vanhemmat ovat yleensä oireettomia kantajia, ja periytymisessä ei ole eroa sukupuolten välillä. Resessiivisen sairauden perinyt henkilö on aina homozygootin, sillä sairauden ilmentyminen vaatii mutaation molemmissa alleeleissa. Kun molemmilla vanhemmilla on resessiivinen tautigeeni, on lapsen riski sairastua resessiiviseen sairauteen 25 %. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

2.4 X-kromosomaalinen periytyminen

X-kromosomaalinen periytyminen tarkoittaa, että mutaatio on X-kromosomissa, ja näin ollen periytyy eri tavalla eri sukupuolille. Jos miehellä on X-kromosomissaan mutaatio, on hän hemisyygootti ja kaikki tyttäret perivät isältään tämän mutaation, mutta kukaan pojista ei. Äidiltä taas periytyminen pojille ja tyttärille on yhtä todennäköistä. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Useimmiten naiset ovat oireettomia kantajia X-kromosomaalisissa taudeissa, kun kyseessä on peittyvä taudin muoto. Naiset voivat kuitenkin vallitsevassa taudissa saada vain hyvin lieviä oireita X-kromosomin inaktivaation takia. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Lyonisaatio eli X-kromosomin inaktivaatio tapahtuu kaikille naisille varhaisessa alkionkehityksessä. Tämä tarkoittaa, että vaikka naisella on kaksi X-kromosomia, niin vain toinen niistä toimii täysin aktiivisesti, joka vaikuttaa X-kromosomin mutaatioiden ilmentymiseen naisilla. Lyonisaation ansiosta, vaikka toisessa X-kromosomissa olisi dominanttikin mutaatio, voi se olla ns. inaktiivinen tai aiheuttaa vain lieviä oireita. Lyonisaatio aiheuttaa kuitenkin myös riskin siihen, että resessiivinen mutaatio toisessa X-kromosomissa voi aiheuttaa oireita, jos se

sattuu valikoitumaan aktiiviseksi X-kromosomiksi. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

X-kromosomaalisesti dominantti sairaus periytyy hyvin samalla tavalla kuin autosomaalisesti dominantit sairaudet. Sairaan vanhemman lapsella on 50 % riski periä mutaatio, mutta sukupuolten välillä on eroja periytymisessä. Pojat eivät voi saada isältään dominanttia X-kromosomin mutaatiota, mutta kaikki tytöt saavat sen isältään. Kaikki tytöt eivät kuitenkaan välttämättä sairastu lyonisaation ansiosta. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Esimerkki X-kromosomaalisesti dominantista periytyvästä taudista on Alportin tauti. Se aiheuttaa jo nuorena pojille munuaisten vajaatoimintaa, verivirtsaisuutta sekä kuulon heikkenemisen, kun taas tytöillä oireet ovat lyonisaation vuoksi yleensä lievempiä ja usein ainoaksi oireeksi jää verivirtsaisuus. Alportin tauti voi periytyä myös autosomaalisesti, jolloin oireet ovat molemmilla sukupuolilla samanlaiset. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

X-kromosomaalisesti resessiiviset taudit ovat dominantteja yleisempiä, mikä tarkoittaa, että naiset sairastuvat kahden X-kromosominsa ansiosta mutaation aiheuttamaan tautiin huomattavasti harvemmin kuin miehet, mutta jäävät kantajiksi. Vanhemmat ovat yleensä terveitä ja sairaus ei periydy isältä pojalle. Lyonisaation vuoksi naiset saattavat kuitenkin kärsiä lievistä tautigeenin oireista. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

Esimerkki X-kromosomaalisesti resessiivisestä periytyvästä taudista on A-Hemofilia. Se aiheuttaa mustelma- sekä verenvuototaipumuksen hyytymistekijä VIII:n puuttumisen vuoksi. A-hemofiliaan sairastuu vain pojat ja tyttäret ovat yleensä terveitä kantajia. Tyttöillään voidaan kuitenkin havaita lievää poikkeavuutta hyytymistekijä VIII:n aktiivisuudessa. Tätä hyytymistekijää koodaavassa geenissä on todettu useita erilaisia mutaatioita, jotka ovat todennäköisimmin muodostuneet äidinisän meioosissa. (Aittomäki et al., 2016, kappale 4.)

2.5 Mosaikismi

Mosaikismi on ilmiö, jossa mitoosin virheellisen jakautumisen seurauksena yksilöllä on kaksi tai useampi solulinja yhden sijaan, jotka sisältävät erilaiset genotyypit. Mosaikismissa geneettinen variantti eli muunnos voi vaihdella kokonaisista kromosomeista yhden nukleotidin muunnoksiin. Mosaikismi voi vaikuttaa kaikkiin solutyyppeihin, mutta ei aina aiheuta sairautta. (Martínez-Glez et al., 2020; Biesecker, 2023.)

Mosaikismeja on erilaisia, kuten muun muassa somaattinen mosaikismi, mikä voi vaikuttaa mihin tahansa kudoks/solutyyppeihin paitsi sukusoluihin (muna- ja siittiösolut); sukusolumosaikismi, jossa mutaatiot rajoittuvat ainoastaan sukusoluihin, eikä vaikuta muihin kudoksiin. (Martínez-Glez et al., 2020.)

Somaattinen mosaikismi on todennäköisesti yleisin mosaikismin muoto mitä voidaan havaita iho-, verisuoni- ja liikakasvuhäiriöissä. Sukusolumosaikismia on vaikea havaita tai muuten epäillä, siksi useimmiten mutaatio huomataan vasta kun useampi kuin yksi lapsi syntyy X-kromosomaalisen tai autosomisesti dominantin geneettisen sairauden kanssa. Tutkimuksia tehdessä todetaan oireettomalla vanhemmalla mosaikismi sukurauhasissa. Diagnosointia varten mieheltä tutkitaan spermanäyte tai naiselta otetaan munasarjabiopsia. (Martínez-Glez et al., 2020; Trent, 2012.)

Mosaikismi täytyy ottaa huomioon perinnöllisyystutkimuksissa, sillä mutaatio, jota ei esimerkiksi esiinny ollenkaan verisoluissa vaan ainoastaan ihosoluissa, aiheuttaa virheellisen diagnoosin pelkän verinäytteen perusteella. (Tukiliitto, 2022.)

3 Geenivirheet ja kromosomihäiriöt

Ihmisellä on 46 kromosomia jokaisessa solussa sukusoluja lukuun ottamatta. Kromosomit sisältävät geenit, joista puolet ovat periytyneet äidiltä sekä isältä tasapuolisesti. Sukupuolikromosomeja on kaksi kappaletta. Naisella on XX-kromosomipari ja miehillä on XY-kromosomipari. Kromosomeissa voi esiintyä määrällisiä tai rakenteellisia mutaatioita. (Jalanko, 2021.)

Toisin kuinromosomeja, geenejä ihmisellä on tuhansia erilaisia. Geenit ovat DNA-jaksoja, jotka sisältävät valmistusohjeita erilaisten valkuaisaineiden aminohappoketjuihin. Jokaisesta solustamme löytyvät samat geenit, mutta geenien ilmentyminen riippuu solutyypistä. Geeneissä voi esiintyä mutaatioita, jotka riippuen tyypistä voivat aiheuttaa eritasoisia häiriöitä koodaamiensa valkuaisaineiden määriin tai ominaisuuksiin. (Jalanko, 1996.)

3.1 Huntingtonin tauti

Huntingtonin tauti on autosomisesti dominantti neurodegeneratiivinen sairaus, jonka aiheuttaa pidentymä Huntingtin geenin CAG-toistojaksossa kromosomin 4 lyhyen käsivarren päässä kohdassa 4p16.3. Pidentynyt CAG-toistojakso aiheuttaa mutatoituneen Huntingtiiniproteiinin muodostumisen, mikä johtaa pidentyneeseen polyglutamiinisäikeeseen aminoterminaalissa. Tämä aiheuttaa polyglutamiinien aggregoitumisen hermosolujen sulkeumiin. (Walker, 2007.) Huntingtonin taudin kaltaisia fenotyyppisiä on löydetty myös kromosomista 4p15.3 (OMIM-a, 2022).

Toistojakson pituus normaalilla ihmisellä on keskimääräisesti noin 18–19 ja Huntingtonin taudista kärsivillä noin 46. Mitä suurempi toistojakson pituus on, sitä suurempi riski sairauden ilmenemiseen tai sairastumiseen on, pituus on myös verrannollinen sairauden alkamisikäen. Nuoruusiän Huntingtonista kärsivillä (alkaa ennen 20 ikävuotta) toistojakson pituus on yleensä jopa yli 60. Nuoruusiän Huntingtonia tutkiessa on myös todettu, että periytyminen tapahtuu yleisemmin isältä kuin äidiltä. (OMIM-a, 2022.)

Huntingtonin tauti puhkeaa normaalisti noin 44-vuotiaana, ja oireisiin kuuluu liike-, muisti- ja päättelykyvynhäiriöt, sekä persoonallisuuden muutokset. Tautiin ei ole löydetty tähän päivään mennessä parantavaa hoitoa. (OMIM-a, 2022.)

3.2 Von Willebrandin tauti

Von Willebrandin tauti (VWD) on yleisin dominantisti periytyvä veren hyytymiseen vaikuttava sairaus. Taudin aiheuttaa mutaatio von Willebrand -hyytymistekijää koodaavassa geenissä kromosomissa 12p13. Von Willebrand -hyytymistekijän tehtävänä on auttaa verihiiutaleita hyytymän muodostuksessa sekä kuljettaa hyytymistekijä VIII:tä, joten von Willebrandin taudissa hyytymistekijän puutteellinen aktiivisuus tai sen vähäinen määrä aiheuttaa potilaille oireena mm. mustelma- ja vuototaipumusta. Tauti voidaan jakaa 3 eri tyyppiin. (OMIM-b, 2022.)

Von Willebrandin 1. tyyppin tauti vastaa 60–80 % VWD tautitapauksista. Tyypissä 1. kiertävän VW-hyytymistekijän määrä on puutteellinen, mutta toiminnallinen aktiivisuus normaali. (OMIM-b, 2022.)

Von Willebrandin 2. tyyppin tauti vastaa 10–30 % VWD tautitapauksista. Tyypissä 2. VW-hyytymistekijässä on laadullisia poikkeuksia, jotka voidaan jakaa alakategorioihin 2A, 2B, 2M ja 2N. (OMIM-b, 2022.)

Von Willebrandin 3. tyyppin tauti vastaa 1–5 % VWD tautitapauksista. Tyypissä 3. VW-hyytymistekijän määrä plasmassa on merkittävästi vähentynyt, määrä voi olla jopa alle 1 % normaalista määrästä. Myös hyytymistekijä VIII:n määrä plasmassa on matala, noin 1–10 % normaalista määrästä. (OMIM-b, 2022.)

3.3 Kystinen fibroosi

Kystinen fibroosi on autonomisesti resessiivinen aineenvaihduntasairaus. Se johtuu mutaatiosta kromosomissa 7 pitkässä haarassa kohdassa 7q31, joka aiheuttaa kloridi-ioneja solukalvon läpi kuljettavan CFTR-proteiinin toiminnan häiriintymisen. Tämän vuoksi Kystisessä fibroosissa elimistö tuottaa sitkeää

limaa hengitysteihin ja ruoansulatuselimistöön, joka edistää bakteeri-infektioita sekä estää ruoan imeytymistä kunnolla. (OMIM; Halme al., 2022.)

DNA-analyysiä voidaan käyttää diagnostiikassa kliinisen tutkimuksen apuna, mutta se ei kuitenkaan yksinään ole tarpeeksi luotettava menetelmä pois sulkemaan sairautta, sillä erilaisia mutaatiomahdollisuuksia on satoja. Sikiödiagnostiikassa KF voidaan todeta 11–12 viikoilla istukkabiopsiasta tai viikolla 16 lapsivedestä. (Halme al., 2006.)

3.4 Tay-Sachsin tauti

Tay-Sachsin tauti on autosomisesti resessiivinen neurodegeneratiivinen sairaus. Sen aiheuttaa mutaatio hexosaminidaasi A -geenin alfa-alyksikössä kromosomissa 15 kohdassa 15q23. Oireet aiheutuvat siis β -hexoaminidaasi A:n, eli lysosomeista löytyvän hermostolle tärkeän GM2-gangliosidia pilkkovan entsyymin, puutteesta. Potilaan eliniän odotteeseen vaikuttaa merkittävästi se, puuttuuko β -hexoaminidaasi A lysosomeista kokonaan vai vain osittain. (OMIM, 2022; MedlinePlus, 2022.)

Sairauden oireet alkavat usein jo varhaislapsuudessa ja hexoaminidaasin puuttuessa täysin lapsi menehtyy yleensä jo 2–3 vuoden iässä. Jos puute on vain osittainen, voi lapsi elää jopa 15-vuotiaaksi asti. Oireita ovat kehitysvammaisuus, halvaantuminen, sokeutuminen ja muistihäiriöt. (OMIM, 2022.)

3.5 Kromosomihäiriöt

Kromosomien määrän poikkeavuudet voivat aiheuttaa erilaisia oireyhtymiä, kuten esimerkiksi trisomian, mikä tarkoittaa yhtä ylimääräistä kromosomia. Tunnetuin trisomia on Downin oireyhtymä. Downin oireyhtymässä ihmisellä on kromosomia 21 kolme kappaletta kahden sijaan. (Jalanko, 2021.) Sukupuolikromosomeissa tapahtuvia häiriötä ovat esimerkiksi Klinefelter -oireyhtymä, jossa poikalapsi on syntynyt kahden tai useamman X-kromosomin kanssa yhden sijaan (XXY). (Saha

2019a.) Toinen esimerkki on Turnerin oireyhtymä, jossa tyttölapselta puuttuu joko osittain tai kokonaan toinen X-kromosomi. (Saha, 2019b.)

4 Diagnostiikka

Perinnöllisten tautien molekyyligenetiikkaa tutkitaan lääketieteellisen genetiikan laboratoriossa. Valtaosa geenidiagnostiikasta tehdään fenotyypin perusteella, mutta diagnoosi perustuu potilaan esi- ja sukutietoihin, kliiniseen tutkimukseen sekä laboratoriotuloksiin. Useimmiten geenitutkimuksia aletaankin tekemään kliinisten oireiden perusteella, vaikka joissain tapauksissa kliiniset oireet voivat olla niin selkeät ja spesifiset sairaudelle, ettei geenitestiä edes vaadita. (Aula et al., 2006, 266.)

4.1 Geenitutkimukset

Geenitutkimuksilla voidaan tutkia pieniä geenivirheitä eristetyistä DNA:sta. Geenitutkimuksia on kahta eri perustyyppiä: kytkentätutkimus (esim. NGS) ja suora tutkimus. Suoraa tutkimusta voidaan käyttää etsittäessä tiettyä geenivirhettä, joka on tunnistettu jo aiemmin sukulaiselta tai jos tiedetään, että tauti on sellainen, että sitä aiheuttaa vain harva geeni. (Aula et al., 2006, 266.)

KytKentätutkimus tehdään siinä tilanteessa, kun geeni tai sen paikka on tiedossa, mutta mutaatiota ei ole ollut mahdollista tunnistaa. Tunnistamisen esteenä on voinut olla esimerkiksi geenin koko tai se, että suvun geenimutaatiosta kärsivät ovat jo kuolleet. KytKentätutkimusta varten tarvitaan verinäyte niin potilaalta, kuin hänen sisariltaan (terveiltä ja sairailta), vanhemmiltaan, isovanhemmiltaan ja mahdollisesti myös vanhempien sisaruksilta. (Aula et al., 2006, 267.)

KytKentätutkimuksen tarkoituksena on osoittaa, että geenivirhe on olemassa tutkimalla sen alueella tai sen lähellä sijaitsevien geenimerkkien periytymistä. Tämä tehdään yleensä mikrosatelliittimarkkerien eli erilaisten nukleotiditoistojaksojen avulla. KytKentätutkimuksissa on muutaman prosentin virhetulkinnan riski ottaen huomioon meioosin rekombinaatio. (Aula et al., 2006, 277.)

4.2 Kromosomitutkimukset

Kromosomitutkimusten tarkoituksena on osoittaa kromosomien rakenteellisia tai numeerisia muutoksia. Kromosomitutkimus vaatii geenitutkimuksista eroten eläviä soluja. Solujen tulee olla mitoottisia, ja yleisimmissä soluviljelyissä solujen halutaan olevan metafaasivaiheessa. Metafaasivaiheessa olevista soluista tehdään viljelyn jälkeen G-raita värjäys ja kromosomit karyotyypitetään, jonka avulla voidaan tutkia ylimääräisiä ja puuttuvia kromosomeja, sekä suuria rakenteellisia poikkeavuuksia jopa 400 raidan tarkkuudella. (Aula et al., 2006, 277.)

Jos tutkimuksessa halutaan tunnistaa pienempiä poikkeavuuksia, voidaan soluviljelyä myös virittää tuottamaan soluja, jotka on pysäytetty prometafaasivaiheeseen. Tämä mahdollistaa 400 raidan sijaan jopa 850 raidan tarkkuuden. (Aula et al., 2006, 277.)

4.3 Näyttemateriaali

DNA-tutkimukseen voidaan käyttää mitä tahansa kudosta, josta voidaan saada tumallisia soluja. Yleisimmin käytetään kuitenkin veren valkosoluja, sillä verinäyte on helppo näytteenoton, käsittelyn ja säilytyksen kannalta. Valkosoluja käytettäessä potilaalta otetaan näytteeksi 3–7 ml EDTA-kokoverta, kyseen ollessa vastasyntyneestä myös alle 1 ml riittää. Näyte säilyy huone- ja jääkaappilämpötilassa 3 vrk ennen analysointia, mutta jos näyte halutaan pakastaa, tulee se toimittaa laboratorioon hiilihappojäissä. (Aula et al., 2006, 278-279.)

Sikiön DNA-tutkimus voidaan tehdä äidin kudoksesta puhdistetusta istukkabiopsianäytteestä, joka toimitetaan laboratorioon keittosuola- tai elatusaineliuoksessa. Yleisesti, jos halutaan käyttää kudonäytteitä DNA-tutkimuksissa, ei näytteen tarvitse olla tuore. DNA:n voi nimittäin eristää myös esimerkiksi parafiiniblokista tai histologisesta preparaatista. (Aula et al., 2006, 279.)

Kromosomi- ja FISH-tutkimuksiin tarvitaan DNA-tutkimuksista poiketen eläviä soluja. Näissäkin tutkimuksissa solujen kerääminen on myös helppoa verinäytteestä, paitsi sikiön kromosomitutkimuksissa, joissa käytetään istukka- tai lapsivesinäytettä. DNA-tutkimusten EDTA-veren sijaan näyte tulee kuitenkin ottaa tässä tapauksessa 5 ml litiumhepariinivakuumiputkeen. Näytettä ei saa jäädyttää, kuumentaa tai sentrifugoida ja se tulee olla toimitettuna laboratorioon vuorokauden sisällä näytteenotosta. (Aula et al., 2006, 279.)

4.4 DNA eristys

Ennen kuin DNA:ta voidaan monistaa, sekvensoida tai hybridisoida täytyy se ensin eristää ja puhdistaa häiriötekijöistä. DNA:ta voidaan eristää esimerkiksi luuydin-, istukka- ja lapsivesinäytteistä sekä verestä. Eristystä voidaan tehdä usealla eri tavalla riippuen mistä eristys tehdään ja saako DNA katkeilla eristymisen aikana vai tarvitaanko se yhtenäisenä. (Aula et al., 2006, 269.)

4.5 Elektroforeesi

Elektroforeesia hyödynnetään useissa erilaisissa analyysimenetelmissä kuten sekvensoinnissa ja fragmenttianalyysissä. Elektroforeesin avulla voidaan tutkia nukleiinihappojaksoja muutamasta kymmenestä nukleotidista kokonaiseen kromosomeihin asti. Elektroforeesimenetelmiä on useita erilaisia riippuen siitä minkä kokoista jaksoa halutaan tutkia. Polyakryyliamidigeelielektroforeesilla (PAGE) voidaan analysoida pieniä, kymmenien tai satojen nukleotidien jaksoja, agarosigeelielektroforeesilla (AGE) taas keskikokoisia noin alle 50 kb pituisia jaksoja, ja pulssikenttäelektroforeesilla (PFGE) suuria molekyyliä sekä kokonaisiaromosomeja. (Suominen et al., 2013, 122.)

Agarosigeelielektroforeesissa käytetään merilevästä eristettyä polysakkaridia nimeltä agarosi. Jäähdyttyessä 45-asteiseksi, agarosi muuttuu hyytelömäiseksi geeliksi, jossa nukleiinihapot kulkeutuvat sähkökentän napojen välillä eri vauhtia kokonsa perusteella. Eri kokoiset DNA/RNA-fragmentit jakautuvat näin pituudelleen ominaisille vyöhykkeille eli "bändeille". Bändejä

voidaan tämän jälkeen tarkastella geeliltä UV-valossa oranssinpunaisena fluoresoivan Etidiumbromidin (EtBr), sekä geelin tarkasteluun ja dokumentointiin tarkoitetun CCD-kameran avulla. (Suominen et al., 2013, 122- 125.)

4.6 Diagnostiset menetelmät

Molekyyligenetiikan menetelmät, joilla tutkitaan perimän muutoksia kehittyvät nopealla tahdilla ja markkinoille tulee jatkuvasti uusia tutkimuksia erilaisille perinnöllisille sairauksille. (Aittomäki et al., 2016, kappale 9.)

Laboratoriotutkimukset voidaan jakaa kromosomitutkimuksiin ja molekyyligenetiikan tutkimuksiin. Karyotyypityksen avulla saadaan tieto mahdollisista kromosomien poikkeavuuksista. Yksittäisen geenimutaation tutkimisessa käytetään spesifiä tutkimusta, mikäli mutaatio on tiedossa tutkimuspyyntöä tehdessä. Nykyään sekvensointitekniikan avulla pystytään tutkimaan laajempia geenijoukkoja. (Aittomäki et al., 2016, kappale 9.)

4.6.1 Sekvensointimenetelmät

Sekvensointi on molekyyligeneettinen menetelmä, jolla pyritään selvittämään tietyn molekyylin sekvenssi, kuten esimerkiksi nukleiinihapon nukleotidien järjestys. Sekvensointia varten täytyy ensin erilaisten alukkeiden ja PCR:n avulla saada halutut alueet monistumaan. PCR:n jälkeen monistetut alueet laitetaan koeputkeen, kuoppalevylle tai stripille, johon lisätään DNA-synteesin mahdollistavat ja stabiloivat ainesosat sekä niiden lisäksi terminaattorimolekyylejä. Terminaattorimolekyylin tehtävänä on pysäyttää DNA-synteesi halutun nukleotidin kohdalle, jolloin saamme yhden nukleotidin verran eroavia DNA-synteesituotteita. (Aula et al., 2006, 275.)

Nämä DNA-synteesituotteet erotellaan toisistaan elektroforeesilla koon mukaan, ja DNA-sekvenssi voidaan näin päätellä käytetyn terminaattorimolekyylin ja sekvenssin pituuden perusteella. Sekvenssin selvittyä sitä voidaan verrata

tunnettuun normaaliksi todettuun sekvenssiin, ja havaita jopa yhden nukleotidin erot sekvenssien välillä. (Aula et al., 2006, 275.)

Sangerin sekvensointi on DNA:n sekvensointimenetelmä, jossa eri kokoisia synteesisuotteita (kuitenkin noin alle 500 nukleotidin pituisia) saadaan muokattujen nukleotidien eli dideoksinukleotidien (ddNTP) avulla. Dideoksinukleotidit pysäyttävät DNA-synteesin sattumanvaraisella kohdalla, sillä DNA ei voi liittää ketjuun enää uutta nukleotidiä ddNTP:n jälkeen. Tämän jälkeen DNA-fragmentit erotetaan toisistaan geelielektroforeesilla ja sekvenssin emäsjärjestys voidaan päätellä fragmentin pituuden perusteella. (Thermo Fisher Scientific-c, 2023; Solunetti, 2006.)

NIPT (non-invasive prenatal testing) tarkoittaa kajoamatonta sikiönaikaista testausta, jossa tutkitaan äidin plasmasta sikiöperäistä solunulkoista DNA:ta (cffDNA = cell-free fetal DNA). NIPT:n käyttötarkoitus on seuloa krosomipoikkeavuuksia 13, 18 ja 21. Menetelmällä pystytään toteamaan myös muunmuassa sikiön sukupuoli. (Anttonen et al., 2015.)

Menetelmänä käytetään massiivista rinnakkaissekvensointimenetelmää (MPS), menetelmän etuna on tarkkuus sillä pienikin määrä sikiöperäistä cffDNA:ta verinäytteessä riittää antamaan luotettavan tuloksen. Raskauden edestessä sikiöperäinen solunulkoinen DNA kohoo äidin veressä, äidin painolla myös on vaikutusta cffDNA:n määrään veressä. NIPT-tutkimus voidaan tehdä raskausviikosta 10. alkaen. Näyte tulee ottaa cffDNA:ta stabiloivaan erikoisputkeen. (Anttonen et al., 2015.)

4.6.2 Fragmenttianalyysi

Fragmenttianalyysi on menetelmä, jolla voidaan tutkia mm. kimerismää, eroja alleeleissa ja homo- sekä heterotsygoosia. Fragmenttianalyysissä hyödynnetään fluoresenssilla leimattuja koettimia ja kapillaarielektroforeesia. (Thermo Fisher Scientific-a, 2023.)

Kapillaarielektroforeesissa PCR-tuotteet pipetoidaan kapillaareihin elektrokineettisesti, jonka jälkeen ne erotellaan toisistaan korkean jännitteen

avulla, joka painaa negatiivisesti varautuneet fragmentit kapillaarien pohjalle. Fragmentit jakautuvat kapillaarissa koon perusteella, sillä suuremmat fragmentit painautuvat hitaammin matrixin läpi. (Thermo Fisher Scientific-b, 2023.)

Ennen kuin fragmentit saavuttavat positiivisen elektrodin, ne kulkeutuvat lasersäteen läpi, joka aktivoi koettiin leimatut fluoresenssivärit. Tuloksia voidaan tarkastella ja dokumentoida fluoresenssin havaitsevan CCD-kameran avulla. Kapillaarielektroforeesia hyödynnetään myös mm. Sanger-sekvensoinnissa. (Thermo Fisher Scientific-b, 2023.)

4.6.3 Hybridisaatiomenetelmät

Hybridisaatio on menetelmä, jossa eri lähteistä kerättyjä yksinauhaisia nukleiinihappoja voidaan liittää toisiinsa eli hybridisoida. Hybridin voi muodostaa kaksi DNA- tai RNA-molekyyliä, tai yksi DNA- ja yksi RNA-molekyyli yhdessä, kuten esimerkiksi mRNA ja cDNA. Hybridisaatiota varten nauhojen täytyy olla toisilleen komplementaarisia. (Suominen et al., 2013, 193.)

Hybridiä pystytään tarkastelemaan, jos toinen nauhoista on leimattu merkkiaineella, joka tuottaa näkyvän väri-, valo- tai fluoresenssireaktion. Merkkiaineella leimattua nauhaa kutsutaan koettimeksi. Koettimena voi toimia DNA, RNA, tai oligonukleotidi, joka on usein valmistettu alakloonauksilla, PCR:llä tai cDNA:n valmistuksella. (Suominen et al., 2013, 193-194.)

Blottaus eli "siirrostus" on hybridisaatiomenetelmä, jossa agarosigeelielektroforeesin avulla erotellut nukleiinihapot denaturoidaan ja siirretään yksinauhaisina suodatinkalvolle, johon ne kiinnitetään UV-valon tai lämpökäsittelyn avulla (Suominen et al., 2013, 194).

Southern Blot –hybridisaatio on blottausmenetelmä, joka on tarkoitettu DNA:n analysoimiseksi. Southern Blotissa erikokoiset DNA fragmentit denaturoidaan ja erotellaan emäsluoksella käsitellyn agarosigeelielektroforeesin avulla toisistaan ja siirretään suodatinkalvolle, johon ne kiinnittyvät. Kiinnittyessään kalvolle denaturoituneet fragmentit eivät pääse enää renaturoitumaan ja leimatut

koettimet lisätään kalvolle. DNA:n ja koettimien annetaan hybridisoitua muutaman tunnin tai yön yli lämpimässä. (Suominen et al., 2013, 200.)

Hybridisaatioajan jälkeen suodatinkalvo pestään ja siihen jäävät vain komplementaariselle alueelle kiinnittyneet koettimet. Hybridit voidaan kuvata suodatinkalvolta kuvantamislaitteella ja jaksojen kokoa ja määrää pystytään analysoimaan. (Suominen et al., 2013, 200.)

Northern Blot –hybridisaatiolla voidaan DNA:n sijaan analysoida RNA:ta, kuten tietyn mRNA:n määrää tai kokoa. Sillä voidaan tutkia esimerkiksi geenien ilmentymistasoja eri kudoksissa tai solulinjoissa, tai mikä vaikutus eri ympäristötekijöillä on tietyn geenin toimintaan. (Suominen et al., 2013, 201-202.)

Menetelmä on hyvin samankaltainen kuin Southern Blot ja RNA:n tyyppillisestä yksijuosteisesta muodosta huolimatta sekin denaturoidaan, sillä RNA saattaa joskus muodostaa satunnaisia kaksijuosteisia alueita. Denaturointiin käytetään yleensä formamidia. (Suominen et al., 2013, 201-202.)

FISH, eli fluoresenssi in situ hybridisaatio, on hybridisaatiomenetelmä, jolla voidaan tunnistaa erilaisten DNA-koettimien avulla yksittäisiä geenejä, kromosomeja tai niiden osia. DNA-koettimet leimataan fluoresoivalla värillä, jonka jälkeen ne sitoutuvat näytteeseen. Preparaattia tarkastellaan käsittelyn jälkeen fluoresenssimikroskoopilla. (Fimlab, 2021.)

4.6.4 Soluviljely

Soluviljelyssä kasvatetaan joko eukaryoottisia tai prokaryoottisia soluja keinotekoisesti laboratorioympäristössä viljelyaineella täytetyssä lasi- tai muovipullossa. Kasvuolosuhteet pyritään saamaan ihmiskehon kaltaisiksi, jotta solut kasvaisivat mahdollisimman luonnollisesti. Solut voidaan ottaa viljelyyn aiemmin viljellystä solukannasta tai eristää suoraan organismista. (Proteintech, 2023.)

Soluviljelyä voidaan tehdä 2D- tai 3D-viljelyinä. 2D-viljelyssä solut kasvavat maljan tai pullon pohjalla mattona, joka on yhden solun paksuinen. 3D-viljelyssä

solut saavat olla vapaammin ja vuorovaikutuksessa, kuten ne luonnollisesti kasvavat elimistön sisällä. 3D-viljely on siis luotettavampi menetelmä, sillä se jäljittelee paremmin ihmiskehon omia kasvuolosuhteita. (Pfizer, 2022.)

Viljelyyn valittavat olosuhteet ovat riippuvaisia viljeltävän solun tyypistä, mutta jokainen soluviljely koostuu sopivasta kasvualustasta, jossa on substraatti tai väliaine, josta solut saavat ravinteita, sekä kasvutekijöitä tai solujen viljelyyn välttämättömiä hormoneja (Proteintech, 2023).

Laboratoriossa soluviljely voidaan luokitella kolmeen tyyppiin: ensisijaiset solut (primary cells), muunnetut solut (transformed cells) sekä itsestään uusiutuvat solut (self-renewing cells). Ensisijaiset solut kuten ihobiopsiasta saadut fibroblastit ja maksasta eristetyt hepatosyytit eli maksasolut ovat suoraan eristetty ihmisen kudoksesta. Muunnetut solut voidaan tuottaa joko luonnollisesti tai geenimanipulaation avulla. Itsestään uusiutuviin soluihin kuuluu esimerkiksi alkion kantasolut, hermoston ja suolen kantasolut. Näillä soluilla on kyky erilaistua moniin eri solutyyppeihin, kun taas niiden ominaisuus itsestään uusiutua mahdollistaa pitkäaikaisen ylläpidon in vitro. (Segeritz et al., 2017.)

5 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa laadukasta oppimateriaalia Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen molekyyli-genetiikan syventävälle opintojaksolle. Valmiin opinnäytetyön tuotos on itslearning-alustalle julkaistu verkkototeutus.

Tavoitteena on lisätä bioanalytiikan syventävien opintojen tarjontaa sekä tarjota mahdollisuus molekyyli-genetiikasta kiinnostuneille opiskelijoille syventää tietämystään aihealueesta ja valmistaa heitä työelämään solu- ja molekyyli-genetiikan suuntaan. Solu- ja molekyyli-genetiikka on tärkeä erikoisala, ja haluttiin siksi tarjota siihen syventymiseen opintojen aikana enemmän materiaalia, jotta opiskelijoilla olisi vielä paremmat valmiudet hakeutua työskentelemään esimerkiksi genomiikan laboratorioon. Valmiin verkkototeutuksen tavoite on helpottaa opiskelijoita, sillä opinnot on helpompi aloittaa, kun materiaalit ja tehtävät ovat valmiiksi saatavilla verkkoalustalla. Tämä voi nopeuttaa opintojen etenemistä ja sitä myötä myös opiskelijan valmistumista.

Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä ja tarpeellinen bioanalytikko-opintojen kannalta. Valmis verkkototeutus voi herättää kiinnostusta aiheesta ja kannustaa opiskelijoita syventymään solu- ja molekyylibiologiaan ja molekyyli-genetiikkaan. Opinnäytetyön tekijät halusivat myös antaa opiskelijoille mahdollisuuden suorittaa syventävä verkkototeutus omaan tahtiin muiden opintojen ohella. Verkkomateriaalin on mahdollista kehittää ja laajentaa tarvittaessa. Tehtävät on tehty itslearning-alustalle niin, että ne tukevat opiskelijan henkilökohtaista osaamista.

6 Opinnäytetyön käytännön toteutus

6.1 Laadukas verkko-oppimateriaali

Opetushallituksen (2023) mukaan pedagogisesti laadukas verkko-oppimateriaali soveltuu luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön, ja tukee opetusta ja oppijan tietoista ajattelua ja aktiivista toimintaa. Laadukkaassa verkko-oppimateriaalissa keskeinen sisältö on esitetty mielekkäästi ja visuaalisesti selkeästi. Tehtävien tulisi myös olla mielekkäitä ja kokonaisuuden tulisi olla teknisesti toimiva.

Verkkototeutuksen tulisi tukea oppimista monipuolisesti. Sen tulisi tukea oppijan oppimisen taitoja. Tämä voi tarkoittaa esimerkiksi oppijan ohjaamista arvioimaan omaa osaamistaan. Oppijan aktiivisuutta tulisi tukea esimerkiksi tehtävillä, jotka vaativat oppijalta pohdintaa, vertailua tai arviointia. Oppimistehtävien tulisi myös olla motivoivia ja kiinnostavia. Tämä voidaan saavuttaa esimerkiksi sillä, että tehtävät ovat tarpeeksi haastavia. (Opetushallitus, 2023.)

Oppimisympäristön tulee olla käyttäjäystävällinen. Verkkototeutuksen rakenne tulee olla selkeä ja tiedon tulee löytyä alustalta helposti. Selkeyden tulee lisäksi tulla esille myös itse materiaaleissa sekä ulkoasussa. Hyvän verkkototeutuksen oppimisalusta on myös visuaaliselta ilmeeltään miellyttävä. (Löfström et al., 2010.)

6.2 Opinnäytetyön toteutus

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Turun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyön aiheeksi valittiin molekyyli-genetiikan syventävien opintojen verkko-opinnot. Aiheen valinnan jälkeen opinnäytetyön suunnitelman teko aloitettiin syksyllä 2022 ja opinnäytetyön sopimus allekirjoitettiin tammikuussa 2023.

Verkko-opintojen oppimisympäristönä käytettiin itslearning-alustaa. Alustalle luotiin ensimmäiseksi aiheet, joita oli kolme. Nämä muutettiin myöhemmin yhden aiheen alle *molekyyli-genetiikka* selkeyttämään verkkototeutuksella liikkumista. Aiheen alta avautuu suunnitelmat, jonne tehtiin kolme (3) erilaista osiota. Osio 1.

on *Solunjakautuminen*, jossa käsitellään meioosia ja mitoosia ja syvemmin niiden eri vaiheita. Osio 2. on *Periytyminen ja Periytyvät sairaudet*, johon esiteltäväksi on valittu kaksi dominantisti periytyvää ja kaksi resessiivisesti periytyvää sairautta. Sairaudet on valittu sen perusteella, että niiden periytymisestä ja diagnostiikasta löytyy hyvin tietoa. Tämä mahdollistaa sen, että opiskelija voi vielä verkkototeutuksen suorittamisen jälkeen halutessaan syventyä aiheeseen enemmän. Osio 3. on *Diagnostiikka*, johon valittiin yleisimpiä molekyylogeneettisiä menetelmiä joita valmistunut bioanalytikko tulee käyttämään työelämässä. Osioista 4. löytyy verkkototeutuksen lopputentti, jossa opiskelija pääsee osoittamaan oman oppimisensa sekä kertaamaan verkkototeutuksella käytyjä asioita.

Verkkototeutuksessa on lopputentin lisäksi myös erilaisia tehtäviä, joiden avulla opiskelija pääsee kertaamaan oppimistaan. Tehtäviä ei arvioida vaan ne ovat ainoastaan opiskelijan oman oppimisen tueksi. Tehtävien mallivastaukset aukeavat, kun opiskelija palauttaa omat tehtävänsä palautuslaatiikkoon. Verkkototeutuksen arvosana perustuu täysin suoriutumiseen lopputentissä.

Kuvassa 1. näkyy miltä verkkototeutuksen rakenne näyttää ja kuvassa 2. on esimerkkinä Diagnostiikan-osion näkymä, johon on sisällytetty kolme oppimateriaalisivua ja aiheen asioita käsittelevä kertauskoe.

The screenshot shows a course plan interface with a green 'Lisää suunnitelma' button and a 'Toimet' dropdown menu. Below are four modules, each with a thumbnail image, a title, a description, and a resource count:

- Solunjakautuminen** (MOLEKYYLIGENETIIKKA): Sisältö: Opiskelija osaa kertoa solunjakautumisesta mitoosin ja meioosin erot sekä solunjakautumisen poikkeavuuksista. 4 resurssia.
- Periytyminen ja periytyvät sairaudet** (MOLEKYYLIGENETIIKKA): Sisältö: Opiskelijan on tarkoitus oppia geneettisten virheiden terminologiaa, ymmärtää erilaisten geneettisten sairauksen periytyvyyttä. 6 resurssia.
- Diagnostiikka** (MOLEKYYLIGENETIIKKA): Sisältö: Opiskelija hallitsee tietotaidon erilaisista menetelmistä, joita käytetään genomiikan laboratoriossa eri perinnöllisten tautien sekä syöpädiagnostiikan diagnosoimiseen. Opiskelija osaa tunnistaa mihin eri menetelmiä käytetään. 4 resurssia.
- Loppukoe** (MOLEKYYLIGENETIIKKA): Kurssin loppupentti, josta muodostuu kurssin arvosana. Läpi pääsemiseksi vaaditaan 50%. 1 resurssi.

Kuva 1 Verkkoalustan näkymä

The screenshot shows a detailed view of the 'Diagnostiikka' module. It includes a thumbnail image of a microscope, the title 'Diagnostiikka', and the subject 'MOLEKYYLIGENETIIKKA'. The content description states: 'Opiskelija hallitsee tietotaidon erilaisista menetelmistä, joita käytetään genomiikan laboratoriossa eri perinnöllisten tautien sekä syöpädiagnostiikan diagnosoimiseen. Opiskelija osaa tunnistaa mihin eri menetelmiä käytetään.' Below this is a list of resources: Diagnostiikka, Kromosomi- ja geenitutkimukset, Tutkimusmenetelmät, and Kertaus. A 'Lisää' button is also visible.

Kuva Diagnostiikka-osion näkymä

Oppimateriaaleja laatiessa pyrittiin kiinnittämään huomiota niiden selkeyteen. Sitä pyrittiin luomaan esimerkiksi sillä, että materiaalit on jäsennelty niin, että eri aiheet ovat omien otsikoiden alla. Materiaaleissa on käytetty värejä ja ranskalaisia viivoja, joilla on tuotu esiin tärkeimpiä asioita ja niin ikään pyritty

selkeyttämään tekstiä. Materiaaleihin on lisäksi sisällytetty kuvia, ja ne värien kanssa tekevät alustasta myös visuaalisesti miellyttävän näköisen.

Oppinnäytetyön kirjallinen työ ja verkkototeutus, joka tehtiin itslearning-oppimisalustalle valmistuivat huhtikuuhun 2023 mennessä. Alla oleva kuva 3. havainnollistaa kuinka opinnäytetyön prosessi eteni kevätlukukauden aikana.



Kuva 1 Oppinnäytetyön prosessin kulku

6.3 Metodologiset lähtökohdat

Toiminnallisella opinnäytetyöllä pyritään aina jollain tavoin järkeistää, kehittää tai ohjeistaa käytännön toimintaa. Siihen kuuluu toiminnallinen osuus sekä raportti, jossa prosessi on dokumentoitu ja arvioitu. (Saastamoinen et al., 2018; Pohjannoro & Taijala, 2007.) Toiminnallisen opinnäytetyön tuloksena syntyy aina jokin tuotos, mikä voi olla esimerkiksi opas, ohje, tietopaketti tai projekti (Pohjannoro & Taijala, 2007). Tämä opinnäytetyö on tutkimusperustainen toiminnallinen opinnäytetyö, sillä sen tuotoksena on verkkototeutus, joka on julkaistu itslearning-alustalle solu- ja molekyylibiologiaan syventyville bioanalyttikko-opiskelijoille. Verkkototeutuksen tarkoituksena on tarjota

syventyville opiskelijoille mahdollisuus suorittaa opintojaan itsenäisesti ja omaan tahtiin.

6.4 Eettiset lähtökohdat

TENK:in (2023) mukaan hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu muun muassa muiden tutkijoiden huomioon ottaminen viittaamalla heidän julkaisuihinsa asianmukaisella tavalla. Hyvän tieteellisen käytännön mukaan toimitatapoihin kuuluu myös rehellisyys, yleinen huolellisuus ja tarkkuus. Tämä opinnäytetyö on tehty noudattaen hyvää tieteellistä käytäntöä, joten opinnäytetyötä laatiessa on otettu huomioon tekijänoikeudet, ja kun ulkopuolisia materiaaleja on hyödynnetty, alkuperäiseen kirjoittajaan on viitattu oikeaoppisesti viitemerkinnöissä ja lähdeluettelossa. Tälle opinnäytetyölle on hankittu asianmukainen opinnäytetyösopimus eikä se vaadi erillistä tutkimuslupaa.

7 Pohdinta

Opinnäytetyön tekeminen oli opettavainen ja palkitseva kokemus. Se mahdollisti opinnäytetyön tekijöiden syventymisen kromosomidiagnostiikkaan sekä molekyyliogeneettisiin menetelmiin antaen tietoa ja valmiuksia työelämään soluja ja molekyylibiologian saralla.

Opinnäytetyöprosessin alussa aihe oli liian suppea, ja sitä jouduttiin prosessin aikana laajentamaan. Jouduttiin myös pohtimaan, kuinka aiheesta saadaan bioanalyttikko-opiskelijoille mahdollisimman hyödyllinen kokonaisuus. Aihealueen tuli olla tarpeeksi laaja, mutta silti selkeä ja sellainen, että se mahdollistaisi sen, että verkkototeutus tukisi mahdollisimman paljon opiskelijoiden yksilöllistä oppimista. Alkuun ajatuksena oli keskittyä solunjakautumiseen ja geenivirheistä johtuviin sairauksiin, mutta aihe alkoi loppua kohden muovautua enemmän diagnostiikkaan painottuvaksi. Tämä koettiin olevan tärkeämmässä roolissa bioanalytikoille.

Alkuun verkkototeutusohjan tekeminen itslearning-alustalle oli hankalaa, sillä itslearning-alustalle oli juuri päivittynyt uusi versio Suunnitelmat-työkalusta. Vanhan version on tarkoitus poistua lukuvuoden 2022/23 jälkeen sivuston mukaan. Ohjeiden avulla kuitenkin oppi nopeasti kuinka uusi suunnitelmatnäkymä toimii ja eri osiota pystyi luomaan.

Verkkototeutuksen tekeminen oli mukavaa vaihtelua opinnäytetyön kirjoittamiseen ja toiveena on, että se on myös mukavaa vaihtelua opiskelijoille syventävien opintojen kirjallisuus pohjaiseen tarjontaan. Opinnäytetyön tekijät kokivat mielekkääksi tenttikysymysten ja kertaustehtävien miettimisen.

Nopean aikataulun vuoksi verkkototeutusta ei ehditty testaamaan opiskelijoilla. Palaute olisi antanut tietoa verkkototeutuksen toimivuudesta. Verkkototeutusta on kuitenkin mahdollista muokata myöhemmin opettajan toimesta, mikäli jokin asia todetaan olevan kehittämisen tarpeessa.

Lähteet

Aittomäki, K., Moilanen, J. & Perola, M. 2016. Lääketieteellinen genetiikka. (E-kirja). Kustannus Oy Duodecim.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. Meiosis. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26840/>. Viitattu 15.9.2022.

Anttonen, A-K., Stefanovic, V. & Aittomäki, K. 2015. Sikiön diagnoosi äidin verestä - kajoamaton kromosomipoikkeavuuksien seulonta. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. 131(22):2083-8. <https://www.duodecimlehti.fi/duo12540>. Viitattu 15.2.2023.

Aula, P., Kääriäinen, H., Palotie, A., & Aittomäki, K. (2006). Perinnöllisyyslääketiede (3. uud. p.). Duodecim.

Biesecker, L. 2023. Mosaicism. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Mosaicism>. Viitattu 9.5.2023.

Chadwick, L. 2023. Centromere. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Centromere>. Viitattu 8.5.2023.

Fimlab 2021. Fluoresenssi in Situ Hybridisaatio –tutkimus (FISH-tutkimus). <https://fimlab.fi/tutkimus/6786>. Viitattu 15.2.2023.

Halme, M. & Kajosaari, M. 2006. Kystinen Fibroosi – Harvinainen Monielinsairaus. <https://www.terveyskirjasto.fi/xmedia/duo/duo95776.pdf>. Viitattu 21.3.2023.

Heino, J. & Vuento, M. 2020. Biokemia ja solubiologia. (12. p.) Sanoma Pro Oy. (E-kirja).

Hurle, B. 2023. Somatic cells. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Somatic-Cells>. Viitattu 8.5.2023.

Jalanko, A., Ranki, M. & Palotie, L. 1996. Geenivirheet ja taudit. <https://www.duodecimlehti.fi/duo60078>. Viitattu 3.4.2023.

Jalanko, H. 2021. Kromosomihäiriöt ja geenivirheet. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00434>. Viitattu 15.9.2022.

Kassem, H. Sh., Girolami, F. & Sanoudou, D. Molecular genetics made simple. Global cardiology science & practice vol. 2012,1 6. 4 Jul. 2012, doi:10.5339/gcsp.2012.6 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4239820/>. Viitattu 2.5.2023.

Löfström, E., Kanerva, K., Tuuttila, L., Lehtinen, A. & Nevgi, A. 2010. Laadukkaasti verkossa: Verkko-opetuksen käsikirja yliopisto-opettajalle. Helsingin yliopisto.

https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/23899/hallinnon_julkaisu_71_2010.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Viitattu 1.5.2023.

Gordo, G., Rodríguez-Laguna, L., Feito, M., de Lucas, R., Pérez-Jurado, L. A., Ruiz Pérez, V. L., Torrelo, A., Spinner, N. B., Happle, R., Biesecker, L. G., & Lapunzina, P. (2020). A six-attribute classification of genetic mosaicism. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 22(11), 1743–1757. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8581815/>. Viitattu 9.5.2023

MedlinePlus 2021. HEXA gene: hexoaminidase subunit alpha. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/hexa/#conditions>. Viitattu 28.4.2023.

Morris, A. 2023. Chromatid. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Chromatid>. Viitattu 8.5.2023

Online Mendelian Inheritance in Man-a, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: #143100: 2022: World Wide Web URL: <https://omim.org/>. Viitattu 21.3.2023.

Online Mendelian Inheritance in Man-b, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: #193400: 2022: World Wide Web URL: <https://omim.org/>. Viitattu 21.3.2023.

Opetushallitus 2023. E-oppimateriaalin laatukriteerit. <https://www.oph.fi/fi/julkaisut/e-oppimateriaalin-laatukriteerit>. Viitattu 30.4.2023.

Pfizer 2022. Soluviljely mahdollistaa turvallisen ja luotettavan lääketutkimuksen. <https://www.pfizer.fi/tutkimus/terveytesi-tahdet/soluviljely-mahdollistaa-turvallisen-ja-luotettavan-laaketutkimuksen#.ZBxnKIFN498.link>. Viitattu 23.3.2023.

Pohjannoro, H. & Tajjala, B. 2007. Näkökulmia toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Opettajankoulutuksen kehittämishanke. <https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/8232/pohjannoro.hannu.tajjala.beata.pdf?sequence=2>. Viitattu 28.4.2023.

Potapova, T. & Gorbsky, J. G. 2017. The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis. <https://doi.org/10.3390/biology6010012>. Viitattu 21.9.2022.

Proteintech. Introduction to Cell Culture. <https://www.ptglab.com/support/cell-culture-protocol/introduction-to-cell-culture/>. Viitattu 15.2.2023.

Saastamoinen, M., Vähä, T., Ypyä, J. Alahuhta, M. & Päätaalo, K. 2018. Toiminnallisen opinnäytetyön oppimiskokemukset. ePooki 45/2018. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/152055/ePooki%2045_2018.pdf. Viitattu 28.4.2023.

Saha, M-Ta 2019. Klinefelter-oireyhtymä (47XXY-mies). <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00844>. Viitattu 18.9.2022.

Saha, M-Tb 2019. Turnerin oireyhtymä. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01056>. Viitattu 18.9.2022.

Segeritz, C-P & Vallier, L. 2017. Cell Culture. Growing Cells as Model Systems In Vitro. Basic Science Methods for Clinical Researchers. 2017:151–72. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149418/>. Viitattu 6.4.2023.

Solunetti 2006. Sangerin menetelmä. https://solunetti.fi/fi/solubiologia/sangerin_menetelma/2/. Viitattu 16.4.2023.

Suominen, I., Pärssinen, R., Haajanen, K. & Pelkonen, J. 2013. Geenitekniikka. Turun ammattikorkeakoulu.

Thermo Fisher Scientific-a 2023. What is fragment analysis? <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/capillary-electrophoresis-information/what-is-fragment-analysis.html#:~:text=Fragment%20analysis%20is%20a%20genetic%20analysis%20method%20comprising,of%20performing%20both%20Sanger%20sequencing%20and%20ofragment%20analysis.> Viitattu 16.4.2023.

Thermo Fisher Scientific-b. 2023. What are the applications of capillary electrophoresis? <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/capillary-electrophoresis-information/capillary-electrophoresis-applications.html>. Viitattu 16.4.2023.

Thermo Fisher Scientific-c 2023. What is Sanger-Sequencing? <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/capillary-electrophoresis-information/what-is-sanger-sequencing.html>. Viitattu 16.4.2023.

Trent, R. Germline Mosaicism. Molecular Medicine (Fourth Edition). 2012 <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/germline-mosaicism> Viitattu 9.5.2023

Tukiliitto 2022. Mosaikismi. <https://www.tukiliitto.fi/harvinaiskeskusnorio/tietoa/perinnollisyys/70-kysymysta-ja-vastausta/mosaikismi/>. Viitattu 3.4.2023.

Tutkimustieteellinen neuvottelukunta (TENK). Hyvä tieteellinen käytäntö (HTK). <https://tenk.fi/fi/tiedevilppi/hyva-tieteellinen-kaytanta-htk>. Viitattu 23.4.2023.

Walker, F. O. 2007. Huntington's disease. Lancet 369: 218-228. [PubMed: 17240289, related citations]. Viitattu 21.3.2023.