

Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Elämän molekyylit

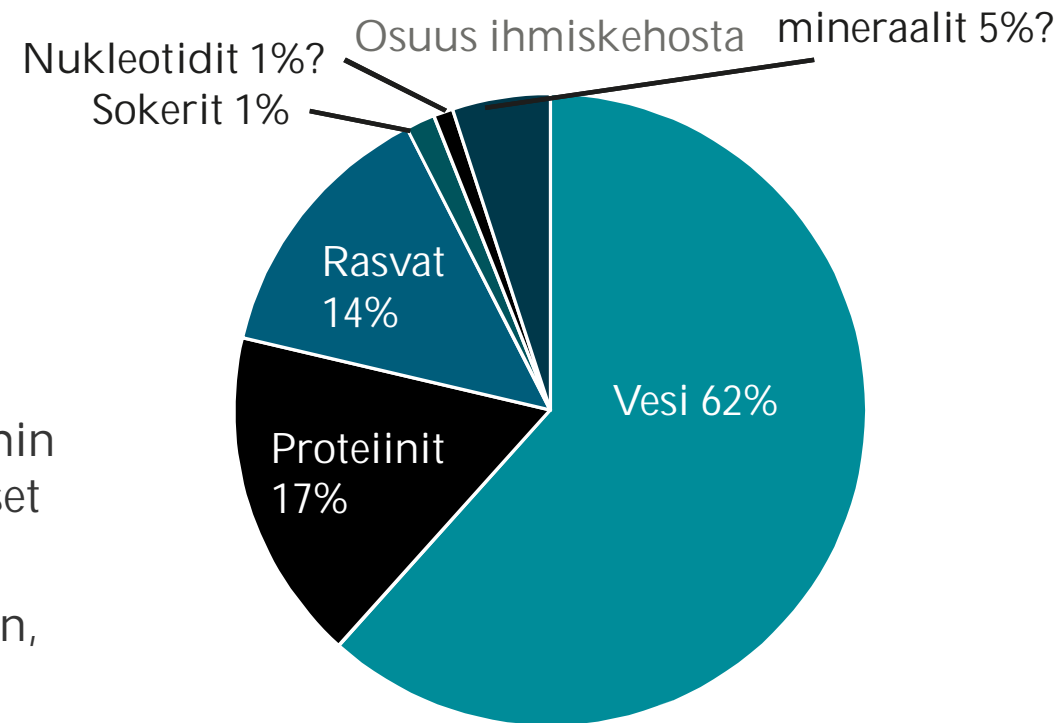
Elämän molekyylit

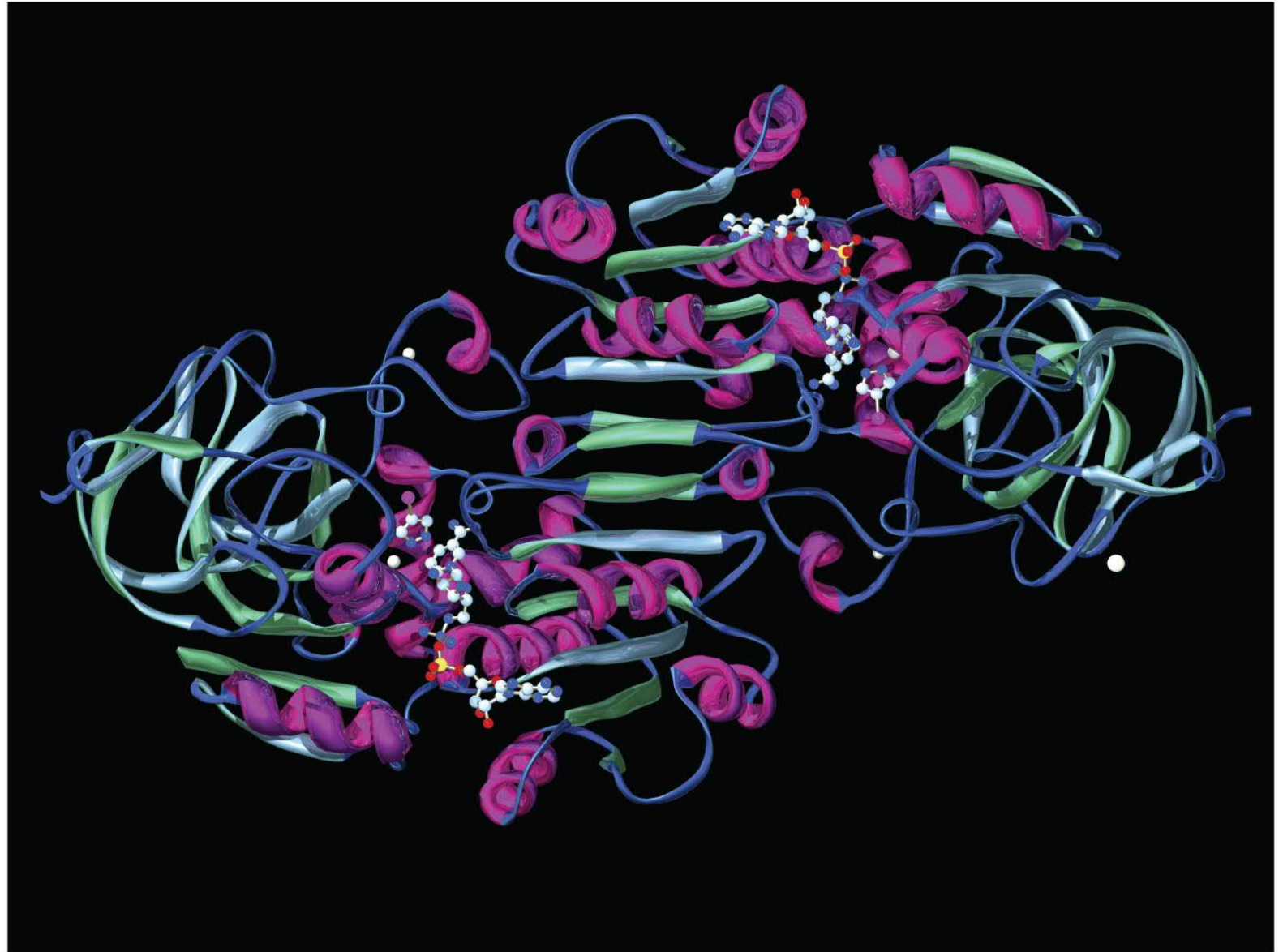
Koostumme veden lisäksi pääasiassa neljästä biologisesta makromolekyylistä:

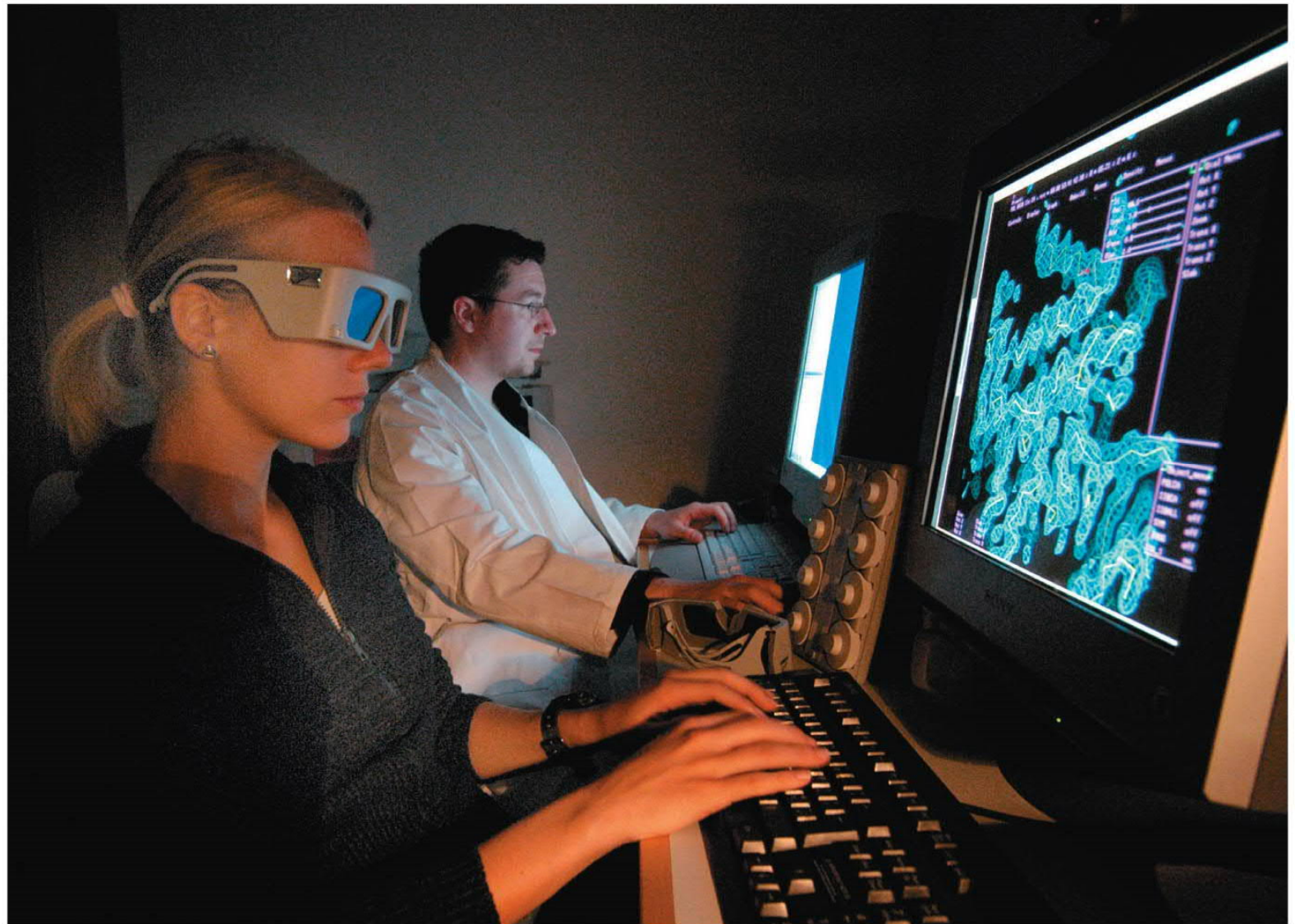
- proteiineista (valkuaisaineista)
- lipideistä (rasvoista)
- hiilihydraateista (sokereista)
- nukleiinihapoista.

Kaikki makromolekyylit koostuvat hiiliketjuista, joihin on liittynyt molekyylyypille ominaiset toiminnalliset ryhmät

Makromolekyylien rakenne on usein monimutkainen, jolloin niiden systemaattinen nimeäminen ei ole mielekäästä.







Makromolekyylit ovat monomeereistä rakentuvia polymeerejä.

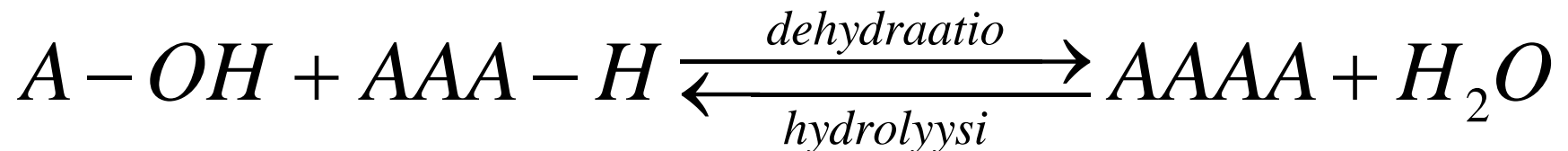
Suurien rakenteiden, kuten proteiinien valmistus olisi mahdotonta, jollei niitä valmistettaisi pienistä paloista

- Usein pienet palat, monomeerit toistuvat samanlaisina, jolloin niiden ketjua kutsutaan polymeeriksi.
- Lyhyitä ketjuja tai toiminnallisia yksiköitä nimetään di-, tri-, tetra-, penta- ja oligomeereiksi.
- Makromolekyyliä, joka koostuu vain yhdenlaisista palasista, kutsutaan homo(poly)meereiksi ja erilaisista palasista koostuvaa hetero(poly)meereiksi.
- Hiilihydraatit, proteiinit ja nukleiinihapot muodostavat polymeerejä

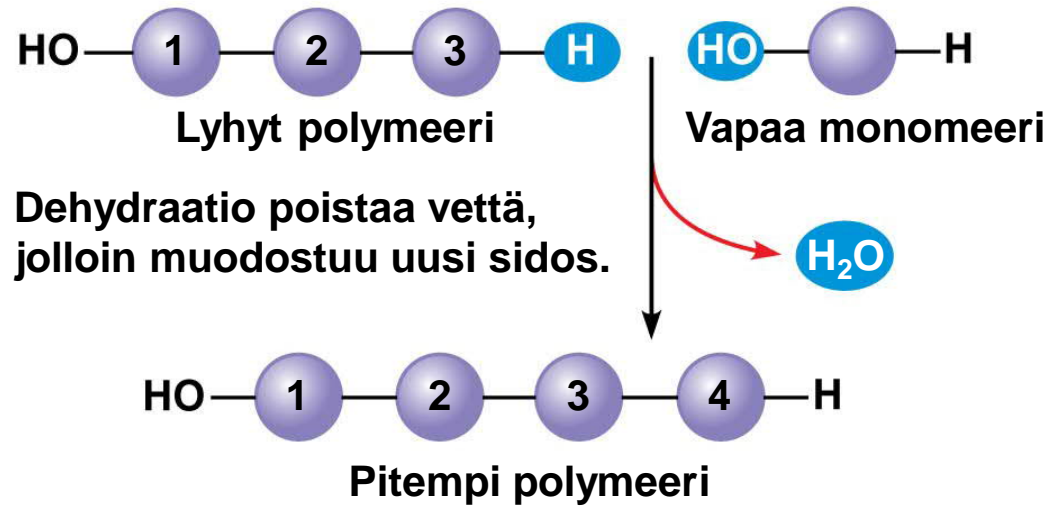
Polymeerien muodostus ja hajotus

Polymeerejä muodostetaan liittämällä palasia toisiinsa entsyymeillä

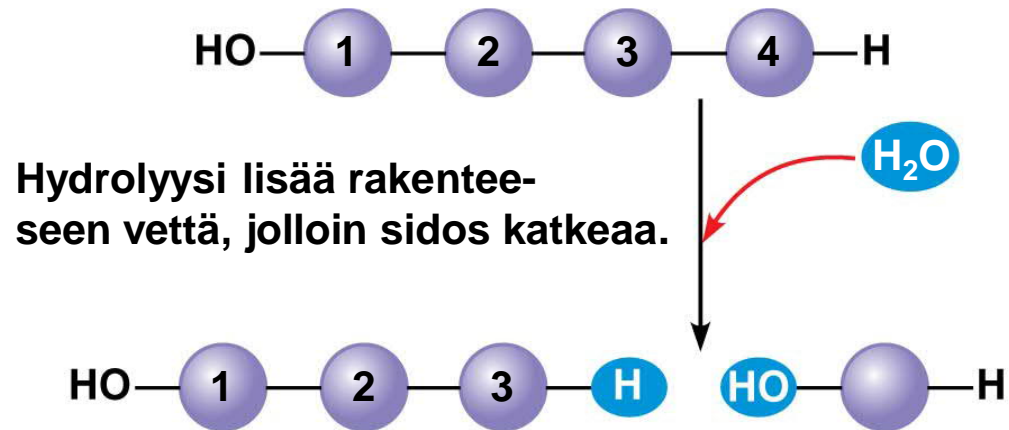
- Entsyymit ovat erikoistuneita makromolekyylejä, jotka muokkaavat kemiallisia sidoksia, jolloin polymeerejä voidaan rakentaa tai pilkkoa.
- Monomeerien yhteenliittymisreaktiossa vapautuu vettä, jolloin sitä kutsutaan dehydraatioksi.
- Polymeerien hajotuksessa monomeereihin liittyy vettä, jolloin reaktiota kutsutaan hydrolyysiksi.



(a) Dehydraatio: polymeerin jatkaminen



(b) Hydrolyysi: polymeerin lyhentäminen



Polymeerien diversiteetti

Jokaisessa solussa on tuhansia erilaisia makromolekyylejä ja solun toiminta perustuu niiden yhteistyöhön.

- Makromolekyylikoostumus vaihtelee solujen, yksilöiden ja lajien välillä.
- Suuri joukko polymeerejä voidaan tehdä harvaa monomeeriä käyttäen
- Esim. proteiini-polymeerit rakentuvat monomeerien (aminohappojen) lisäksi monomeerien muodostamista toiminnallisista yksiköistä (domeeneista) jolloin suurelle joukolle polymeerejä saadaan samanlaisia toimintoja.

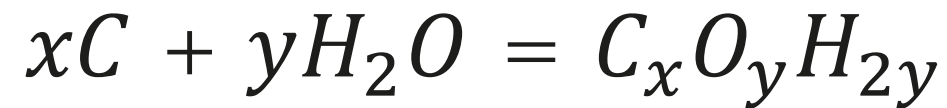
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Hiilihydraatit

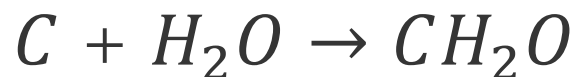
Hiilihydraatit

Hiilihydraatit ovat sokereita ja niiden polymeerejä ja ne toimivat sekä energianlähteenä että rakennusaineena

- Yksinkertaisimmat hiilihydraatit ovat monosakkarideja eli yksinkertaisia sokereita:
 - Esim. Glukoosi, fruktoosi, riboosi, galaktoosi ja mannoosi
- Jaetaan hiiliketjun pituuden mukaan
 - Trioosi (3), tetroosi (4), pentoosi (5), heksoosi (6), heptoosi (7)
- Monosakkaridit voivat kiinnittyä toisiinsa muodostaen disakkarideja ja polysakkaridejä

Hiilihydraattien rakenne

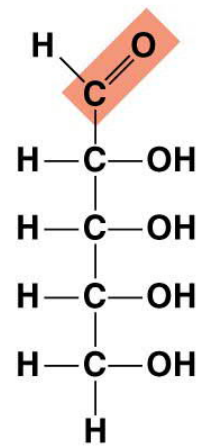
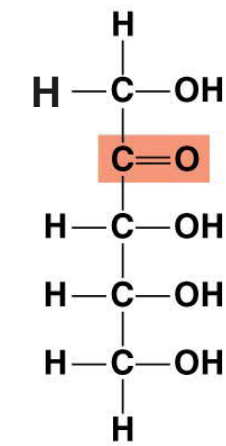
Monosakkaridien molekyylikaava on yleensä $n(\text{CH}_2\text{O})$ eli ne ovat nimensä mukaisesti hiilihydraatteja

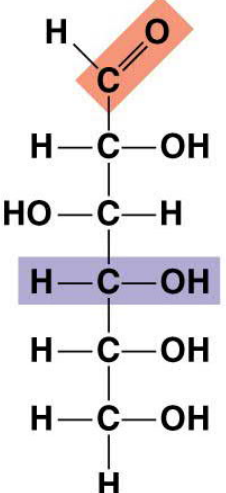
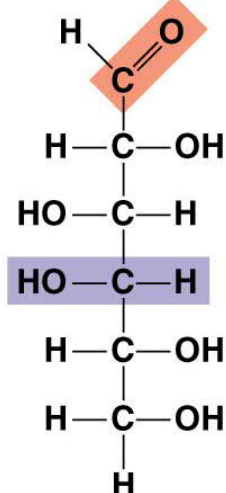
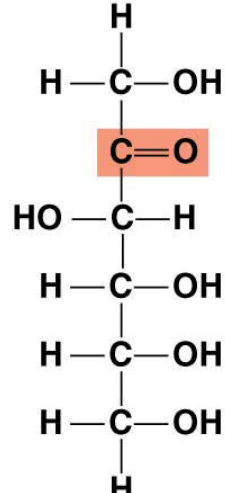


- Yleisin monosakkaridi on glukoosi ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
- Monosakkaridit jaetaan hiiliketjun pituuden lisäksi karbonyyliryhmän sijainnin perusteella
 - Aldoosit ($\text{CH}_2(\text{OH})(\text{CHOH})_n\text{CHO}$) ja ketoosit ($\text{CH}_2(\text{OH})(\text{CHOH})_n\text{C}(\text{O})(\text{CHOH})_m\text{CH}_2\text{OH}$)
- Monosakkaridit muodostavat erilaisia renkaita, mutta renkaat eivät ole pysyviä rakenteita.

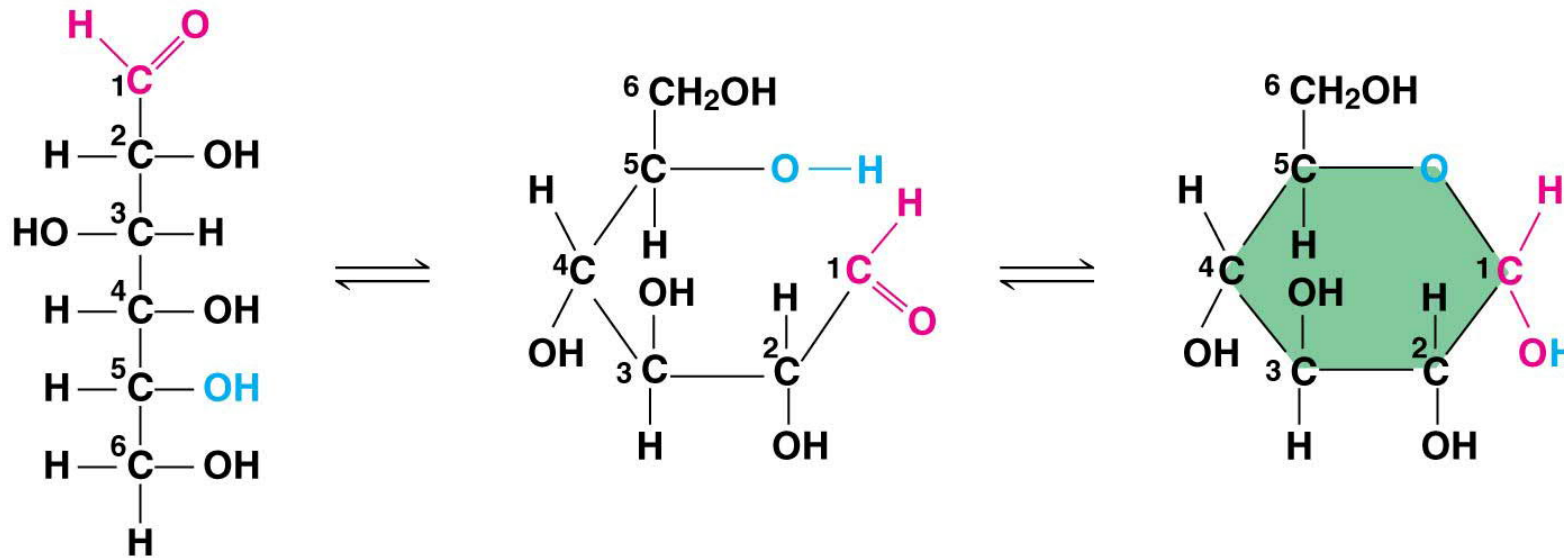
Aldoosi (sokerialdehydi)	Ketoosi (sokeriketoni)
Trioosit: 3-hiiliset sokerit (C ₃ H ₆ O ₃)	
 <p style="text-align: center;">glyseraldehydi</p>	 <p style="text-align: center;">dihydroksiasetaatti</p>

Aldehydiryhmä voi sijaita joko hiiliketjun päässä tai sen keskellä.

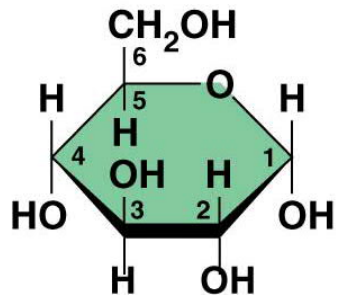
Aldoosi (sokerialdehydi)	Ketoosi (sokeriketoni)
Pentoosit: 5-hiiliset sokerit (C ₅ H ₁₀ O ₅)	
 <p style="text-align: center;">Ribooosi</p>	 <p style="text-align: center;">Ribuloosi</p>

Aldoosi (sokerialdehydi)	Ketoosi (sokeriketoni)
Heksoosit: 6-hiiliset sokerit (C ₆ H ₁₂ O ₆)	
 <p style="text-align: center;">Glukoosi</p>	 <p style="text-align: center;">Galaktoosi</p>
 <p style="text-align: center;">Fruktoosi</p>	

Sidokset voivat kiertää, mutta niiden järjestys ei muutu. Siten glukoosilla ja galaktoosilla ovat isomeerejä.

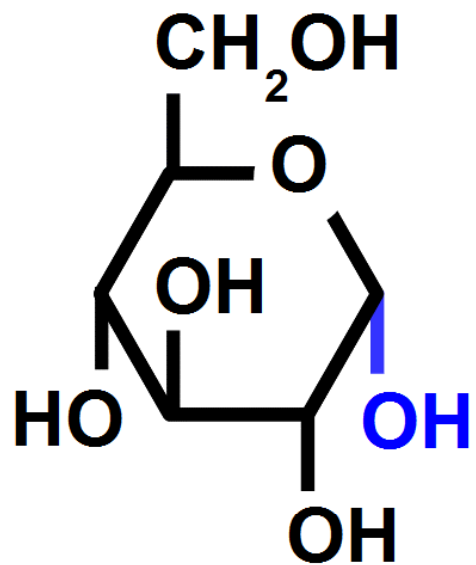


(a) Lineaarinen ja rengasrakenne

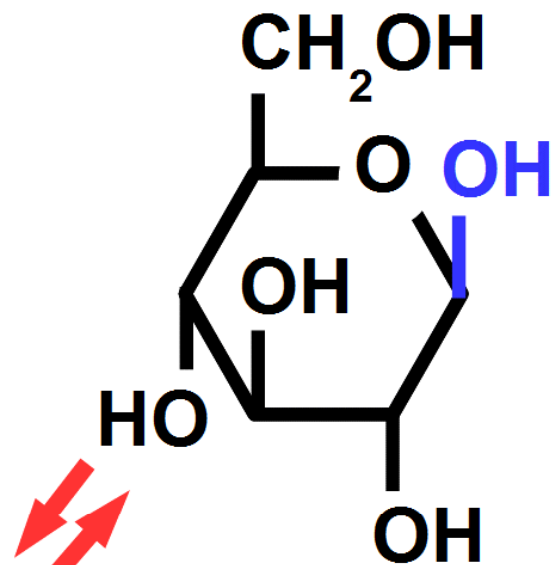


Vesiliuoksissa monosakkaridit muodostavat usein renkaita hydroksyylihapen hyökätessä karbonyylihiileen. Tällöin karbonyylin kaksoissidos aukeaa ja muuttuu hydroksyyli ryhmäksi.

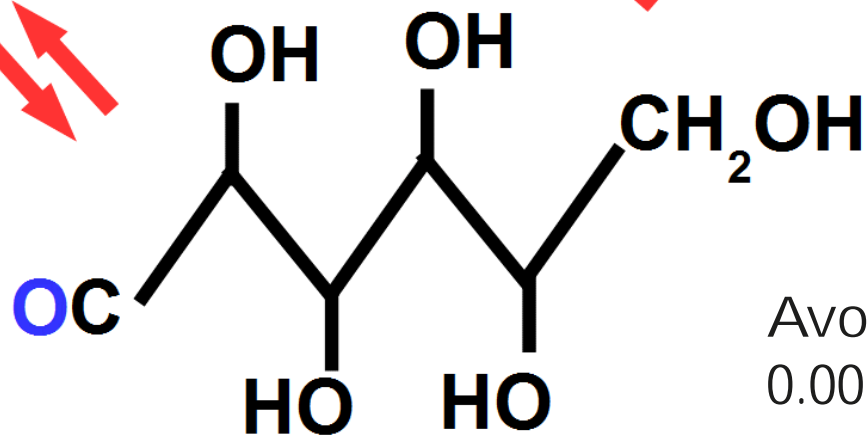
Reaktio tapahtuu kuitenkin molempiin suuntiin eli yksinkertaiset sokerit esiintyvät sekä renkaana että lineaarisena molekyylinä.



S-enantiomeeri
 α -D-glukopyranoosi
36.4 %



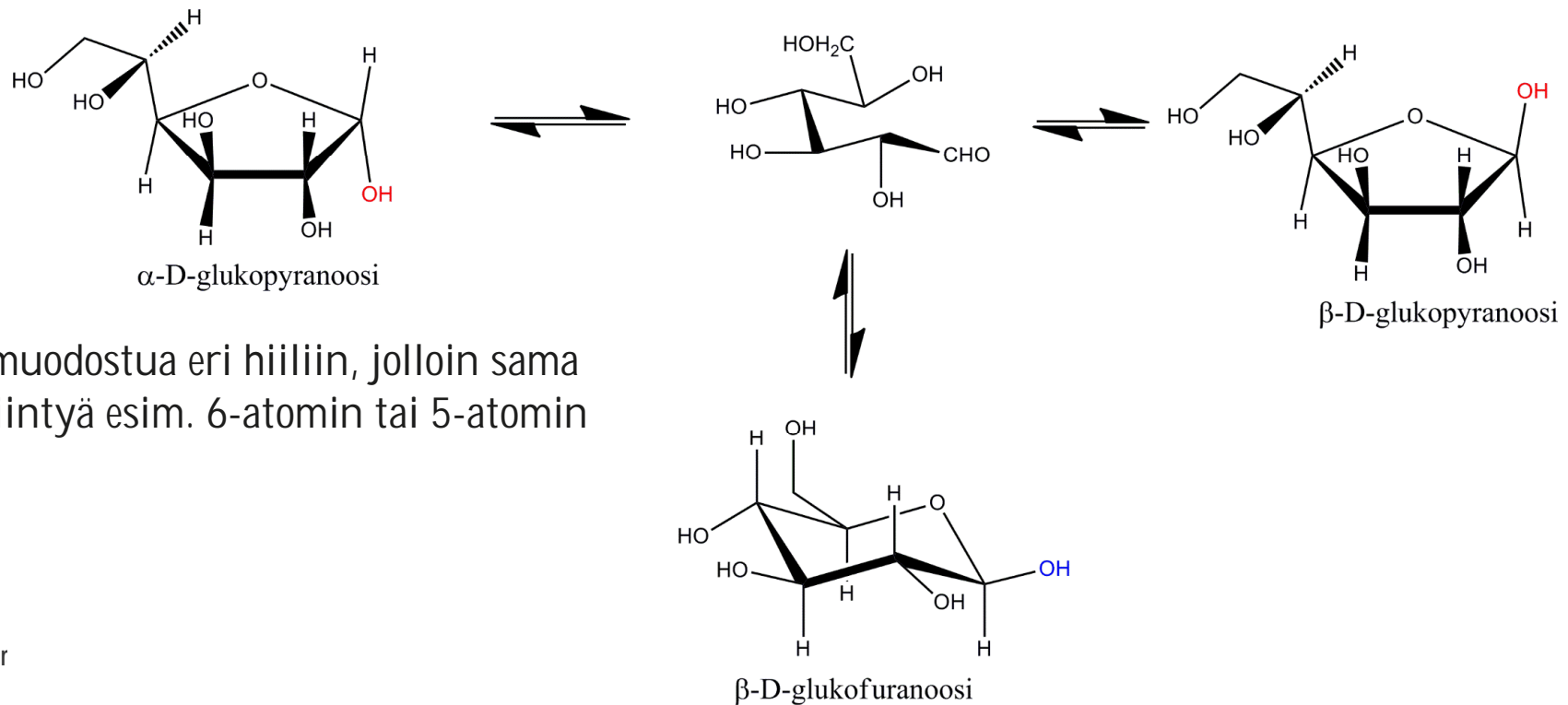
R-enantiomeeri
 β -D-glukopyranoosi
63.6 %



Avoketjuinen glukoosi
0.003 %

Monosakkaridit vaihtelevat rengasrakenteen ja avoketjuisen muodon välillä. Koska rengas voi muodostua 1-hiileen kummalta puolelta tahansa.

Muodostuu renkaita, joissa yksi hydroksyyli-ryhmä on joko sivulla tai alhaalla (α - ja β -muodot).



Rengas voi muodostua eri hiiliin, jolloin sama sokeri voi esiintyä esim. 6-atomin tai 5-atomin rakenteena.

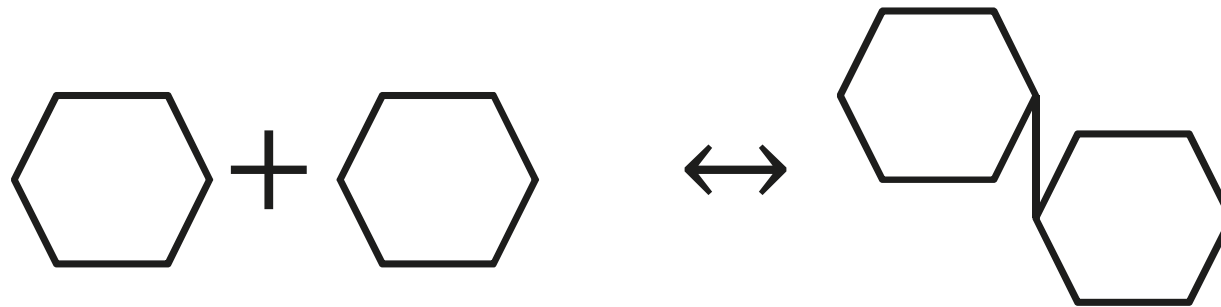
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



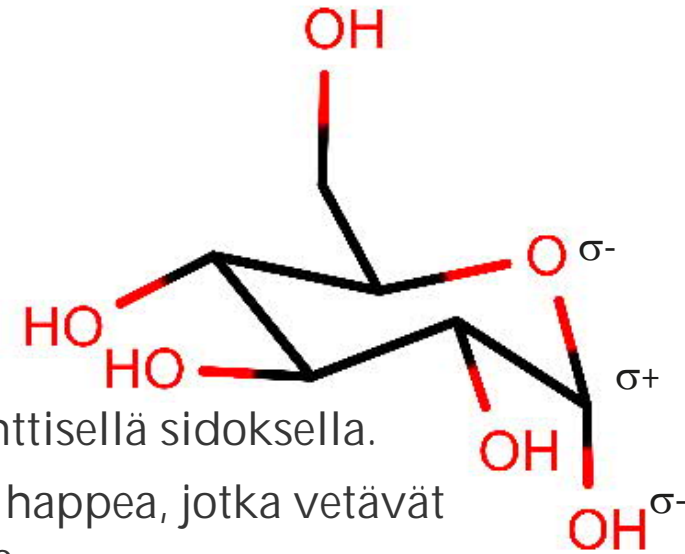


Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Sokeriketjut

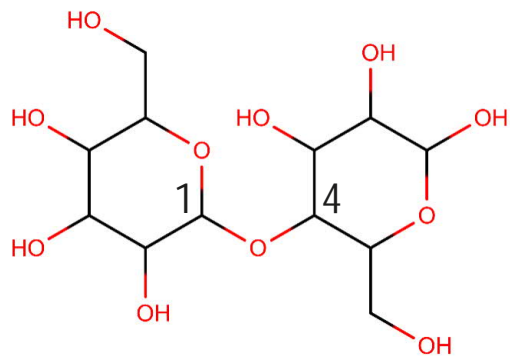
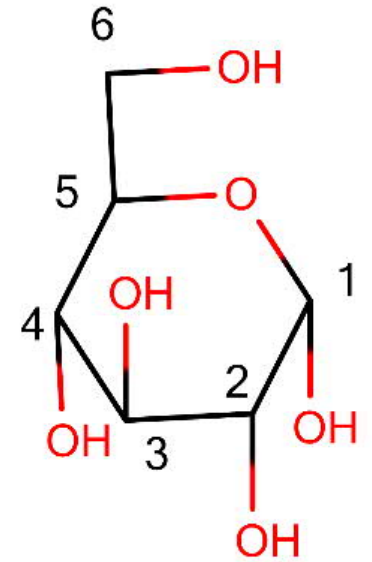
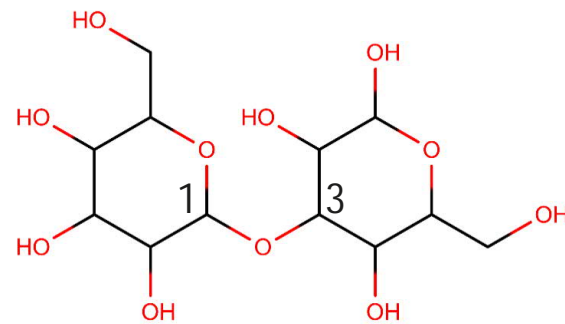
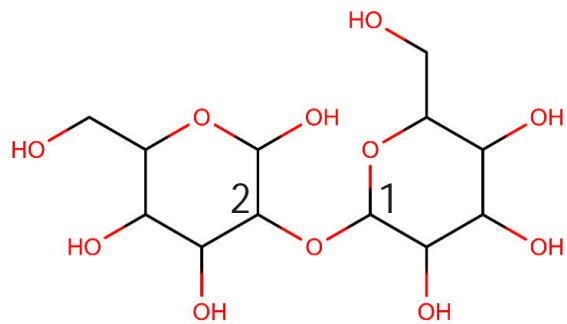
Disakkaridit



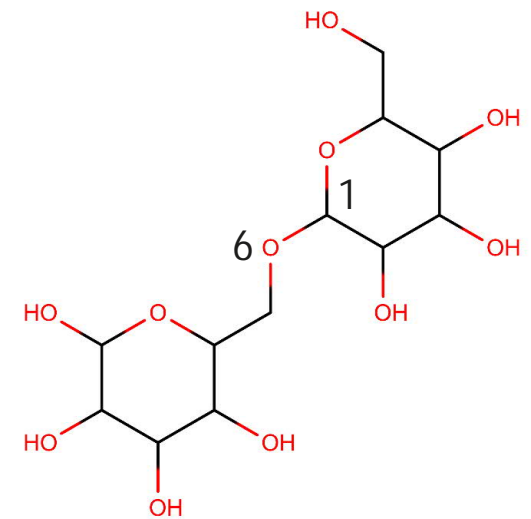
Disakkaridit muodostuvat kahden monosakkaridin yhtyessä kovalenttisellä sidoksella.

- Monosakkaridin rengasrakenteessa 1. hiileen on kiinnittynyt kaksi happea, jotka vetävät elektroneja puoleensa. Tällöin hiilellä on positiivinen osittaisvaraus.
 - Hiili reagoi hapen, typen tai rikin kanssa, jolloin muodostuu O-, N- tai S-glykosidi-sidos.
- Glykosidi-sidos voi muodostua molekyylin ylä- tai alapuolelle, jolloin muodostuneet molekyylit ovat enantiomeerejä (α ja β -muoto).
 - Sokerien tapauksessa sidoksen muodostavat 1. hiili ja viereisen sokerin hydroksyylihappi.
 - Sidos voi tapahtua mihin tahansa hydroksyylihappeen, jolloin muodostuu 1-2, 1-3, 1-4 ja 1-6 sidoksia (muodostuva sidos riippuu entsyymin rakenteesta).

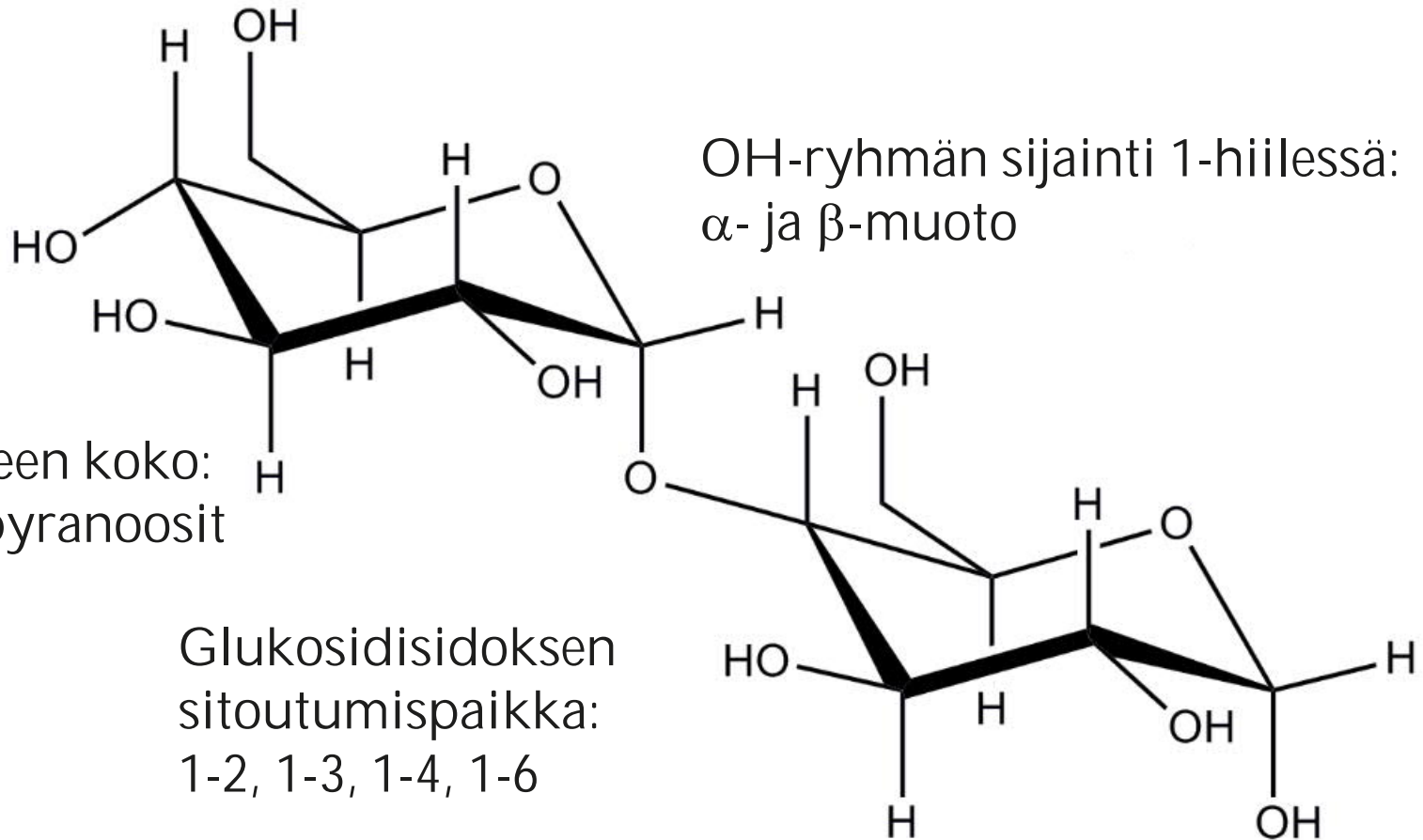
Disakkaridit



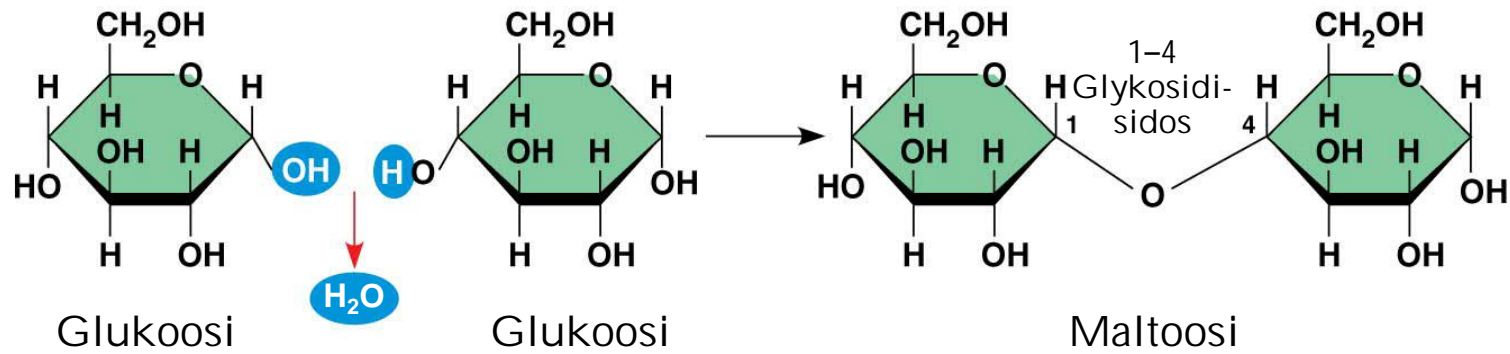
Lisäksi sidos on joko renkaan tasossa tai sen ylä/alapuolella (α - ja β -)enantiomeerit



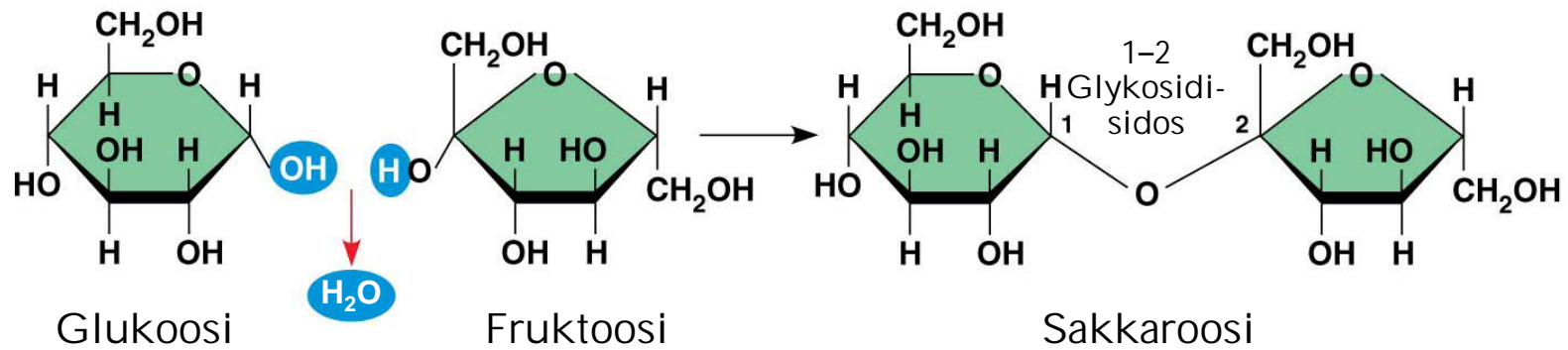
Sokeriketjut pähkinänkuoressa



(a) Maltoosisynteesi



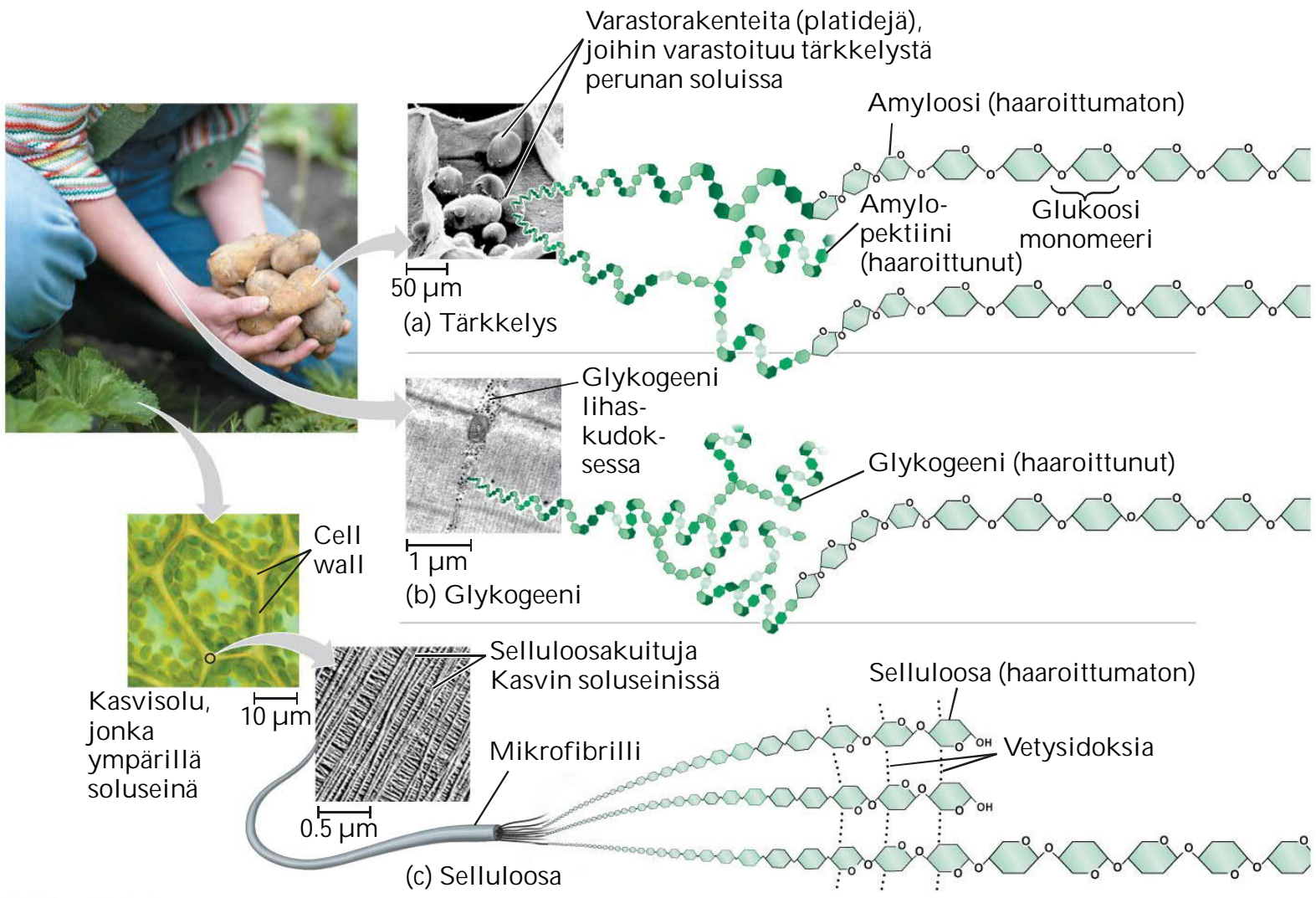
(b) Sakkarosisynteesi



Polysakkaridit

Kun muodostuneeseen disakkaridiin lisätään sokereita, muodostuu muutaman sokerin pituisia oligo- ja pitkiä polysakkaridejä.

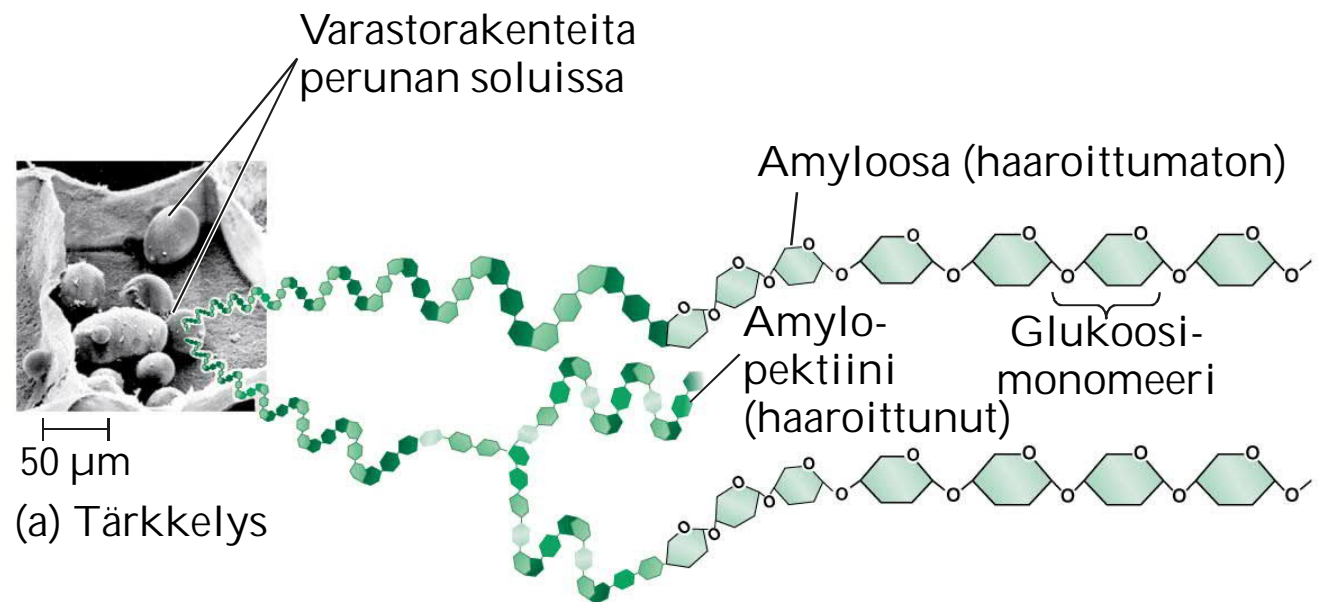
- Pitkät sokerit voivat sisältää tuhansia monosakkaridejä
- Pitkät sokerit voivat olla lineaarisia polymeerejä tai haaroittuneita monosakkaridiryppäitä.
- Polysakkarideilla on useita käyttökohteita
 - Pieneen tilaan pakattuina ne varastoivat runsaasti energiaa
 - Kestävinä molekyyleinä ne muodostavat useita tukirakenteita
 - Polysakkaridien rakenteellista vaihtelua käytetään hyväksi solujen tunnistuksessa



Varasto-polysakkaridit: kasvit

Tärkkelys koostuu kahdesta polysakkaridista: amyloosasta (30%) ja amylopektiinistä (70%).

- Molemmat sokerit koostuvat α -1-4-sidoksella ketjuuntuneista gluooseista.
- amylopektiini haaroittuu α -1-6-sidoksilla, mikä vaikuttaa sen pakkautumiseen ja liukenevuuteen.



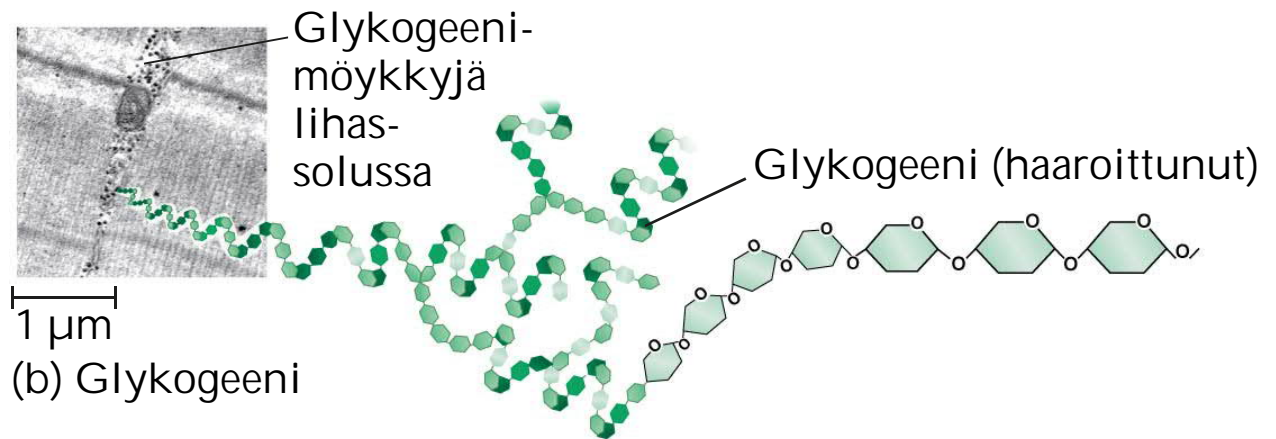
Tärkkelys varastoidaan solujen rakkularakenteisiin (amyloplasteihin), joita kasvi voi käyttää vara-ravinnonlähteenä.

Tärkkelys geelii tehokkaasti kylmässä (perunajauho-suurus)

Varasto-polysakkaridit: eläimet

Glykogeeni on eläinten tärkkelys.

- Myös glukoosi on ketjuuntunut α -1-4-sidoksilla ja haaroittunut α -1-6-sidoksilla.
- Haaroittuminen amylopektiiniä tiheämpää
 - Tekosyy kahdelle termille
- Helposti rakennettavissa ja pilkottavissa
 - Veren sokeritasapainon säätely



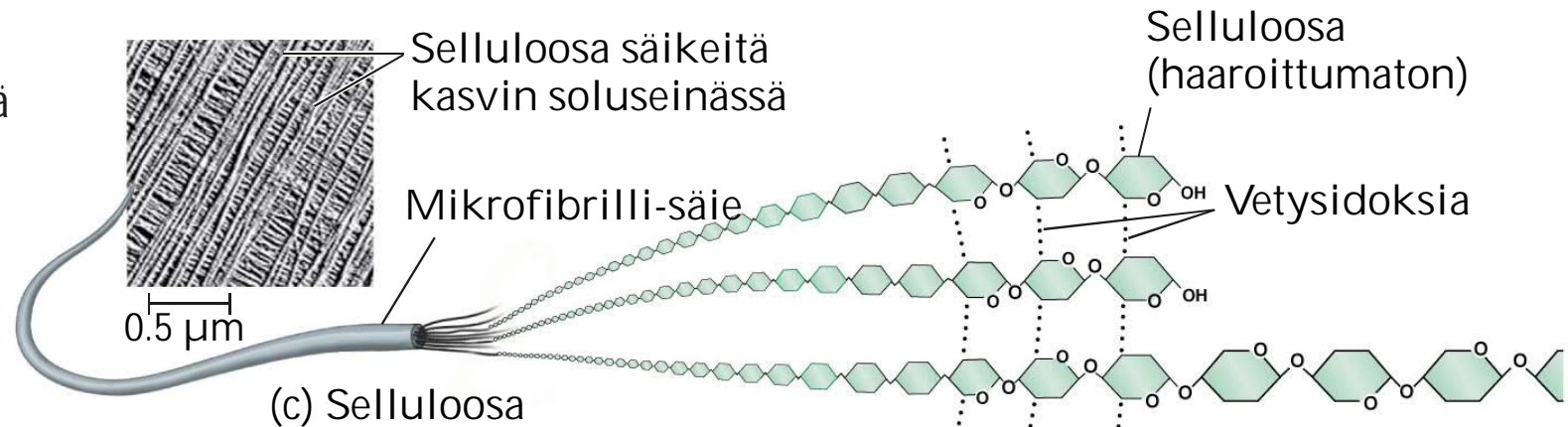
Tärkein glykogeenivarsasto on luustolihapsissa, joissa energian tarve on suurta ja kausittaista. Kuitenkin glykogeeniä on runsaasti myös esim. maksassa, jossa se varastoi veren glukoosia.

Liharuokien paistopinta johtuu glykogeenin palamisesta.

Rakenne-polysakkaridit: kasvit

Selluloosa tekee kestäviä rakenteita

- Selluloosa on ketjuuntunut β -1-4-sidoksilla.
- Ketjut lineaarisia ja jäykkiä
- Valmistetaan kalvoproteiinilla kasvisolujen ulkopuolelle
 - soluseinät



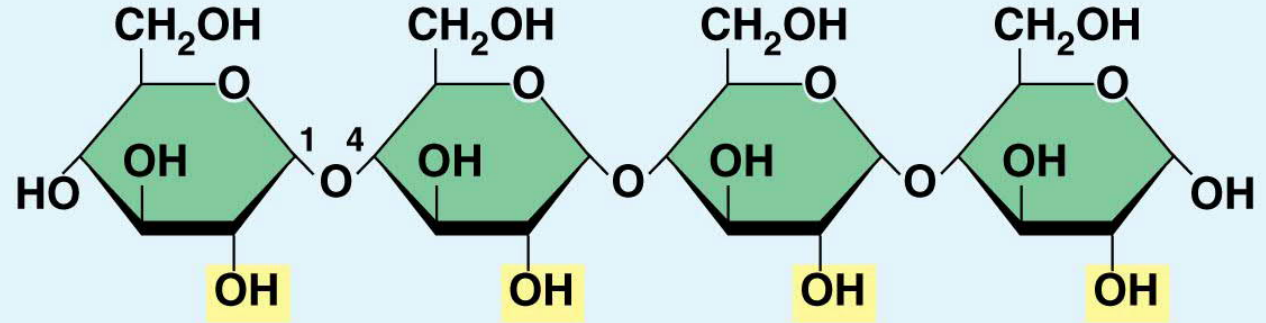
Selluloosan rakenne tekee siitä vaikeasti hajotettavan: ainoastaan tietyt yksisoluiset pystyvät hajottamaan β -1-4-sidoksia.

Putkilokasvien soluseinän lisäksi meritupet (Ascidacea) käyttävät selluloosaa kuoren rakentamisessa.

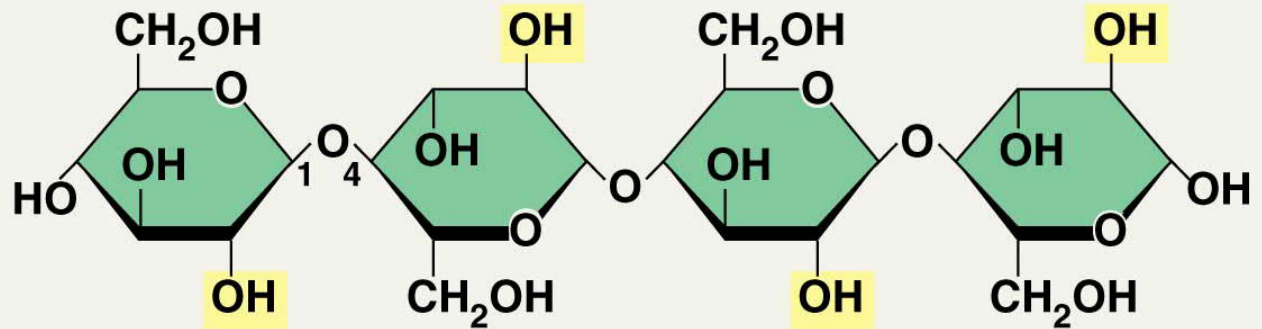
Ero α - ja β -glukoosin välillä ei vaikuta kovin suurelta, koska kyse on yhden OH-ryhmän sijainnista rengasrakenteen muodostuksessa.

Kuitenkin OH-ryhmän korvautuminen glykosididoksella muuttaa polymeerin rakennetta oleellisesti:

- Selluloosa pysyy lineaarisena molekyylinä, jossa joka toinen glukoosi on kääntyneenä 180°
- Tärkkelys kääntyy jokaisen glykosididoksen kohdalta muodostaen kierteistä polymeeriä.



(b) Tärkkelys: 1–4 sitoutuneita α glukooseja



(c) Selluloosa: 1–4 sitoutuneita β glukooseja

Rakenne-polysakkaridit: eläimet

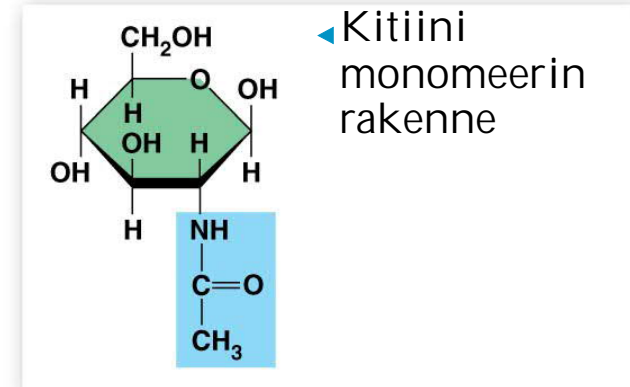
Kitiinin rakenne on selluloosa + asetyyliamiini

- 2-hiileen liittynyt asetyyliamiini lisää vetysidosten määrää,
 - kitiinisäikeet tiukasti toisissaan kiinni

Sienten soluseinän materiaali ja erittäin yleinen kuorimateriaali selkärangattomilla

Yhdistetään usein mm.

kalsiumkarbonaatin (CaCO_3) kanssa, jolloin rakenne erittäin kovaa.



- ◀ Kitiini sitoutuu proteiineihin ja muodostaa niveljalkaisten kuoren.

- ▶ Kitiiniä käytetään joustavan ja kestävämpömpelulangan valmistamisessa.



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Lipidit

Lipidit

Lipidit ovat sekalainen porukka, jota yhdistää veteen liukenemattomuus (hydrofobisuus).

- Hydrofobisuus johtuu elektronien tasaisesta jakautumisesta sidosten kesken
 - Elektronegatiivisuusero pieni: vety 2.1 vs. hiili 2.5
 - Käytännössä kaikki hiilivedyt ovat veteen liukenemattomia!
- Lipidit eivät muodosta polymeerejä, mutta hydrofobisuus kasaa hydrofobiset aineet yhteen

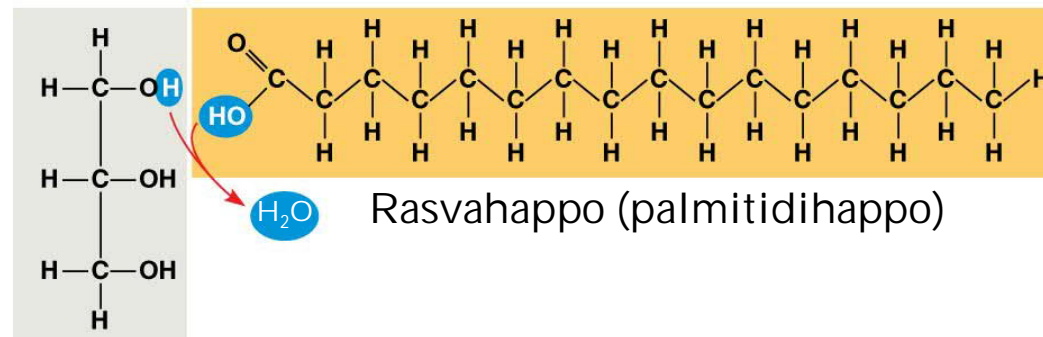
Alkoholi	Liukenevuus veteen
CH ₃ OH	1
C ₂ H ₅ OH	1
C ₃ H ₇ OH	1
C ₄ H ₉ OH	0.11
C ₅ H ₁₁ OH	0.03
C ₆ H ₁₃ OH	0.0058
C ₇ H ₁₅ OH	0.0008

Rasvat

Rasvat koostuvat kahdesta komponentista: glyserolista ja rasvahapoista

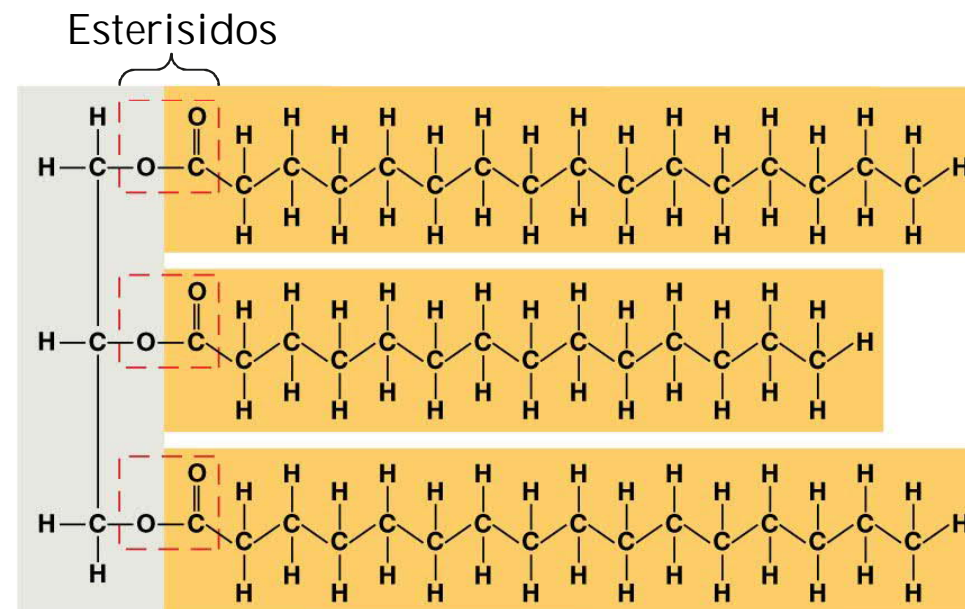
- Glyseroli on kolmen hiilen alkoholi
- Rasvahappo on pitkä (alifaattinen) hiiliketju, jonka päässä on happoryhmä (COOH)

Rasvahapposynteesissä syntyy esterisisidos ja muodostuu rasvaliukoinen triasyyliglyseroli.



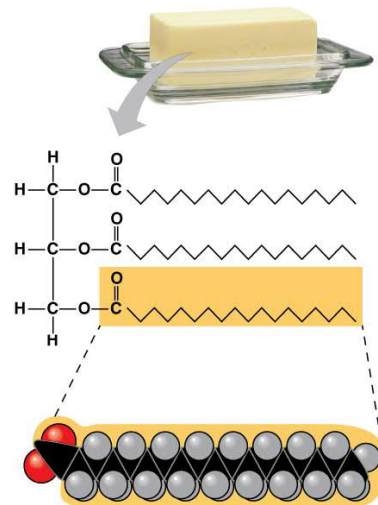
Glyseroli

(a) Yksi kolmesta rasvahapposynteesin dehydraatio-reaktiosta



Tyydyttynyt ja tyydyttymätön rasva

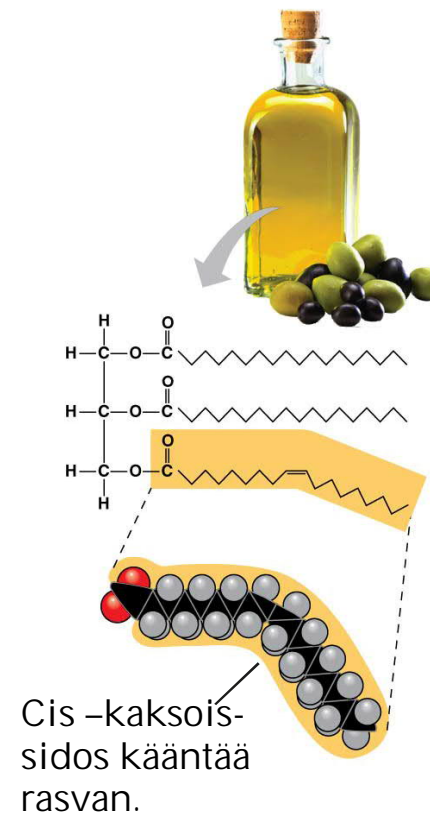
(a) Tyydyttynyt rasva



Tyydyttyneen
rasvan
rakenne

Steariinihapon
pallomalli

(b) Tyydyttymätön rasva



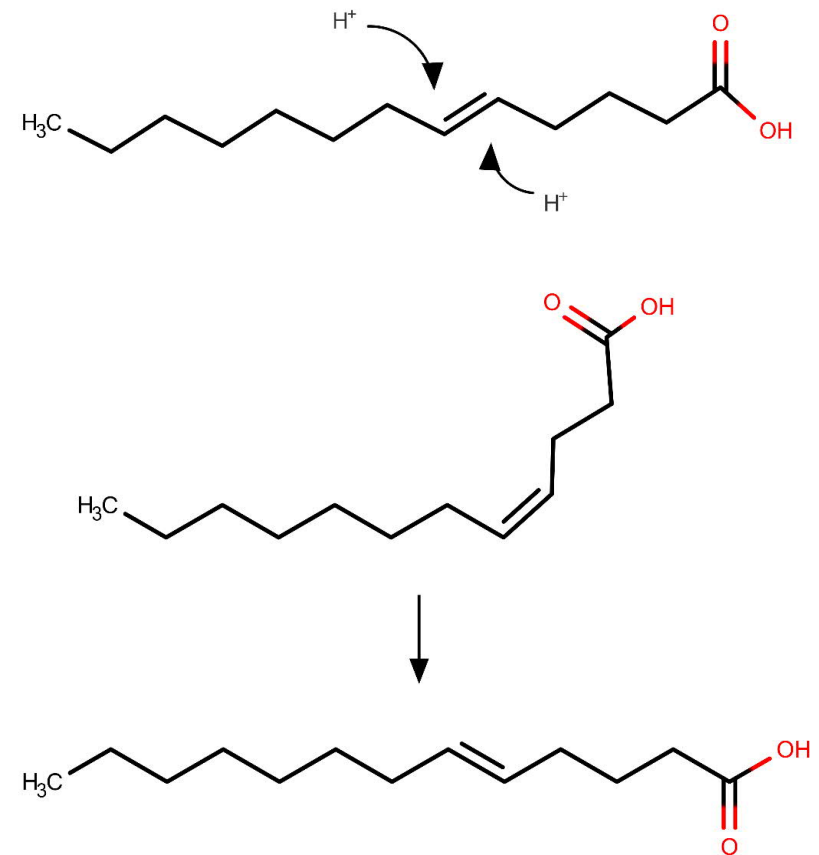
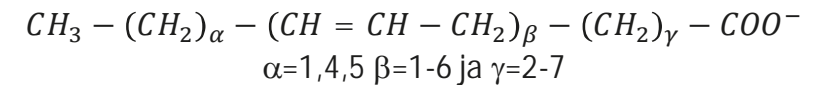
Tyydyttymättömän
rasvan
rakenne

Oleiinihapon
pallomalli

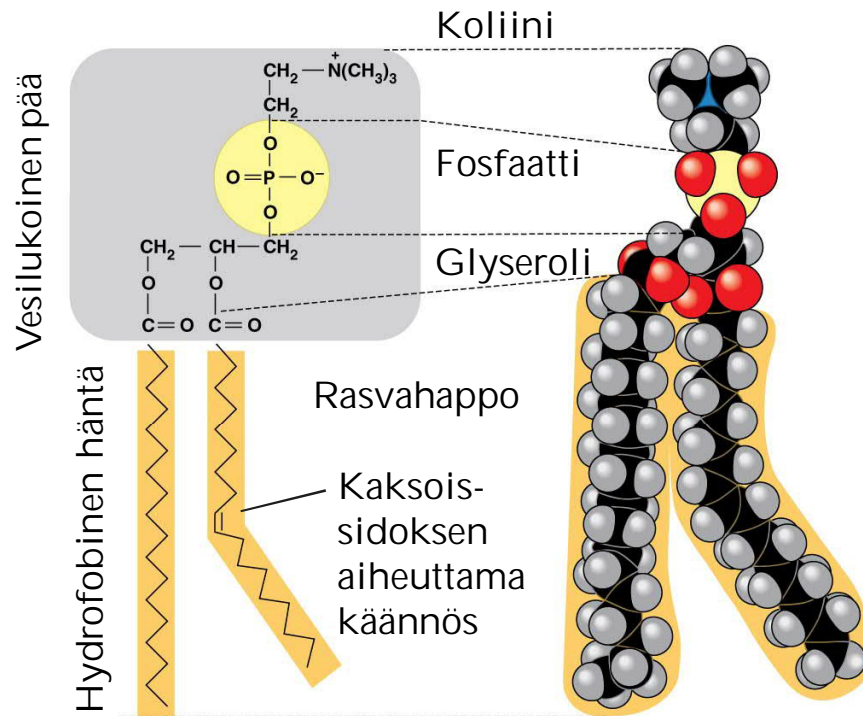
Rasvahappojen diversiteetti

Rasvahappojen pituus ja niissä olevien kaksoissidosten määrä vaihtelee.

- Runsaasti rakenteellista vaihtelua ja käytössä paljon triviaalinimiä.
- Yleissääntö: kaksoissidokselliset (tyydyttymättömät) rasvat ovat juoksevia huoneenlämmössä
- Kaksoissidosten määrä riippuu elion elinympäristöstä
- Tyydyttymättömiin rasvoihin voidaan lisätä vetyä hydrogenaatiolla (sivutuotteena elintarviketeollisuuden trans-rasvoja).
- Joitain tyydyttymättömiä rasvahappoja ei pystytä tuottamaan elimistössä (omega-3)



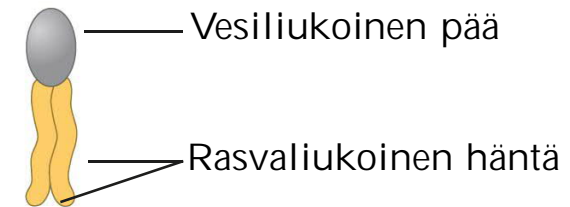
Fosfolipidit



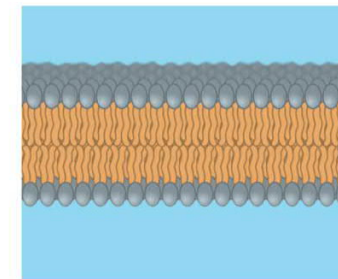
(a) Rakennekaava

© Pearson Education, Inc.

(b) Pallomalli



(c) Fosfolipidin kaavakuva

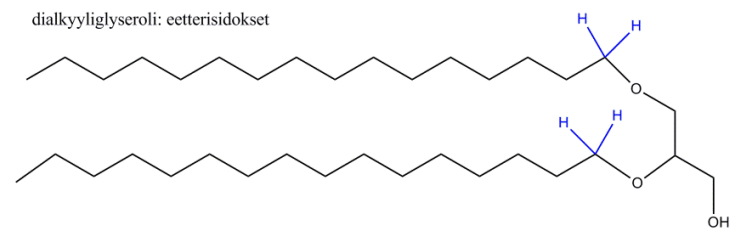
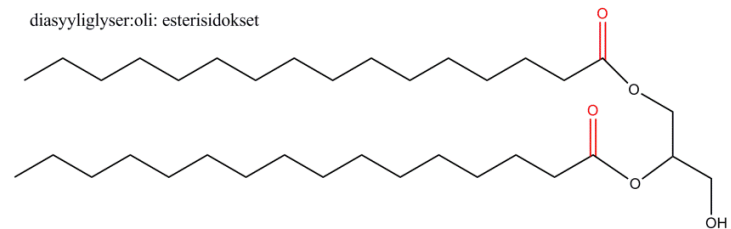
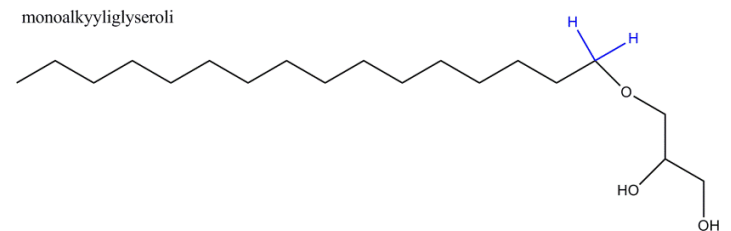
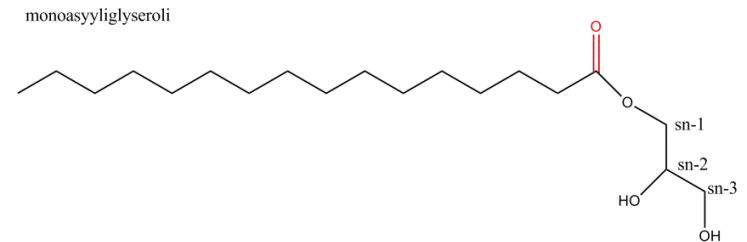


(d) Fosfolipidi kaksoiskalvo

Glyserofosfolipidit

Biologisten kalvojen fosfolipideistä 80% sisältää glyserolia.

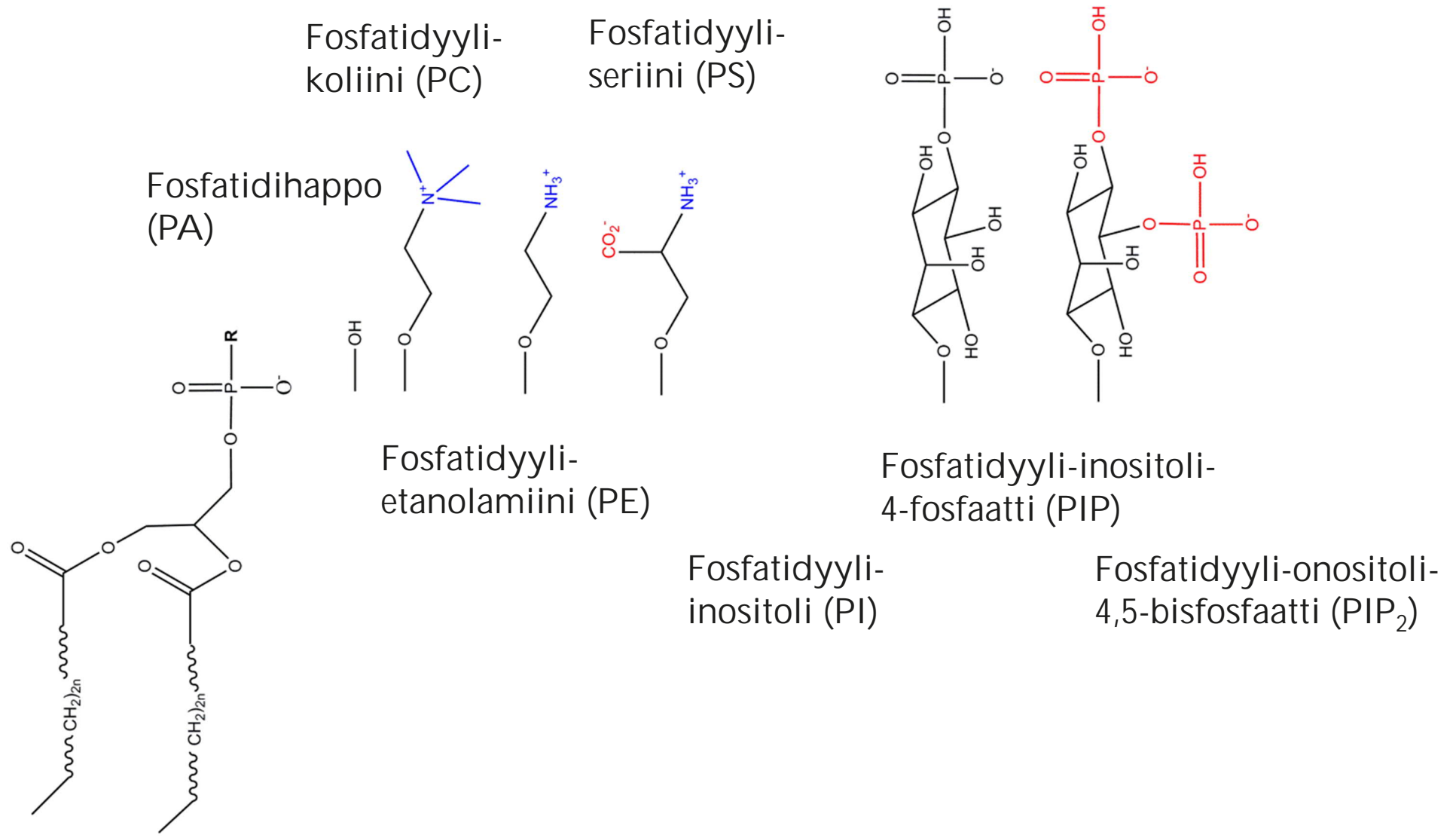
- Yleensä glyserofosfolipideissä kaksi 2 rasvahappoa on kiinnittynyt glyseroliin eetteri-sidoksella (diasyyliglyseroli)
- Soluorganelleissa on yleisinä myös esterisidoksellisia glyserofosfolipidejä (dialkyyliglyseroli)
- Tunnetaan myös lipideitä, joissa esiintyy molempia sidostyypppejä.
- Rasvahappojen pituus ja niissä sijaitsevien kaksoissidosten määrä vaihtelee. Kuitenkin, usein ensimmäinen rasvahappo on tyydyttynyt (siinä ei ole kaksoissidoksia).



Glyserofosfolipidien vesiliukoiset päät

Glyserofosfolipideilla on neljä yleistä luokkaa: PC, PE, PS ja PI

- Solukalvon yleisin lipidi on fosfatidyylikoliini (PC)
 - PC on ainoa fosfolipidi, joka sijaitsee pääasiassa solukalvon ulommalla lehdykällä
- Fosfatidyylietanolaminiini (PE) myuodostaa vetysidoksia NH_3 -ryhmän avulla
 - PE on määrällisesti vähäinen komponentti eläinsoluissa, mutta tärkeä esim. Retinan soluissa arakidonihapon ja dokosahexaenoidi hapon varastoinnissa.
- Fosfatidyyliiseriini (PS) on fysiologisessa pH:ssa päästään negatiivisesti varautunut
 - PS tarvitaan esim. aktivoimaan proteiinikinaasi C-signalointireittiä
- Fosfatidyyliinositolin (PI) vesiliukoinen pää on syklinen ja huomattavasti muita suurempi
 - Inositoli voidaan fosforyloida, jolloin muodostuu fosfoinositolia PIP, PIP2, PIP3 jne.

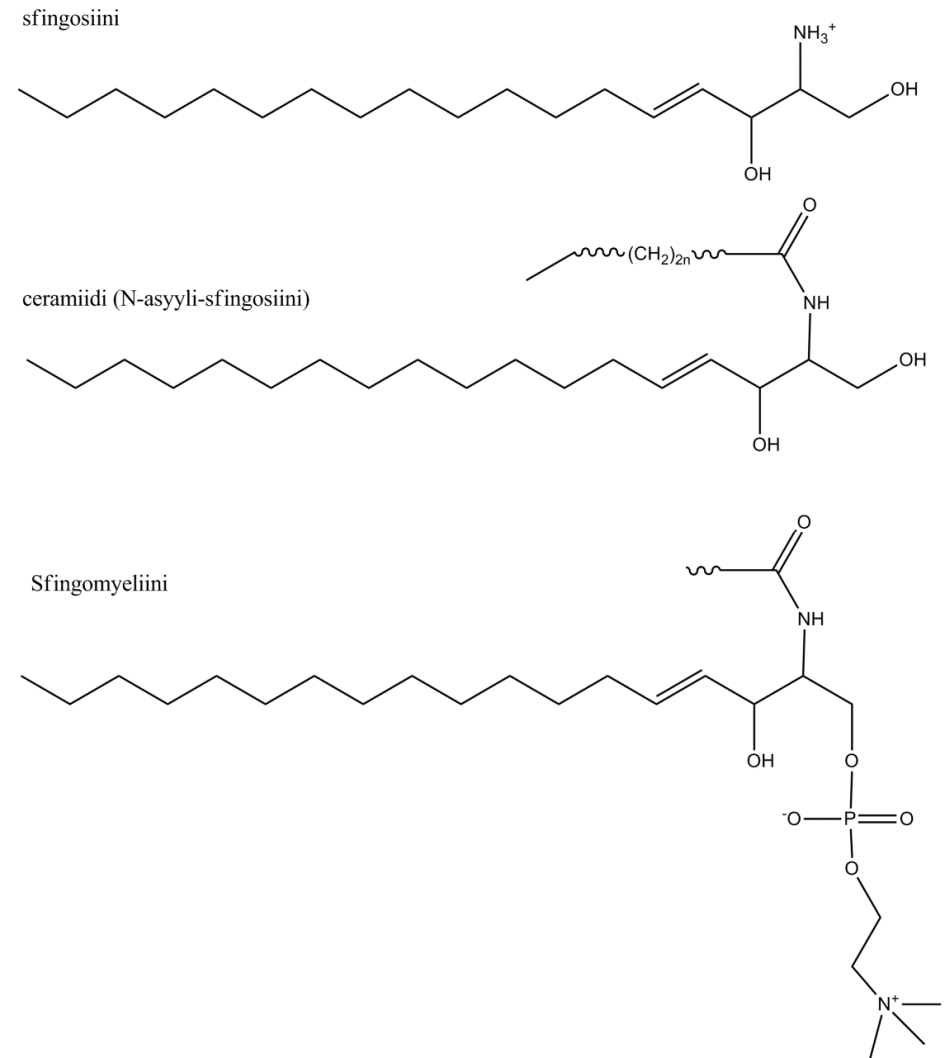


Sfingolipidit

Rasvahapot ja glyserofosfolipidit eivät ole ainoa lipidikalvon muodostaja.

- Sfingosiini on pitkä 18-20 hiilen pituinen yhdiste, jossa on 2 hydroksyyli- ja yksi amiiniryhmä sekä kaksoissidos hiilessä C_4 .
- Sfingosiini voi muodostaa vapaan rasvahapon kanssa keramiidia (ceramide)
- Muodostunut yhdiste voi liittyä fosfatidyylikoliiniin tai -etanolamiiniin muodostaen sfingomyeliiniä (SM), jota on n. 20% solukalvon lipideistä.
- Muita yleisiä sfingolipideitä ovat cerebrosidit ja gangliosidit, (glykolipideitä)

UEF // University of Eastern Finland



Lysofosfolipidit ja kardioliipiini

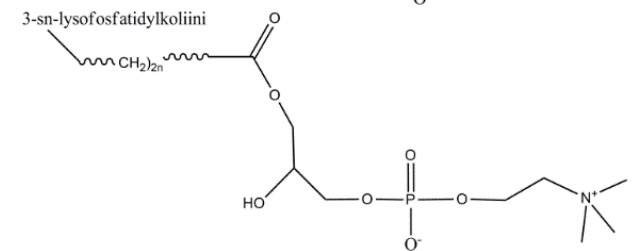
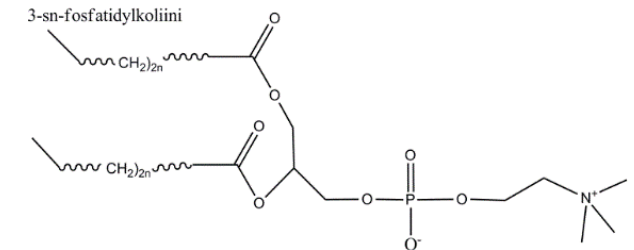
Lysofosfolipideissä on vain yksi hydrofobinen häntä.

- Yleisiä mikrosomeissa, lysosomeissa ja mikrovilluksissa, joissa tarvitaan voimakasta kalvon kaareutumista.
- Lysofosfolipidit ovat muita vähemmän hydrofobisia, jolloin ne voivat toimia myös liuottimina.

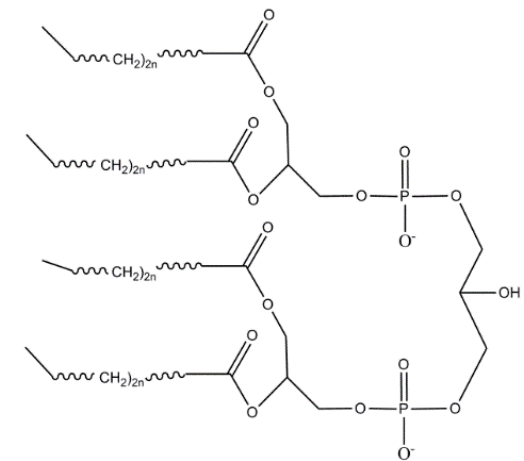
Kardioliipiini (CL) on glyserofosfolipidi, jossa on 4 hiiliketjua.

- CL esiintyy ainoastaan mitokondrian kalvoissa ja prokaryooteissa.
- CL tukee kalvoproteiineja, joita tarvitaan oksidatiiviseen fosforylaatioon mitokondrion sisäkalvolla.

UEF // University of Eastern Finland



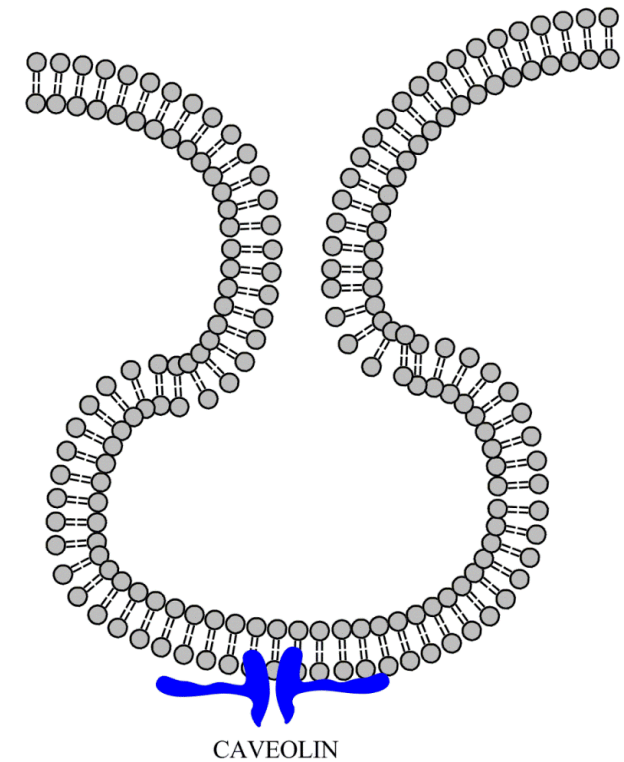
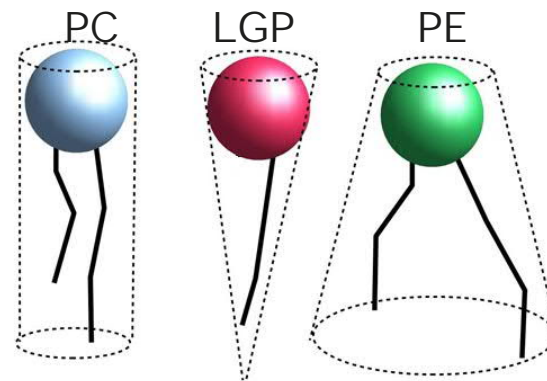
kardioliipiini / 1,3-bis(3'-sn-phosphatidyl)-glycerol



Lipidien valinta ja kalvon käännökset

Biologiset kalvot eivät ole suoria levyjä

- Erilaiset syvennykset ja ulokkeet vaativat jyrkkiäkin biologisen kalvon käännöksiä
- Erilaiset fosfolipidit tarvitsevat hyvin erilaisen hydrofobisen tilan.
- Kalvon poimuttumista voidaan stabiloida kiinnittämällä biologinen kalvo solun tukirankaan kaveoliinilla..

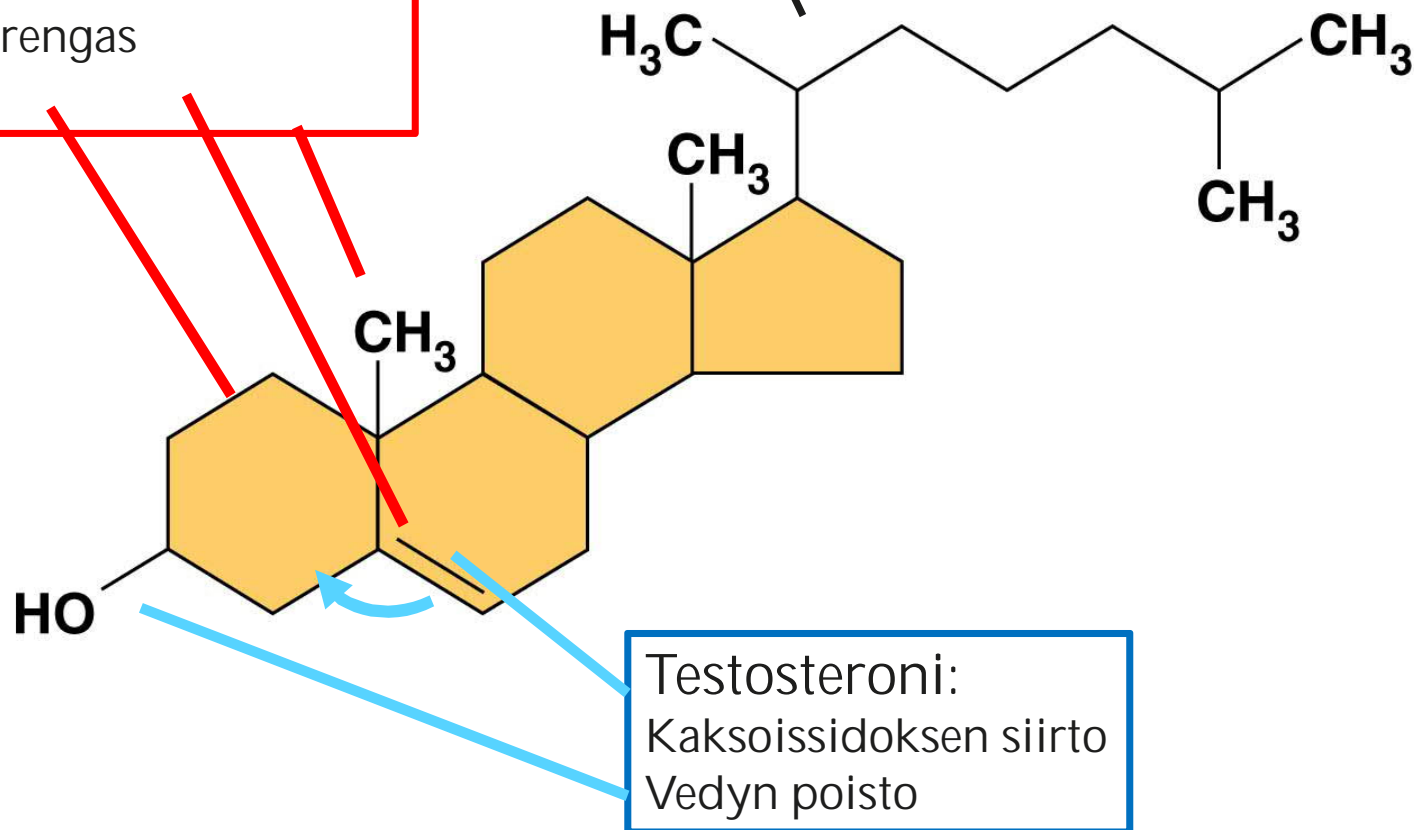


Steroidit

- Steroidit, kuten kolesteroli koostuvat neljän hiilirenkaan fuusiosta.
- Selkeästi hydrofobinen rakenne (poolittomia C-C ja C-H sidoksia)
- Kolesteroli on välttämätön komponentti solukalvoa, minkä lisäksi se toimii steroidihormonien raaka-aineena.

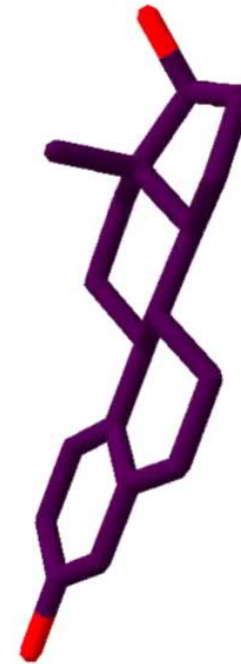
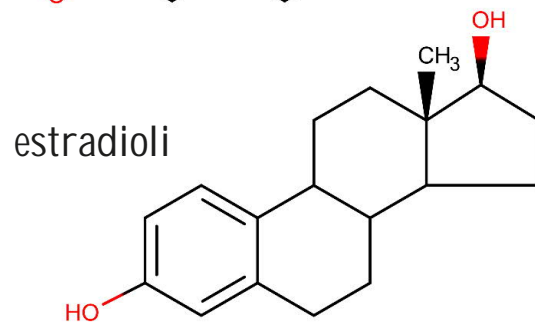
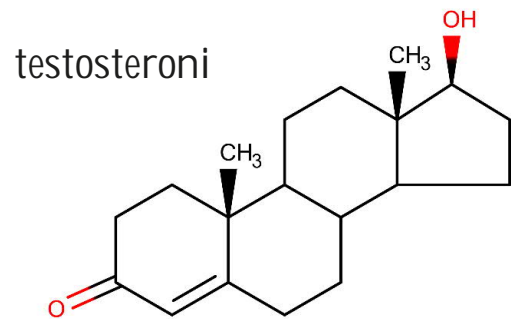
Estradioli:
Metyylin poisto
2-sidoksen poisto
Aromaattinen rengas

Steroidihormonit:
Hiiliketjun vaihto hydroksyyliin



Testosteroni:
Kaksoissidoksen siirto
Vedyn poisto

Testosteroni ja estradioli



Kiitos!



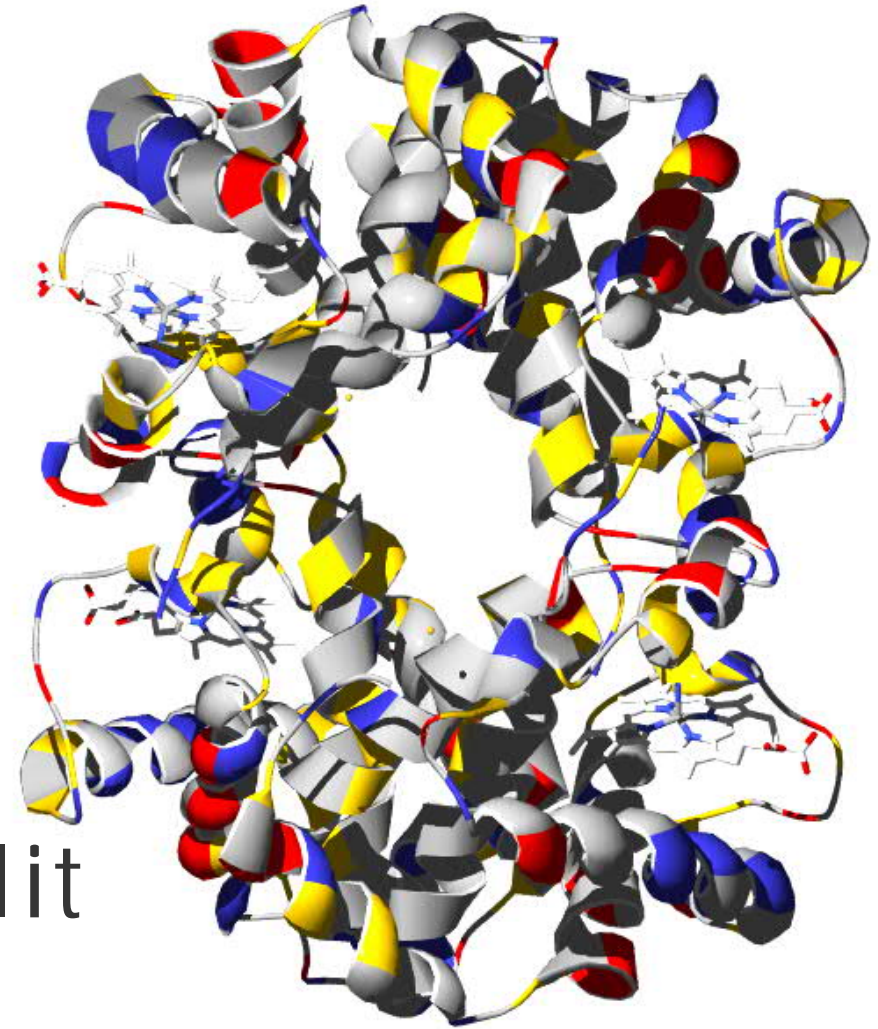
UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

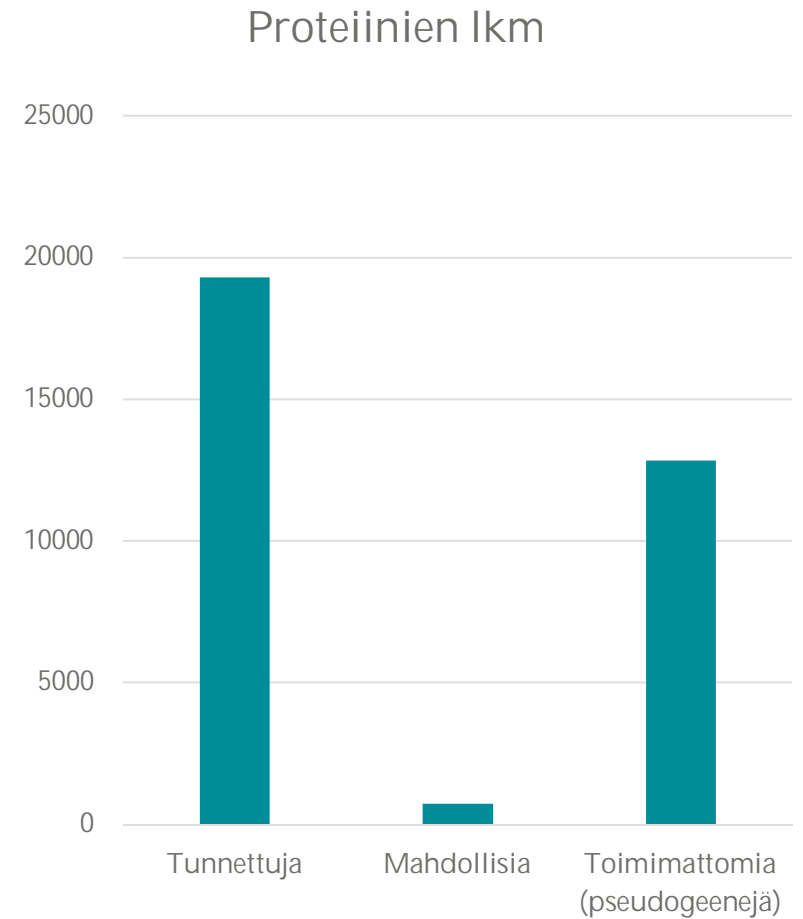
Biologiset makromolekyylit Proteiinit



Proteiinit

Proteiinit muodostavat suuren ja toiminnallisen molekyylien ryhmän, jonka rakenne ja toiminta on hyvin tunnettua

- Rakenne perustuu parinkymmenen erilaisen aminohapon muodostamaan ketjuun
- Aminohappojärjestys on koodattu geeneihin.
- Eliöiden kuivapainosta yli puolet on proteiineja.
- Proteiinien tehtävä vaihtelevat runsaasti, mutta erilaisia proteiineja on itseasiassa hämmästyttävän vähän.

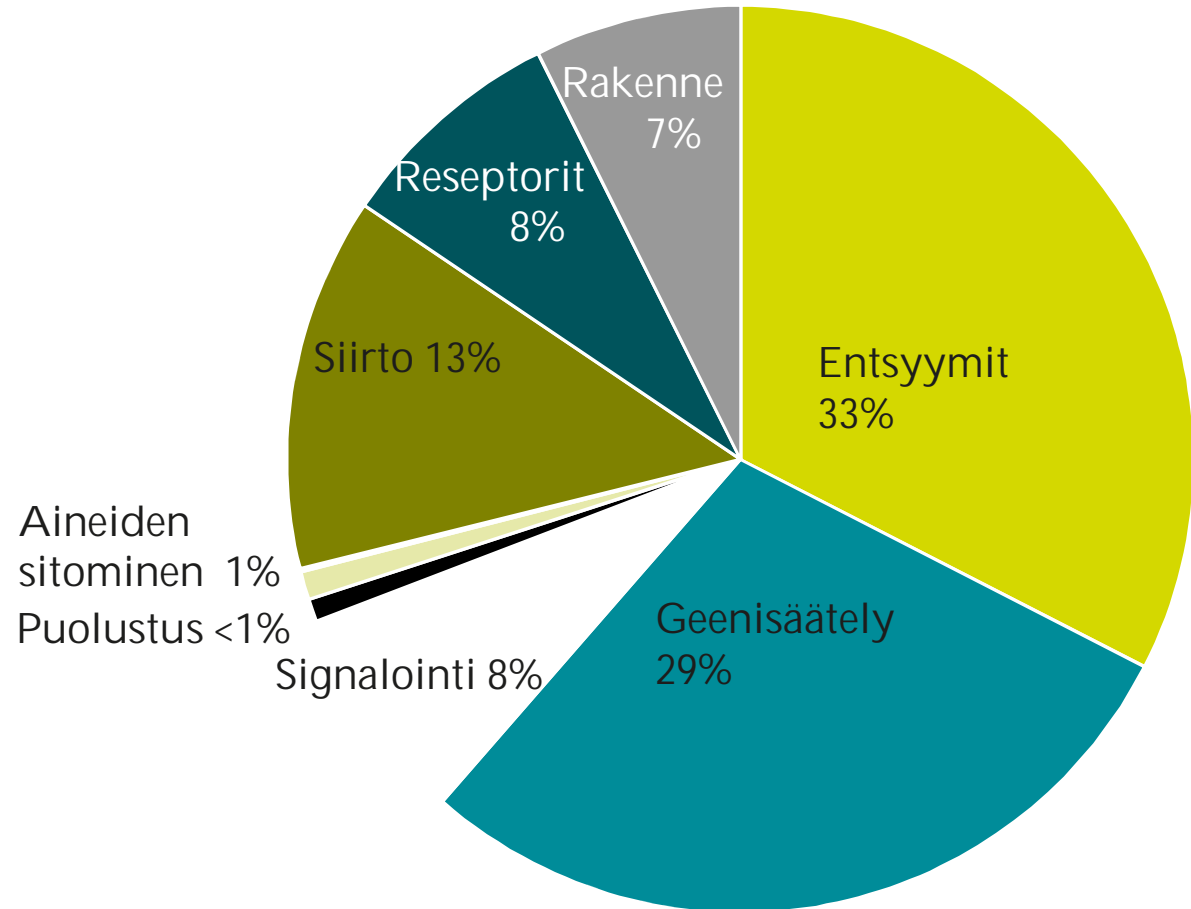


Proteiinien tehtävät

Proteiinien tehtävät vaihtelevat kemiallisten reaktioiden aikaansaamisesta pysyviin tukirakenteisiin ja energiavarastoihin.

- Valtaosa proteiineista muokkaa erilaisia molekyyliä tai vaikuttaa näiden säätelyyn.
 - Sokereiden, lipidien, proteiinien, nukleotidien muokkaus
- Merkittävä osa proteiineista myös siirtää molekyyliä joko liuoksessa tai lipidikalvon läpi liuoksesta toiseen

Tunnettujen ihmisen proteiinien tehtävät

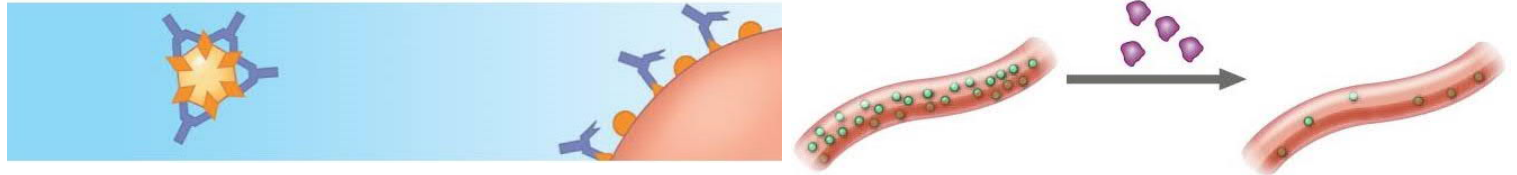


Proteiinien tehtävät

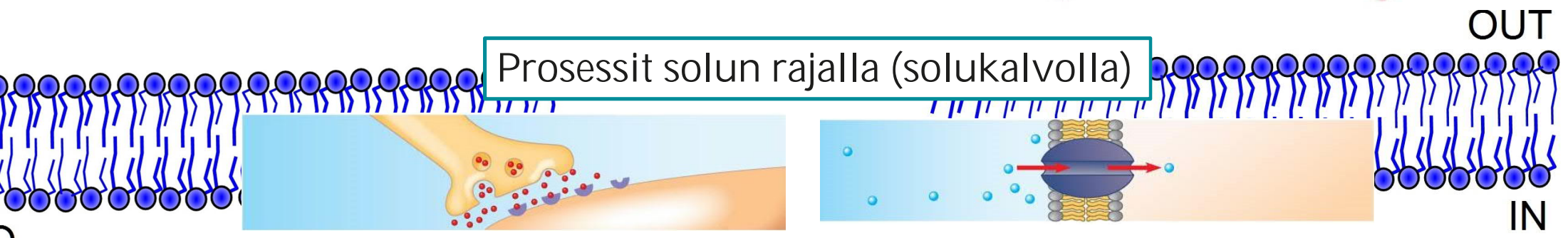


Proteiinien tehtävät

Tehtävät solun ulkopuolella



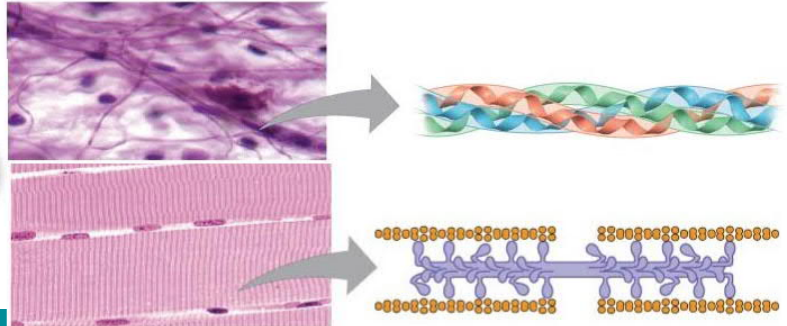
Prosessit solun rajalla (solukalvolla)



Ei tehtävää

Tehtävänä reaktiot

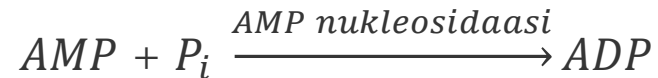
Tehtävänä solun muoto



Entsyymit

Entsyymit mahdollistavat erilaisia kemiallisia reaktioita. Ne leikkaavat ja liittävät kemiallisia sidoksia erilaisiin molekyyliin

- Esimerkiksi ruoansulatusentsyymit pilkkovat ravintoaineita
- Entsyymien toiminta perustuu reaktionopeuden lisäämiseen.
 - Ne toimivat katalyyttinä, jonka määrä ei kulu reaktiossa.



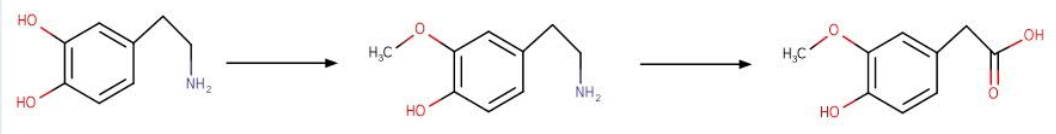
- Reaktio tapahtuu entsyymin avulla 170 ms:ssa, mutta ilman entsyymiä 3170 vuodessa



Entsyymit

Entsyymit jaetaan kuuteen pääryhmään, jotka kaikki ovat "aaseja".

Nimi	Toiminta
Oksidoreduktaasit	Hapetus-pelkistys-reaktiot
Transferaasit	Toiminnallisten ryhmien siirto
Hydrolaasit	Sidosten katkaiseminen vettä lisäämällä
Lyaasit	Sidosten katkaiseminen (ligandien irrotus)
Isomeraasit	Isomeerien muuttaminen
Ligaasit	Sidosten rakentaminen (usein ATP:n energialla)

Nimi	
Oksidoreduktaasit	$A^- + B \rightarrow A + B^-$ Hapetus-pelkistysreaktiot (elektronien siirtäminen) Yleisiä esim. NADH/NADPH:n tai hapen kanssa reagoijat
Transferaasit	$R_1-X \rightarrow R_2-X$ 
Hydrolaasit	$AB + H_2O \rightarrow A-OH + B-H$ Esterit (nukleaasit, fosfataasit, lipaasit), eetterit, sokerit, peptidit (proteaasit)
Lyaasit	$ATP \rightarrow cAMP + PP_i$ Molekyylin katkaiseminen (eliminaatioreaktio)
Isomeraasit	Moninainen ryhmä isomeerien säätelijöitä <ul style="list-style-type: none"> - Rasemaasit - Cis-trans—isomeraasit - Molekyylin sisäiset oksidoreduktaasit - Molekyylin sisäiset lyaasit <p style="text-align: right;">Katekoli-O-metyylitransferaasi</p>
Ligaasit	Molekyyliden yhdistäjiä (tyypillinen esimerkki DNA-ligaasi) $Ab + C \rightarrow AC + b$

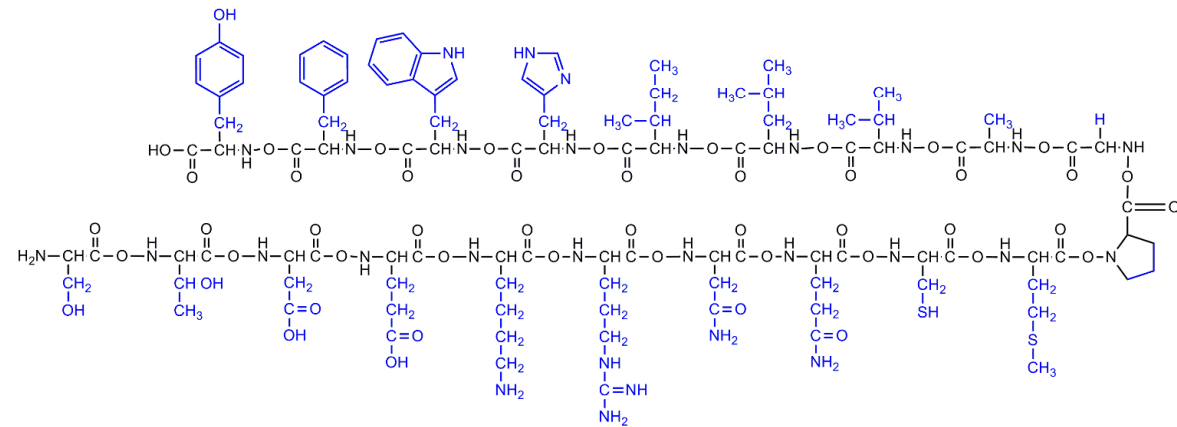
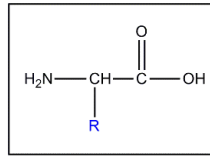
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





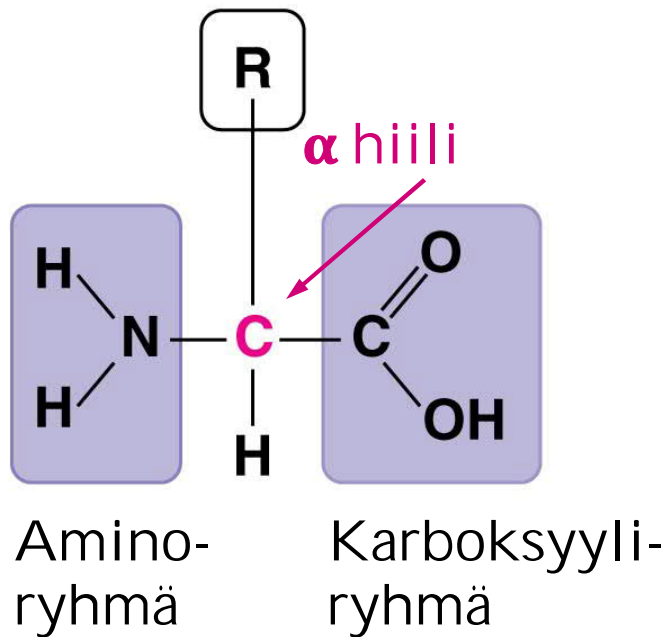
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Proteiinien rakenne

Proteiinit koostuvat aminohapoista

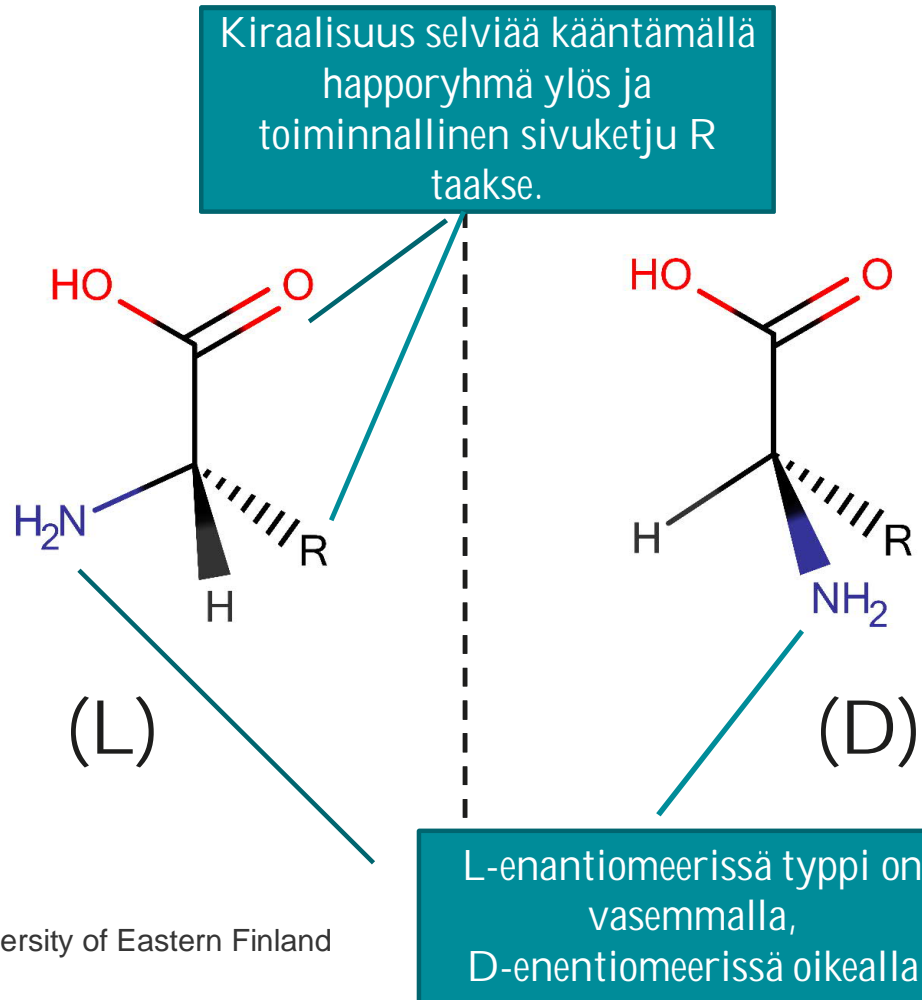
Sivuketju (R ryhmä)



Proteiinit ovat pitkiä haarautumattomia aminohappoketjuja.

- Aminohapot ovat pieniä molekyyliä, joiden perusrakenne on 2-aminoetikkahappo.
- Jokaisessa aminohapossa on amino- (NH₂/NH₃⁺) ja karboksyyli-ryhmä (COOH/COO⁻), joiden varaukseen vaikuttaa happamuus.
- Ryhmien välissä on α -hiili, johon voi olla liittynyt erilaisia ryhmiä (R).
 - Ryhmien ominaisuudet vaikuttavat aminohapon toimintaan (vesi- ja rasvaliukoiset, happamat ja emäkset).

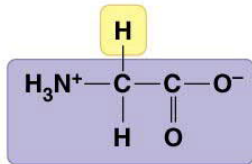
Aminohapot ovat kiraalisia



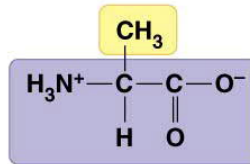
Lähes kaikista aminohapoista lähtee hiilestä 4 erilaista ryhmää, jolloin molekyyli voi esiintyä kahtena erilaisena isomeerinä.

Aminohapoilla stereokemialla kuvataan kirjaimilla L ja D (ei R ja S isomeriaa), jotka kuvaavat typpiryhmän sijaintia. Kaikki luonnossa esiintyvät aminohapot ovat L-muotoa.

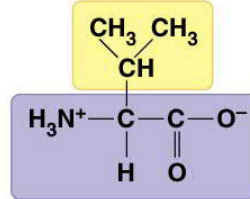
Poolittomat sivuketjut; hydrofobiset



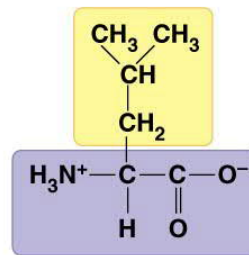
Glysiini
(Gly tai G)



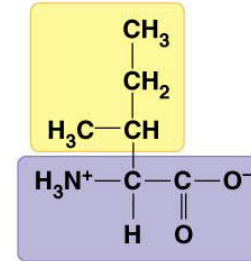
Alaniini
(Ala tai A)



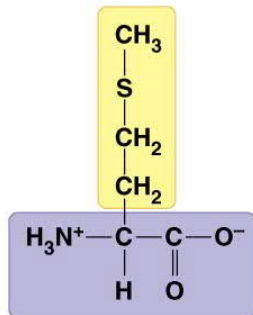
Valiini
(Val tai V)



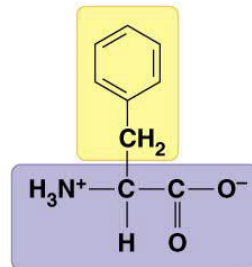
Leusiini
(Leu tai L)



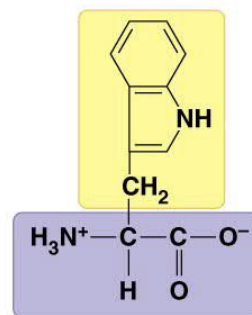
Isoleusiini
(Ile tai I)



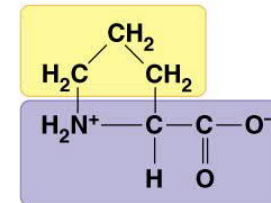
Metioniini
(Met tai M)



Fenyylialaniini
(Phe tai F)



Tryptofaani
(Trp tai W)



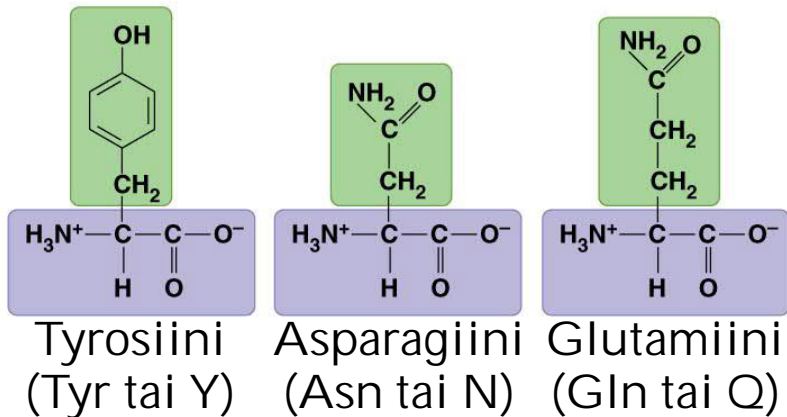
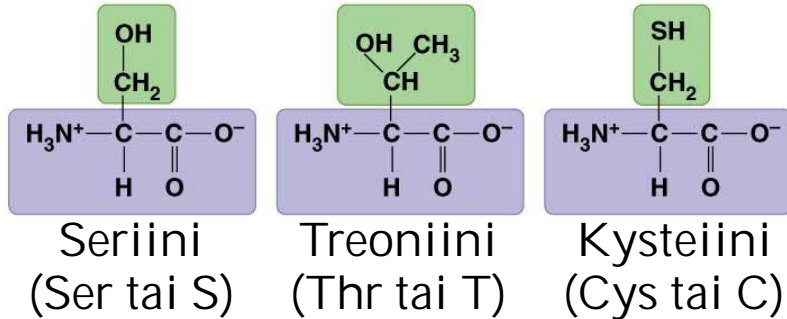
Proliini
(Pro tai P)

Huomaa, että kaikki hydrofobiset sivuketjut ovat lähinnä hiilivetyjä (poikkeus metioniini).

Mitä erikoista proliinissa on?

Prolini tekee aminoterminaalien sisältävän renkaan, jolloin proteiini kääntyy

Pooliset sivuketjut; hydrofiiliset

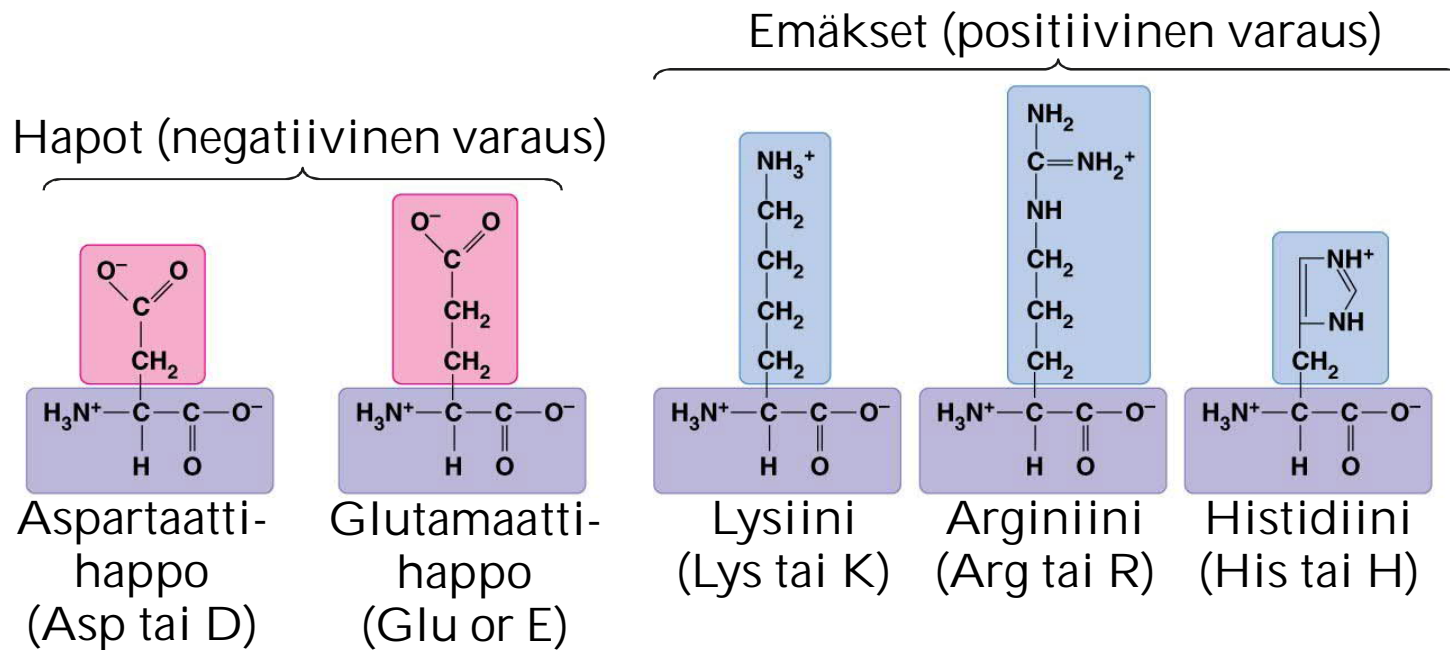


Vesiliukoisiin hiiliketjuihin kuuluvat alkoholit (-OH), tiolit (-SH) ja karbonyyliamidit (-CONH₂).

Keksitkö, miksi metioniini (-CH₂-S-CH₃) on rasvaliukoinen, mutta kysteiini (CH₂-SH) vesiliukoinen?

$\text{CH}_2\text{-SH} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CH}_2\text{-S}^- + \text{H}_3\text{O}^+$
eli kysteiini voi tehdä vetysidoksia ja luovuttaa väliaikaisesti protonin.

Varautuneet sivuketjut; hydrofiiliset

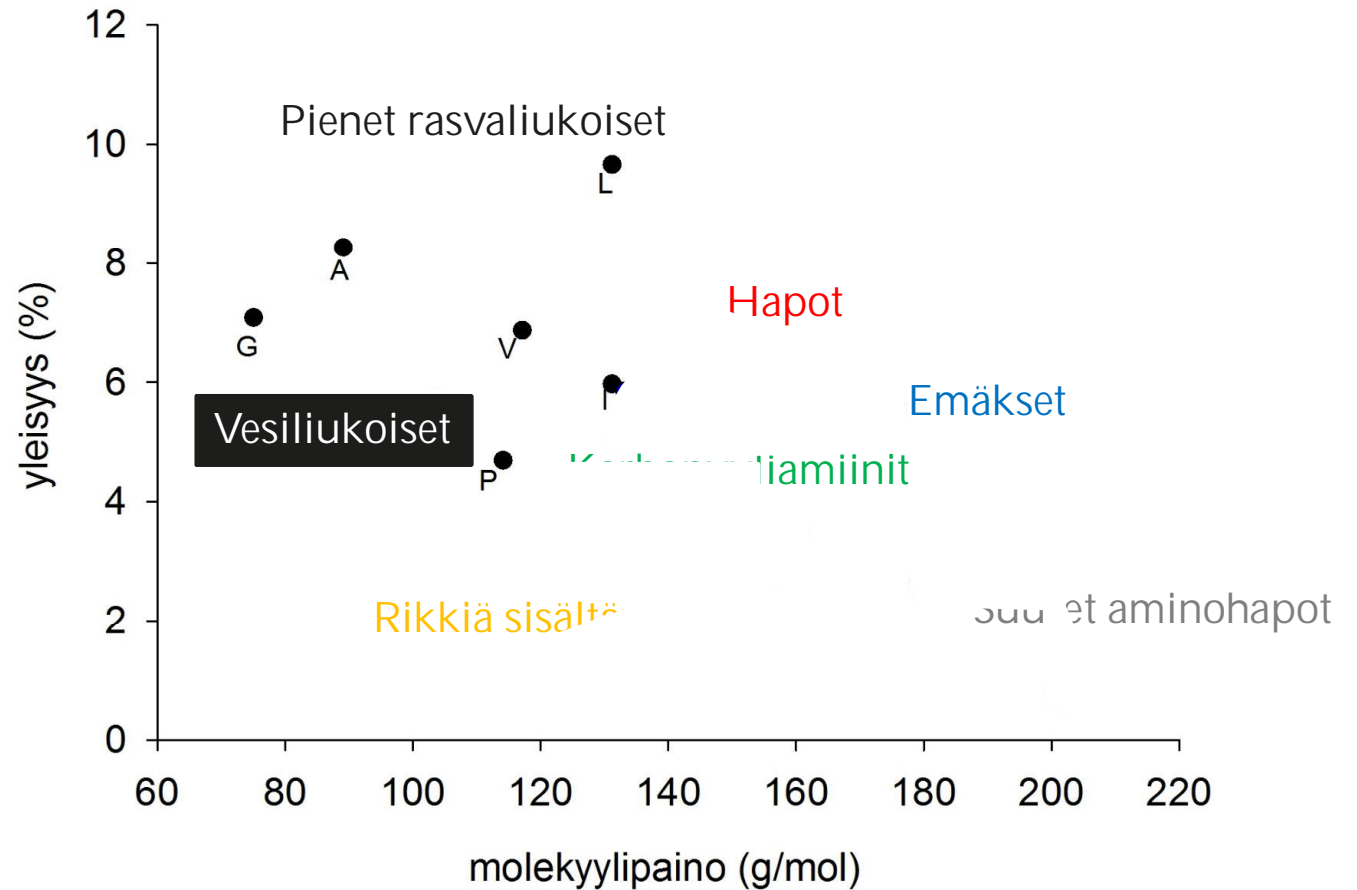


Varautuneet aminohapot sisältävät joko orgaanisen hapon (-COOH) tai amiini-ryhmän (NH₃⁺).

Pienet rasvaliukoiset aminohapot ovat yleisimpiä. Harvinaisimpia ovat suuret sivuketjut (erityisesti tryptofaani W). Myös rikkiä sisältävä kysteini on reaktiivisuutensa vuoksi hyvin harvinainen.

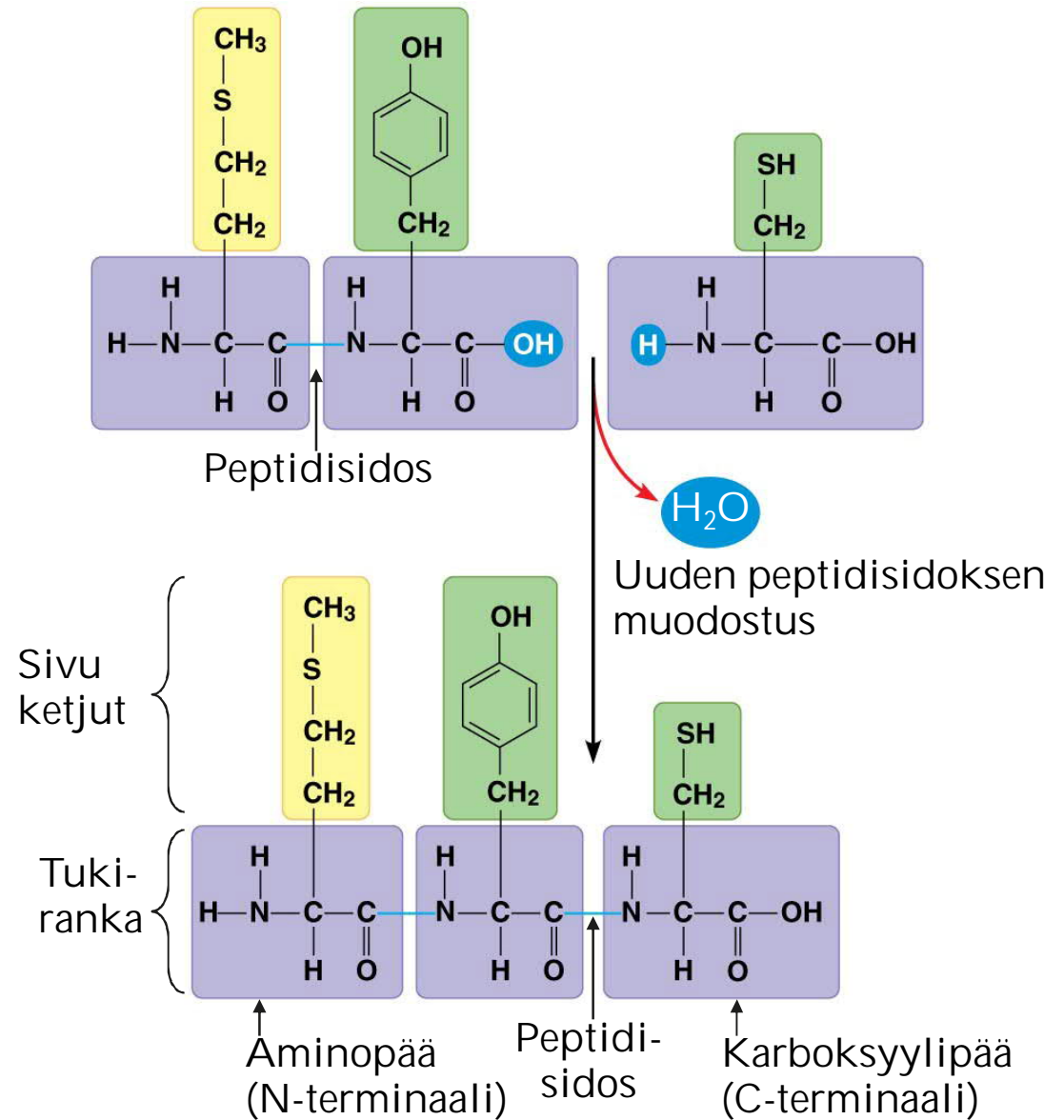
Siten aminohapon massa ei selitä yleisyyden vaihtelua vaan aminohapoilla on joitain muita merkityksiä.

Huomaa suuri ero yhtä painavien leusiinin (L) ja isoleusiinin (I) välillä!



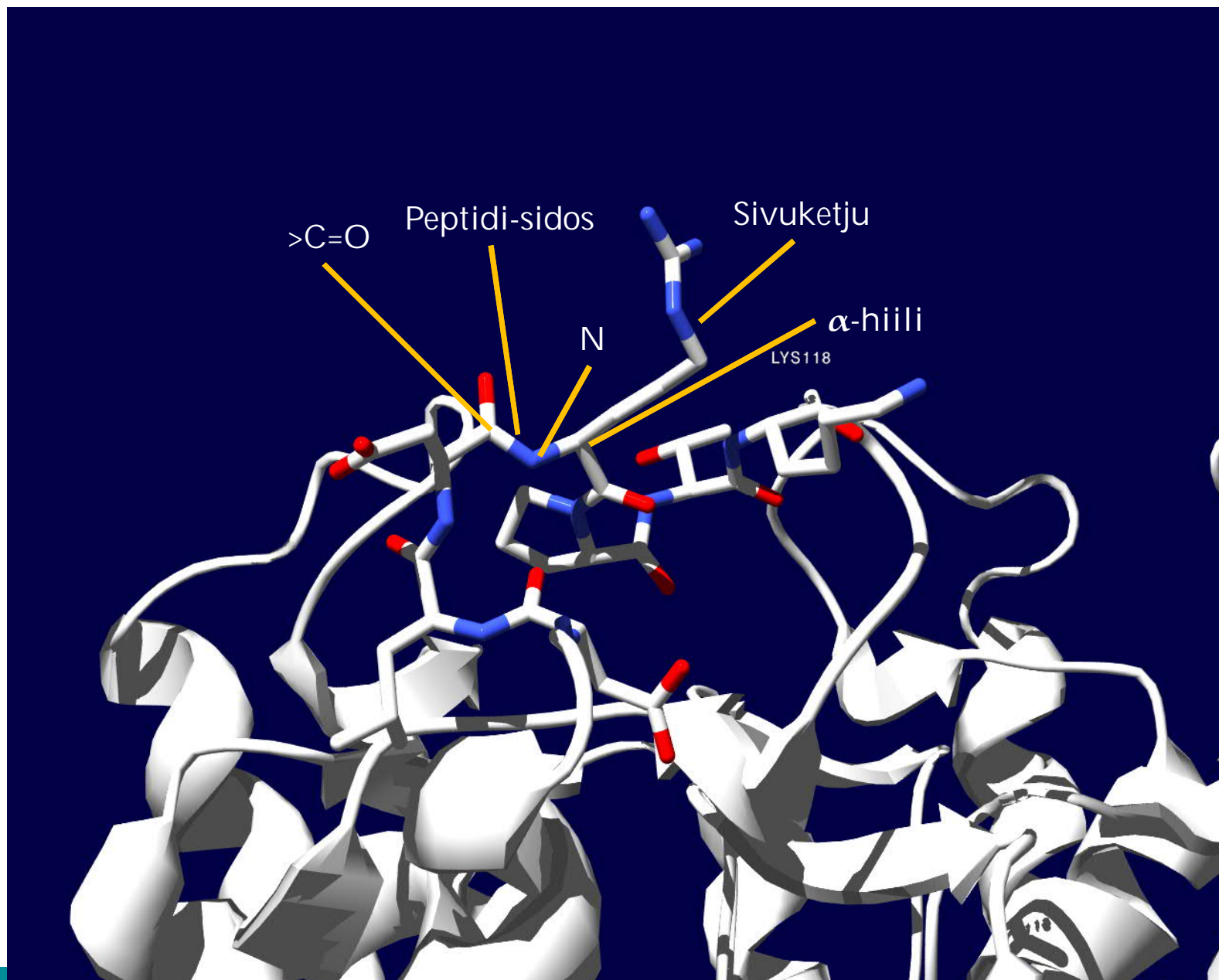
Aminohappoketjut muodostuvat peptidisidosten muodostuessa.

- Peptidisidos muodostuu kun kahden aminohapon N- ja C-terminaali yhtyvät vapauttaen vettä.
- Peptidisidos kiinnittää aminohapot toisiinsa kovalenttisesti, jolloin syntyvä molekyyli on melko kestävä.
- Syntyneitä molekyyliä kutsutaan di-, tri-, oligo-, -polypeptidiksi tai suurena molekyylinä proteiiniksi.
 - Huomaa, että muodostuneessa molekyylissä on N- ja C-terminaali.



Todellisessa proteiini-
rakenteessa peptidisidos
on usein vaikea huomata
molekyylin kääntyessä ja
laskostuessa.

Lisäksi
proteiinirakenteissa
yksittäiset atomit
merkitään yleensä
tikkumalleina, joissa eri
atomit koodataan väreillä.

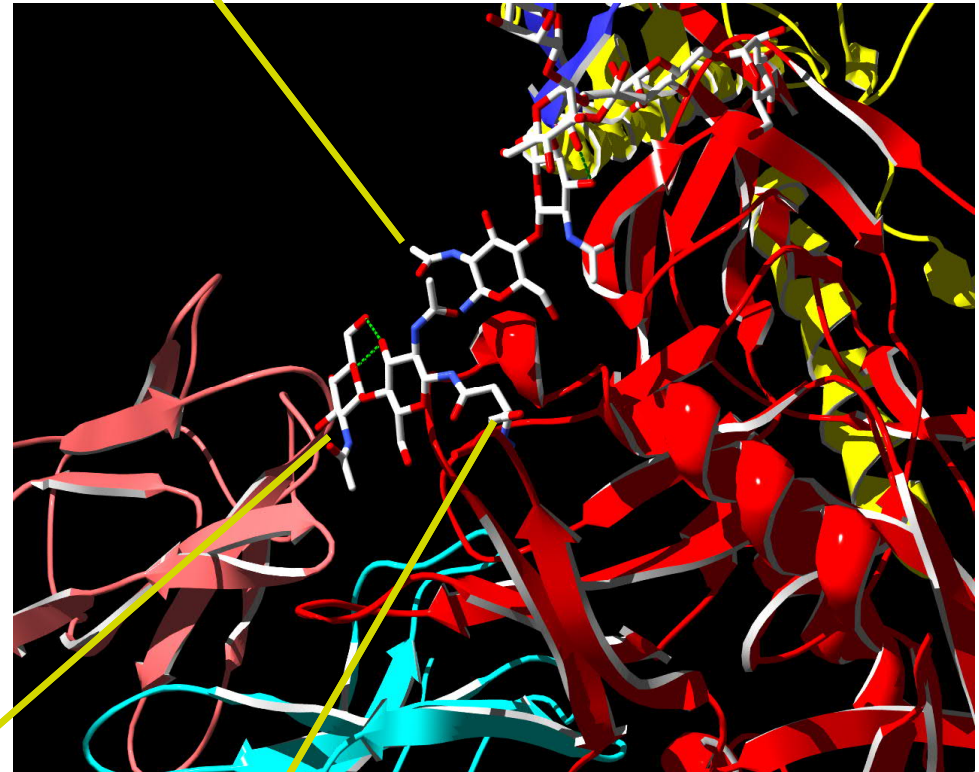


Glykoproteiinit ja lipoproteiinit

Oheisessa HIV-1 glykoproteiinissa huomataan tutunnäköisiä rengasrakenteita, jotka eivät ole aminohappoja. Proteiinia on muokattu lisäämällä aminohapon sivuketjuun kovalenttisesti disakkaridi. Lisäksi rakenteessa näkyy vieressä suurempi sokeri, joka on kiinnittynyt poolisesti.

Vastaavalla tavalla muodostetaan glykolipideitä (sokeri+lipidi) ja lipoproteiineja (lipidi+proteiini).

Poolisilla sidoksilla kiinnittynyt sokeri



Kovalenttisesti kiinnittynyt disakkaridi

Aminohappo

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

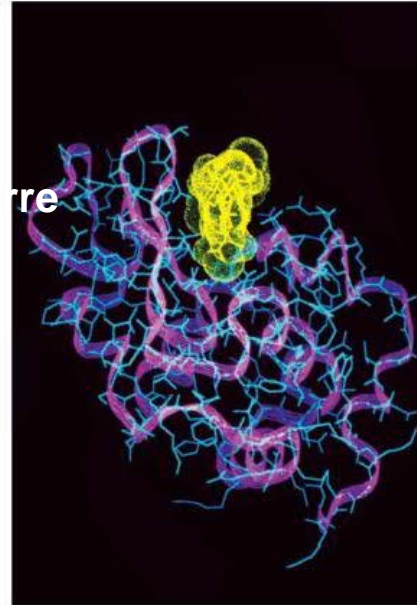
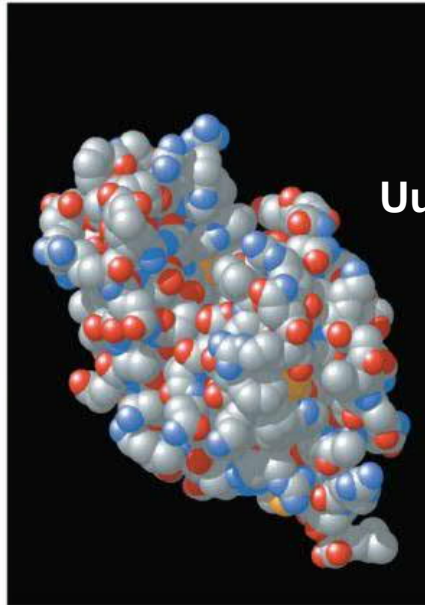
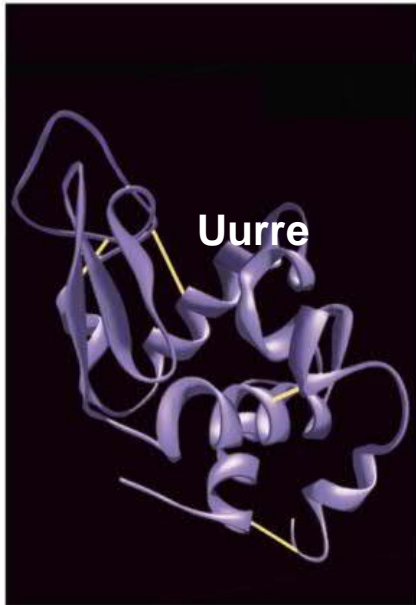
Proteiinien 3-ulotteinen rakenne

Proteiinit toimivat 3-ulotteisen rakenteensa vuoksi

Aminohappoketju (peptidi) laskostuu muodostaen kolme-ulotteisen rakenteen, joka aiheuttaa sille ominaisen toimintakyvyn.

- Ketjun runko muodostaa vetysidoksia, jotka pitävät kasassa kiinteitä rakenteita:
 - Jousimaiset α -heliksit ja levymäiset β -säikeet ja -levyt
- Muodostuneet rakenteet kääntävät ketjua, jolloin ketjun eri osat ovat lähekkäin muodostaen esim. sitoutumiskohtia.
 - Rakenteen määrittäminen ja ennustaminen ovat tärkeitä esim. lääkeaineiden kehittämiselle.
- Tunnettujen rakenteiden perusteella aminohappoketjujen osia jaetaan domeeneihin, joilla on oma laskostumistapa ja toiminta.

Proteiinirakenteen esitystavat



Kolmas tapa on kuvata jokaisen atomin paikka tikkumallilla.

Tämä tekee kuvasta sekavan, mutta auttaa hahmottamaan yksittäisten atomien välisiä voimia.

(a) Nauhamalli (ribbon)

(b) Pallomalli

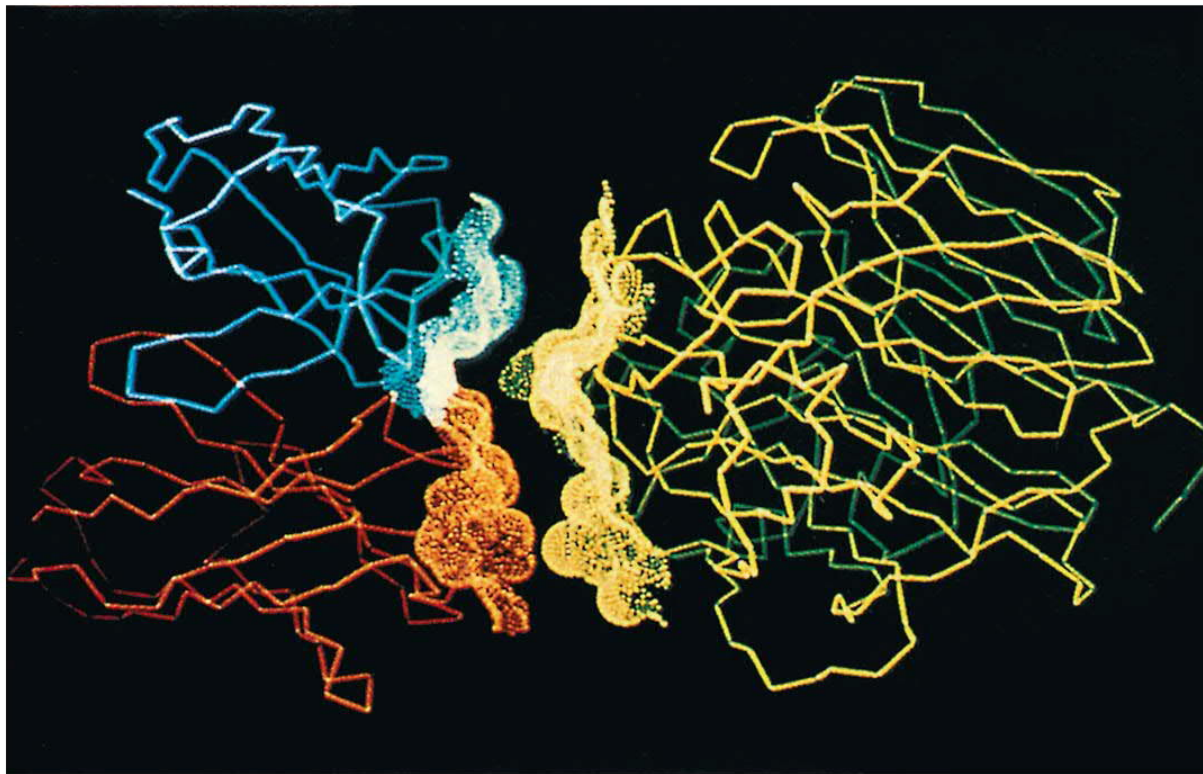
(c) Tikkumalli

Proteiinit kuvataan yleensä nauharakenteena, jossa vuorottelevat korkkiruuvimaiset α -kierteet ja levymäiset β -säikeet. Tämä lienee selkein proteiinin yleisrakenteen esitystapa.

Toinen, vähemmän käytetty, tapa on kuvata jokainen proteiinin atomi sen tarvitseman tilan perusteella.

Tällainen pallomalli kuvaa hyvin molekyylin uurteet ja sen tarvitseman tilan

Antibodi (vasta-aine) proteiini Influenssaviruksen proteiini



Usein mitattu tai mallinnettu rakenne esitetään yhdistelmänä, jossa proteiinin yleisrakenne kuvataan esim. "rautalankamallina", mutta tärkeimmät yksityiskohdat mahdollisimman tarkasti.

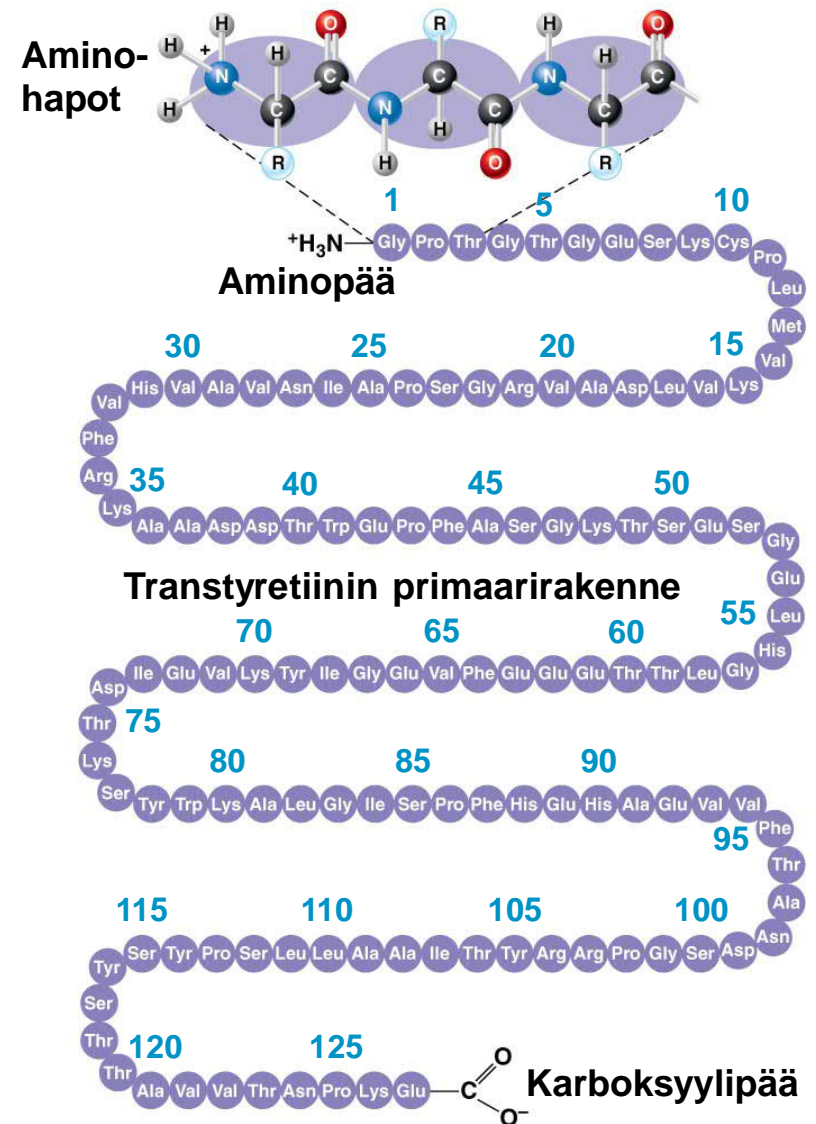
Tällöin esim. vasta-aineen ja influenssavirus-proteiinin välinen vuorovaikutus voidaan kuvata tarkasti pintamallina samalla, kun proteiinin yleisrakenne jätetään vähemmälle huomiolle.

Proteiinien rakenteet

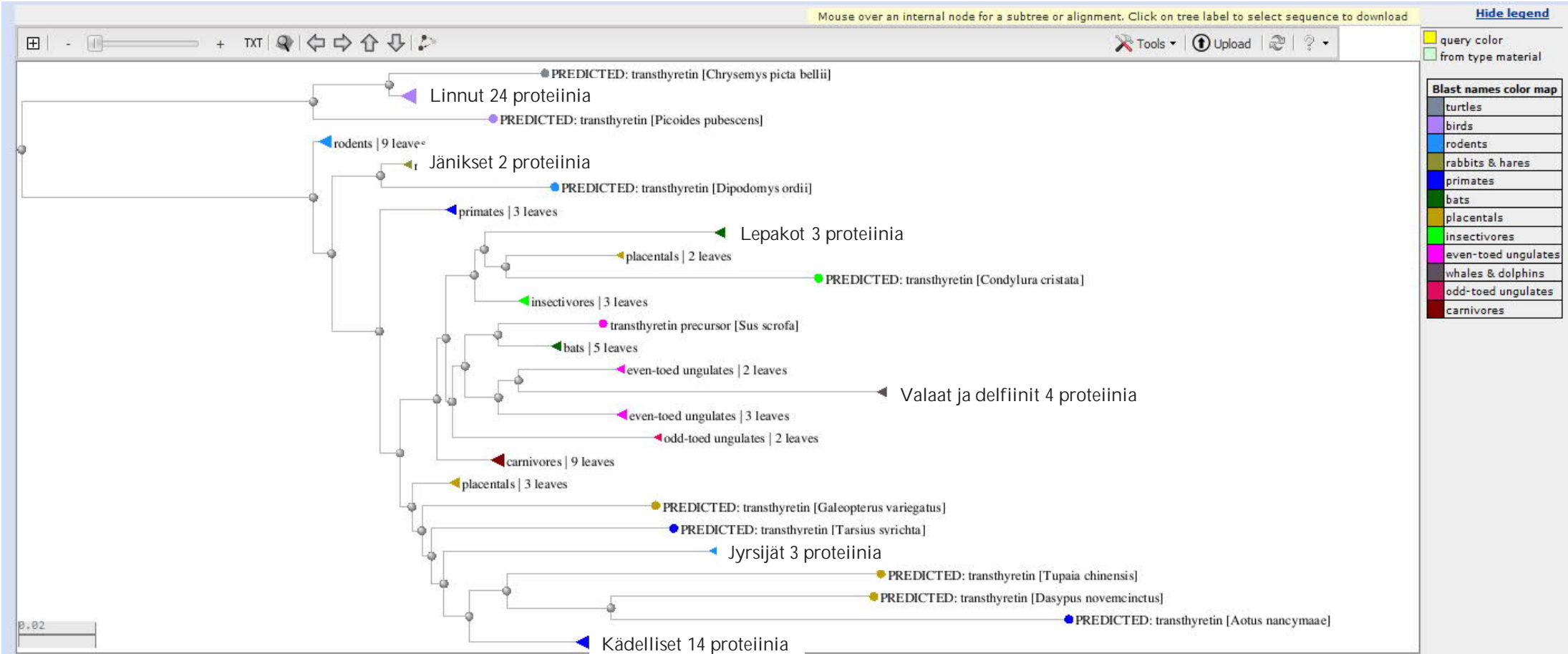
Proteiinien toiminta perustuu sen kolmiulotteiseen rakenteeseen, joka on koodattu sen aminohappojärjestykseen

- 20 aminohapolla saadaan vaihtelua aminohappojärjestykseen (AH-sekvenssi) lähes yhtä paljon kuin kirjoitetussa tekstissä.
- AH-sekvenssi eli proteiinin primaarirakenne kertoo aminohapot järjestyksessä aminopäästä (N-terminaali) karboksyyli-päähän (C-terminaali).
- Sekvenssi ei kerro suoraan mitään proteiinin rakenteesta tai toiminnasta, mutta sen vertailu on erittäin yksinkertaista.

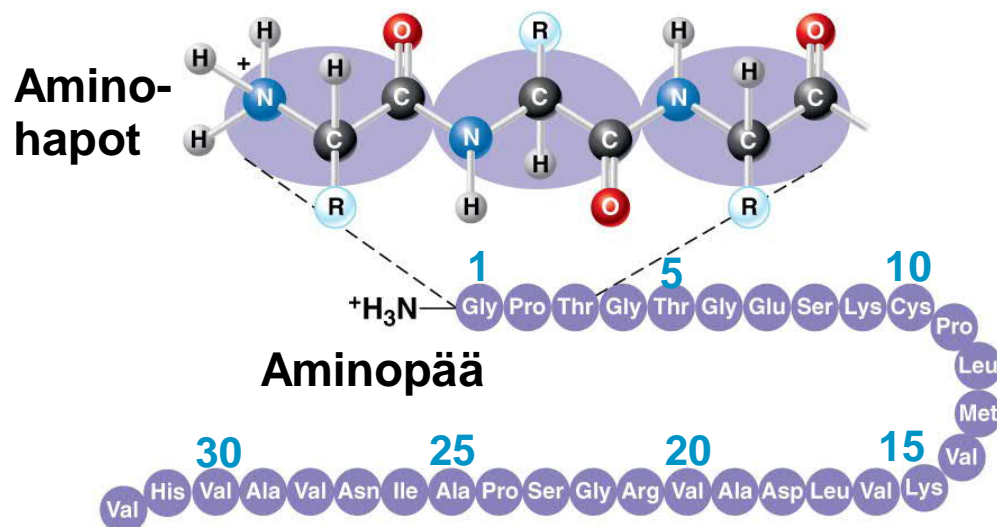
Primaarirakenne



Proteiinien AH-järjestykset julkaistaan tietokantoihin, jolloin ne on haettavissa (esim. NCBI:llä). Samoista tietokannoista saa helposti verrattua eri lajien AH-sekvenssejä tai etsiä perinnöllisiin sairauksiin liittyviä mutaatioita.



Primaarirakenne



Primaarirakenne koostuu pitkästä peptidiketjusta, joka toistuu identtisenä pois lukien aminohappojen sivuketjut (R-ryhmät).

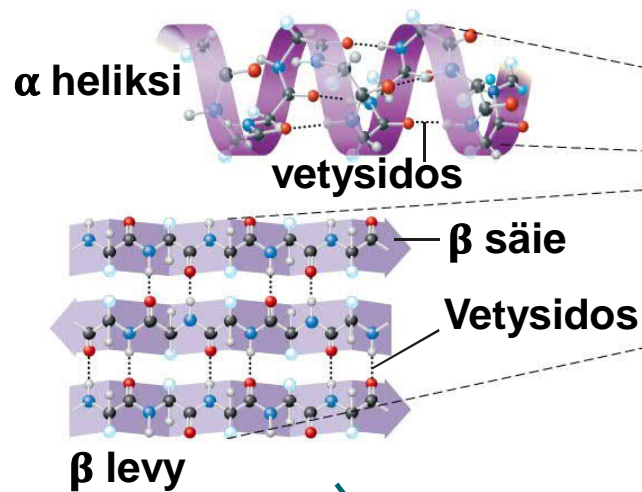
AH-sekvenssi löytyy tietokannoista usein "FASTA"-muodossa, jossa ensimmäinen rivi toimii otsikkona ja muut rivit koodaavat primaarirakenteen 1-kirjaimen koodilla.

Huomaa, että peptidi-ketjun atomirakenteessa näkyvät NH₂ ja CO –ryhmät. Peptidin päät ovat siis varautuneet.

```
>gi|4507725|ref|NP_000362.1| transthyretin precursor [Homo sapiens]  
MASHRLLLLCLAGLVFVSEAGPTGTGESKCPMLVKVLDVAVRGSPAINVAVHVFRKAADDTWEPFASGKTS  
ESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTKSYWKALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRRYTIAALLSPYSYSTTA  
VVTNPKE
```

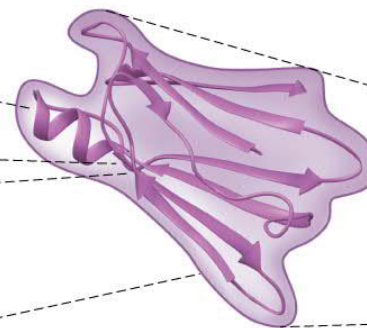
Kohti toimivaa rakennetta

Sekundaarirakenne



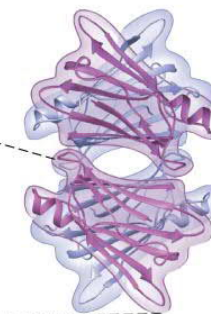
Ketjun runkoon muodostuvat vetysidokset pakkaavat peptidiketjua (sekundaarirakenne)

Tertiaarirakenne



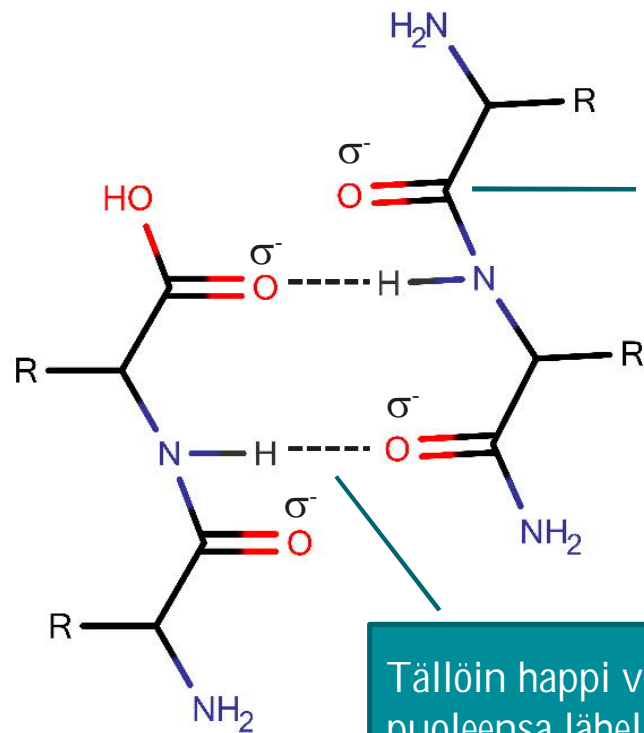
Muodostuneet rakenteet pysyvät toistensa lähellä, jolloin koko peptidillä voi olla selväpiirteinen rakenne (tertiaarirakenne)

Kvartäärirakenne



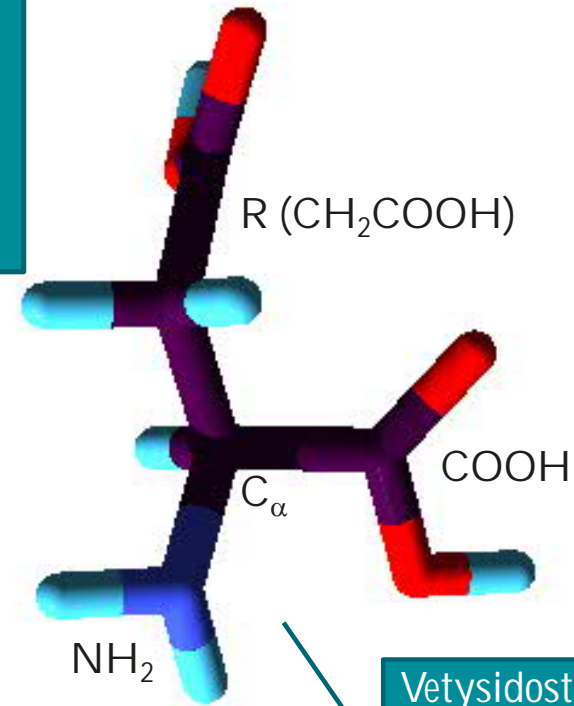
Usein toiminta saadaan aikaan usean peptidin yhteisvaikutuksesta, (kvartäärirakenne)

Sekundaarirakenne: vetysidokset



Karboxylihapella on negatiivinen osittaisvaraus (happi vetää enemmän sidoselektroneja puoleensa).

Tällöin happi vetää puoleensa lähellä olevia vetyatomeita, jolloin muodostuu vetysidoksia.



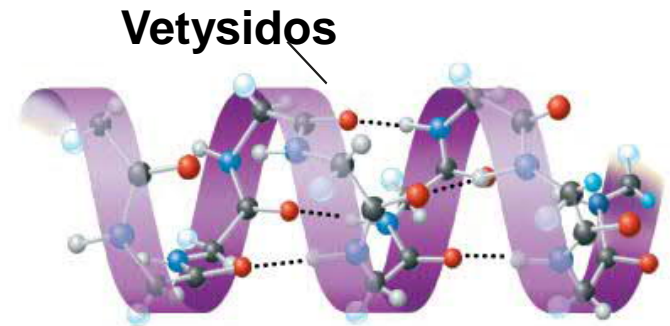
Vetysidosta ei pysty muodostumaan viereisen aminoryhmän kanssa, koska atomit sijaitsevat eri puolilla.

Sekundaarirakenne

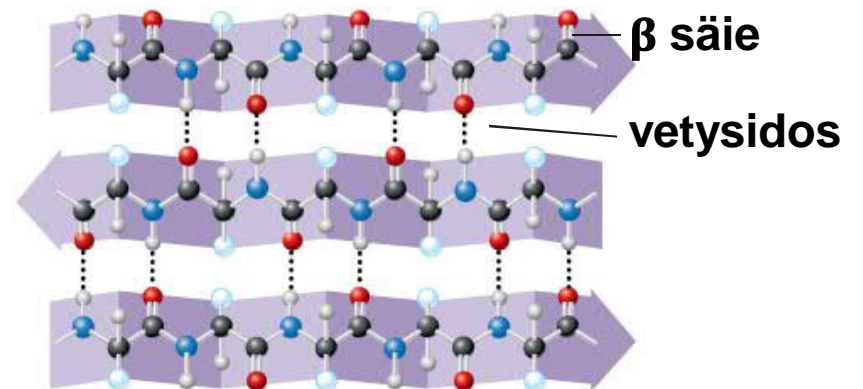
Mikäli aminohappoketju pystyy kääntymään, pystyy vetysidoksia muodostumaan aminohappotähteiden välille. Tällöin rakenne muuttuu "pysyväksi"

- Kun peptidiketju kääntyy suunnilleen säännöllisesti melko jyrkästi, saadaan aikaan spiraali, jota kutsutaan α -heliksiksi.
- Usein vetysidos muodostuu kahden peptidiketjun välille, jolloin muodostuu β -levy, jossa vierekkäiset, ketjut muodostavat vetysidoksia.
- Vetysidoksia syntyy myös esim. peptidiketjujen käännosten alueelle.

α heliksi



β levy



α -heliksi



Kun peptidiketju kääntyy suunnilleen 90° jokaisen aminohapon kohdalla, saadaan aikaan spiraali, jossa suunnilleen joka neljäs aminohappo on toisiaan lähekkäin. Näin muodostuu spiraalimainen α -heliksi.

Huomaa, että vetysidokset muodostuvat peptidiketjun runkoon (eivät sivuketjuihin).

α -heliksi merkitään usein 3-ulotteisissa rakenteisiin korkkiruuvina tai tynnyrinä, sekvenssitiedoissa laatikoina.

β -säie

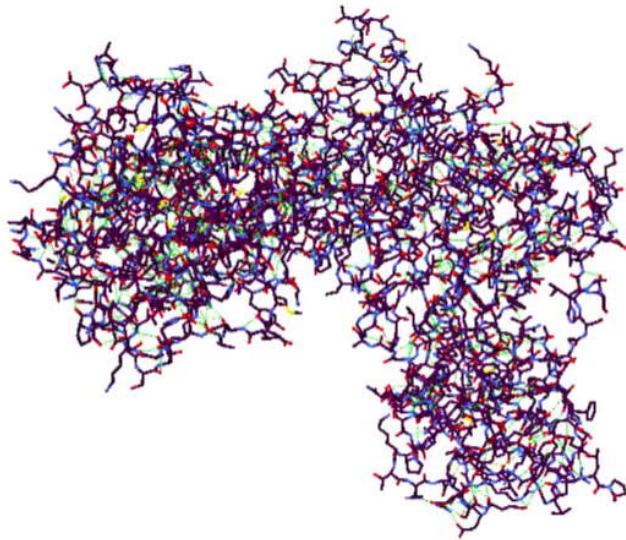


Mikäli vetysidos muodostuu kaukana toisistaan olevien aminohappojen välille, voi syntyä β -levy, jossa vierekkäiset, vastakkaisiin suuntiin kulkevat ketjut muodostavat vetysidoksia.

Mikäli ketjut kulkisivat samaan suuntaan, olisi vetysidosten pituus hieman pitempi, mikä kasvattaa energian tarvetta.

β -levy merkitään sekä 3-ulotteisissa rakenteissa että sekvensseissä usein leveinä nuolina.

β -levy sykliini-proteiinissa



Todellisissa proteiineissa β -levyt harvoin ovat tasaisia levyjä. Ne muodostavat pikemmin "räsymattoa", jonka langat kulkevat samansuuntaisesti.

Mattoa voidaan kääntää mutkalle, jolloin saadaan melko yleinen sekundaarirakenne β -säikeiden muodostama β -tynnyri.

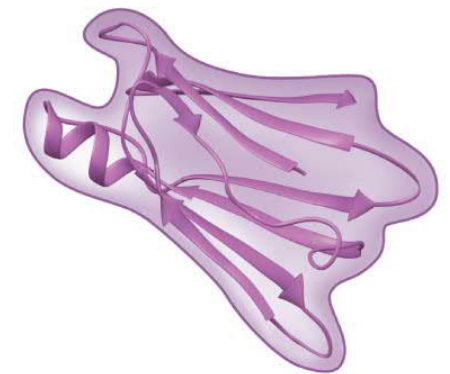
Tertiaarirakenne

Hydrofobiset sivuketjut
poispäin vedestä

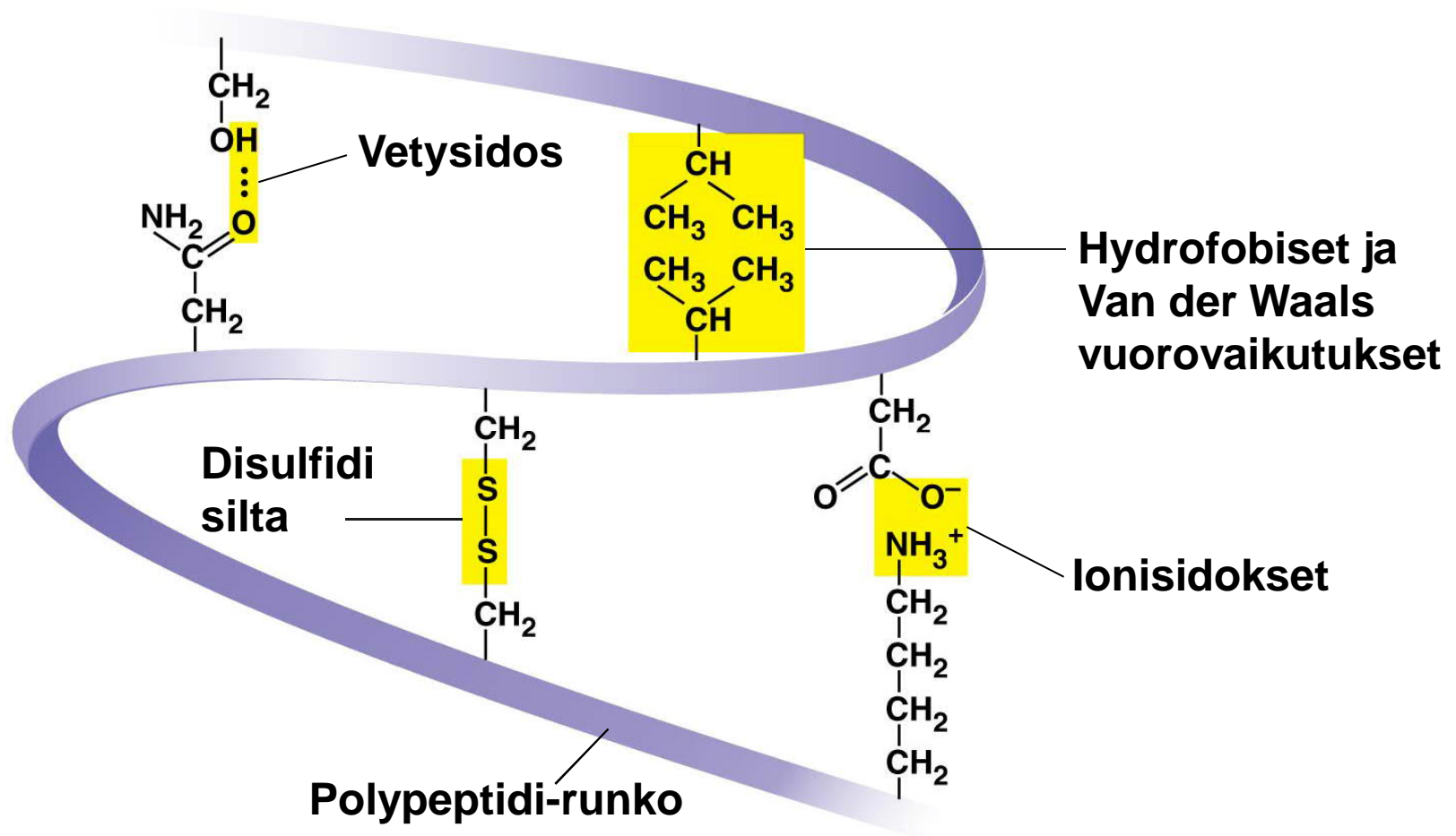
Lähekkäiset kysteiinit
sidotaan disulfidi-
sidoksilla.

Varautuneiden sivuketjujen
vuorovaikutukset (hapot ja emäkset)

Vesiliukoisten sivuketjujen
vetysidokset
peptidirungon ja muiden
sivuketjujen kanssa.

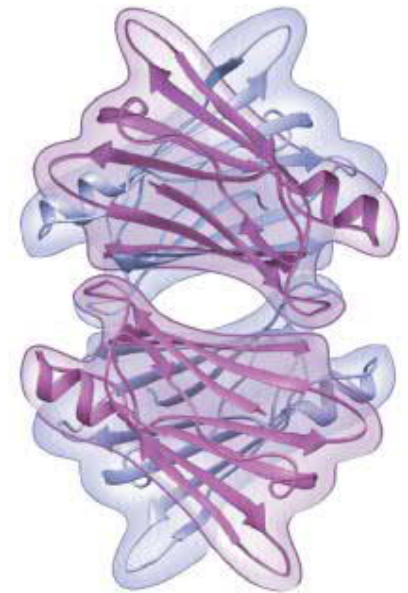


**Transtyretiini
polypeptidi**



Kvartäärirakenne

- Usein proteiinit koostuvat usean peptidin toimiessa yhdessä. Tällöin puhutaan esim. di-, tri-, tetra-, pentameereistä. Peptidit (proteiinin alayksiköt) sitoutuvat toisiinsa samoilla tavoilla kuin tertiaarirakenteen laskostumisessa. Alayksiköitä merkitään yleensä kreikkalaisilla kirjaimilla α , β , χ , δ jne.
- Peptidit voivat toimia yhdessä joko samanlaisten (homomeerit) tai erilaisten alayksiköiden (heteromeerit).
- Alayksiköt voivat olla välttämättömiä proteiinin toiminnalle tai ne voivat toimia ns. säätelevinä alayksikköinä, jolloin ne tavalla tai toisella vaikuttavat toiminnan tehokkuuteen ja nopeuteen.

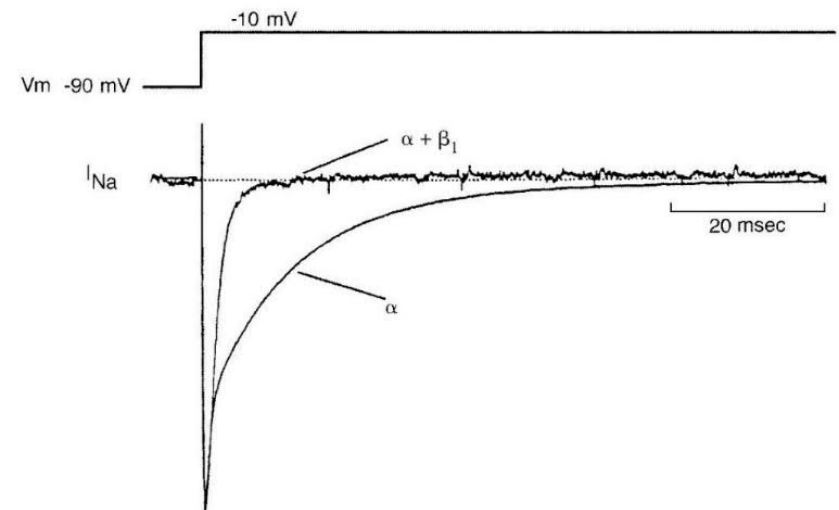


**Transtyretiini-
proteiini**

Miten selvittää auttavien alayksiköiden vaikutus?

Kvartäärirakenne antaa enemmän joustavuutta proteiinien toiminnalle ja säätelylle, mutta miten selvittää, alayksiköiden merkitys proteiinissa?

- Säätelevät alayksiköiden vaikutusta selvitetään mittaamalla proteiinien toimintaa sekä ilman säätelevä yksikköä että sen kanssa.
- Tämä voidaan toteuttaa esim. liittämällä apu-alayksikkö yhdessä antibioottiresistentin antavan geenin kanssa stabiilisti solulinjaan tai sekoittamalla proteiineja koodaavat DNA-plasmidit.
- Alayksiköitä voidaan myös keinotekoisesti sitoa toisiinsa joustavalla peptidi-pätkällä (esim. 20 glysiini-aminohappoa).



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit Proteiinien laskostuminen ja sen ennustaminen

Proteiinien laskostuminen – voidaanko sekvenssistä saada rakenne selville?

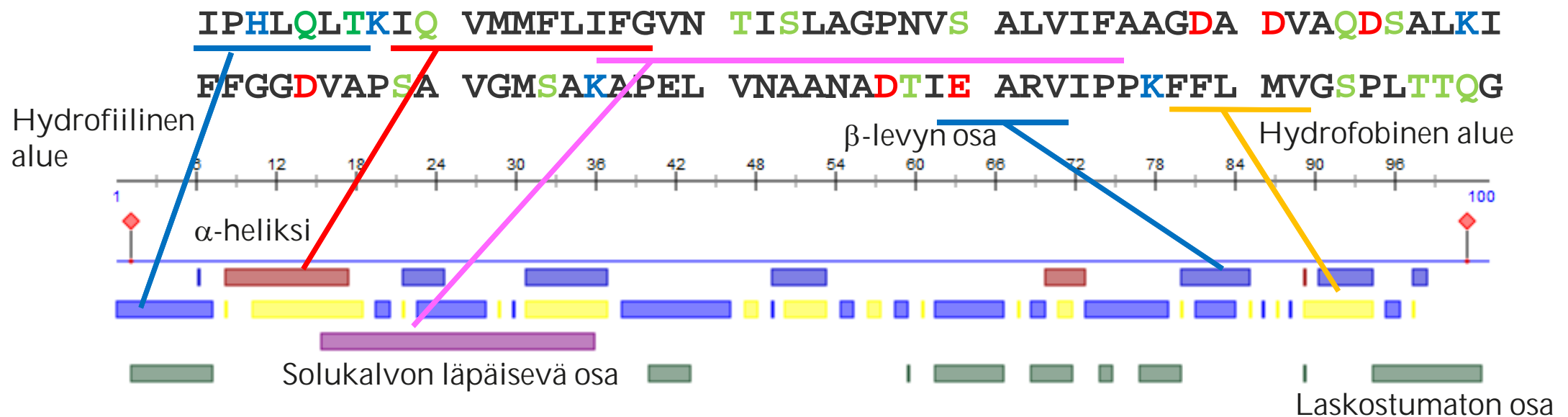
- Oletetaan mielivaltainen 100 aminohapon proteiini, jonka AH-järjestys on arvottu aminohappojen suhteellisen yleisyyden perusteella:

```
IPHLQLTKIQ VMMFLIFGVN TISLAGPNVS ALVIFAAGDA DVAQDSALKI  
FFGGDVAPSA VGMSAKAPEL VNAANADTIE ARVIPPKFFL MVGSPLETTQG
```

- Sekvenssi on kirjoitettu 1-kirjaimen koodilla courier-fontilla (ainoita, joissa kaikki kirjaimet ovat samanlevyisiä).
- Proteiinin mallitus esim. Predict Protein-sivuston avulla, jossa etsitään tietokannoista proteiinille samankaltaisia proteiineja tai lyhyitä ennustettavia osia.

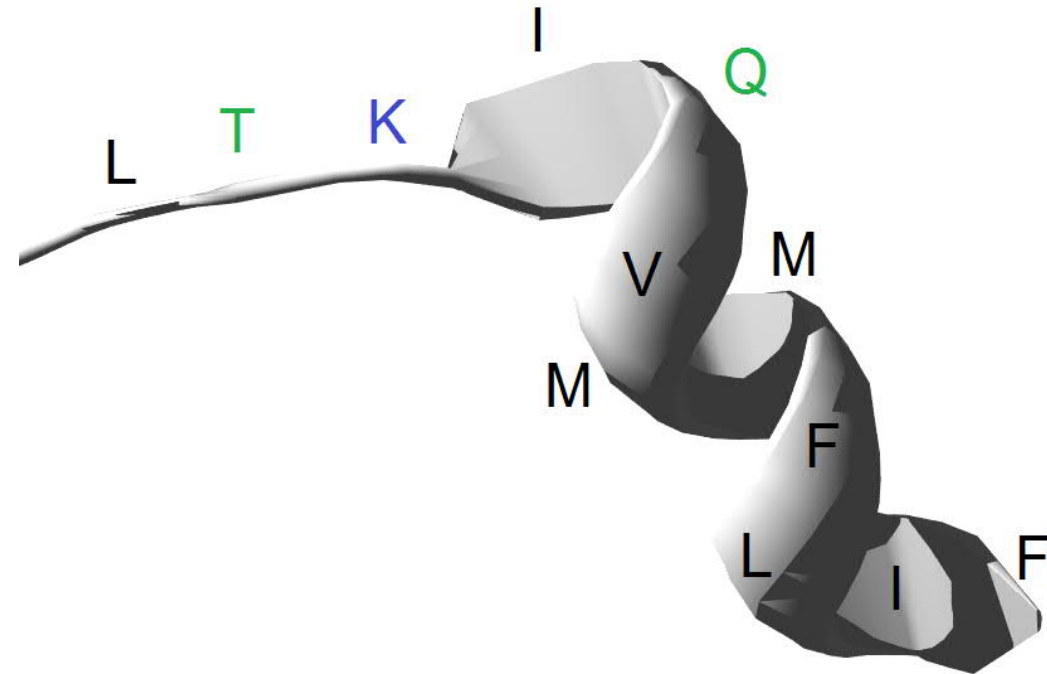
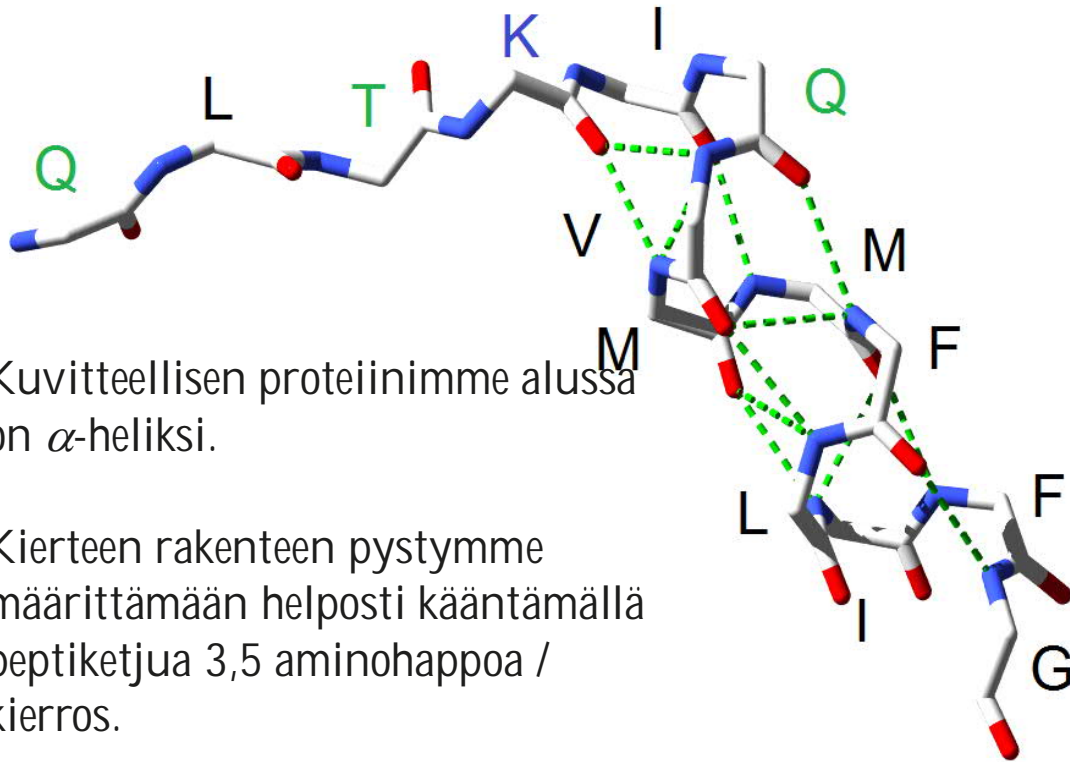
Proteiinin laskostumisen ennustaminen

Merkitään hydrofobiset mustalla, hydrofiiliset vihreällä, happamat punaisella ja emäksiset sinisellä:

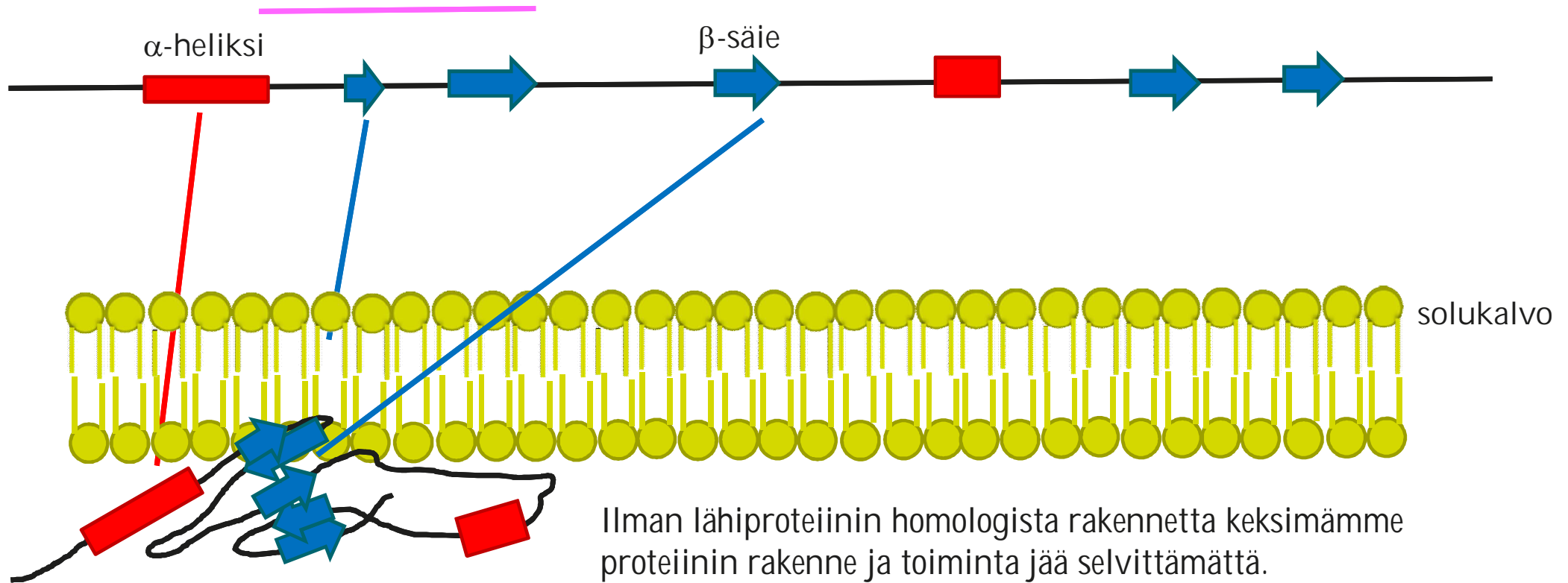


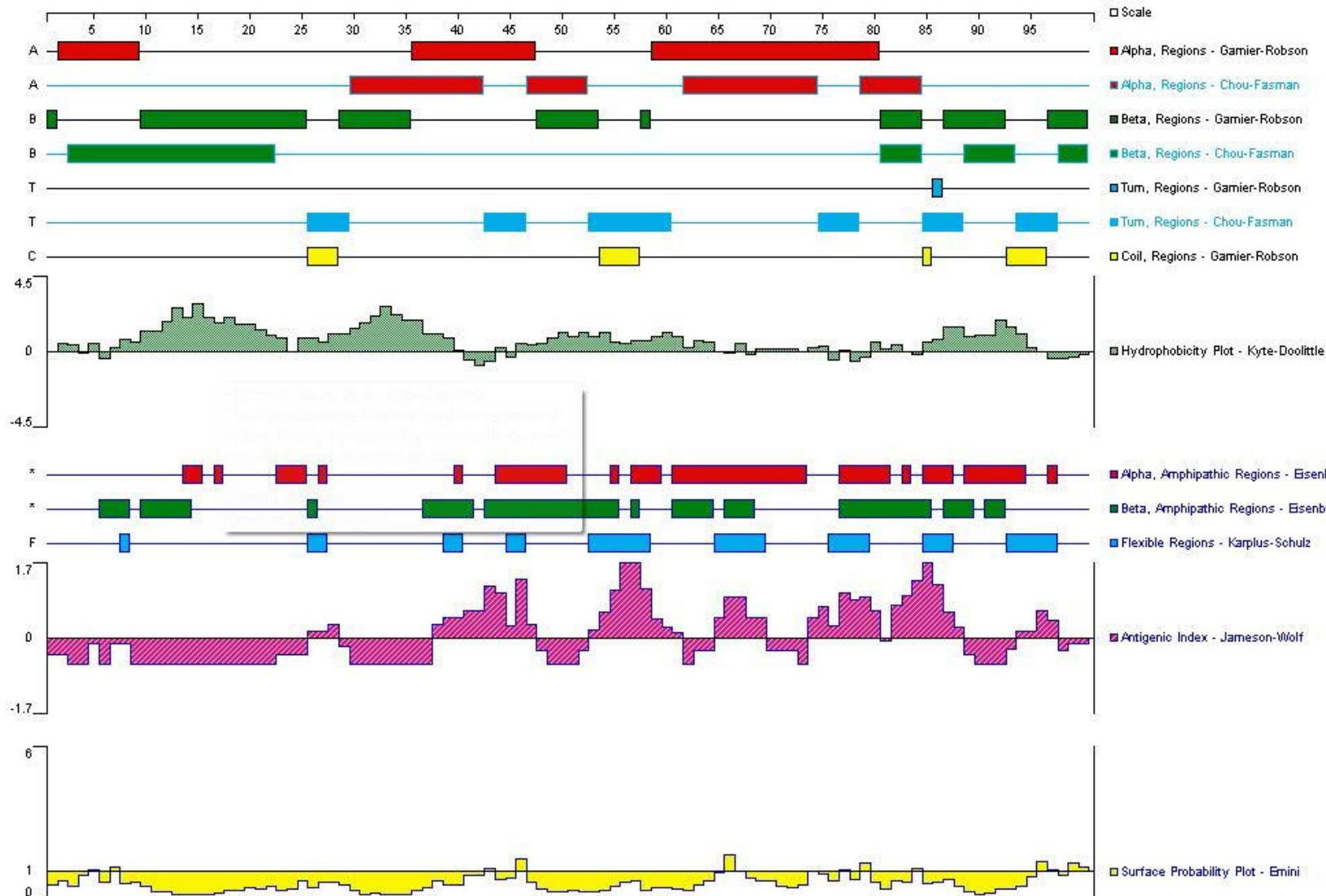


Kuvitteellisen proteiinin tarkempi tarkastelu



Proteiinin laskostuminen ja hydrofobisuus





Kuvitteellisen proteiinin sekundaarirakenteen ennustamiseen kannattaa suhtautua varauksella.

Kun sekvenssin rakennetta ennustettiin toisella ohjelmistolla, saatiin useita vaihtoehtoisia malleja, joissa α -heliksien ja β -säikeiden määrä ja sijainti vaihtelee.

Voidaanko sekvenssistä saada toiminta selville?

Score = 35, Identity = (25/66) 37.9%
Expect = 6.6

Query: 40 ADVAQDSAL-----KIFFGGDVAPSAVGMSAKAPELVNAANA--DTIEARVIPPKFFLMV 92
A V DS+L K GGD SA+G S A LV AAN DTI + + P +
Subject: 205 AYWQNDSSLATIKGKFNIGGDEVGSAIGFSKGATSLVKAANKSIDTIHRQNLIPGYLKTA 264

Query: 93 GSPLTT 98
G +T+
Subject: 265 GKDMTS 270

Kuvitteellisen proteiinin muistuttaa maitohappobakteerin solukalvoproteiinia (Amino ABC-transportteri).

Sekvenssivertailussa näkyy identtisiä ja erilaistuneita jaksoja.

Toiminnan ennustamiseksi primaarirakennetta (AH-järjestystä) verrataan tietokannoista löytyviin sekvensseihin

- Toiminnallisesti toisiaan muistuttavilla proteiineilla on samanlainen AH-järjestys, jossa vuorottelee konservoituneet (identtiset) ja vaihtelevat jaksot.
- Sekvenssivertailuita käytetään erityisesti kloonaustyössä, jossa proteiinia koodaavaa geeniä metsästetään.

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

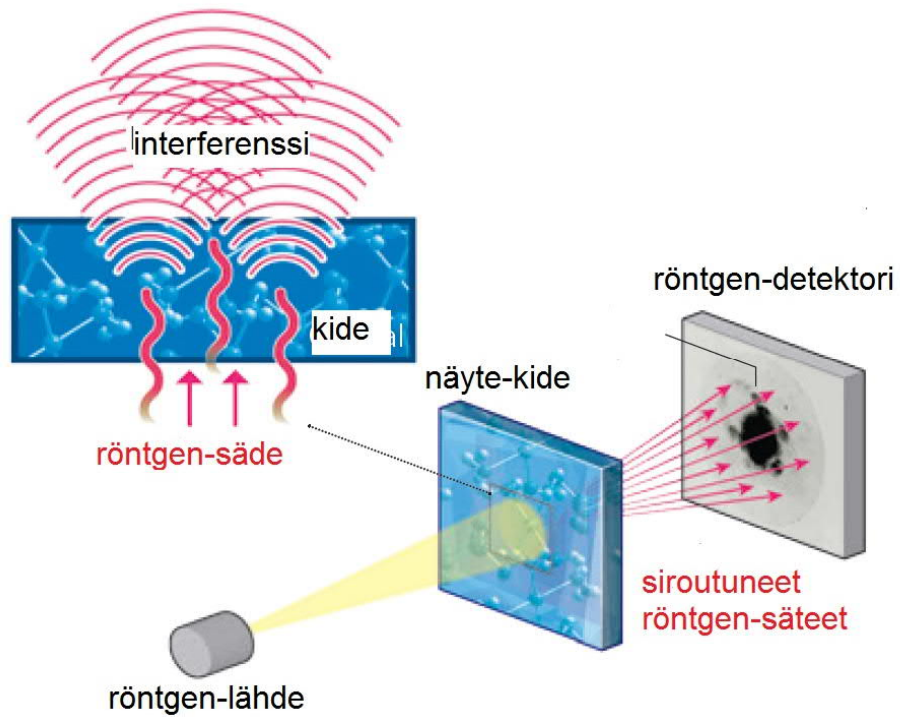
Biologiset makromolekyylit Proteiinien todelliset rakenteet

Biologisten rakenteiden määrittäminen

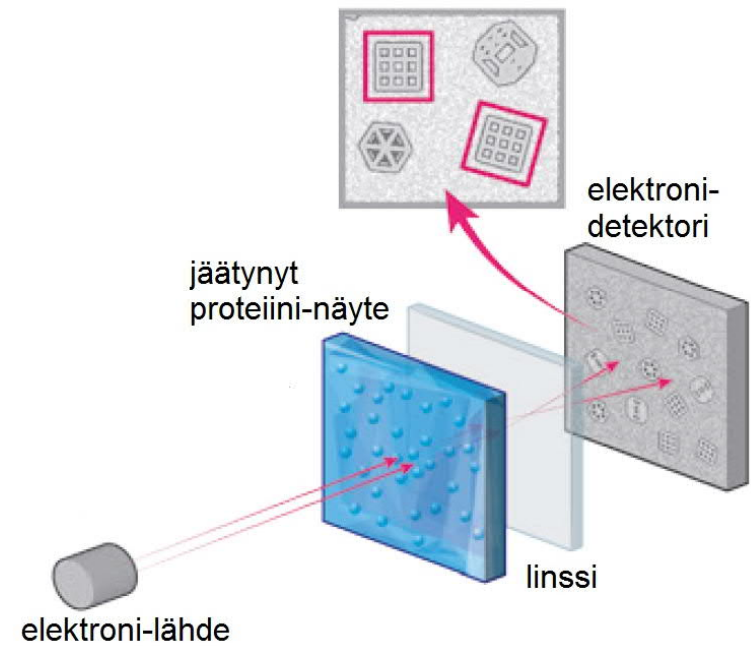
Biomolekyylien rakenteiden selvittäminen auttaa toiminnan ymmärtämistä ja esim. lääkeaineiden suunnittelua

- Tunnettuun rakenteeseen on helpompaa suunnitella sopivaa molekyyliä
- Kolme perusmenetelmää:
 - Röntgenkristallografia
 - Röntgensäteiden siroaminen läpäistessään kiteytettyä näytettä
 - (kryo-)elektronimikroskopia
 - Elektronien imeytyminen jäädytettyyn näytteeseen
 - NMR
 - Kovalenttisten sidosten vaikutus atomiytimien magneettiseen värähtelyyn

Röntgen-kristallografia



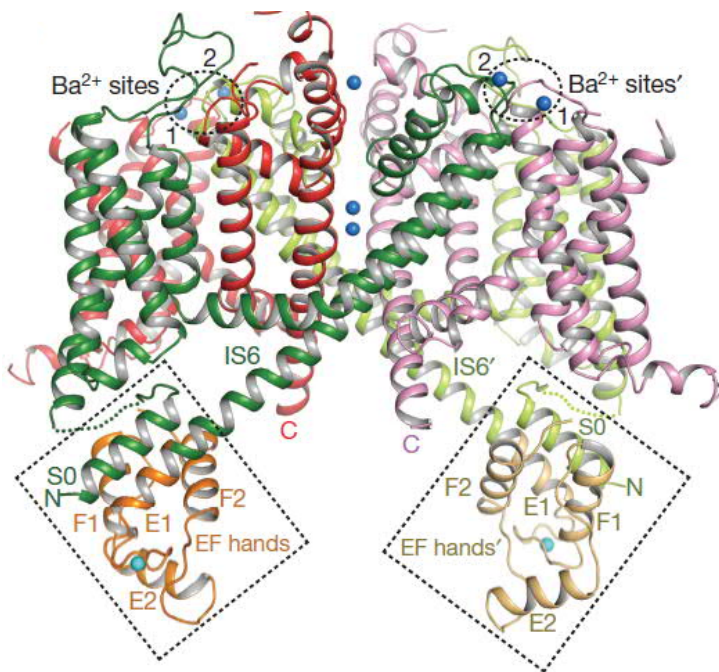
Elektronimikroskopia



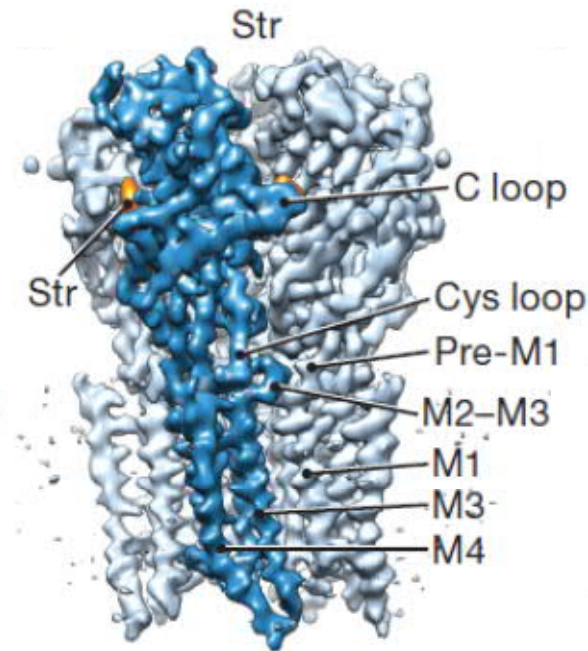
Röntgen-kristallografia

Elektronimikroskopia

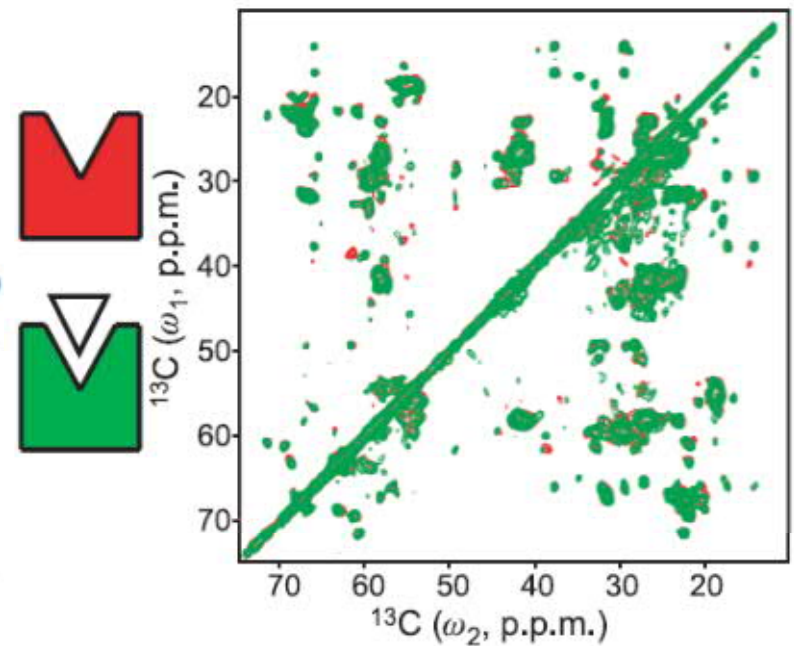
NMR



Lituruohon AtTPC1 kanavan rakenne
Guo Nature 2016



Glysiinireseptorin rakenne
Du Nature 2015



Kalitoksiinin vaikutus
kaliumkanavan rakenteeseen
Lange Nature 2006

Biologisten rakenteiden ennustaminen mallittamalla


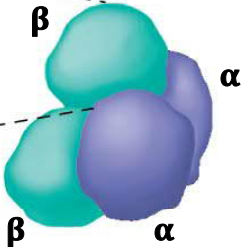
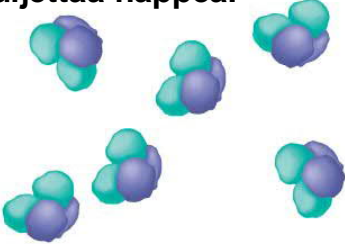

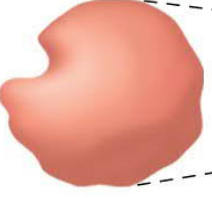
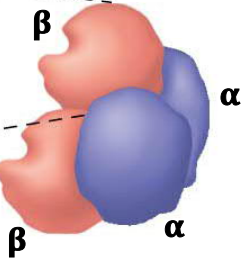
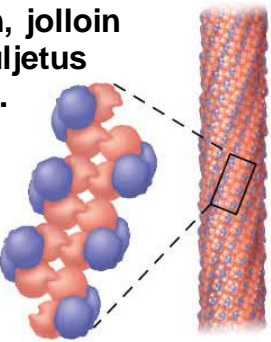

Vaikka biologiset molekyylit kuten proteiinit sisältävät vain joitain komponentteja, on niiden rakenteen ennustaminen erittäin vaikeaa

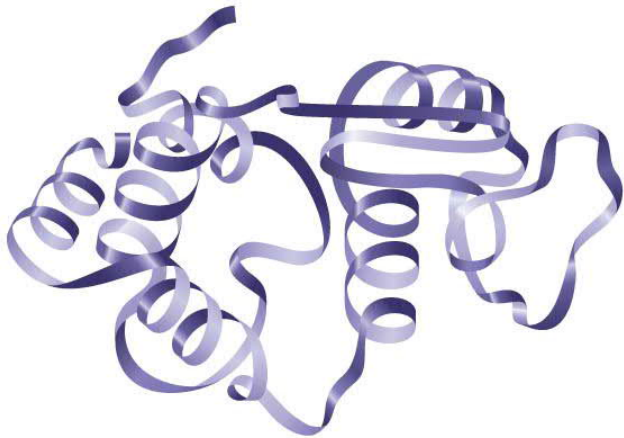
- Usein käytetään ns. homologia-mallitusta, jossa rakenteen uskotaan olevan samanlainen kuin jollain tunnetulla proteiinilla.
 - edistyneissä mallituksissa rakenne ennustetaan usean homologisen rakenteen pohjalta.
- Toinen tapa mallin ennustamiselle on selvittää atomirakenne joko mekaniikan tai kvanttimekaniikan yhtälöitä.
 - makromolekyyleille kvanttimekaniikan laskemisen on erittäin vaivalloista ja toistaiseksi näillä saadut tulokset ovat melko vaatimattomia.

Biologiset rakenteiden luonnollinen muuntuminen

Proteiinien rakenne (ja toiminta) määräytyy primaarirakenteen perusteella, mikä taas on koodattuna geeneihin.

- Muutokset geneettisessä koodissamme vaikuttavat siten proteiinien rakenteeseen ja toimintaa, mikä näkyy mm. useina sairauksina.
 - yksinkertaisimmillaan yksittäisen aminohapon muutos vaikuttaa suoraan sairauden ilmenemiseen.
 - sairaus on periytyvä ja ilman geneettistä muokkausta ainoastaan sen oireet voivat olla hoidettavissa.
 - hoito on usein sitä tehokkaampaa, mitä paremmin kyseisen proteiinin rakenne ja toiminta tunnetaan.

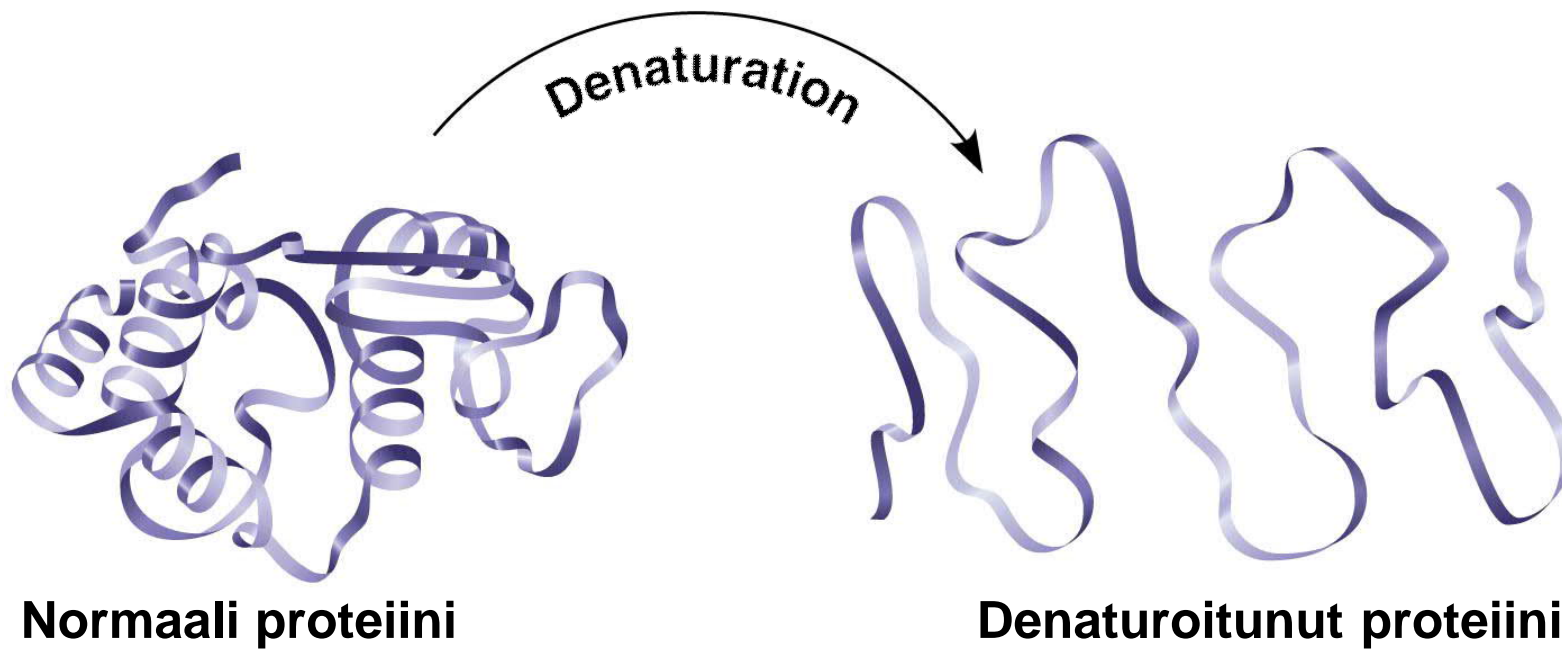
	Primaari-rakenne	Sekundaarinen ja Tertiaarinen rakenne	Kvaternaarinen rakenne	Toiminta	Punasolun muoto
Normaali	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Glu 7 Glu	Normaali β alayksikkö 	Normaali hemoglobiini 	Proteiinit eivät tartu toisiinsa, jolloin ne voivat kuljettaa happea. 	 5 μm
Sirppi-solu	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Val 7 Glu	Sirppisolun β alayksikkö 	Sirppisolun hemoglobiini 	Proteiinit tarttuvat kuituihin, jolloin hapenkuljetus vähenee. 	 5 μm



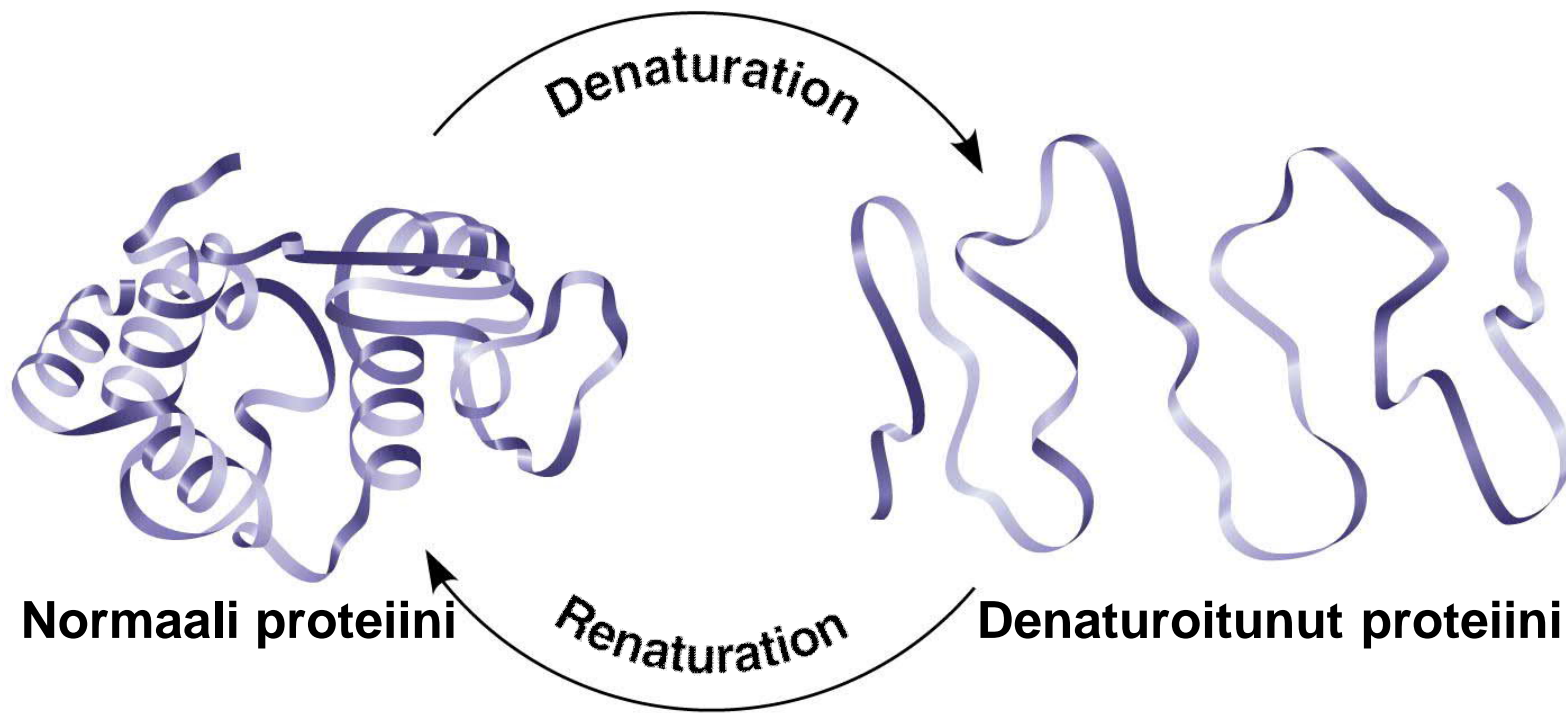
Normaali proteiini

Proteiinin rakenteeseen vaikuttaa mm. ympäristön vesipitoisuus, lämpötila happamuus.

Tällöin hydrofobiset alueet pyrkivät proteiinin sisäosiin, lämpöliike ei estä vetysidosten muodostumista ja aminohappojen varaukset pysyvät stabiileina.



Denaturaatiossa proteiinin rakenne hajoaa: sen vety- ja rikkisidokset katkeavat tai hydrofobinen liuotin kääntää koko proteiinin väärinpäin. Luonnollisesti tällainen väärin laskostunut proteiini ei voi tehdä sille normaalia tehtävää solussa. Joissain tapauksissa denaturaatio aiheuttaa proteiinien toisiinsa tarttumista (koaguloitumista). Tämä havaitaan esim. kananmunan valkuaisen (albumiini-proteiinin) kovettumisena keitettäessä.



Denaturaatio voi olla myös palautuvaa, jolloin proteiinin oikea muoto voi palautua.

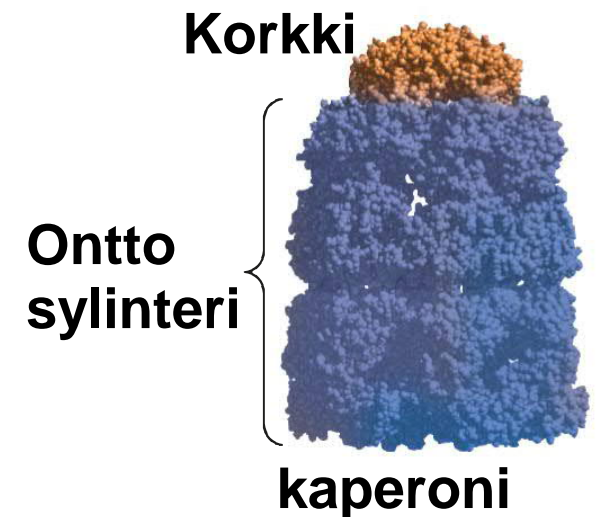
Renaturaatio ei ole yleistä, joten keitetty kananmuna ei muutu jääkaapissa keittämättömäksi (tosin entsyymeillä sekin on saatu tehtyä osin IQ-nobel 2015).

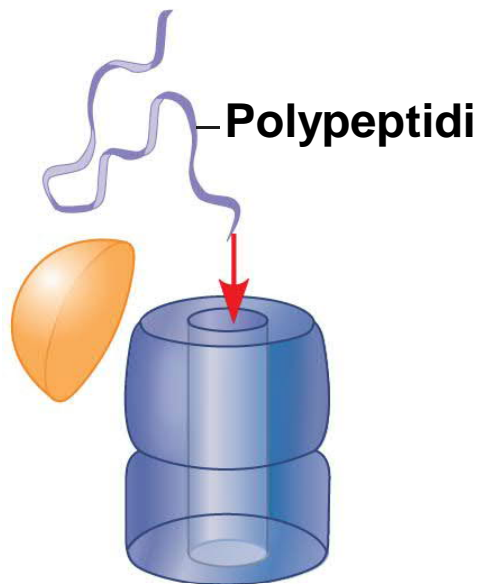
Renaturaatio osoittaa, että proteiinin rakenne riippuu pelkästään sen primaarirakenteesta (aminohappojärjestyksestä)

Kaperonit (chaperonins) auttavat proteiinien laskostumisessa

Proteiinien laskostuminen tapahtuu usein kaperoniproteiinin sisällä.

- Kaperoni ei vaikuta proteiinin rakenteen muodostumiseen vaan tarjoaa suojan, jossa laskostuminen voi tapahtua rauhassa
 - Toimiva kaperoni koostuu kahdesta proteiinista: ontosta sylinterimäisestä alayksiköstä ja korkki-alayksiköstä.
 - Kaperonit voivat suojata proteiineja myös denaturaatiolta (lämpöshokkiproteiinit HSP:t).

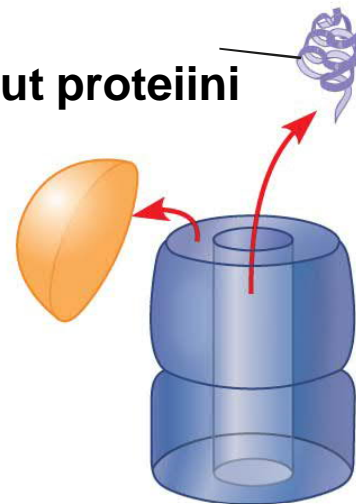




1 Laskostumaton polypeptidi siirtyy kaperonin sylinteriosaan.

2 Korkki-alayksikkö kiinnittyy, jolloin kaperonin muoto muuttuu. Kaperonin sisällä on hydrofiilinen ympäristö, jossa laskostuminen mahdollista

Oikein laskostunut proteiini



3 Korkki lähtee irti, jolloin oikein laskostunut proteiini vapautuu soluun.

Väärin laskostuneet proteiinit voivat olla paitsi raaka-aineiden haaskaamista, myös vaarallisia.

Esimerkiksi kystisessä fibroosissa, Alzheimerin ja Parkinsonin taudeissa väärin laskostuneet proteiinit kertyvät kudoksiin.

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit Nukleiinihapot ja tiedonsiirto

Nukleiinihapot varastoivat ja välittävät perinnöllistä informaatiota

Polypeptidin aminohappojärjestyksen määrää perinnöllisyyden yksikkö, jota kutsutaan geeniksi

- Geenit muodostuvat DNA:sta, joka on polymeerinen nukleiinihappo
- Nukleiinihapot koostuvat monomeereista, joita kutsutaan nukleotideiksi
- Nukleiinihappoja on kahdenlaisia
 - Deoksiribonukleiinihappo (DNA)
 - Ribonukleiinihappo (RNA)

Nukleiinihapot tekevät itsestään kopioita yli sukupolvien

DNA- ja RNA-molekyylit mahdollistavat eliöiden rakenteen ja toiminnan periaatteiden siirtymisen sukupolvelta toiselle

- Eliöt perivät DNA:n vanhemmiltaan
- Ennen kuin solu jakautuu, sen DNA kahdentuu kopioitumalla
- Jakautuvat solut saavat siten oman, identtisen kopion

DNA:n monistuminen (replikaatio) on itseohjautuvaa ja perustuu sen kaksijuosteiseen rakenteeseen

Nukleiinihapot vastaavat proteiinien tuotannosta

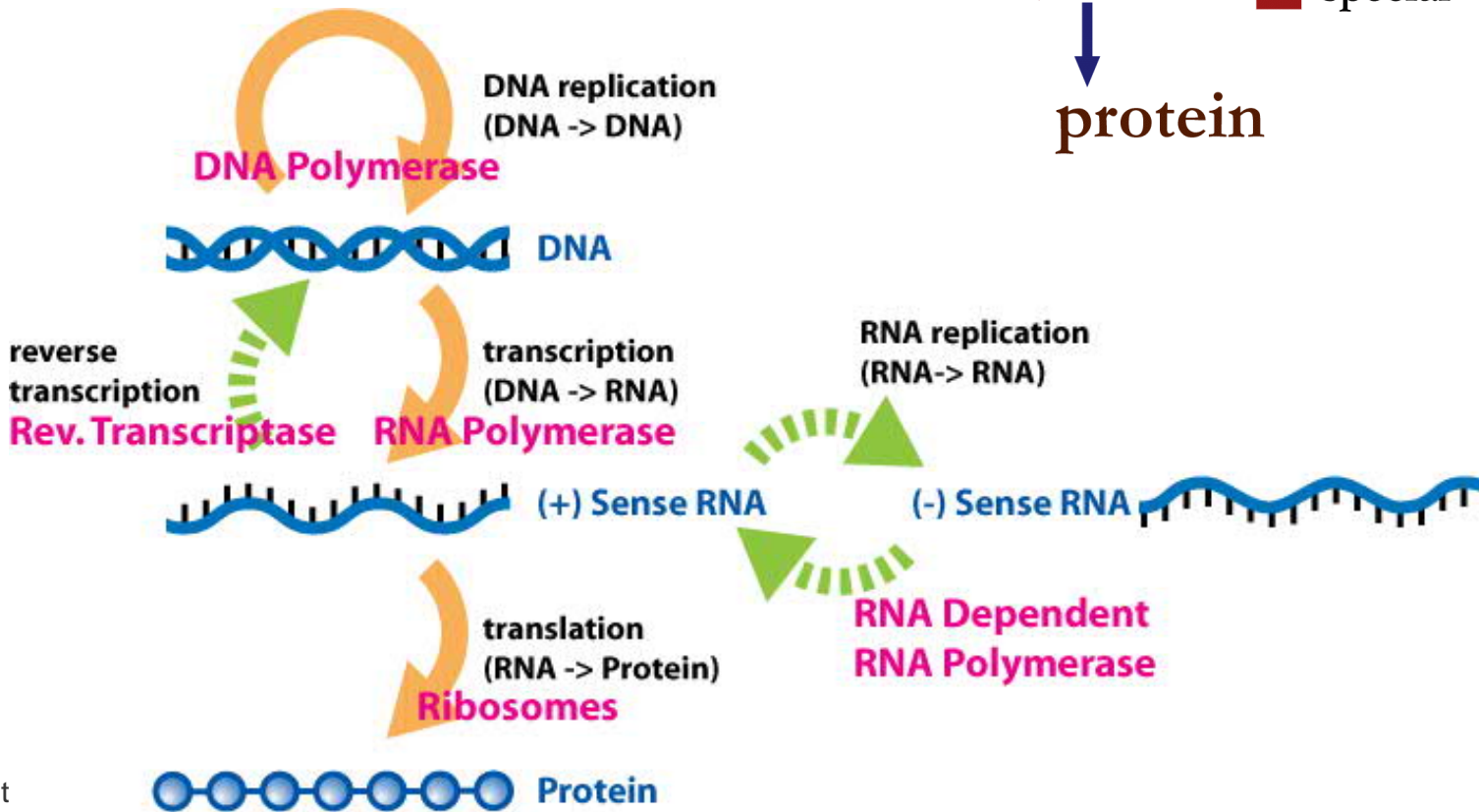
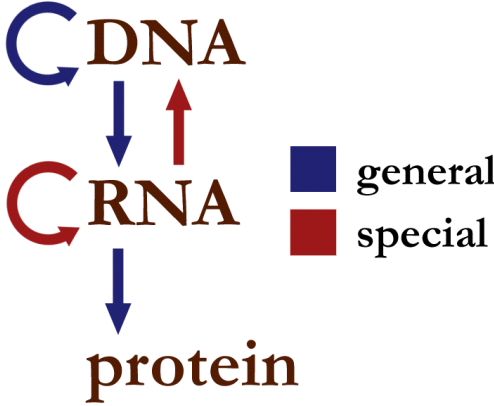
DNA:n geenit ohjaavat lähetti-RNA:n (mRNA) synteesiä ja sen välityksellä proteiinisynteesiä

- Geneettisen informaation suunta on siten

DNA → RNA → proteiini

- Tätä kutsutaan molekyylibiologian keskeiseksi opinkappaleeksi (Central Dogma, Francis Crick 1958, 1970)
- proteiinien sisältämää informaatiota ei voida käyttää nukleiinihappojen tuottamiseen, vaan prosessi on yksisuuntainen

Central Dogma:
Nykyinen käsitys
yksinkertaistettuna



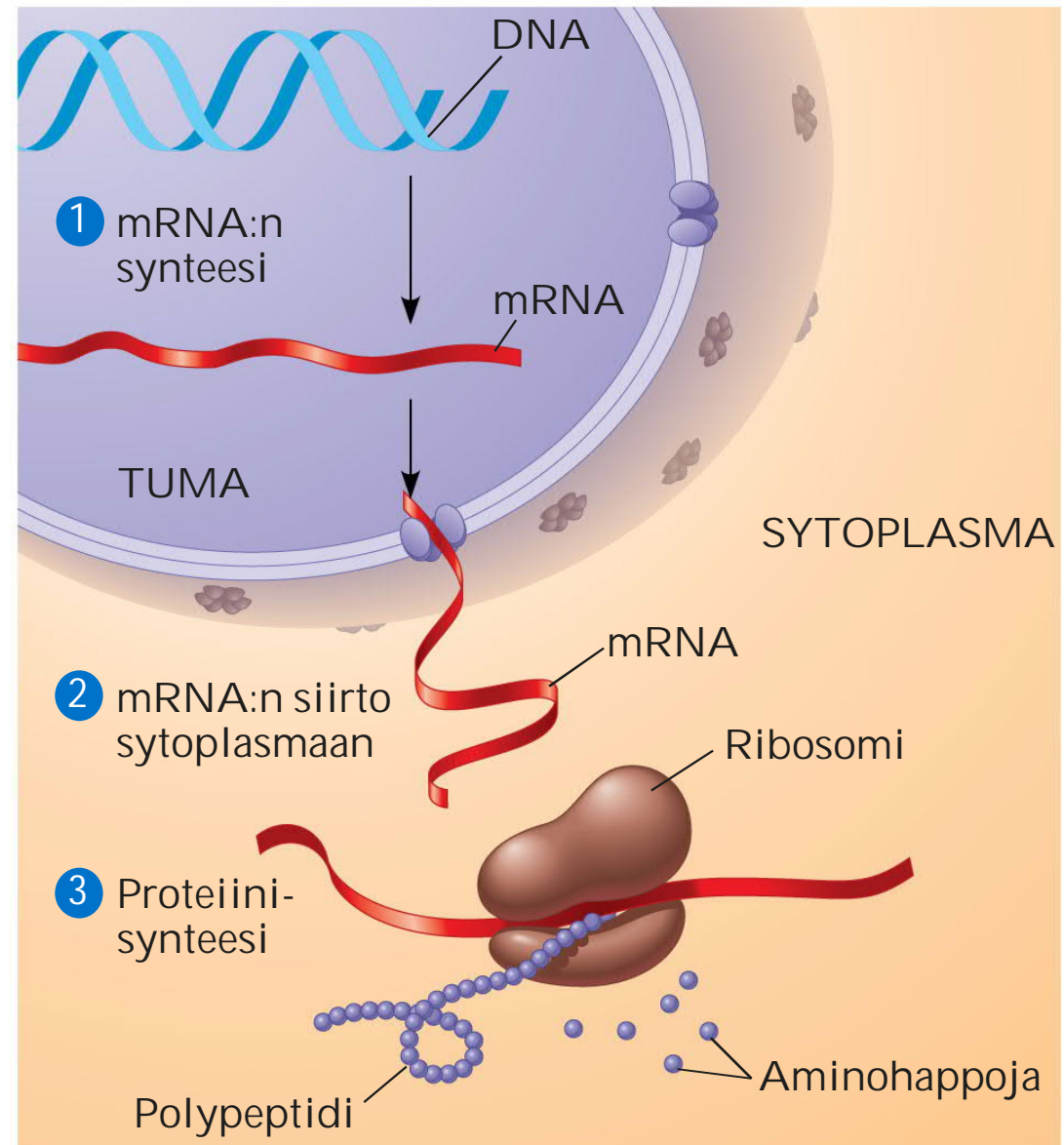
Proteiinisynteesin vaiheet

Proteiinisynteesi tapahtuu ribosomeissa. Eukaryooteilla DNA on tumassa, mutta useimmat ribosomit sytoplasmassa.

Lähetti-RNA (mRNA, messenger RNA) kuljettaa geneettiset ohjeet proteiinien valmistamiseksi tumasta sytoplasmaan.

Prokaryooteilla ei ole tumaa, mutta informaatio DNA:sta ribosomeille kulkeutuu samoin mRNA:n muodossa.

Proteiinisynteesiin osallistuu myös kaksi muuta RNA-molekyyliä: siirtäjä-RNA (tRNA) ja ribosomaalinen RNA (rRNA)



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

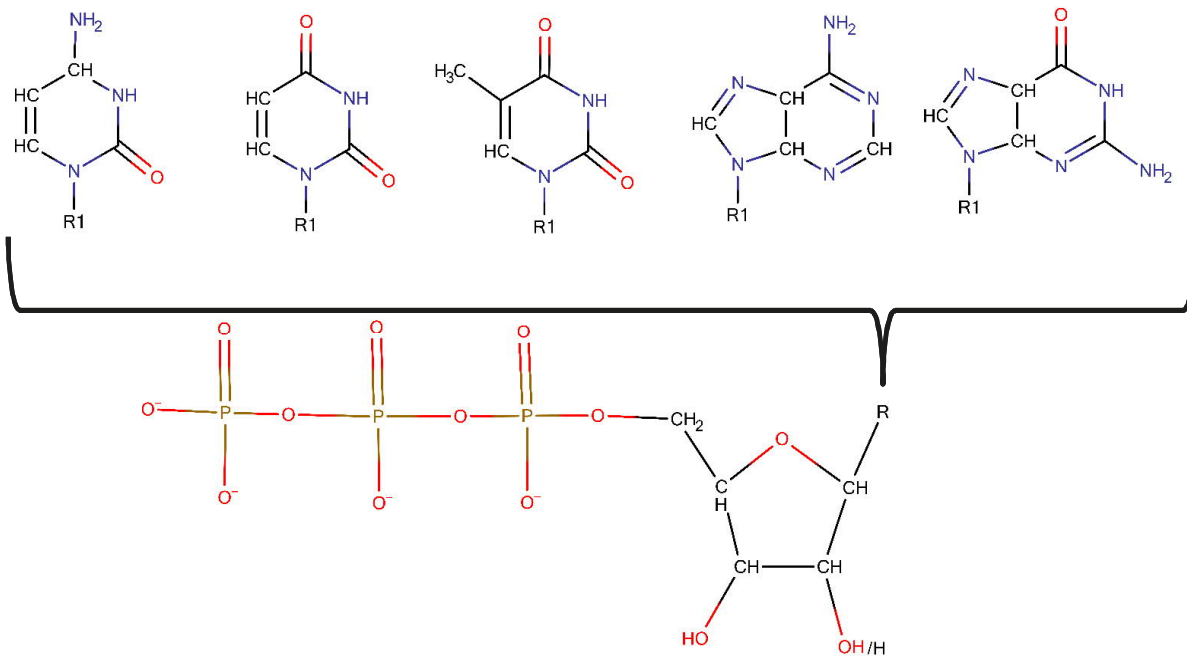


Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

Nukleiinihappojen rakenne

Nukleotidien ja nukleiinihappojen kemiallinen rakenne



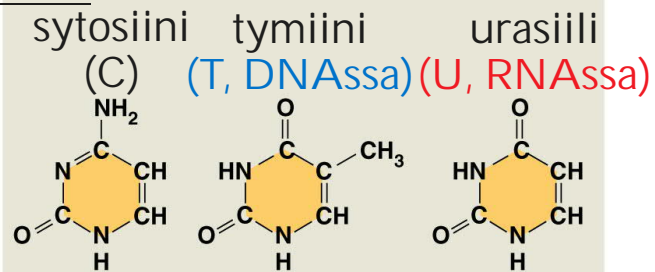
Nukleiinihapot ovat tumasta löytyviä fosforihappo, jotka koostuvat nukleotidien polymeereistä

Nukleotidi koostuu fosfaatista, riboosi-sokerista ja tyypeä sisältävästä renkaasta.

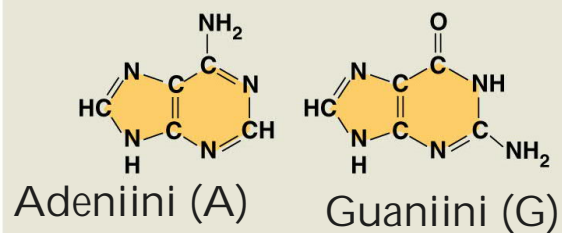
Usein nukleotideihin ajatellaan kuuluvan myös useita fosfaatteja sisältävät molekyylit, kuten ATP sekä signaalinvälityksessä käytetyt sykliset yhdisteet (kuten cAMP).

Nukleotidien komponentit

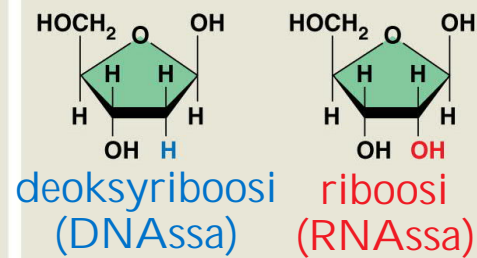
pyrimidiinit



puriinit



Sokerit

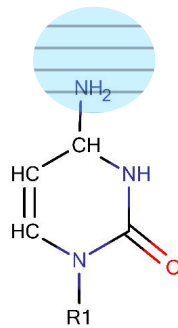
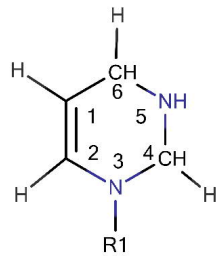


Nukleiinihappojen emäksiä on kahdenlaisia:

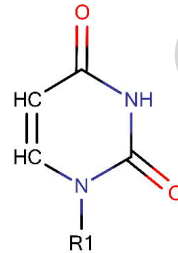
- Pyrimidiinit (sytyosiini, tyymiini ja urasiili), joissa on yksi kuusijäseninen rengasrakenne
- Puriinit (adeniini ja guaniini), joissa on kaksi rengasrakennetta, kuusi- ja viisijäseninen

Emäkseen liittynyt pentoosisokeri on DNA:ssa deoksyriboosi, RNA:ssa riboosi

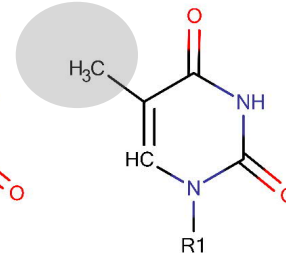
Nukleotidien emäkset



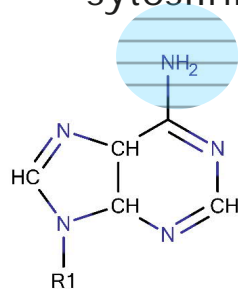
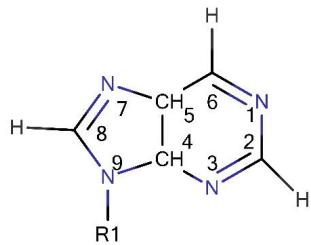
sytosiini



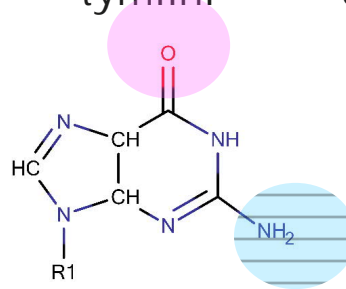
tyymiini



urasiini



adeniini



guaniini

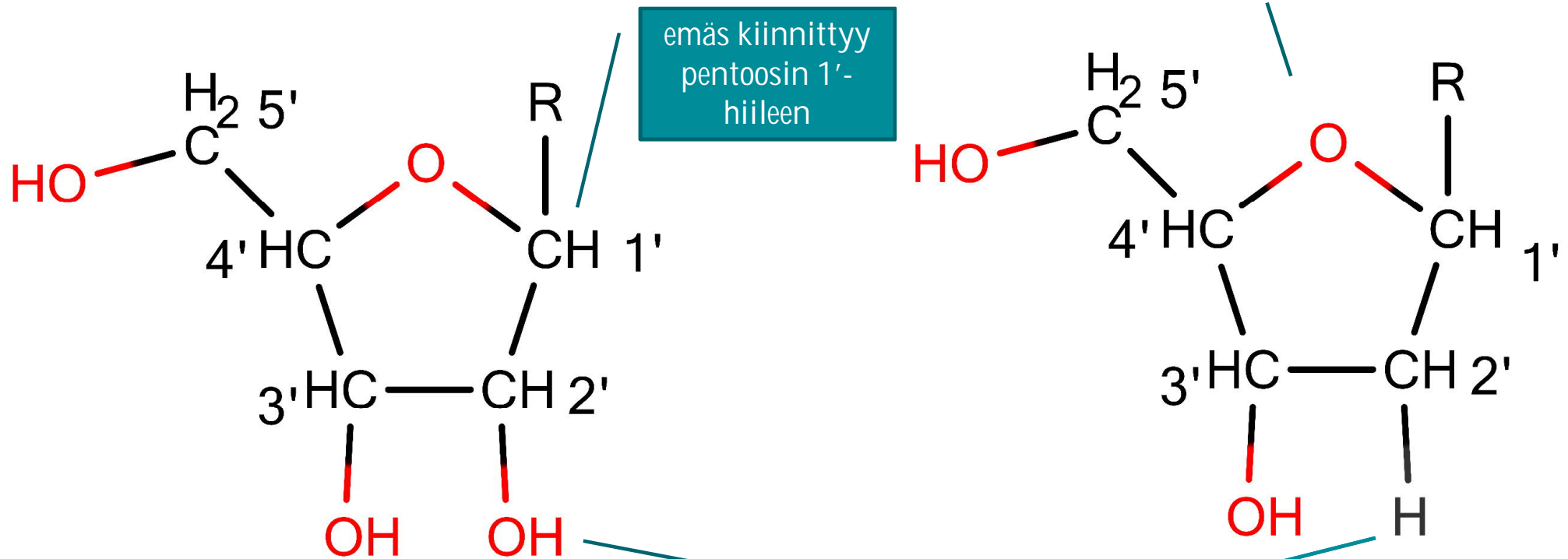
Emäksiä on kahdenlaisia (pyrimidiinejä ja puriineja). Ne kaikki sisältävät typpeä ja suurin osa myös elektronegatiivista happea, mikä aiheuttaa molekyylin poolisuutta.

Emästen hiilet merkitään numeroilla.

Sytosiini eroaa muista pyrimidiineistä 6-asemassa olevalla amiiniryhmällä.

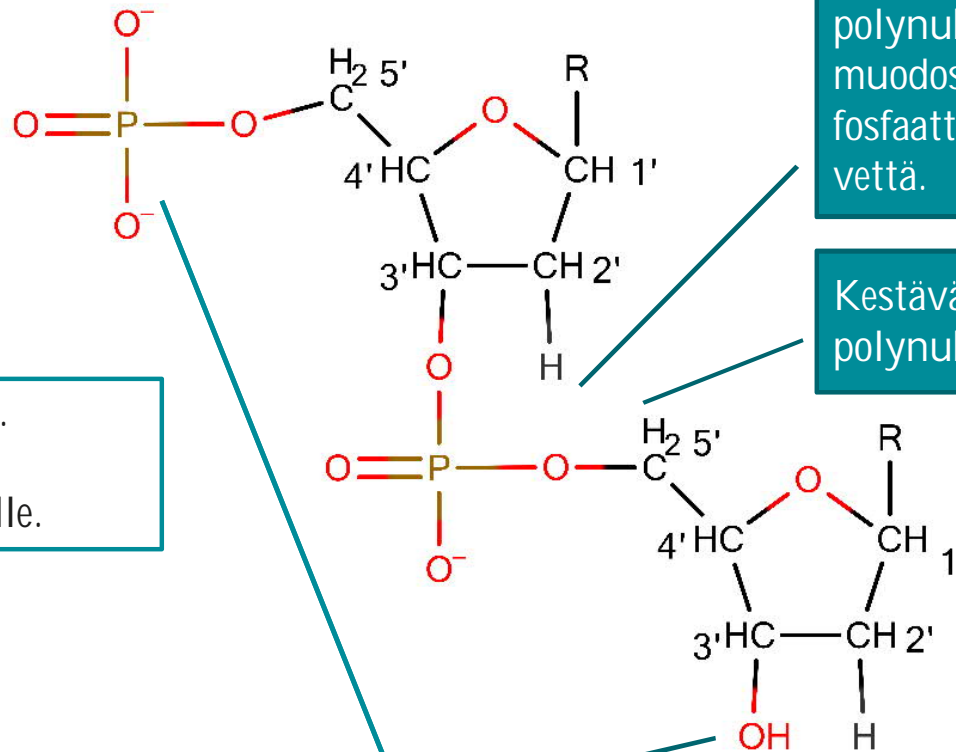
Adeniini ja guaniini eroavat amiiniryhmän sijainnin ja karbonyylihapen osalta.

DNA:n ja RNA:n ero piilee sokerissa



DNA:n ja RNA:n ero on pentoosisokerin 2'-hiilessä:
Riboosissa hydroksyyli (OH), Deoksiriboosissa vetyatomi (H)
Deoksi = happi puuttuu

Polynukleotidin muodostuminen



5'-hiili on renkaasta erillään.
Polynukleotidissa fosfaatti on
kiinnittynyt siihen.

3'-hiili on osa rengasrakennetta.
Polynukleotidissa fosfaatti on
kiinnittynyt OH-ryhmän paikalle.

Toisiinsa liittyneet nukleotidit muodostavat polynukleotidin, kun kovalenttinen sidos muodostuu hydroksyyli ryhmän (OH) ja fosfaattiryhmän välille. Samalla lohkeaa vettä.

Kestävä fosfodiesterisidos, joka muodostaa polynukleotidin sokerifosfaattirungon.

Polymeerin vapaat päät ovat erilaiset:
Toisessa päässä on fosfaatti liittyneenä 5'-hiileen (5'-pää)
Toisessa taas hydroksyyli liittyneenä 3'-hiileen (3'-pää)

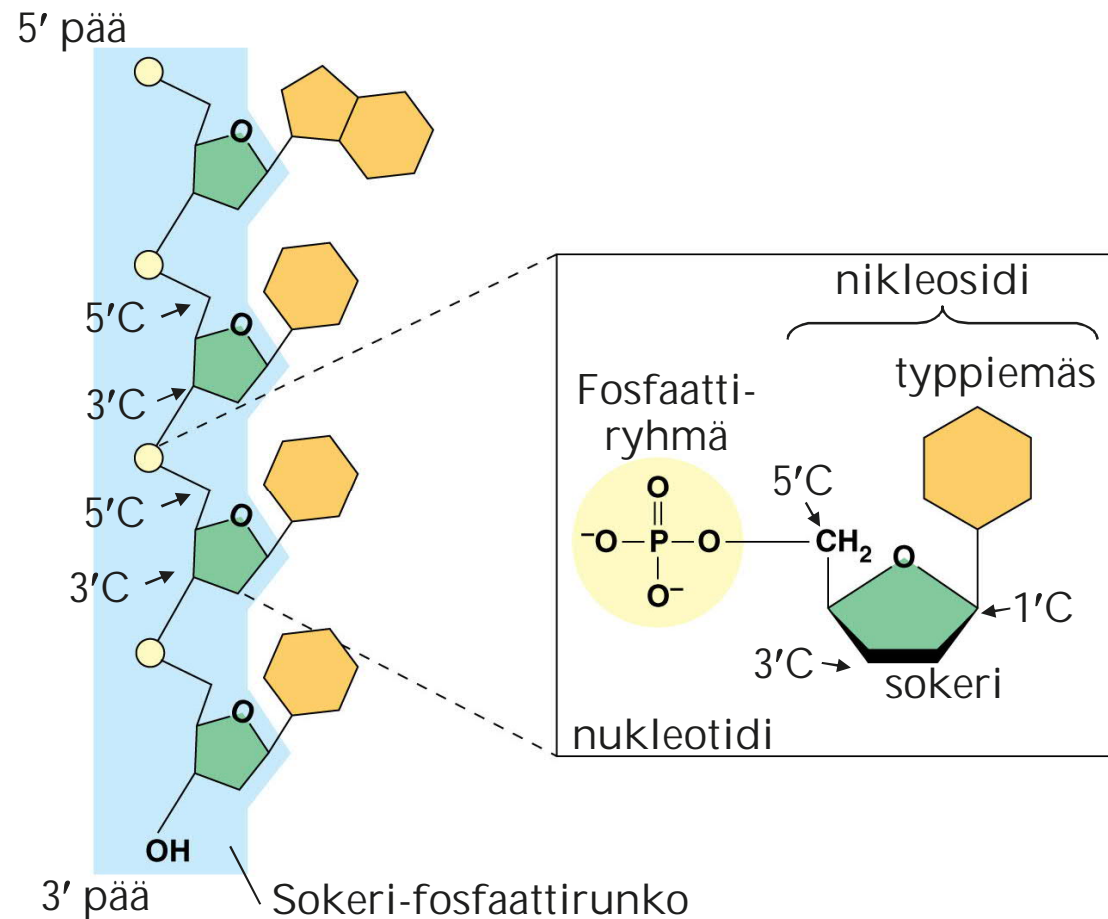
Nukleotidista nukleiinihappoon

Nukleotidit muodostavat polymeeriä (nukleiinihappoa). Polynukleotidilla on rakenteestaan johtuen suunta, mikä on olennaista geenien luennalle.

Monet prosessit tapahtuvat vain yhteen suuntaan, kuten DNA:n replikaatio (5' → 3' -suuntaan).

Emäkset luetellaan aina 5' → 3' -suuntaan

- GCTA on eri asia kuin ATCG



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

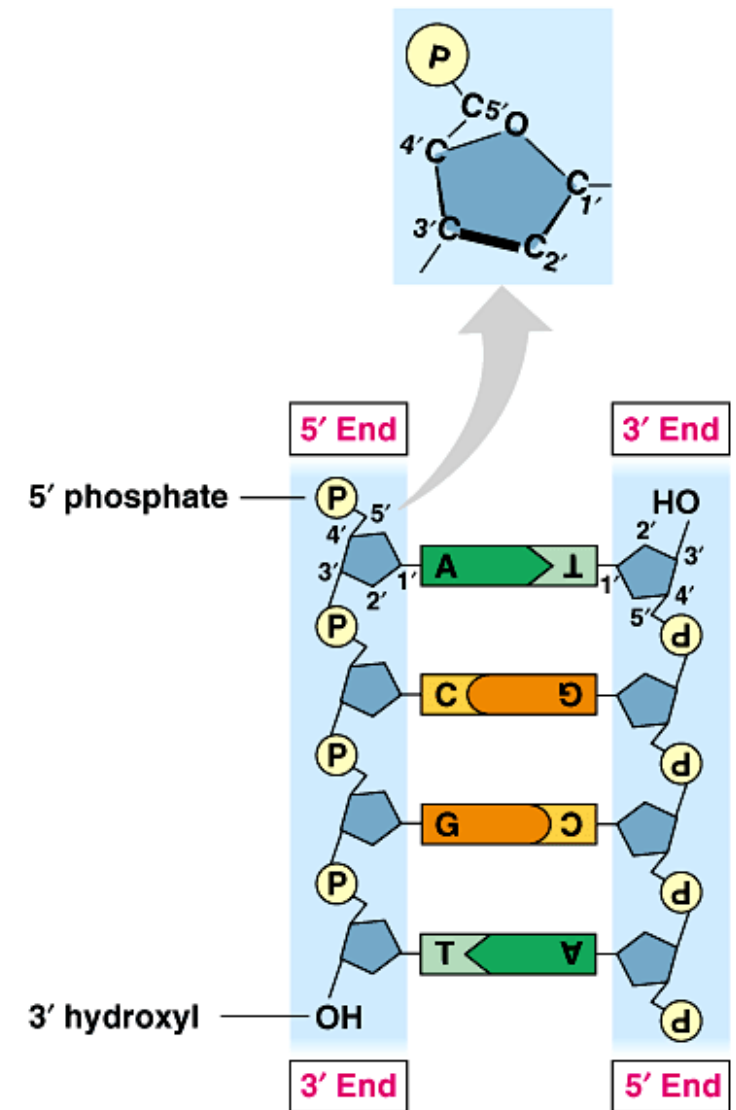
Komplementaarinen pariutuminen

DNA:n kaksoisjuoste

Emästen rakenne ja vuorovaikutukset ovat oleellisia nukleotidien muodostamille molekyyleille.

RNA-molekyylit esiintyvät yleensä yksittäisinä polynukleotidiketjuina, mutta DNA-molekyyleissä on kaksi polynukleotidia (vastinjuostetta), jotka ovat kiertyneenä kuvitteellisen akselin ympärille, muodostaen kaksoiskierteen

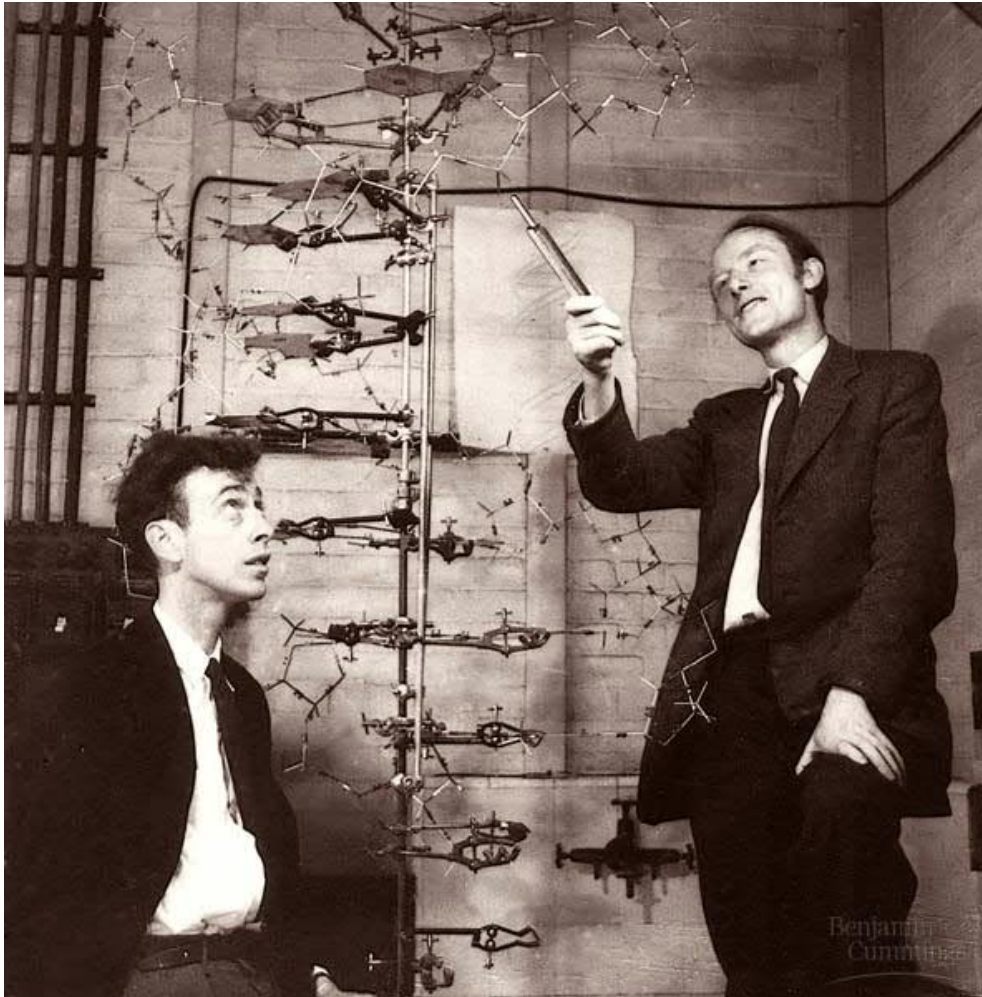
Kaksoiskierteessä vastinjuosteiden sokerifosfaattirungot ovat järjestäytyneet vastakkaisiin 5' → 3'-suuntiin toisiinsa nähden (antiparallel arrangement).



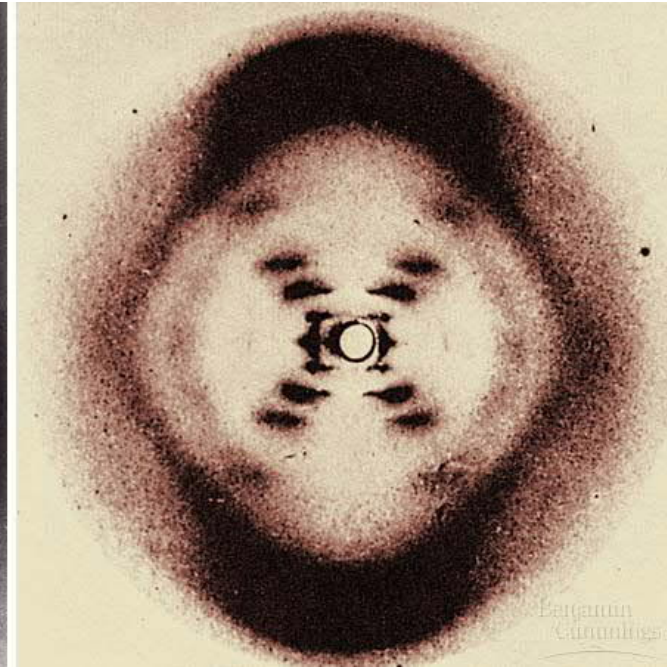
Kaksoiskierteen muodostuminen

Sokerifosfaattirungot ovat kaksoiskierteen ulkokehällä ja vastinjuosteet ovat liittyneet toisiinsa kierteen sisäpuolella sijaitsevien emästen vetysidosten välityksellä

- Emäkset ovat tasomaisia molekyyliä, ja ovat asettuneet kohtisuoraan kaksoiskierteen pituusakseliin nähden (kuten askelmat kierreportaissa)
- Vastinjuosteiden väliin jää kaksoiskierteessä tietty etäisyys, mikä on juuri sopiva puriini- ja pyrimidiiniemästen yhdistelmälle
- Lisäksi emästen tiettyjen atomien täytyy asettua juuri oikeaan asemaan toisiinsa nähden, jotta vetysidokset voisivat muodostua
 - Siksi DNA:n emäkset pariutuvat vetysidosten välityksellä aina samoin (komplementaarinen pariutuminen): adeniini (A) ja tymiini (T), guaniini (G) ja sytosiini (S)



UEF // University of Eastern Finland



Franklin had "an air of cool superiority"

Without Franklin's permission or knowledge, Wilkins showed Watson Franklin's famous photograph 51. (Franklin's Wikipedia entry)

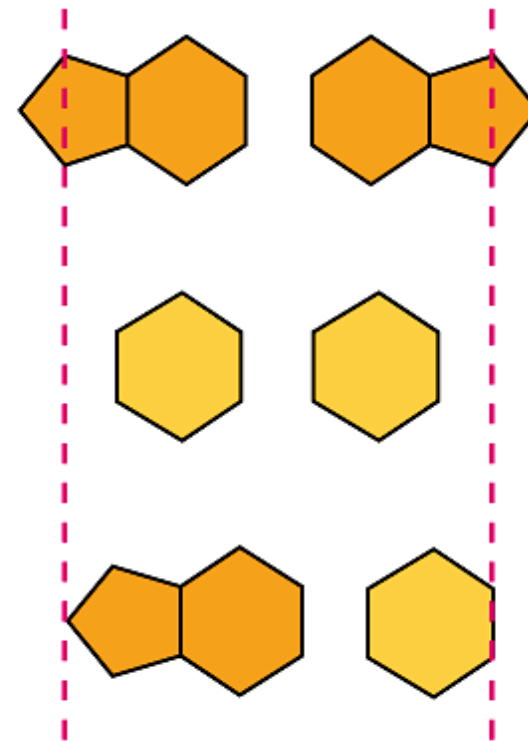
Aiheesta löytyy Naturen Rebroadcast, joka on kuultavissa myös kurssin Moodle-sivulla.

Röntgenkristallografia selitti geneettisen koodin

Puriini + puriini on liian leveä

Pyrimidiini + pyrimidiini on liian kapea

Puriini + pyrimidiini sopii
Röntgenkristallografian
antamaan rakenteeseen

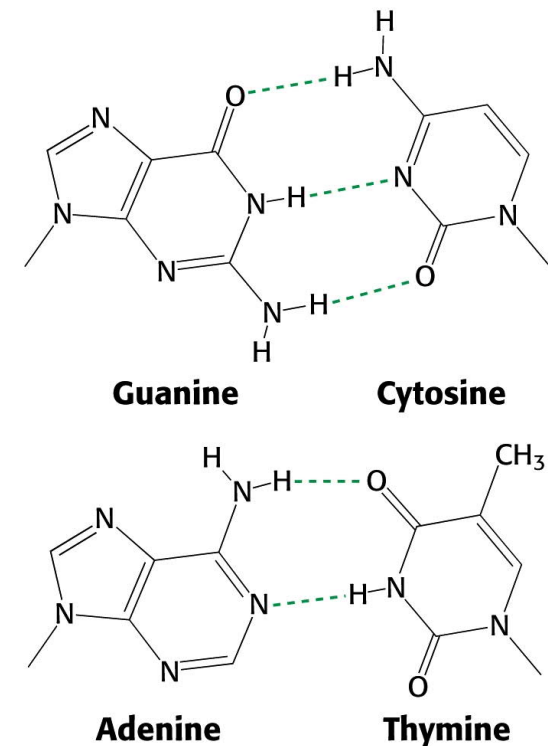


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Kaksoiskierteen vetysidokset

Kaksoiskierteen muodostumista kutsutaan komplementaariseksi pariutumiseksi

- Kaksoiskierre pysyy kasassa emästen välisillä vetysidoksilla.
 - typpi- ja happiatomien täytyy sijaita juuri sopivissa kohdissa, jotta vetysidokset voivat syntyä
- Tilaefektin lisäksi vetysidokset edellyttävät, että vain A ja T, ja toisaalta G ja C, voivat pariutua



DNA-sekvenssi voidaan kuvata yhden juosteen tiedoilla

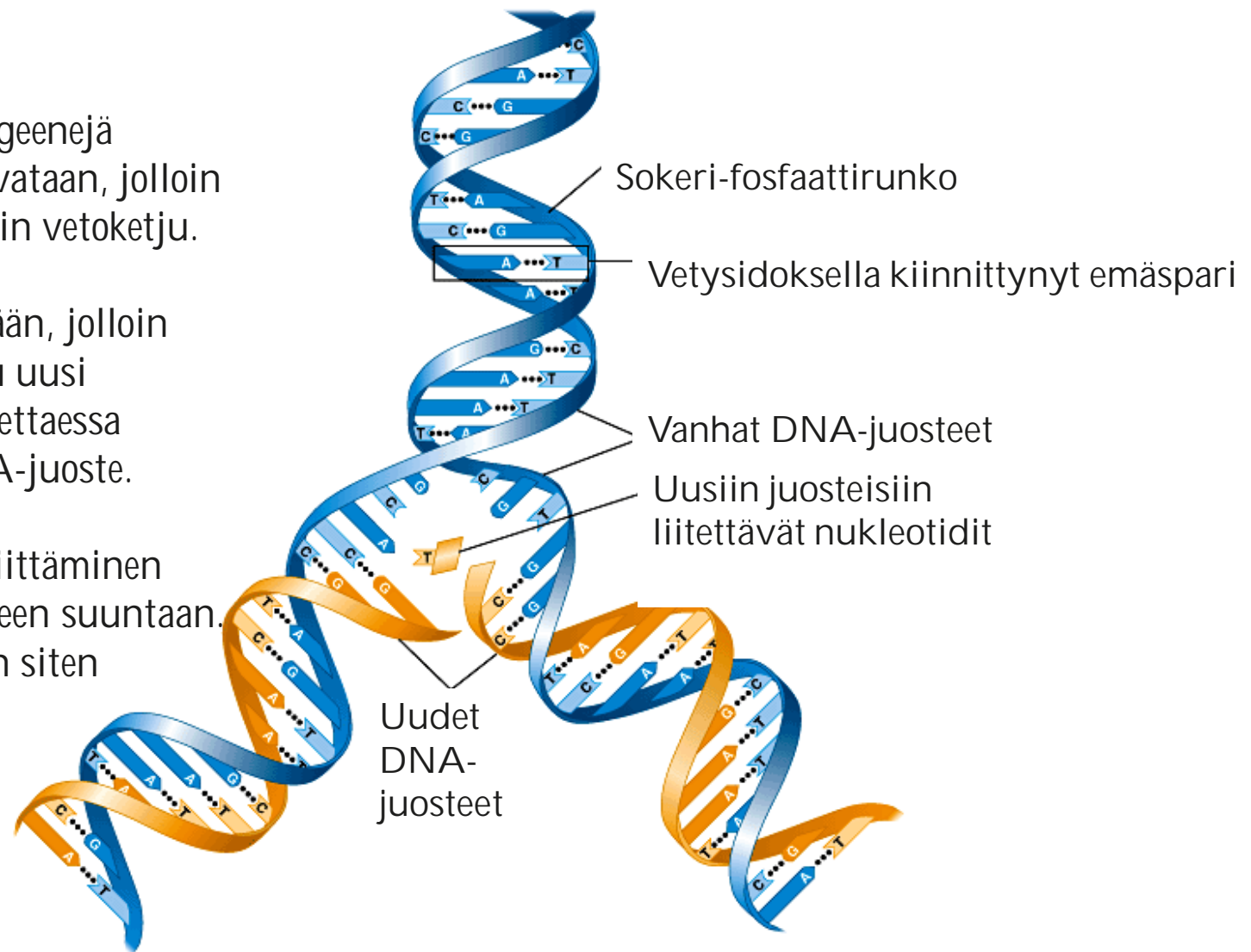
Emäspariutumisen säännöstä seuraa, että jos tiedämme yhden juosteen sekvenssin, niin tiedämme myös vastinjuosteen sekvenssin: juosteet ovat komplementaarisia.

- Siten proteiinien rakennusohjeet sijaitsevat (pääasiassa) vain toisessa juosteessa vastakkaisjuosteen toimiessa varmuuskopiona.
- Ennen solunjakautumista kumpikin vastinjuoste toimii templaattina määräten muodostuvan uuden vastinjuosteen sekvenssin
 - Alkuperäisestä kaksijuosteisesta DNA:sta saadaan siten kaksi identtistä kopiota tytärsoluihin
- Mekanismi varmistaa koko genomin sisältämä informaation välittämisen solujen jakautuessa

DNA:n kahdentuessa ja geenejä luettaessa vetysidokset avataan, jolloin kaksoiskierre avautuu kuin vetoketju.

Uusia nukleotidejä liitetään, jolloin kahdentuessa muodostuu uusi kaksoiskierre ja geeniä luettaessa komplementaarinen RNA-juoste.

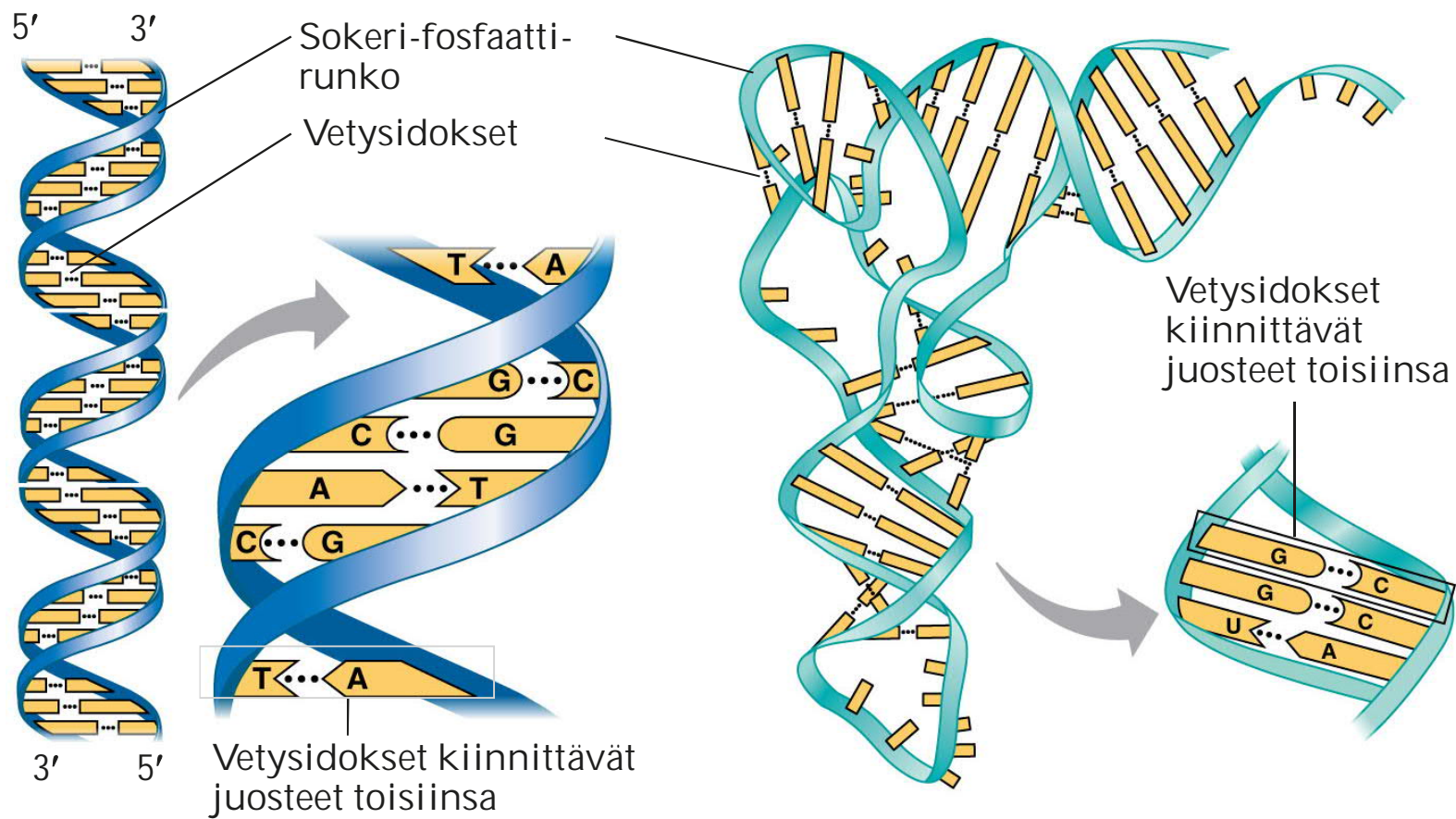
Kuitenkin nukleotidien liittämisen onnistuu ainoastaan toiseen suuntaan. Miten kahdentuminen on siten mahdollista?



DNA:n ja RNA:n rakenne

Yleensä DNA on kaksoiskierre ja RNAt vaihtelevan muotoisia

- Sokeriosan eron lisäksi RNA:ssa tymiinin korvaa urasiili (U), joten A ja U pariutuvat
- Komplementaarista pariutumista voi tapahtua myös kahden RNA-molekyylin välillä tai saman RNA-molekyylin eri osien välillä
 - Geenituotteiden määrää voidaan säädellä injektoimalla soluihin RNA:ta
 - Samaan periaatteeseen kuuluu myös geenisaksien toiminta
- Esimerkki sisäisestä pariutumisesta on siirtäjä-RNA (tRNA), joka on pakkautunut L-kirjaimen muotoiseksi
 - nukleotidien ovat pariutuneet komplementaarisilla alueilla
 - Pysyvää tRNA:n rakennetta tarvitaan, jotta molekyyli voi kuljettaa aminohappoja ribosomeille polypeptidien synteesiä varten.

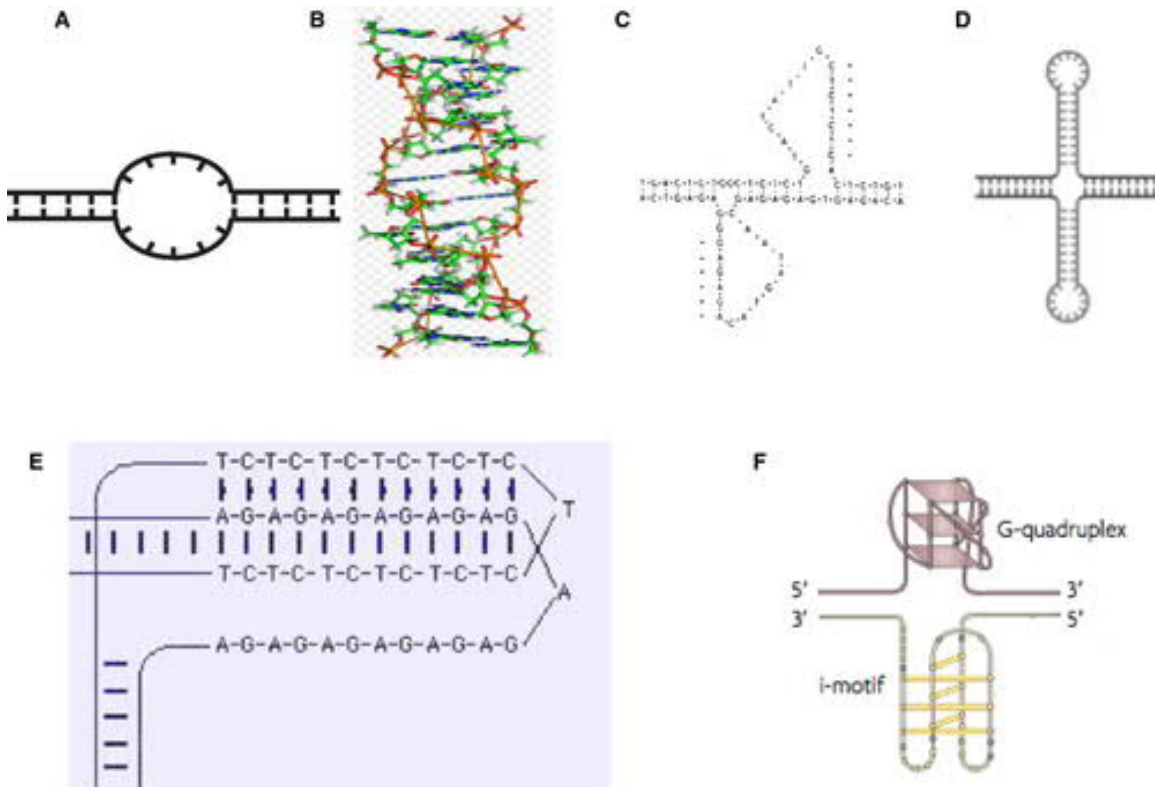


(a) DNA

(b) Siirtäjä RNA (t-RNA)

© 2011 Pearson Education, Inc.

DNA:n rakenne ei aina ole kuitenkaan kaksoiskierre

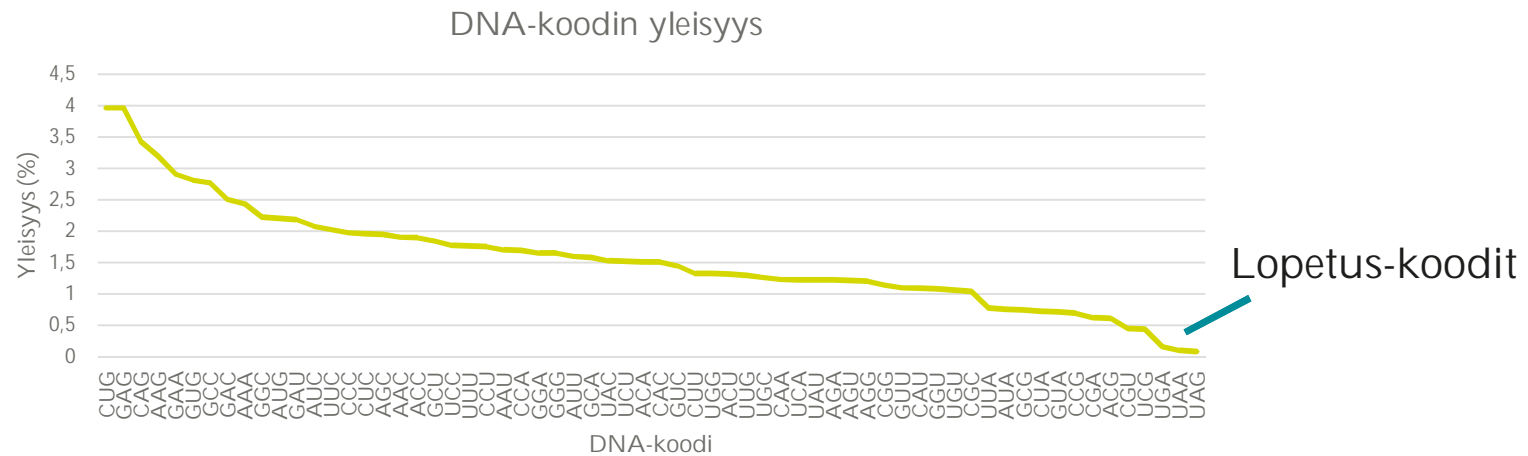


DNA voi esiintyä myös erikoisina muotoina:

- A. Paikallisina kuplina (välttämätön transkriptiolle)
- B. Z-DNA:na (poikkeuksellinen vasemmalle kiertynyt kaksoiskierre)
- C. Liukunut DNA-juoste
- D. DNA-krusifiksi (vaikuttaa transkriptioon)
- E. H-DNA (kolmoiskierre)
- F. DNA quadruplex (tyypillinen kromosomien päissä, joissa runsaasti guaniinia)

Neljällä kirjaimella saadaan runsaasti vaihtelua

Kolmen kirjaimen koodilla saadaan $4 \cdot 4 \cdot 4 = 4^3 = 64$ vaihtoehtoa, mutta kaikki emäsvaihtoehdot eivät ole ihan yhtä todennäköisiä.



Kuitenkin, geenit ovat sadoista tuhansiin emästä pitkiä, mahdollisten emäsjärjestysten (sekvenssien) määrä on käytännössä rajaton.

DNA ja proteiinit evoluution mittanauhana

Geenit (DNA) ja niiden tuotteet (proteiinit) ovat eliöiden perinnöllisen taustan ilmentymä ja dokumentoivat sen

- Koska DNA-molekyylit periytyvät vanhemmilta jälkeläisille, sisarusten DNA ja proteiinit ovat enemmän samanlaisia kuin niiden saman lajin yksilöiden, jotka eivät ole toisilleen läheisempää sukua
- Tämä mahdollistaa "molekulaarisen sukututkimuksen", jota voidaan käyttää myös lajien välisten sukulaisuussuhteiden tutkimukseen
- Geneettisen koodin selvittäminen on tullut edulliseksi, jolloin esim. lajien väliset sukulaisuussuhteet määritetään pitkälti geneettiseen tietoon perustuen.

Molekyylit lajien välisten sukulaisuussuhteiden mittana

Kahden toisilleen sukua olevan lajin (esim. fossiilaineiston perusteella) pitäisi muistuttaa toisiaan myös DNA- ja proteiinisekvenssien suhteen

- Molekyylibiologian menetelmiä voidaan siten käyttää myös evolutiivisten suhteiden määrittämiseen

Verrataan esim. ihmisen hemoglobiinin 146:n aminohapon sekvenssiä muiden selkärankaisten hemoglobiineihin:

- Ihmiset ja gorillat eroavat vain yhden aminohapon suhteen
- Ihmisten ja sammakoiden välillä on 67:n aminohapon ero
- Kaikilla selkärankaisilla on kuitenkin samalla periaatteella toimiva hemoglobiini

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Biologiset makromolekyylit

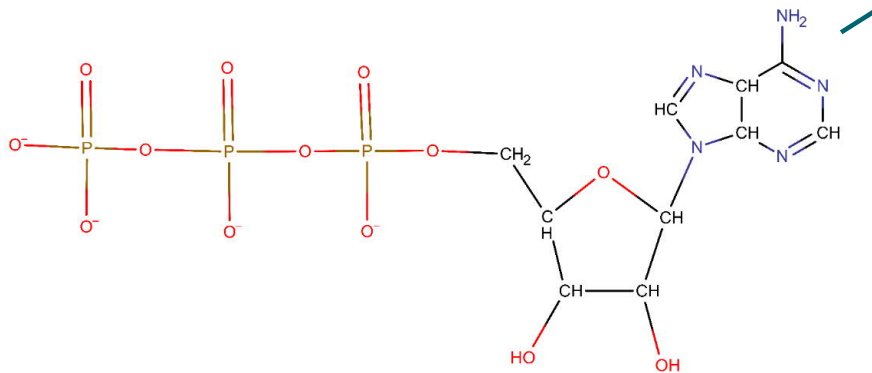
Muut nukleotidit

Erilaisia fosforiyhdisteitä on soluissa paljon

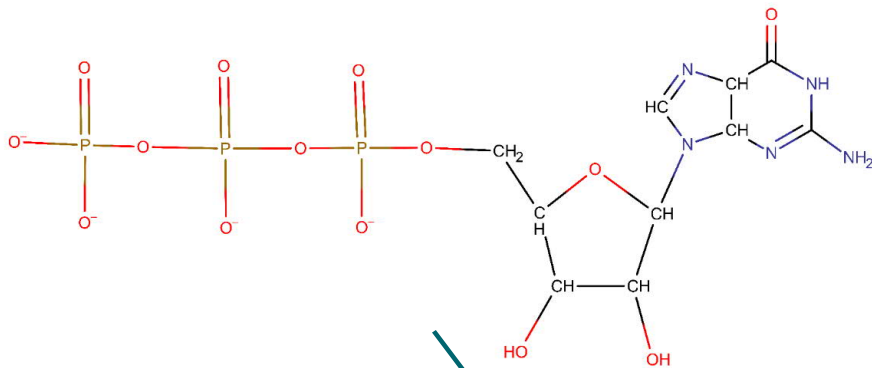
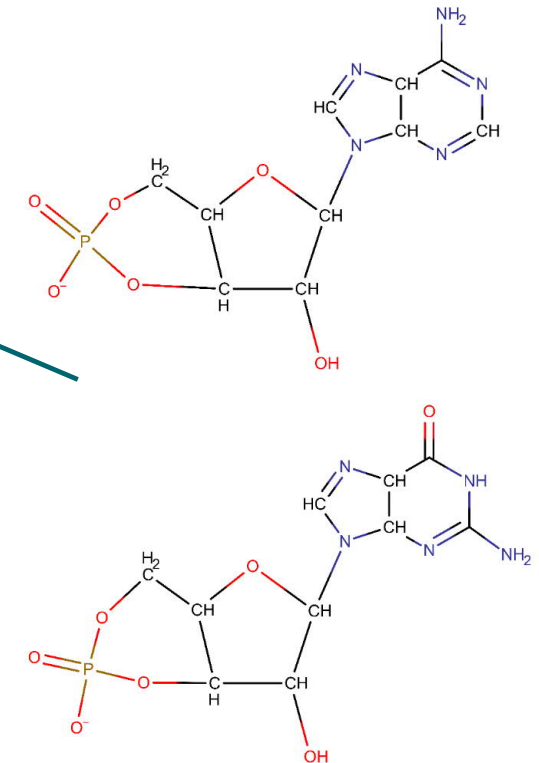
	nimi	rakenne	tehtävät
DNA	Deoksiribonukleiinihappo	Fosforihapon diesteri	Rakennusohjeet
RNA	Ribonukleiinihappo	Fosforihapon diesteri	Rakennusohjeiden luenta
ATP	Adensiinitrifosfaatti	Fosforihapon anhydridi	Energian varastointi
CP, PCr	Fosfokreatiini	Fosforihapon amidi	Fosforivarasto ATP:n tuottamiseksi
PEP	Fosfoenolipyruvaatti	Fosforihapon enoliesteri	Energiantuotanto
PLP	Pyridoksaalifosfaatti	Fosforihapon fenoliesteri	B6 vitamiini, ko-entsyymi
NAD	Nikotiinadeniinidinukleotidi	Fosforihapon esteri ja anhydridi	Energian tuotanto, hapetus, elektroninsiirto
NADP	Nikotiiniamidinidinukleotidi	Fosforihapon esteri ja anhydridi	Molekyylien muokkaus, elektroninsiirto
	fruktoosi- 1,6-bisfosfaatti	Fosforihapon esteri	Metabolian välituote
	Glukoosi-6-fosfaatti	Fosforihapon esteri	Metabolian välituote
IPP	Isopentenyylipyrofosfaatti	Pyrofosforihapon esteri	Metaboliavälituote

ATP ja sen johdannaiset

Puriinit muodostavat toiminnallisia nukleotideja myös yksinään. Näistä tutuin on adenosini trifosfaatti ATP

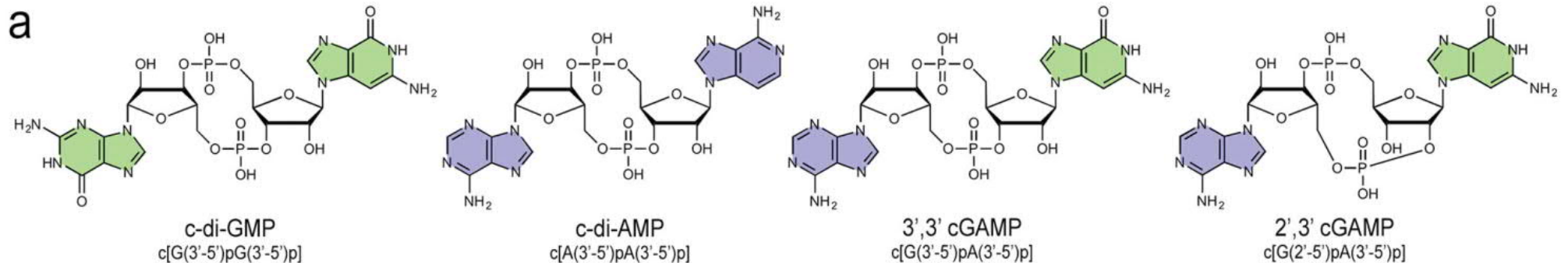


Molemmat nukleotidit muodostavat myös syklistä monofosfaattia cAMP ja cGMP. Näitä tarvitaan signaalinvälityksessä.



Myös guaniini muodostaa guanosini trifosfaattia, joka toimii energianlähteenä G-proteiineille.

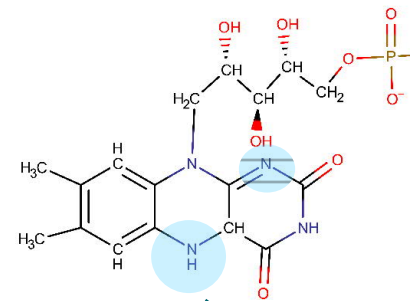
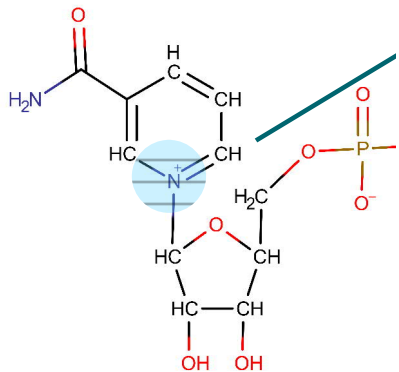
Dinukleotidit



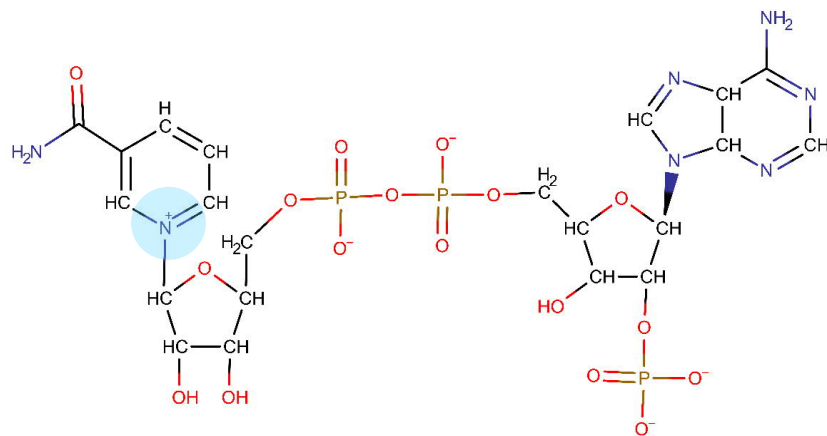
Sekä cGMP että cAMP muodostavat myös dinukleotidejä. Niitä on löydetty 80-luvun lopulta alkaen bakteereista ja arkeista, joissa ne toimivat geenien säätelyssä ja solusignaaloinnissa. Sittemmin näitä on löytynyt myös nisäkkäiltä, joilla ne liittynevät immuunipuolustukseen.

Protoni

Nikotiiniamidi adeniini dinukleotidi NAD⁺ toimii energiantuotannon hapetus-pelkistysreaktioissa. Elektroni ja protoni siepataan nikotiiniamidi-renkaaseen

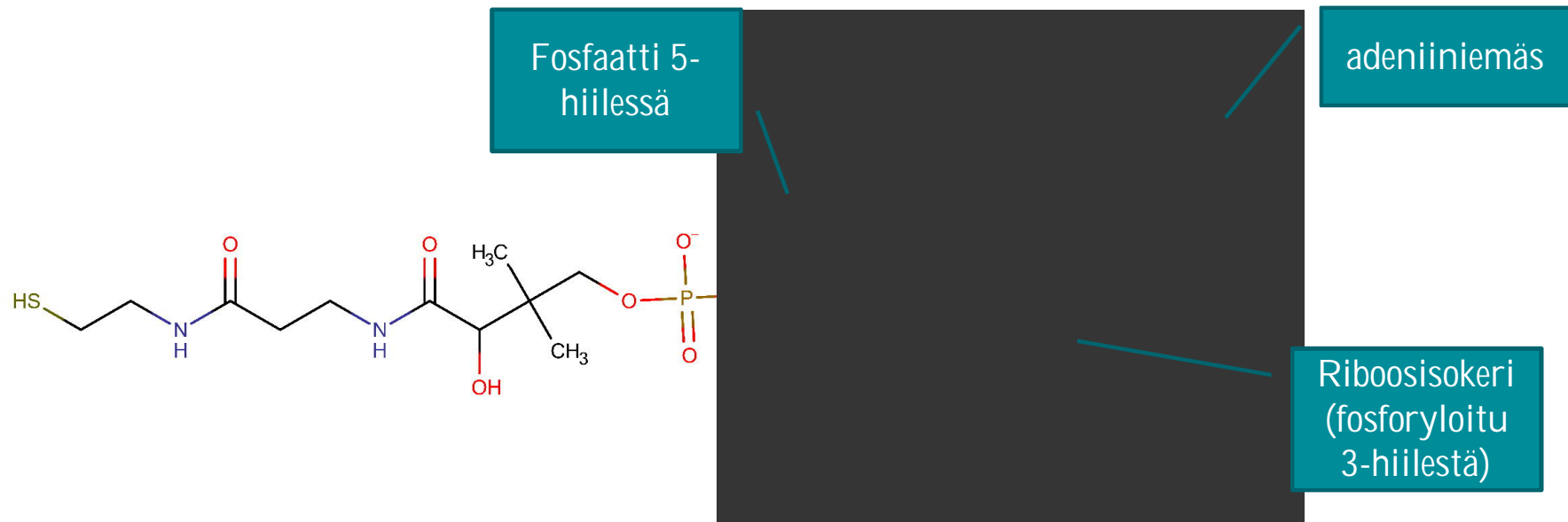


Sitraattisyklissä elektronisiepparina toimiva flaviinadeniini dinukleotidi FAD kerää elektronit ja protonit flaviinirenkaaseen.



Fotosyntesissä toimiva NADP⁺ on lähes identtinen. Siinä sokeriin on liittynyt fosfaatti.

Entä sitten sitraattisyklistä tuttu koentryymi-A?



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

