



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Energia ja reaktiot

Johdanto metaboliaan

Solu on pienikokoinen "kemiallinen tehdas", joka valmistaa ja hajottaa erilaisia molekyyliä. Valmistaminen ja hajottaminen tapahtuu tuhansilla erilaisilla kemiallisilla reaktioilla.

- Pienikokoisista molekyyleistä tehdään polymeerejä, joita voidaan myöhemmin hydrolysoida (hajottaa) tarpeen mukaan
- Sokereista voidaan tehdä aminohappoja, joista edelleen proteiineja
- Proteiineja voidaan puolestaan hydrolysoida aminohapoiksi ja muuntaa edelleen sokereiksi
- Monisoluisessa eliössä solut voivat tuottaa kemiallisia yhdisteitä toisten solujen tarpeisiin

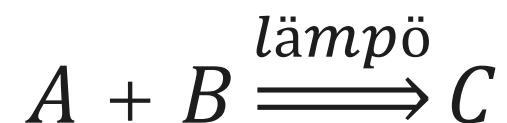
Energia

Olemme jo oppineet, että kemiallisten sidosten katkeaminen vaatii energiaa, joten solutehtaan prosessit edellyttävät energianlähdettä.

- Useimmat tuntemamme molekyylit eivät hajoa nopeasti itsekseen
- Monet soluprosessit eivät tapahdu koeputkiolosuhteissa

Solujen energiatuotannossa sokerista ja muista polttoaineista vapautuu energiaa, joka voidaan käyttää sitä kuluttaviin reaktioihin ja muihin työtä vaativiin tapahtumiin

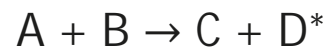
- Tässä merkityksessä energia on kyky tehdä työtä
- Energia on myös kyky lämmittää ja luoda järjestystä



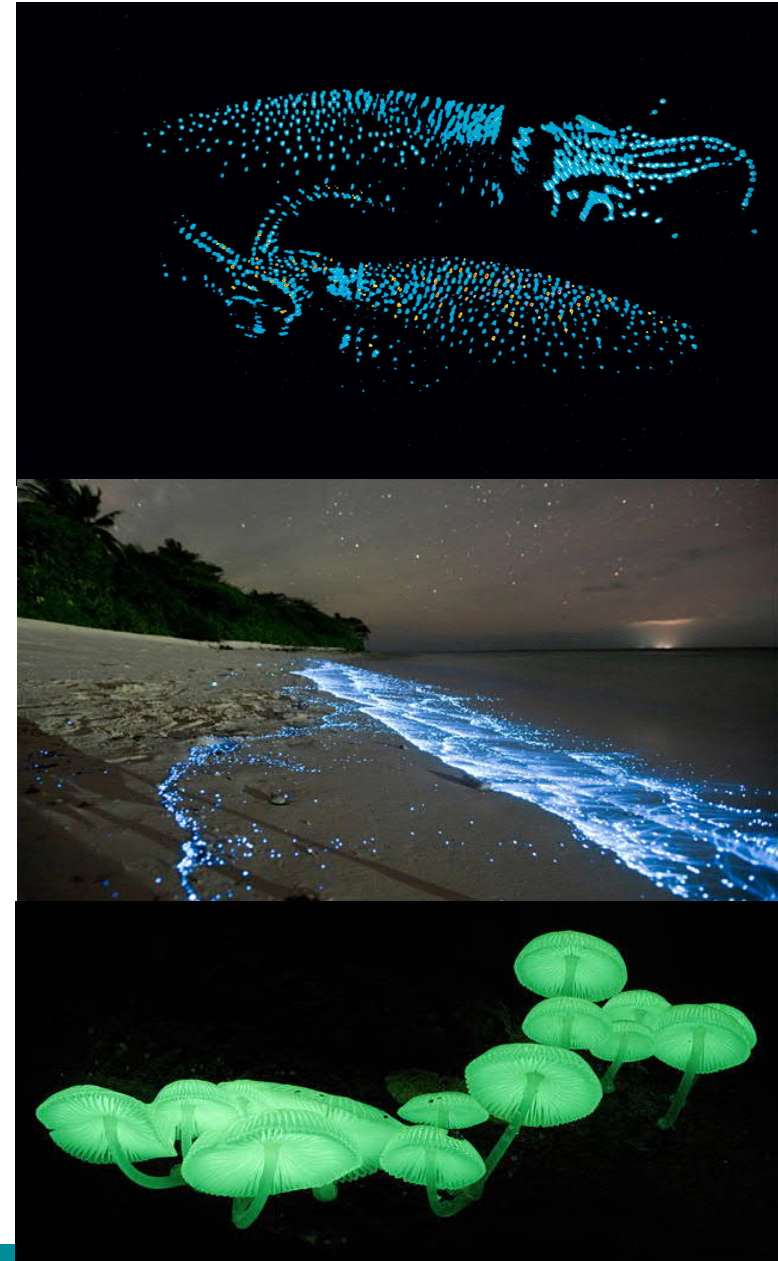
Bioluminenssi

Jotkin eliöt muuntavat energiaa jopa valoksi (bioluminesenssi)ilmiötä esiintyy mm. bakteereilla, levillä, hyönteisillä, nilviäisillä, kaloilla ja kalmareilla

- Luminenssi ei tapahdu suoraan aiemmin esitetyllä elektronin virittymisellä (GFP) vaan kemiallisen reaktion seurauksena:



- Muodostuneessa molekyyllissä D^* on elektroni virittynyt ja sen palatessa alemmalle elektroniorbitaalille vapautuu runsaasti energiaa, joka havaitaan valona ($h\nu$).
- Luminenssi saa energian ATP:stä, minkä lisäksi reaktioon osallistuu myös elektroneja puoleensa vetävää happea.



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



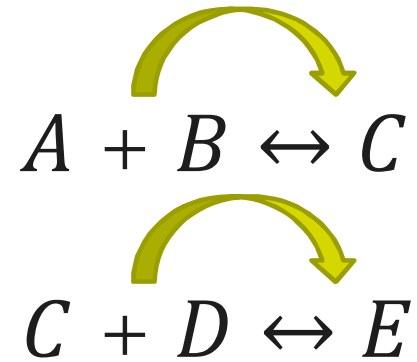
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Metabolia

Metabolia ja termodynamiikka

Eliön metaboliassa aine ja energia muuntuvat termodynamiikan lakien mukaan.

- Emergenssi: solussa yhdisteiden väliset vuorovaikutukset johtavat uuteen toiminnan tasoon, metaboliaan (aineenvaihdunta)
 - Kemiallisten reaktioiden yksinkertaisista säännöistä muodostuu kokonaisuutena monimutkainen, kehittynyt järjestelmä
 - Siis monta reaktiota, jotka vaikuttavat toisiinsa.
- Metabolian muodostavat reaktiot ovat monimutkaisia, tehokkaita ja koordinoituja, ja reagoivat herkästi vähäisiinkin muutoksiin
- μεταβολή (metabole, metavoli, kreikkaa): muutos



Glykaanit

Sokerit

Aminohapot

Energia

nukleotidit

Kofaktorit ja vitamiinit

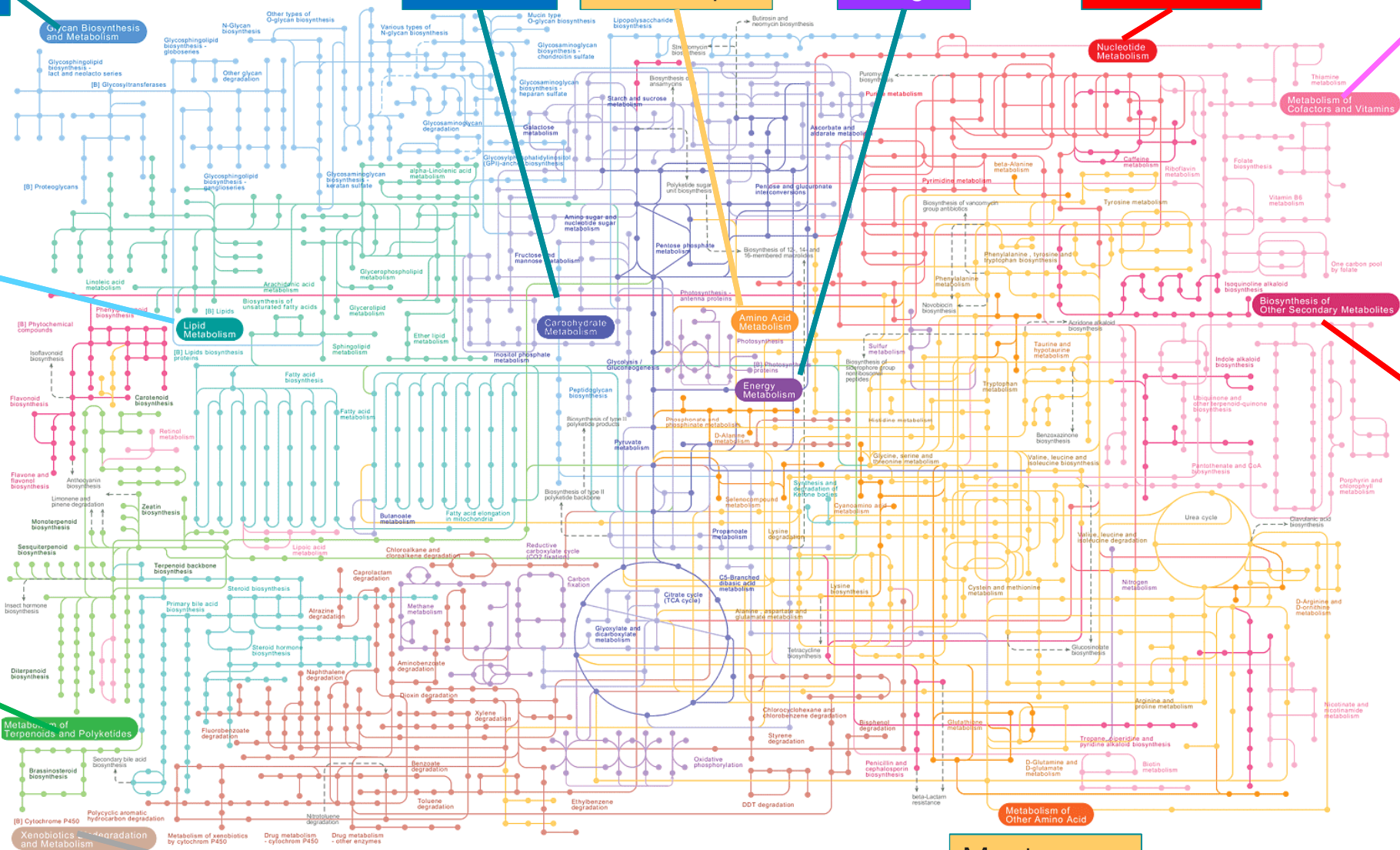
Lipidit

Terpenoidit

Vierasaineet

Muut aminohapot

Harvard magazine 2011



UEF // 1100-13013
© Keskitalouslaboratorio

Jos aihe kiinnostaa, tietoa löytyy...

http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map01100

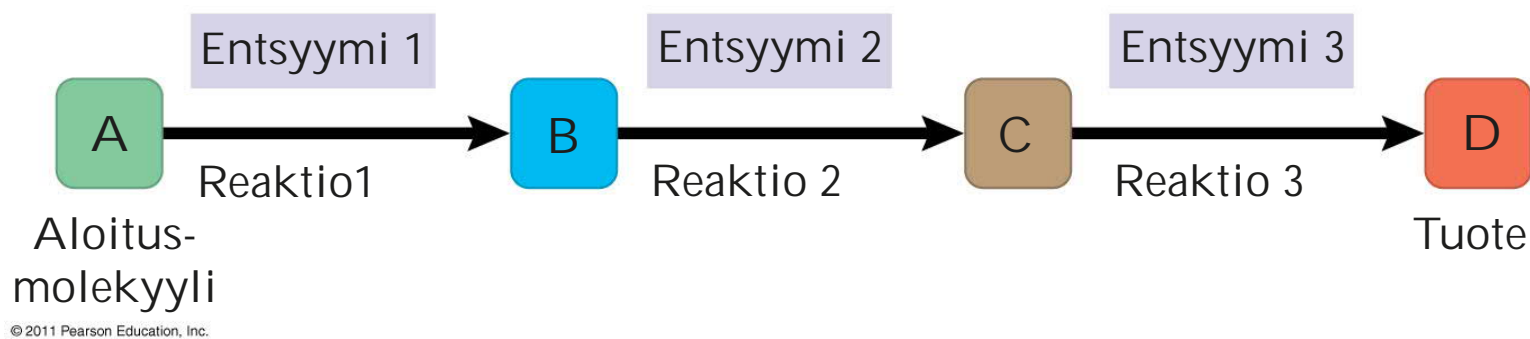
<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/interactive-metabolic-pathways-map.html>

<http://biochemical-pathways.com/#/map/1>

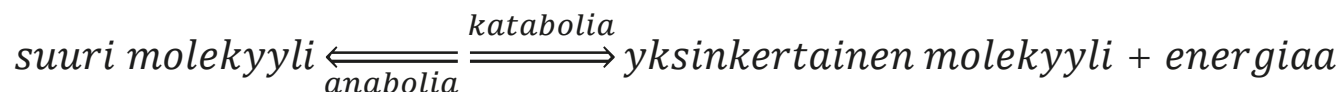
Elämän kemian järjestäytyminen metaboliareiteiksi

Metaboliareitti alkaa yksittäisestä molekyylistä, joka muunnetaan vaiheittain erityiseksi tuotteeksi

- Jokaista vaihetta katalysoi erityinen entsyymi



Katabolia ja anabolialia



Katabolia	Anabolialia
energiaa vapautuu pilkkomalla molekyylijä yksinkertaisemmiksi yhdisteiksi.	energiaa kulutetaan molekyylien rakentamiseen yksinkertaisemmista yhdisteistä
Esim. Solujen energiatuotanto, jossa glukoosia pilkotaan hapen läsnäollessa hiilidioksidiksi ja vedeksi.	Esim. proteiinisynteesi aminohapoista
hajotusaineenvaihduntaa	rakennusaineenvaihduntaa/biosynteettiset reitit

Kataboliasta energia anabolialialle

Metabolia ja energia

Energia erottaa mahdolliset ja mahdottomat reaktiot (soluissakaan ei voi tapahtua ihan mitä tahansa).

- Kaikki metaboliset reaktiot pyrkivät olemaan energiatehokkaita, jolloin niiden ymmärtäminen auttaa käsittämään solutoimintoja.
- Kyky hankkia ja käyttää energiaa on ehdoton elämän edellytys
 - Tapahtuu metabolian kautta: aineen ja energian muutokset
- Eliöiden energiavarantojen tuotannon ja käsittelyn tutkimusta kutsutaan bioenergetiikaksi.

Energiaa esiintyy useissa muodoissa

Kineettinen energia	Potentiaalienergia
Lämpöenergia – molekyylien satunnainen liike (25°C:ssa n. 2kJ/mol)	Sidosenergia - atomien väliset vuorovaikutukset (vaihtelee 0.04 – 60 kJ/mol välillä). Voi olla myös negatiivista (hylkimistä)
Säteilyenergia – fotosynteesin keräämät fotonit (40kJ/mol)	Kemiallinen energia – pitoisuuserot biologisten kalvojen eri puolilla
Sähköenergia – elektronien siirtoprosessit (energia riippuu siirtonopeudesta)	Sähköenergia – varauserot esim. mitokondrion sisäkalvon eri puolella.

Tällä tyypillä ponnahtuslaudalla on enemmän potentiaalienergiaa kuin noilla tuolla vedessä.

Tämä kaveri muuttaa potentiaalienergiaansa kineettiseksi energiaksi



Hän päätti muuntaa lounaansa sisältämän kemiallisen energian lihastyönsä kineettiseksi energiaksi saadakseen lisää potentiaalienergiaa

Hänellä on vähemmän potentiaalienergiaa kuin laiturilla olijalla

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

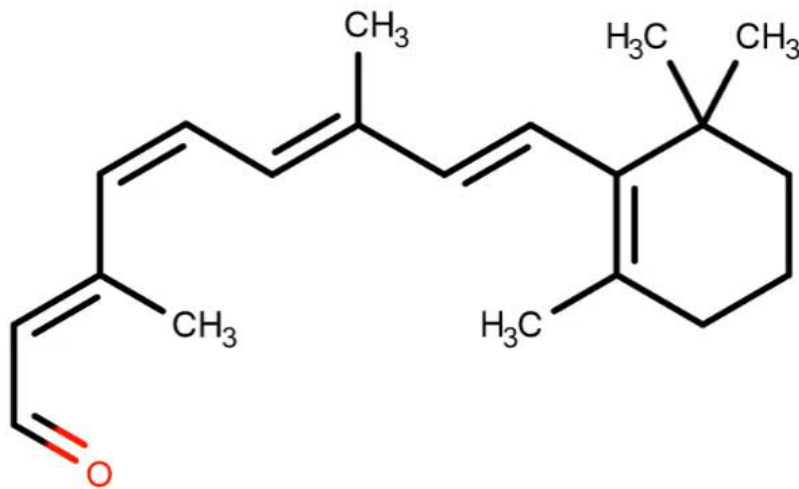


Solu- ja molekyylibiologian perusteet

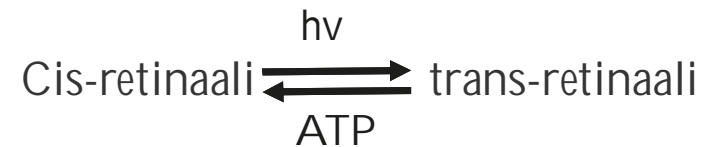
Energia ja elämä

Termodynamiikan pääsäännöt

Termodynamiikka ja retinaalin isomeria



Retriinaalia on valoa aistivissa soluissa, joissa se vastaa valosignaalin havainnoinnista.



Termodynamiikka selittää, miksi reaktio etenee toiseen suuntaan spontaanisti valoenergian avulla ja toiseen suuntaan tarvitaan ATP:n energiaa.

Energia ja termodynamiikka

Termodynamiikka (thermo + dynamis = lämpövoima) kertoo mitä voi tapahtua.

- “Classical thermodynamics . . . is the only physical theory of universal content concerning which I am convinced that, within the framework of applicability of its basic concepts, will never be overthrown.” - Albert Einstein
- “If your theory is found to be against the Second Law of Thermodynamics I can give you no hope; there is nothing for it but to collapse in deepest humiliation.” - Sir Arthur S Eddington
- Termodynamiikka on oppi energian muutoksista ja tapahtumien spontaanisuudesta
 - Eristetty systeemi ei voi vaihtaa energiaa tai ainetta ympäristönsä kanssa (kahvi termoksessa on likimäärin eristetty systeemi)
 - Avoimessa systeemissä, kuten eliöissä, ainetta ja energiaa voi vaihtua systeemin ja sen ympäristön välillä.

Termodynamiikan ensimmäinen pääsääntö: energia säilyy

Termodynamiikan ensimmäisen pääsäännön mukaan energian määrä maailmankaikkeudessa on vakio

- Energiaa ei voi luoda eikä hävittää, mutta sitä voi muuttaa muodosta toiseen
- Kasvit eivät tuota energiaa, vaan muuntavat valon energiaa kemialliseksi energiaksi

$$\Delta U = q + w$$

ΔU on energian muutos ($U_1 - U_2$), q lämmön ja w työn muutos

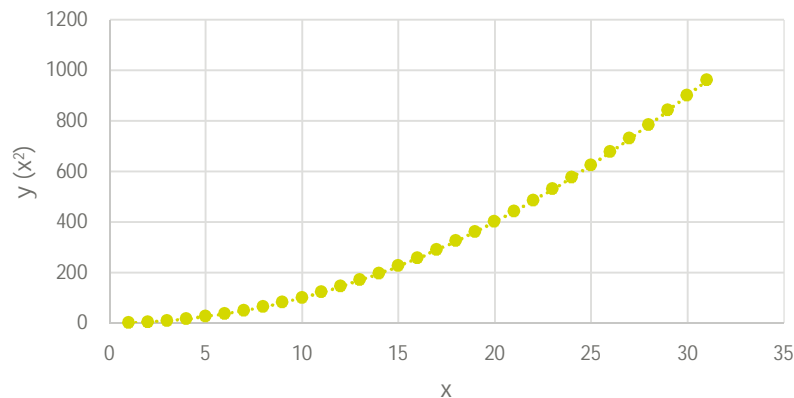
- Ensimmäinen pääsääntö ei kerro reaktion etenemissuunnasta mitään.

Differentiaalilaskentaa... APUA!

ΔU on derivaatta, joka kertoo muutoksen suuruuden.
Tuleeko nyt siis ulkoa opeteltavia derivoimiskaavoja?

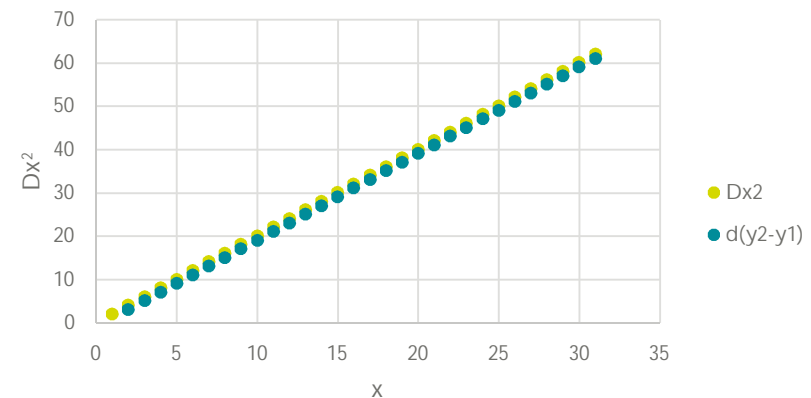


$f(x)=x^2$



Ajatellaan neliön pinta-alaa, joka kasvaa sivun pituuden kasvaessa.

Dx^2



Muutoksen suuruus saadaan derivoitua

$$Dx^n = nx^{n-1}$$

Kuitenkin suunnilleen sama tulos saadaan laskemalla kullekin kohdalle $(y_2 - y_1) / (x_2 - x_1)$

Differentiaalilaskentaa... helppoa!

Derivoimiskaavojen sijaan voidaan siis määrittää havainnot kahdesta pisteestä ja laskea niiden avulla vähennys ja jakolaskulla, paljonko käyrä muuttuu.

Mikäli pisteet muodostavat viivan (lineaarinen korrelaatio), voidaan pisteiksi valita mitä tahansa.

Usein biologiset havainnot muodostavat käyriä, joiden yhtälöä ei edes tunneta. Tällöin muutos voidaan mitata mahdollisimman lähellä toisiaan olevista pisteistä (infinitesimaalinen ero).

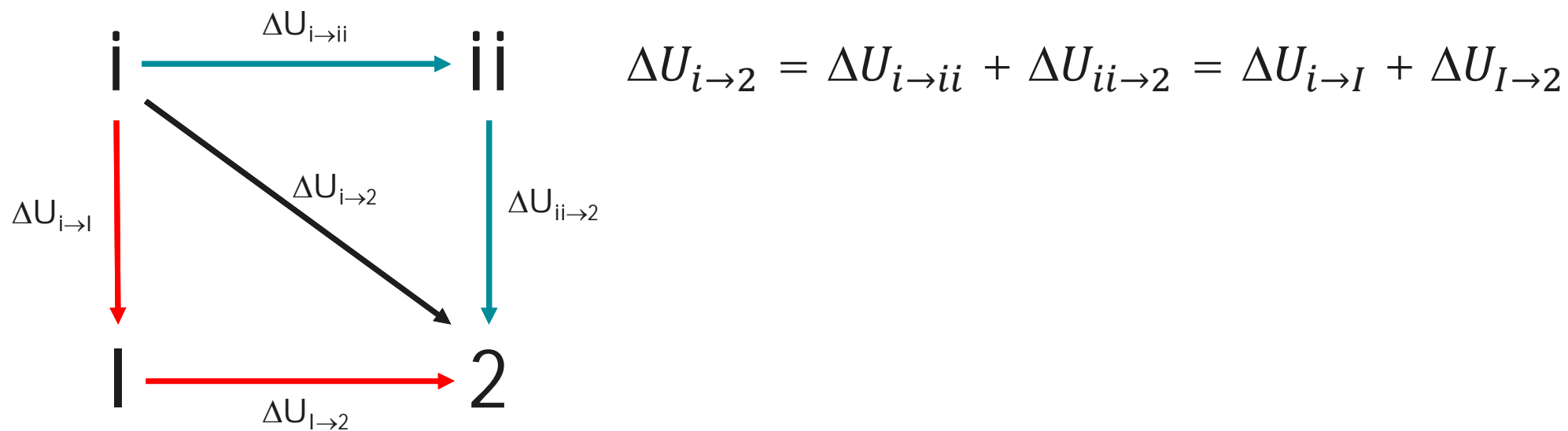
Siispä

$$\Delta U = (U_2 - U_1); \quad ja \quad \frac{\Delta y}{\Delta t} = \frac{dy}{dt} = \frac{(y_2 - y_1)}{(t_2 - t_1)}$$

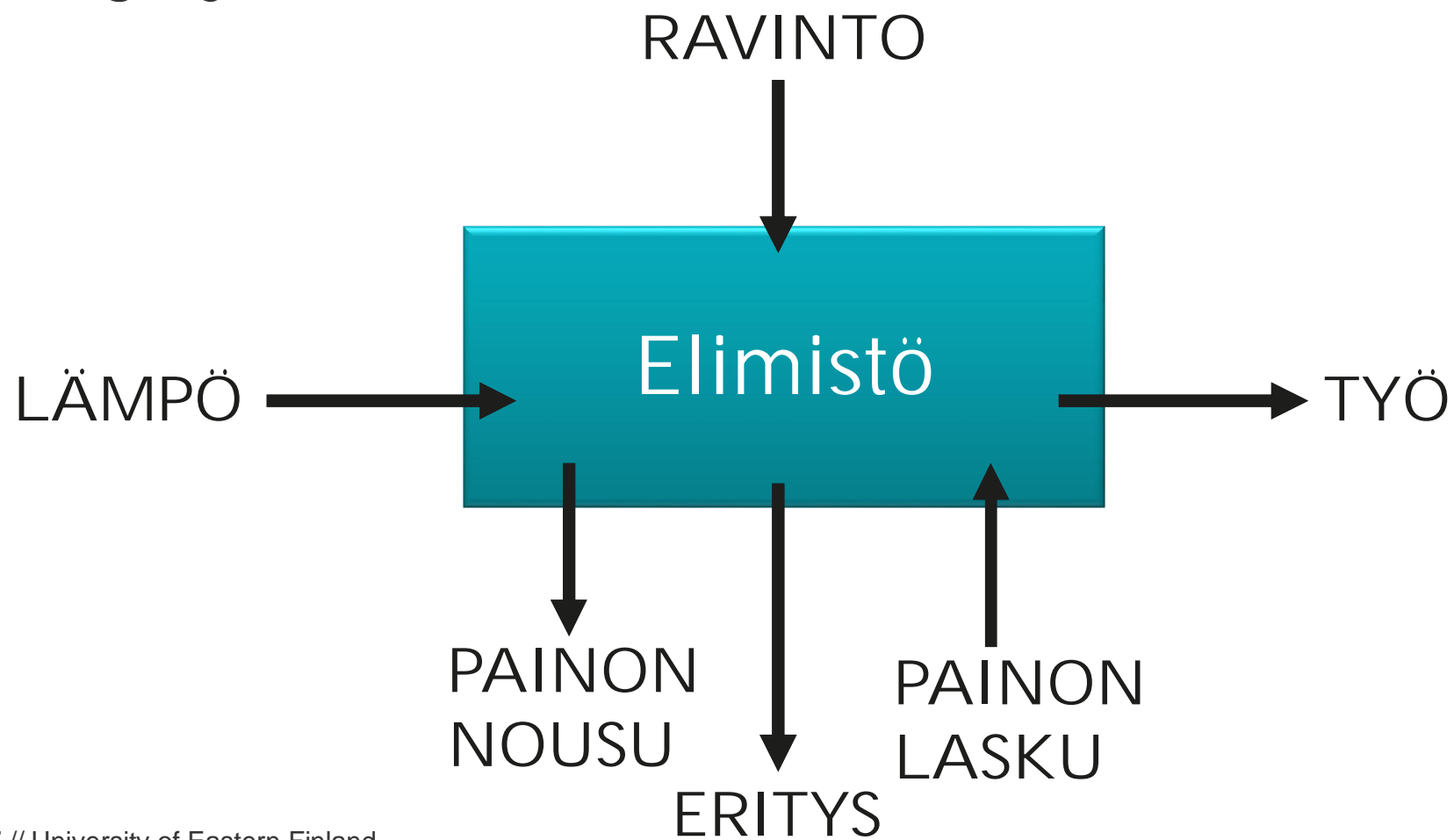


Parasta menetelmässä on, että sillä voi helposti laskea myös pinta-aloja

Energian säilyminen helpottaa laskemista.



Energia ja elimistö



Termodynamiikan ensimmäinen pääsääntö: energia ei riipu olosuhteista

Katoamattomuus tekee energiasta olosuhteista riippumatonta: syömässämme sokerissa on yhtä paljon energiaa kuin kemiallisiin kokeisiin käytetyssä!

Energian saanti	kJ/g	Energian kulutus	kJ/h (ihminen 70 kg)
Hiilihydraatit	16	Makaaminen	322
Rasva	37	Istuminen	418
Proteiinit	23	Kirjoittaminen	590
Alkoholi	29	Käveleminen	840
Ligniini	26	Juoksu	2386

Lämpö ja työ

Jokaisessa energian muuntamisessa tai siirtymisessä (työssä) osa energiasta muuntuu lämmöksi

$$\Delta U = q + w$$

Kun $q > 0$ systeemiä lämmitetään, kun $q < 0$ lämpö karkaa ympäristöön

Kun $w > 0$ systeemiin tehdään työtä, kun $w < 0$ systeemi tekee työtä

- Lämpöä voidaan käyttää työn tekemiseen vain kun on olemassa lämpötilaero, joka johtaa lämmön siirtymiseen lämpimämmästä kylmempään paikkaan
- Soluissa ei ole lämpötilaeroja, joten lämpöenergia kuluu vain eliön lämmittämiseen (ei työhön)

Entalpia ja lämmön suunta

Termodynamiikassa entalpia (H) on systeemiin (vakiopainneessa) siirtynyttä lämpöä.

$$\Delta H = q_p = \Delta U - w = \Delta U + p\Delta V$$

Kun $\Delta H > 0$, systeemiin tuodaan lämpöä (se on endoterminen)

Kun $\Delta H < 0$ systeemi luovuttaa lämpöä (se on eksoterminen)

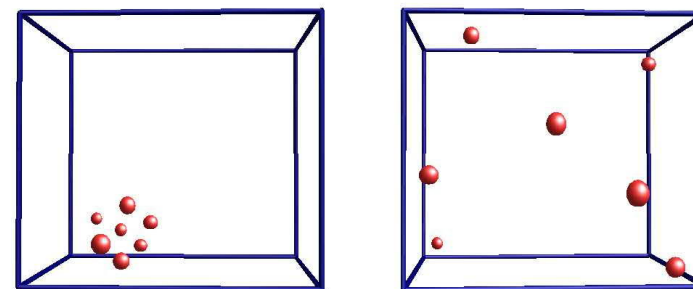
ESIM. $\Delta^\circ H(\text{cis-retinaali} \rightarrow \text{trans-retinaali}) = 630 \text{ J/mol}$

- Huomaa ero itse lämpöä tuottavan (endotermisen) ja ympäristöstä lämmön ottavan (ektotermisen) välillä
- Huomaa myös ero sisimmän alkokerroksen (endodermi) kanssa.

Entropia ja epäjärjestys

Molekyylit liikkuvat, jolloin ne pyrkivät kohti epäjärjestystä (jakautumaan tasaisesti). Tätä kutsutaan entropiaksi (S).

- Entropia selittää 1. pääsäännön ongelman: sekoitettaessa kylmää ja kuumaa nestettä, lämpötilaerot tasaantuvat vaikka kokonaisenergian muutos on nolla $\Delta U=0$.
 - "työtä tehdään, jotta järjestystä saadaan aikaiseksi – sotku on spontaania"
- Entropia erityisen tärkeä nesteissä (esim. soluissa): reaktioissa muodostettu lämpö "karkaa" ympäröiviin (vesi-)molekyyleihin.



Termodynamiikan toinen pääsääntö: entropian kasvaa

Jokaisessa energian muuntamisessa tai siirtymisessä (työssä) osa energiasta muuntuu lämmöksi, jolloin epäjärjestys kasvaa

$$\Delta S \geq \frac{q}{T}$$

jossa q on systeemiin tuotu lämpö ja T absoluuttinen lämpötila

- Siten entropia kasvaa aina lämmitettäessä (molekyylit liikkuvat kovempaa)
- Spontaaneissa reaktioissa entropia kasvaa. Tämä tekee reaktioista palautumattomia

$$\Delta S_{\text{systeemi}} + \Delta S_{\text{ympäristö}} = \Delta S_{\text{maailmankaikkeus}} > 0$$

esim. $\Delta^\circ S(\text{cis-retinaali} \rightarrow \text{trans-retinaali}) = 18 \text{ J/molK}$

- Luonnollisestikaan epäjärjestyksen absoluuttista määrää maailmankaikkeudessa ei pystytä määrittämään, minkä tähden reaktioissa tarkastellaan entropian muutosta.

Termodynamiikan ensimmäinen pääsääntö



Kemiallista energiaa

Energiaa voidaan muuntaa tai siirtää, mutta ei luoda eikä hävittää.

Ursus arctos siirtää kalan sisältämän kemiallisen (potentiaali)energian metaboliensa kemialliseksi energiaksi

Tämä voidaan taas muuntaa vaikkapa kineettiseksi energiaksi

Termodynamiikan toinen pääsääntö



Energian muuntaminen tai siirtäminen lisää maailmankaikkeuden epäjärjestyttä (entropiaa)

Karhun juostessa epäjärjestys lisääntyy ympäristössä lämmön sekä metaboliatuotteiden vapautumisen myötä

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



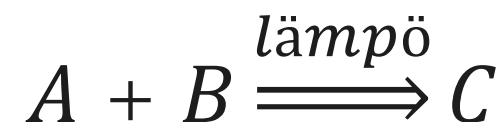
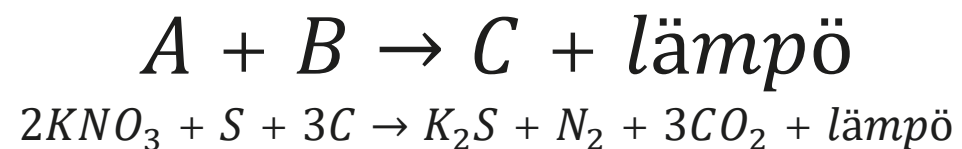
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Spontaanit reaktiot

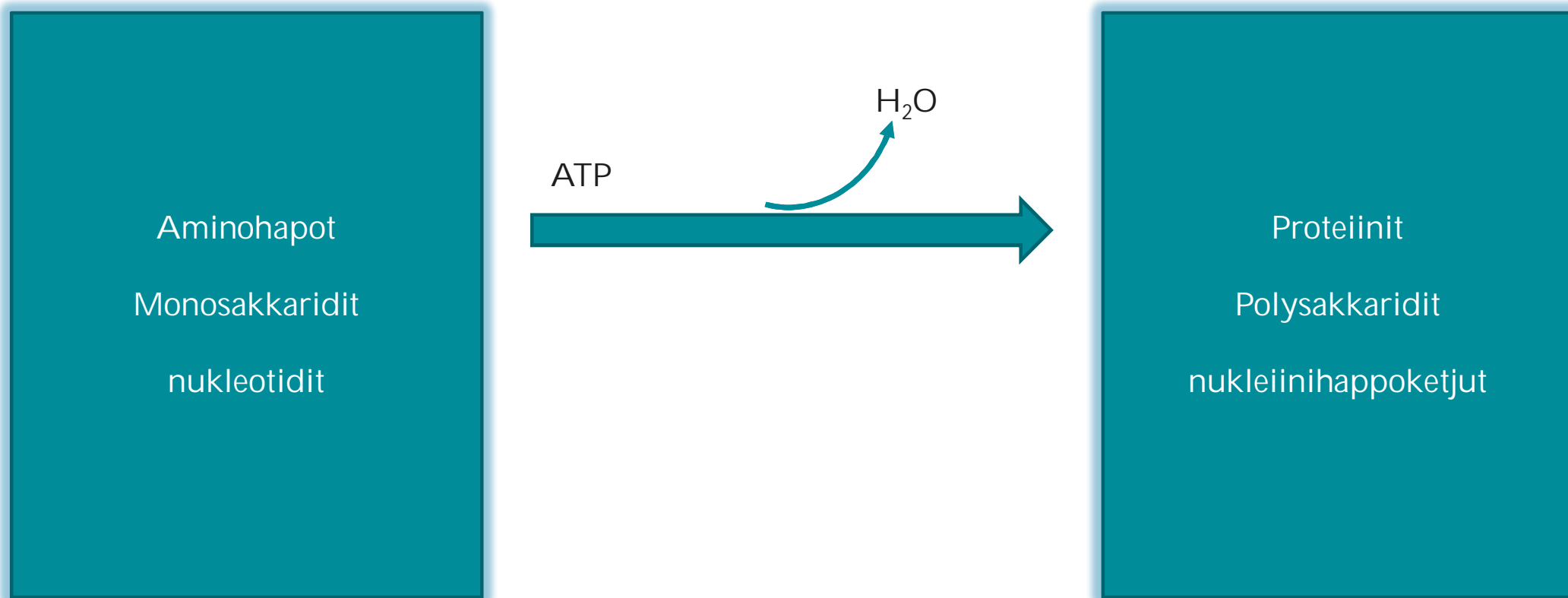
Spontaanit prosessit

Entropia erottaa mahdolliset ja mahdottomat reaktiot. Siksi aineiden sekoittaminen koeputkeen ei aina anna haluttua tulosta.

- Spontaanit prosessit tapahtuvat ilman lisäenergiaa
 - Spontaanin prosessi on siten välttämättä energeettisesti edullinen
 - Vesi virtaa alaspäin, mutta sen nostamiseen painovoimaa vastaan tarvitaan energiaa
 - Spontaaneissa prosesseissa aineen ja energian epäjärjestys aina kasvaa!
- Myös "mahdottomia" reaktioita voi tapahtua
 - Vaatii energiaa, koska epäjärjestys vähenee



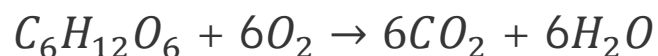
Biologisen järjestyksen luominen



Biologinen epäjärjestys

Makromolekyylien rakentamisen lisäksi eliöt myös muuttavat aineen ja energian järjestyneitä muotoja vähemmän järjestyneiksi

- Muutamme monimutkaisempia orgaanisia molekyyliä ruokana ja hajottavat ne yksinkertaisemmiksi, vähemmän energiaa sisältäviksi hiilidioksidiksi ja vedeksi



	β -glukoosi	O_2	CO_2	H_2O	Palaminen
$\Delta_f H^\theta$	-1268 kJ/mol	0	-393,5	-241,8	-2.54 MJ/mol
$\Delta_m S^\theta$	212 J/Kmol	205,1	213,7	188,8	0.95 kJ/molK

- Siten epäjärjestys kasvaa reaktiossa (reaktio on spontaani)

Vapaaenergia yhdistää entalpian ja entropian

Soluissa ei ole lämpötilaeroja, jolloin

$$\Delta S_{\text{systemi}} - \frac{\Delta H}{T} > 0; \Delta H - T\Delta S_{\text{systemi}} < 0$$

- Siten ΔH kuvaa kokonaisenergiaa ja $T\Delta S$ energiaa, jota ei voida käyttää työhön (kuluu epäjärjestykseen)
- Edellä esitetty erotus on systeemin vapaaenergia (Gibbsin energia), joka kuvaa työhön käytettävissä olevaa energiaa (kun paine ja lämpötila ei muutu).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$



$$\Delta G > 0$$

Tasapaino lähtöaineiden puolella

EI-SPONTAANI
(ENDERGONINEN) REAKTIO

$$\Delta G = 0$$

Tasapaino
(ei muutosta)

$$\Delta G < 0$$

Tasapaino tuotteen puolella

SPONTAANI
(EKSERGONINEN) REAKTIO

Gibbs, entalpia ja entropia

Spontaanissa prosessissa joko systeemin entalpian (kokonaisenergian) tai järjestyksen täytyy vähentyä (tai molemmat voivat vähentyä)

- Prosessit, joiden ΔG on positiivinen tai 0, eivät koskaan tapahdu spontaanisti
- Jokainen spontaani prosessi alentaa systeemin vapaaenergiaa (G)
- Vapaaenergian muutos riippuu entalpiasta, lämpötilasta ja entropiasta
 - Kun systeemin entalpia (H) vähenee, niin ΔH on negatiivinen
 - Kun järjestys vähenee, niin entropia (S) kasvaa, eli $T\Delta S$ kasvaa

cis-retinaali \rightarrow trans-retinaali

$$\Delta^\circ H = 630 \text{ J/mol}$$

$$\Delta^\circ S = 18 \text{ J/molK}$$

$$T = 310 \text{ K}$$

$$\Delta^\circ G = 630 \text{ J/mol} - 310 \text{ K} * \frac{18 \text{ J}}{\text{molK}}$$
$$\Delta^\circ G = -5,6 \text{ kJ/mol}$$

Gibbsin energia ja reaktio-olosuhteet

Gibbsin energia on reaktiokohtainen ja siihen voidaan vaikuttaa olosuhteilla.

- Esim. Alaniinin ja glysiinin liittäminen dipeptidiksi



$\Delta G = 17,2 \text{ MJ/mol}$, kun $[\text{Ala}] = [\text{Gly}] = [\text{AlaGly}] = 1 \text{ M}$

$\Delta G = 0$, kun $[\text{Ala}] = [\text{Gly}] = [\text{AlaGly}] = 0.1 \text{ M}$

$\Delta G = -5,65 \text{ MJ/mol}$, kun $[\text{Ala}] = [\text{Gly}] = 1 \text{ M}$ ja $[\text{AlaGly}] = 0.1 \text{ M}$

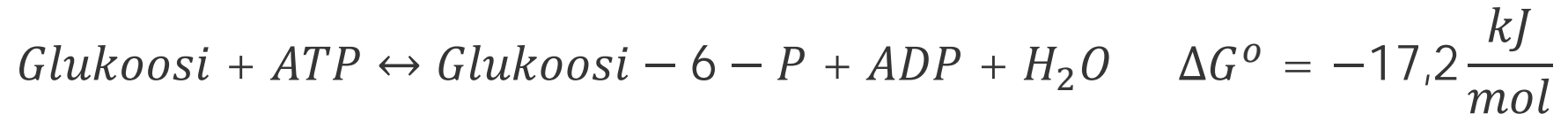
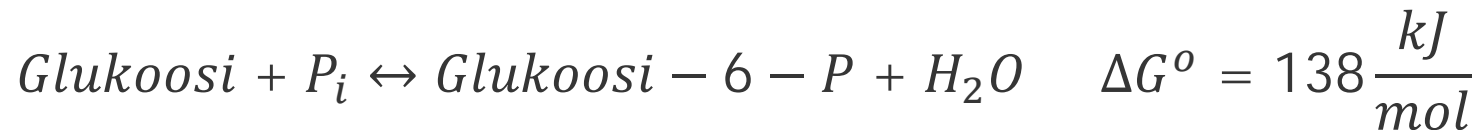
Selityksenä ilmiölle on massan laki:

tasapainoreaktiossa lähtöaineiden lisääminen lisää tuotteiden määrää

Gibbsin energia ja raaka-aineiden valinta

Koska Gibbsin energia vaikuttaa on reaktiokohtainen, voidaan reaktion valinnalla vaikuttaa sen etenemiseen.

- Esim. glukoosin fosforylointi (liittyy energian tuotantoon)



- Siten puhtaan fosfaatin liittäminen ei onnistu, mutta solun "energiatoimittajan", ATP:n avulla reaktio saadaan etenemään itsestään.

Spontaanissa muutoksessa systeemin vapaaenergia vähenee ja se muuttuu vakaammaksi

Korkeampi vapaaenergia
Vähemmän vakautta
Enemmän energiaa työntekoon

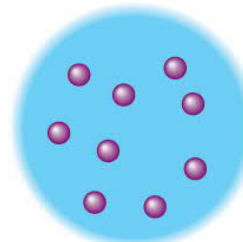
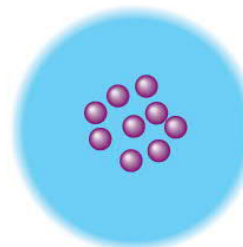
Spontaani muutos:

- Vapaaenergia alenee
- Systemi vakaammaksi
- Vapautunut energia voidaan valjastaa työntekoon

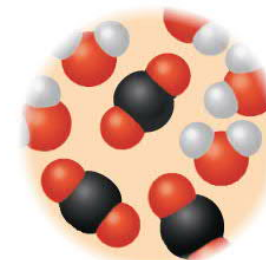
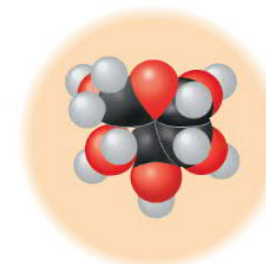
Pienempi vapaaenergia
Vakaampi systemi
Vähemmän energiaa työntekoon



Gravitaatio ja liike

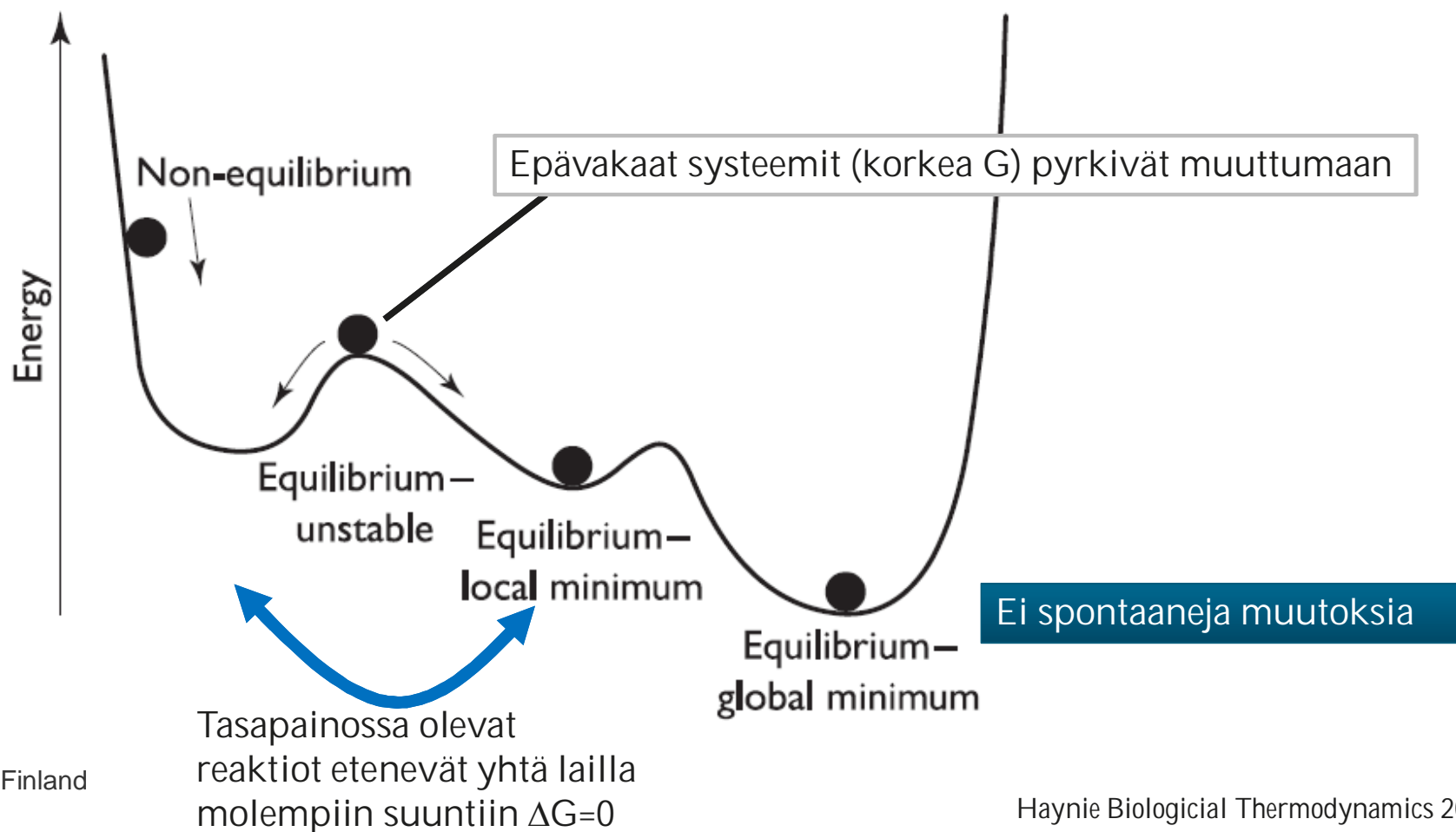


Diffuusio



Kemiallinen reaktio

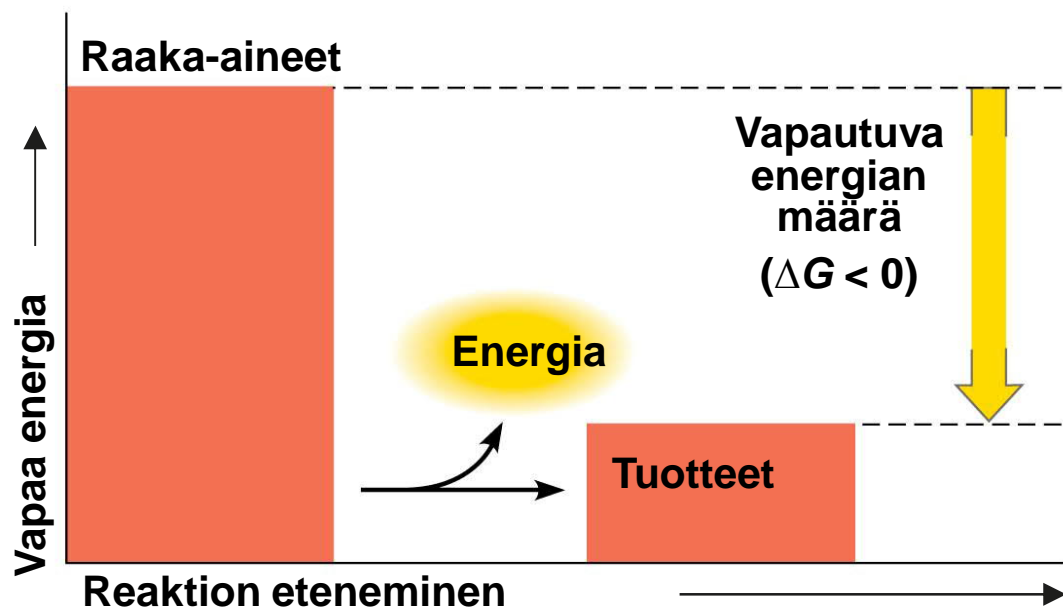
Tasapainossa systeemin vakaus on suurin



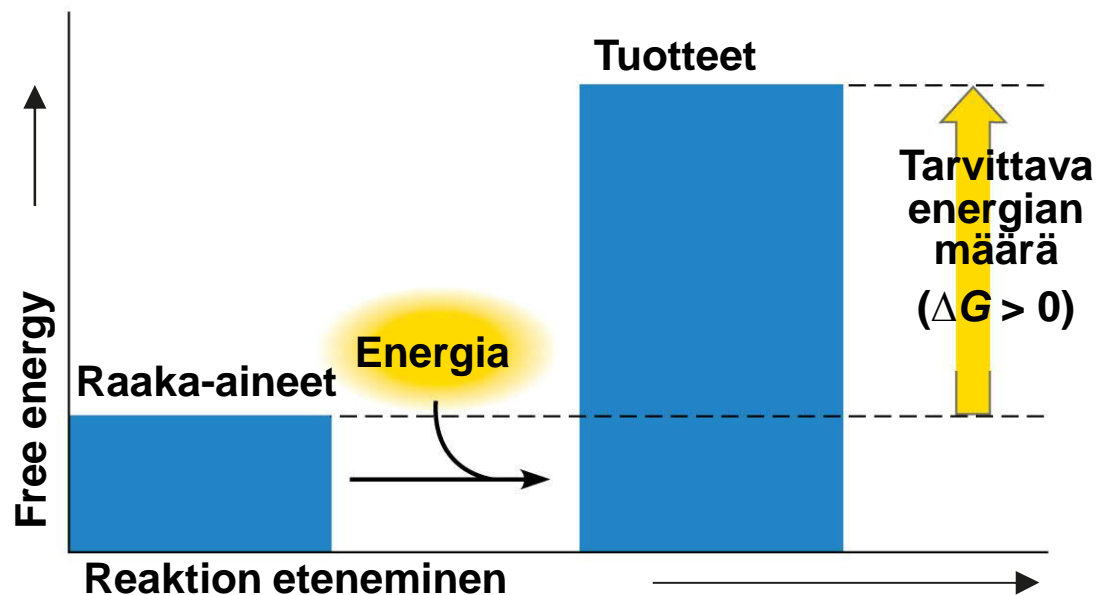
Eksergoniset ja endergoniset reaktiot

Eksergoninen reaktio	Endergoninen reaktio
Spontaani	Vaatii lisäenergiaa
$\Delta G < 0$, vapauttaa energiaa	$\Delta G > 0$, sitoo energiaa
ΔG kuvaa maksimaalista työtä	ΔG kuvaa reaktion etenemiselle vaadittavaa energiaa
Voi olla eksoterminen ($\Delta H < 0$) – voi myös luovuttaa lämpöä	Voi olla endoterminen ($\Delta H > 0$) – voi ottaa vastaan lämpöä

Eksergeeninen reaktio: spontaani, energiaa vapautuu

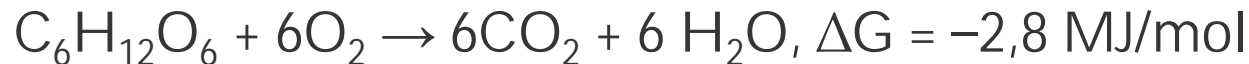


Endergoninen reaktio: energiaa kuluttava, ei-spontaani



Solujen energiatuotanto ja fotosynteesi

Energiantuotanto on eksergoninen reaktio, jossa glukoosi poltetaan hiilidioksidiksi ja vedeksi tuottaen samalla energiaa



- Jokaista kulutettua glukoosimoolia (180 g) kohden vapautuu 2,8 MJ energiaa solussa tehtävää työtä varten (vakio-olosuhteissa)
- Tuotteilla on siten 686 kcal vähemmän vapaaenergiaa moolia kohden kuin lähtöaineilla

Termodynamiikka ei ota kantaa reaktioreittiin, minkä lisäksi se olettaa käänteisen reaktion vaativan saman verran energiaa

- Käänteinen reaktio fotosynteesissä vaatii vastaavan määrän energiaa tapahtuakseen (2,8 MJ/mol): $\Delta G = + 686 \text{ kcal/mol}$, kun glukoosia tuotetaan hiilidioksidista ja vedestä
- Fotosynteesi on siis voimakkaasti endergoninen; energia valosta

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Tasapainoreaktiot

Tasapaino ja metabolia

Suljetussa systeemissä reaktiot saavuttavat lopulta tasapainon ($\Delta G = 0$) eivätkä siten tee enää työtä

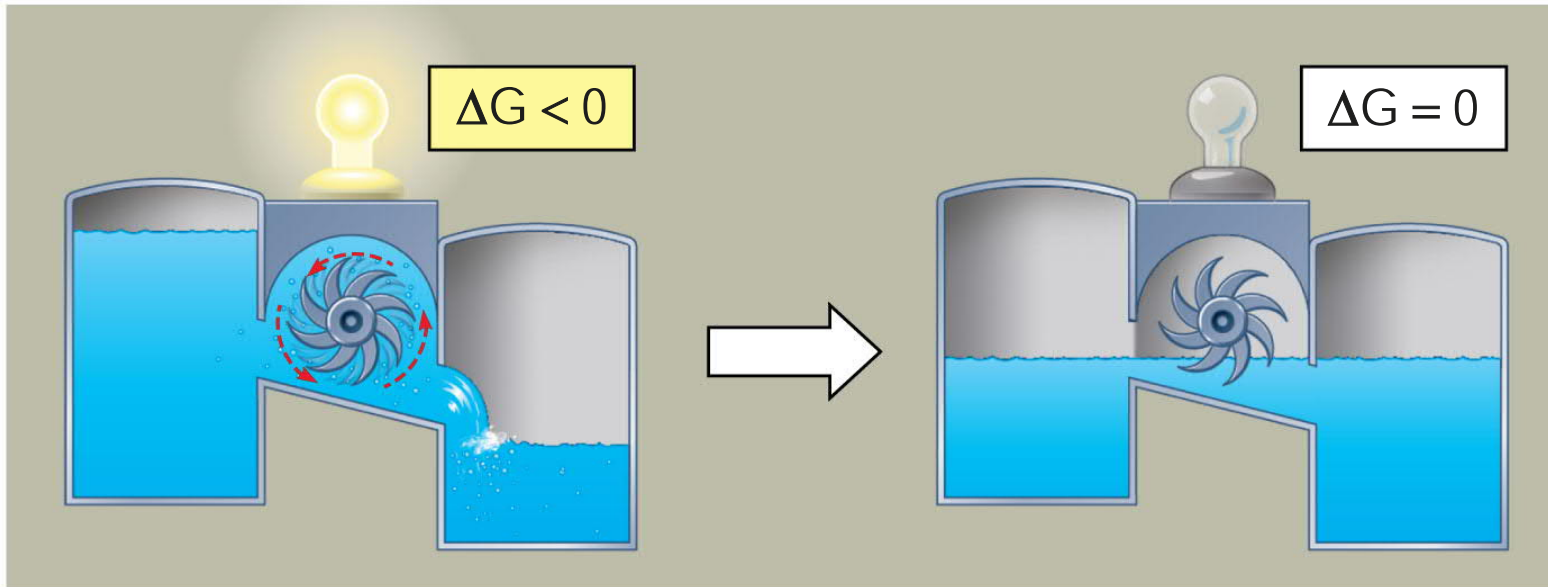
- Solut eivät ole tasapainossa; ne ovat avoimia systeemejä, joiden läpi virtaa ainetta ja energiaa
 - Energia kasveihin valosta, poistuu lämpönä
 - Aine (hiili, typpi, fosfori) jatkuvassa kierrossa
- Elämää luonnehtii se, että metabolia ei ole koskaan tasapainossa
 - Solu jonka metabolian $\Delta G = 0$, olisi sekä tasapainossa, että kuollut

Tasapainon järkyttäminen

Jo aiemmin opimme, että Gibbsin energiaan voidaan vaikuttaa muuttamalla tuotteiden määriä. Tätä tasapainon järkyttämistä käytetään paljon biogisissa reaktioreiteissä.

- Kataboliareiteillä vapautuu energiaa useiden reaktioiden sarjassa
- Reittien tasapainoreaktioita vedetään yhteen suuntaan, kun reaktion lopputuotetta ei kerry, vaan se käytetään alkutuotteena seuraavassa reaktiossa
- Reaktiosarja pysyy käynnissä, koska glukoosin ja hapen vapaaenergian ja hiilidioksidin ja veden vapaaenergian erotus on suuri: reaktio kulkee ikäänkuin alamäkeen

Esimerkkinä avoimet ja suljetut vesivoimalat: suljettu systeemi

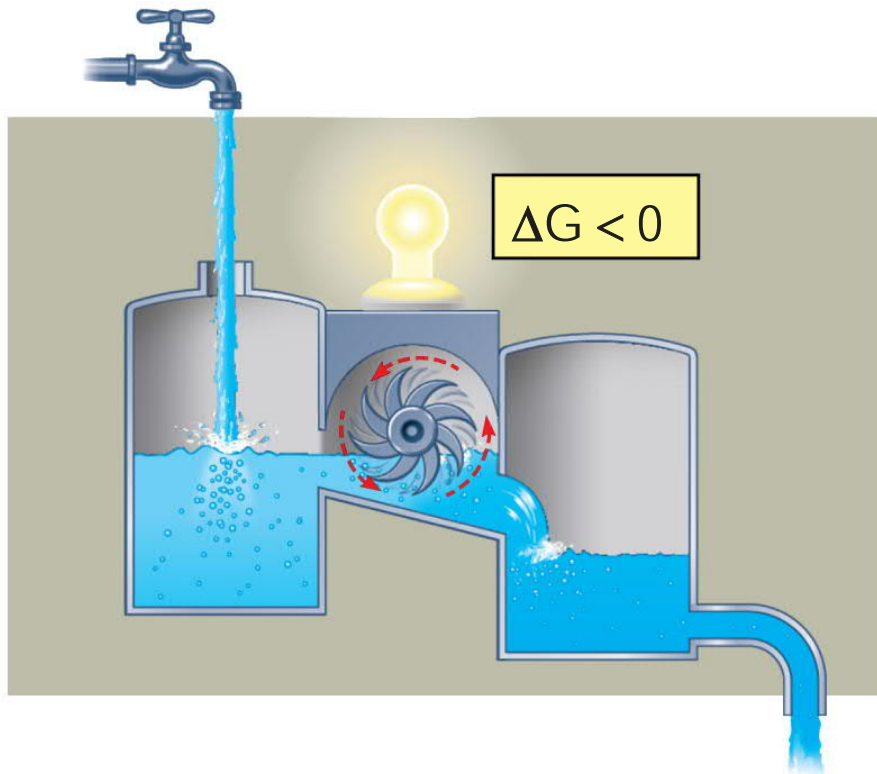


Eristetty vesivoimala toimii kunnes vesi on yhtä korkealla molemmilla puolilla.

Samalla tavoin tasapainoreaktio etene, kunnes reaktion sisäenergia on nolla.

Suljettua systeemiä voidaan käyttää esim. aineiden varastoinnissa ja kuljetuksessa.

Esimerkkinä avoimet ja suljetut vesivoimalat: avoin systeemi

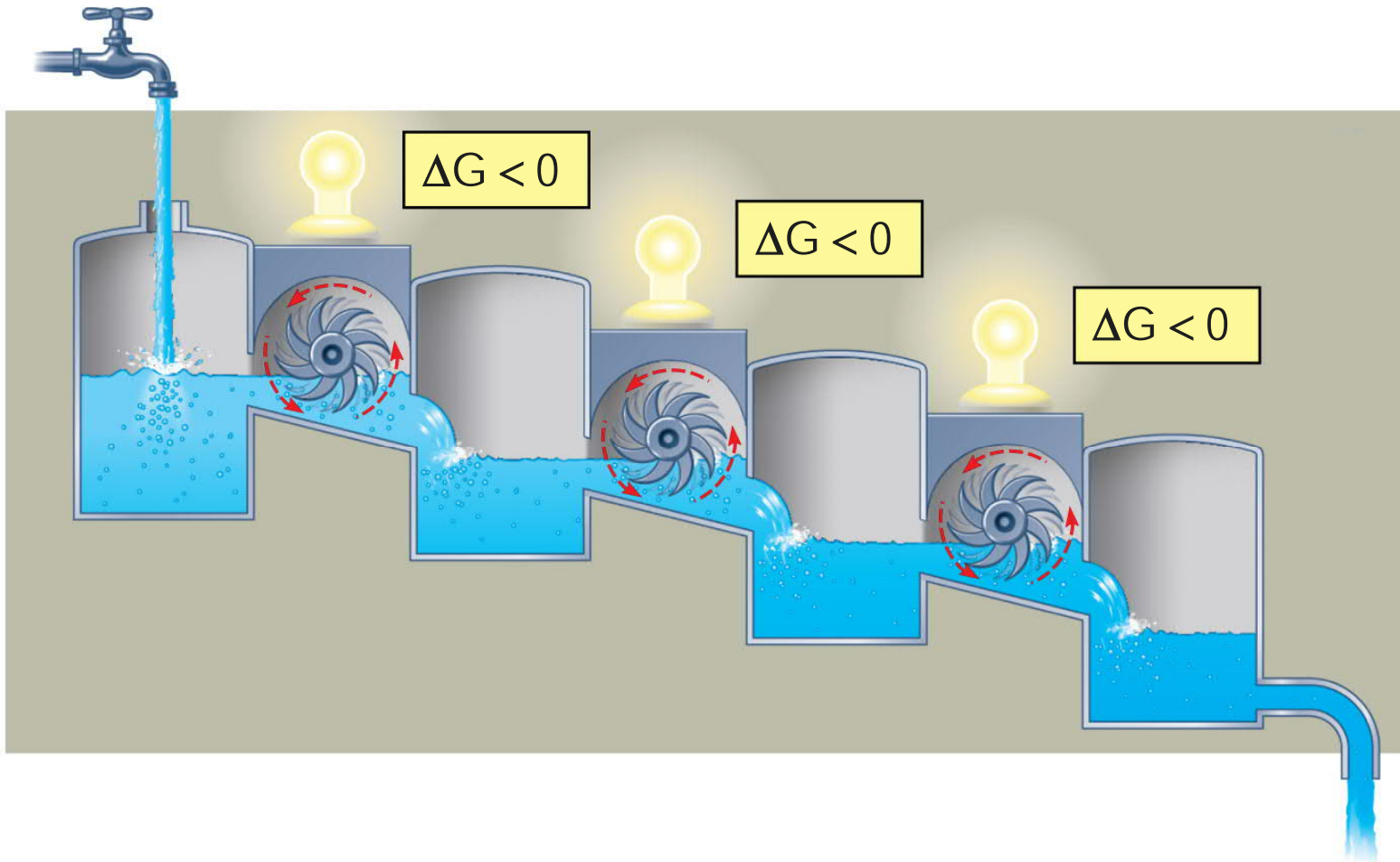


Avoimessa vesivoimalassa ratas pyörii, koska vesi virtaa jatkuvasti sen läpi.

Koska vesi pääsee valumaan jälkimmäisestä astiasta, ei Gibbsin energian tasapainoa saavuteta

Samalla tavoin elimistössä toimivat monet metabolia-reitit, joissa reaktio etenee, koska raaka-ainetta tulee ja tuotetta lähtee jatkuvasti.

Esimerkkinä avoimet ja suljetut vesivoimalat: monivaiheinen avoin systeemi



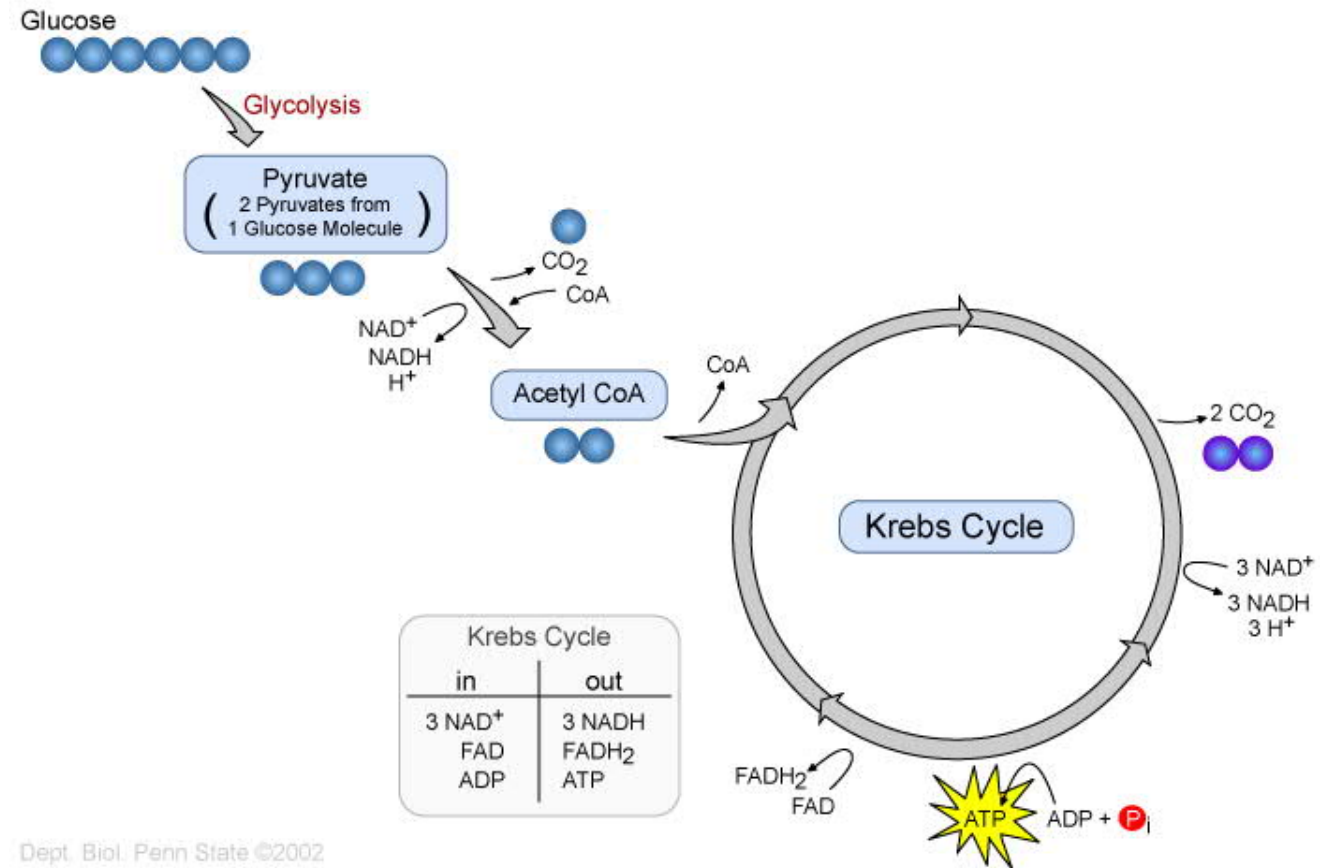
Solujen reaktioreitit toimivat monivaiheisen vesivoimalan tavoin.

Siten entsyymit voivat toimia yhdessä tuottaakseen haluttua tuotetta.

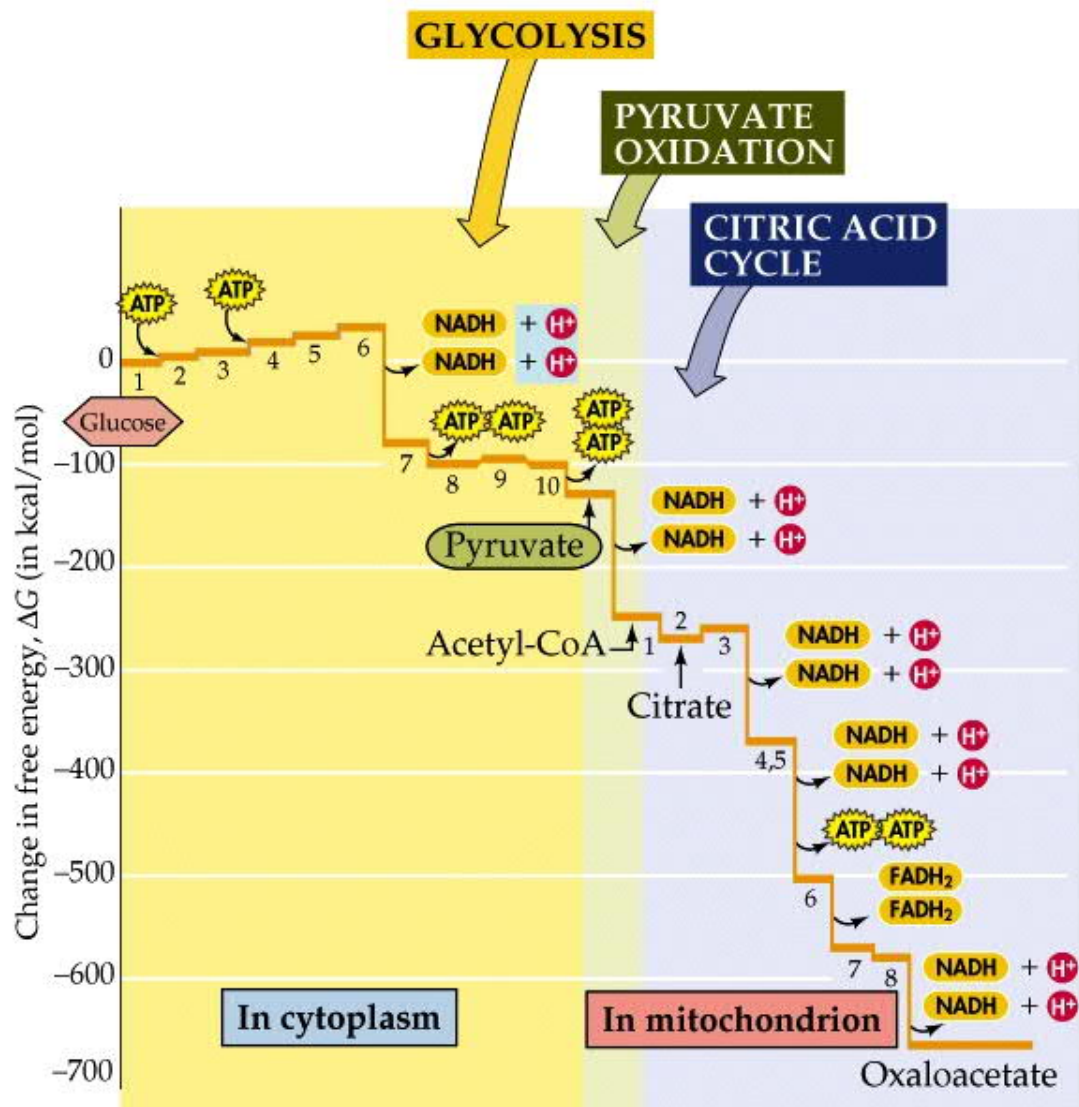
Energiantuotanto – avoin monivaiheinen systeemi

Solussa glukoosi poltetaan hitaasti ja hallitusti usean reaktion sarjassa, jota tarkastellaan myöhemmin kurssilla.

Glukoosi pilkotaan ensin kahdeksi palorypälehapoksi (pyruvaatti), jotka hajotetaan sitruunahappokierrolla (Krebsin sykli) hiilidioksidiksi.



Dept. Biol. Penn State ©2002



© 2001 Sinauer Associates, Inc.

Tarkasteltaessa energiantuotannon reaktioiden vapaaenergiaa havaitaan, että reaktioketjussa on useita ei-spontaaneja reaktioita, joiden $\Delta G > 0$.

Vaikka näiden reaktioiden tasapaino on selvästi lähtöaineiden puolella, voidaan reaktioita ajaa eteenpäin käyttämällä tuotteita jatkuvasti seuraavissa reaktiossa.

Kuviosta huomataan myös mitokondrioiden merkitys energian tuotannossa: 85% vapaaenergian muutoksesta tapahtuu mitokondrioissa ja tarvitsee happea toimiakseen.

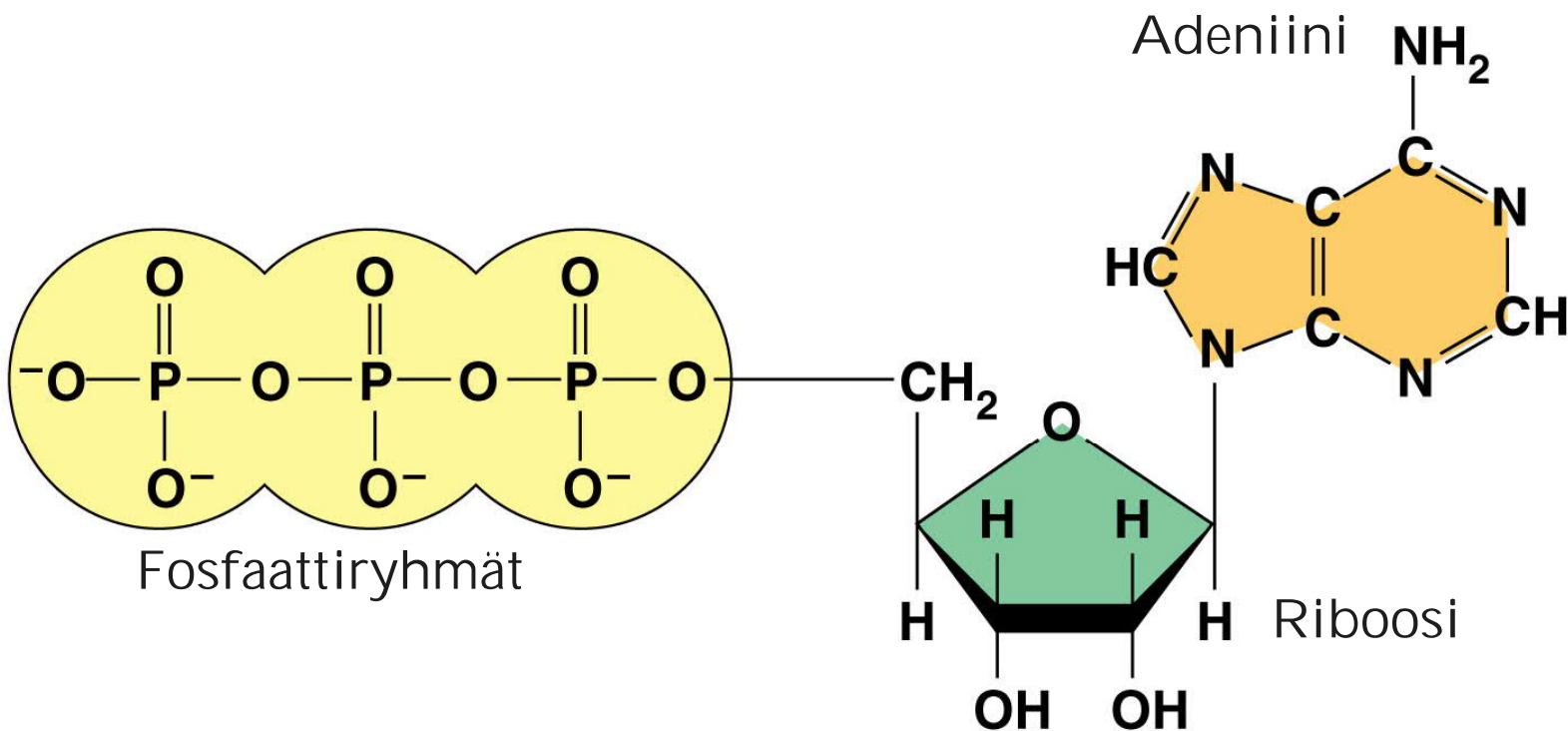
Energiantuotannossa vapautuvilla nukleotideilla (ATP, NADH, FADH_2) on erityistehtävä energian käyttämisessä eri prosesseihin.

Eksergoninen reaktio → ATP → Endergoninen reaktio

ATP mahdollistaa työn tekemisen soluissa yhdistämällä eksergoniset reaktiot endergonisiin reaktioihin

- Soluissa pääasiassa kolmenlaista työtä
 - Kemiaalista, endergonisissa reaktioissa kuten polymeerien synteesi
 - Kuljetusta, siirtämällä yhdisteitä kalvojen läpi konsentraatiogradienttia vastaan
 - Mekaanista, mm. värekarvojen liike, lihasten supistuminen ja kromosomien liikuttaminen solujen jakautuessa
- Työn tekemiseksi eksergoninen prosessi liitetään endergoniseen, jolloin saadaan energiaa prosessin mahdollistamiseksi
 - Tämä energian liittäminen tapahtuu useimmiten ATP:n välityksellä

ATP:n rakenne ja hydrolyysi



ATP on solun energianvälittäjä, josta on helposti irrotettavissa yksi tai kaksi fosfaatti-yksikköä (P_i).

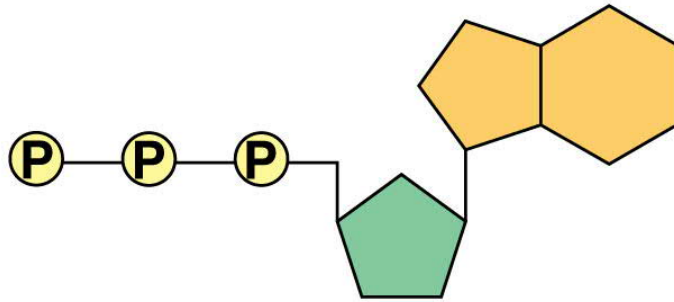
Fosfaatin irrottaminen vapauttaa runsaasti energiaa:

Standardioloissa

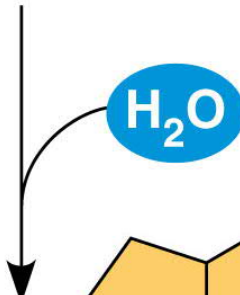
$\Delta G = -30,5 \text{ kJ/mol}$ ja fysiologisissa oloissa, joissa $[\text{ATP}] = 10 \cdot [\text{ADP}] = 50 \cdot [\text{AMP}]$
 $\Delta G = -60 \text{ kJ/mol}$.

ATP:n rakenne

© 2011 Pearson Education, Inc.



Adenosiinitrifosfaatti (ATP)



+



+

Energiaa

Adenosiinidifosfaatti (ADP)

Epäorgaaninen fosfaatti

Negatiivinen ja melko suuri vapaaenergian muutos tekee

ATP:n hajoamisesta spontaania: koeputkioloissa muutamassa päivässä ja soluissa keskimääräinen ATP-molekyylin elinikä on sekunnin luokkaa.

Gibbsin energian määrä on 2-3 kertaa enemmän kuin tarvitaan esim. fosfaatin lisäämiselle sokerimolekyyleihin.

Mistä ATP:n energia johtuu?

ATP:n rakenne ja Coulombin laki selvittävät molekyylin reaktiivisuuden

- Jokaisella fosfaattiryhmällä on negatiivinen varaus
 - Negatiivinen varaus on tärkeä, koska sillä saadaan pidettyä ATP solun sisällä.
- Varautuneet ryhmät ovat lähellä toisiaan, ja koska ne hylkivät toisiaan, on tämä osa ATP:sta epästabiili
 - Trifosfaattiketju on ikäänkuin kokoon työnnetyn jousen kemiallinen vastine
- Solussa ATP:n hydrolyysistä saatu energia yhdistetään endergoniseen prosessiin suoraan liittämällä irronnut P_i toiseen molekyyliin
 - Vastaanottavaa molekyyliä, johon P_i liitetään kovalenttisesti, kutsutaan fosforyloituneeksi välituotteeksi. Se on reaktiivisempi kuin ennen fosfaatin liittämistä.

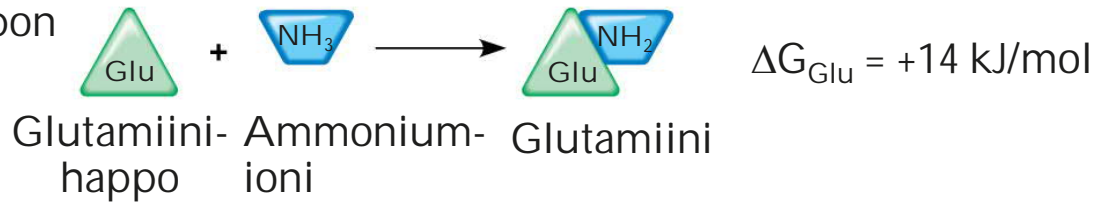
Mitä irrotetulle fosfaatille tapahtuu?

Solussa tehtävät työ (mekaaninen ja kemiallinen työ sekä kuljetus) saa energiansa lähes aina ATP:n hydrolyysistä

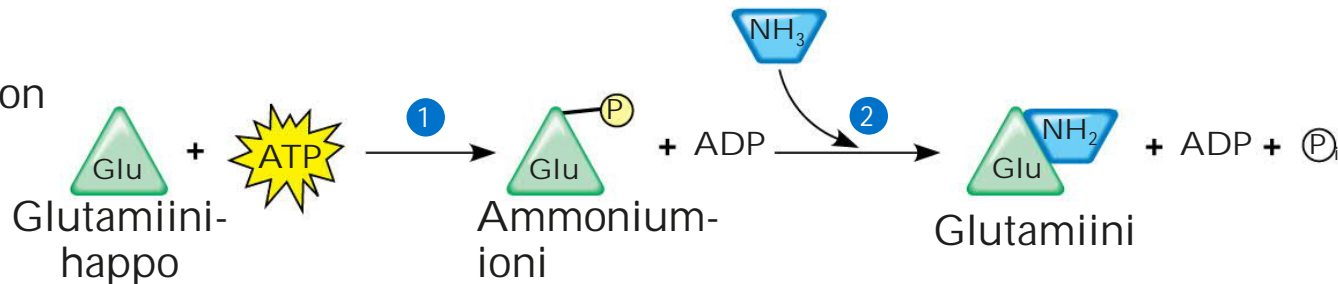
- ATP:n hydrolyysi johtaa muutokseen proteiinin avaruusrakenteessa ja usein sen kyvyssä sitoutua toiseen molekyyliin
 - muutos voi tapahtua fosforyloituneen välituotteen välityksellä
- Solussa energia ATP:n hydrolyysin spontaanista reaktiossa voidaan siis käyttää ei-spontaanin reaktion suorittamiseen
 - Yhteensä nämä toisiinsa liitetyt reaktiot ovat eksergonisia
 - Metaboliassa kataboliasta saatu energia hyödynnetään ATP:n välityksellä anaboliassa

Toisiinsa liitetyt reaktiot ovat yhdessä eksergonisia

Glutamiinihapon muuttaminen glutamiiniksi



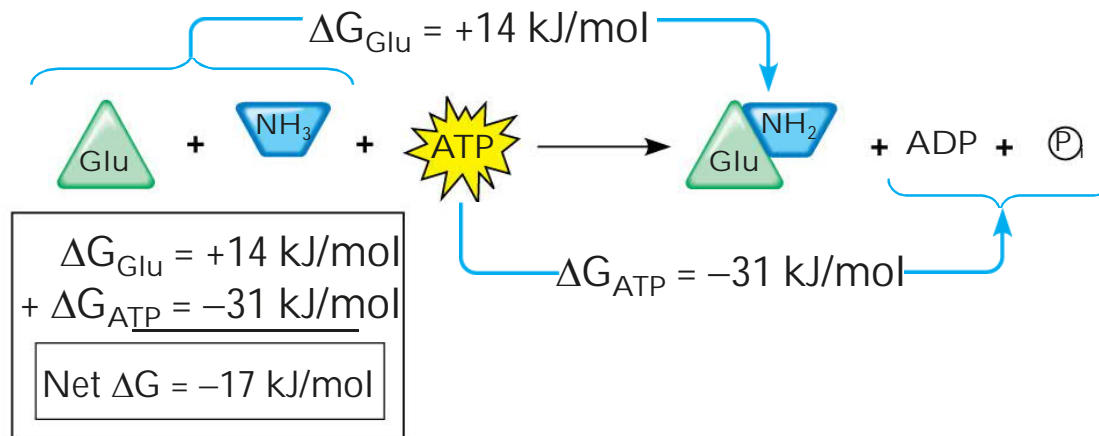
Glutamiinihapon muuttaminen glutamiiniksi ATP:llä



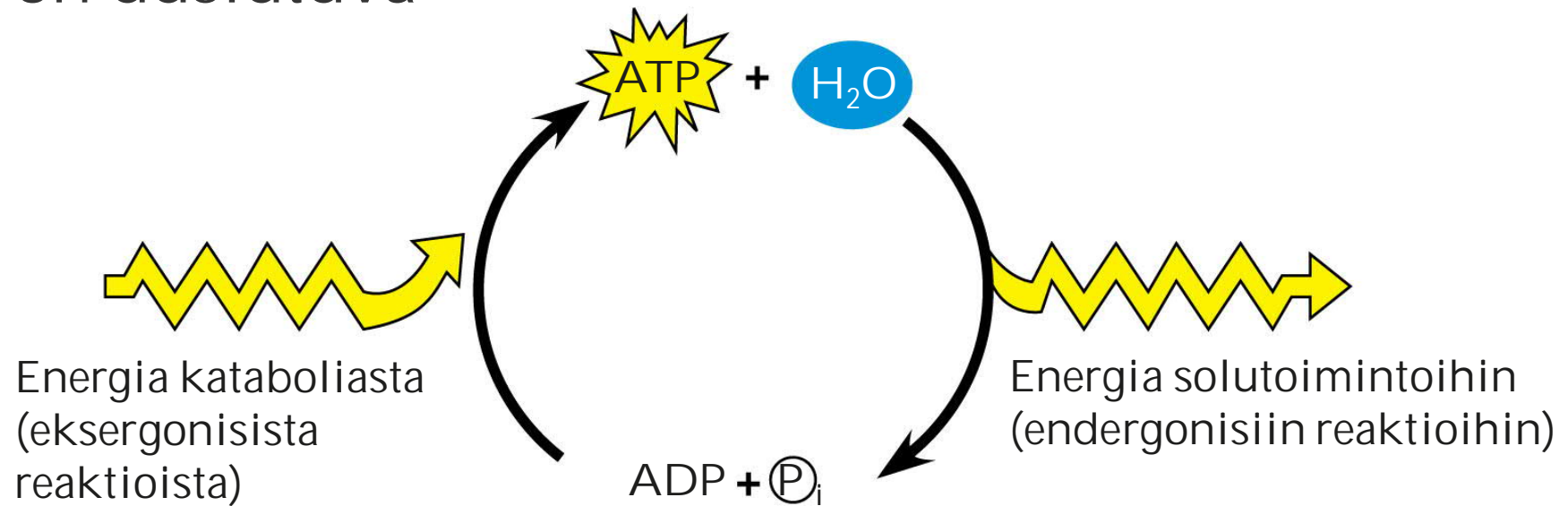
Jo aiemmin opittiin, että polypeptidiketjun muodostamisen Gibbs-energia on alempi ATP:n läsnä ollessa.

Sama pätee muihinkin biokemiallisiin prosesseihin.

Reaktion vapaaenergia



ATP on uusiutuva



© 2011 Pearson Education, Inc.

Energia virtaa ATP-syklin läpi kataboliareiteiltä anaboliareiteille

- Työtä tekevä lihassolu uusintaa (regeneroi) koko ATP-varastonsa kerran minuutissa
- Ihminen kuluttaa noin painonsa verran ATP:ta vuorokaudessa

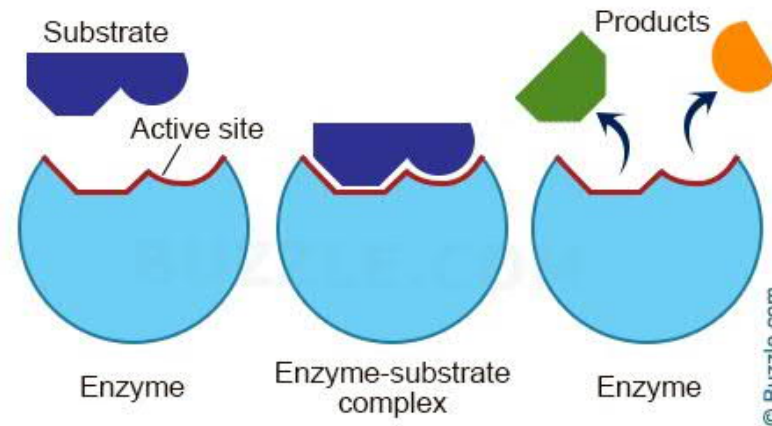
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

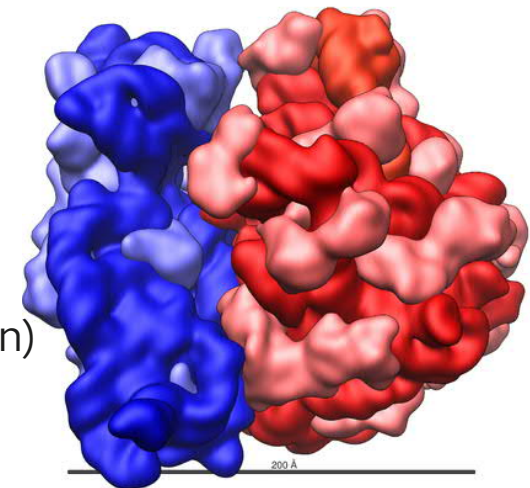
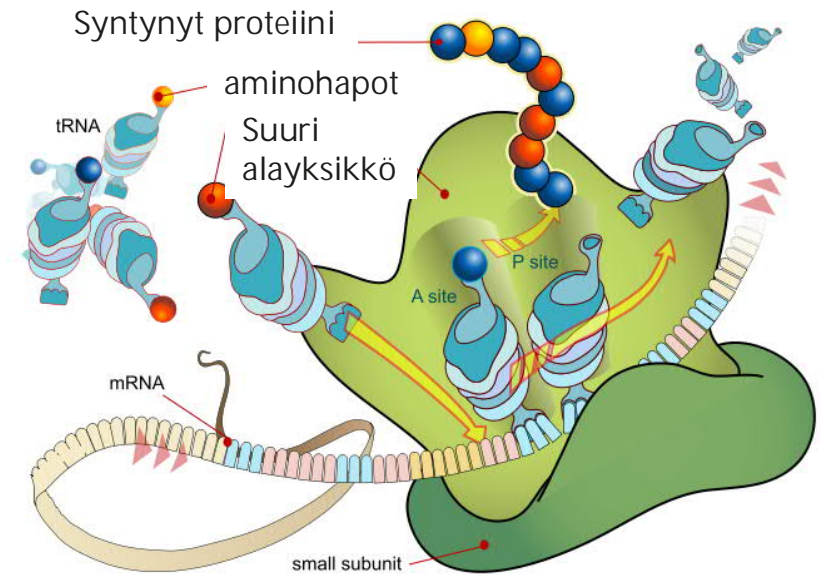
Energia ja elämä

Entsyymit

Mitä ovat entsyymit?

Entsyymit nopeuttavat metabolian reaktioita toimimalla katalyytteinä

- Katalyytti nopeuttaa reaktiota kulumatta itse reaktiossa
- Lähes kaikki entsyymit ovat proteiineja
- Myös eräät RNA-molekyylit voivat toimia entsyymeinä (ribootsyymit)
- Ribosomi koostuu proteiinista ja RNA:sta, mutta sitä pidetään ribotsyyminä, koska peptidisidoksen muodostava aktiivinen keskus on RNA:ta



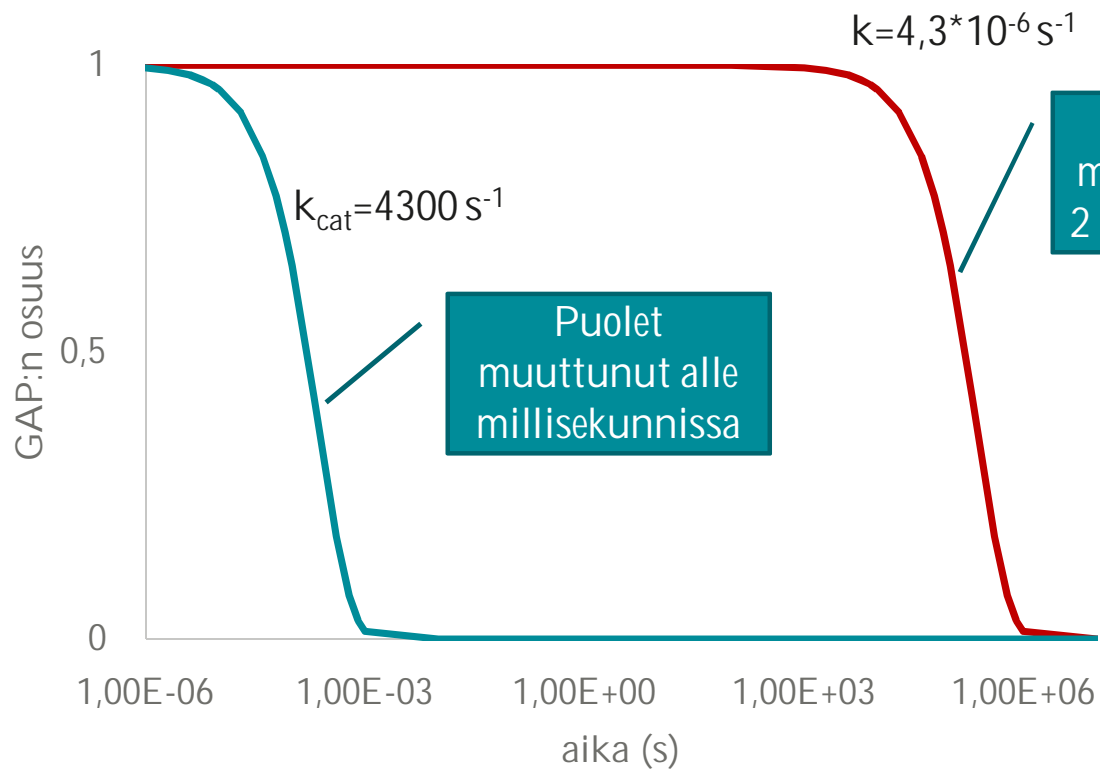
Suuri alayksikkö (punainen)
Pieni alayksikkö (sininen)
RNA (tummat alueet)
Proteiinit (Vaaleat alueet)

Entsyymit ja reaktionopeus

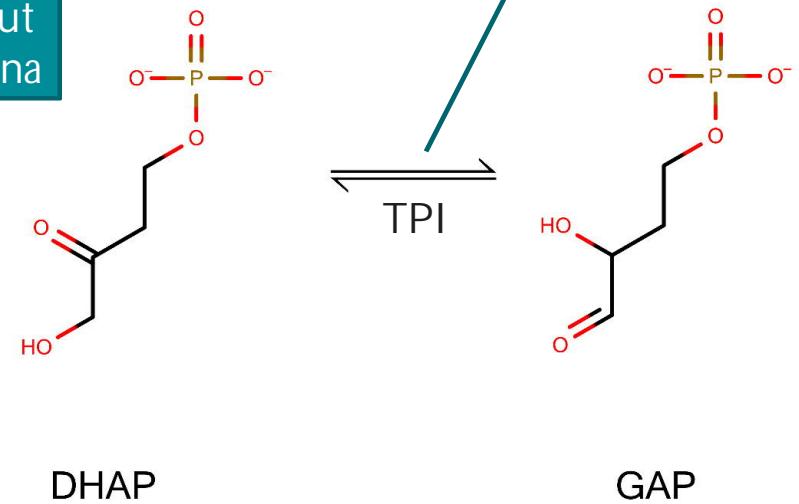
Entsyymireaktioille tyypillistä suuri spesifisyys ja kontrolloitavuus

- Katalysoivat vain tiettyjä reaktioita, mutta voivat käyttää substraatteina useitakin samankaltaisia molekyyliä
- Spesifisyyden määrää entsyymin aktiivinen keskus
- Entsyymejä säädellään tarkoin, jotta reaktiotuotetta saadaan tarvittaessa nopeasti, mutta sitä ei kertyisi myöskään ylimäärin
- Entsyymit nopeuttavat eri reaktioita valtavasti
 - vähintään $1000 \times$ ja jopa $10^{17} \times$
- Useimmat solun reaktioista eivät tapahtuisi lainkaan ilman entsyymejä

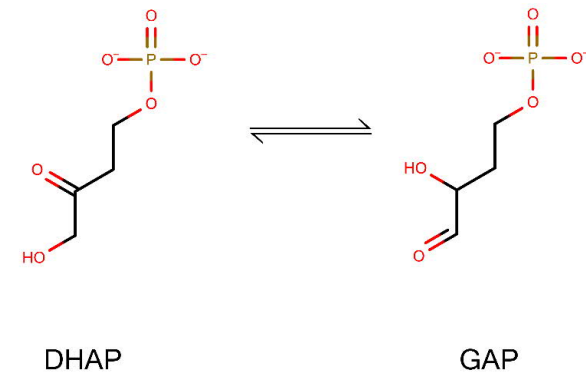
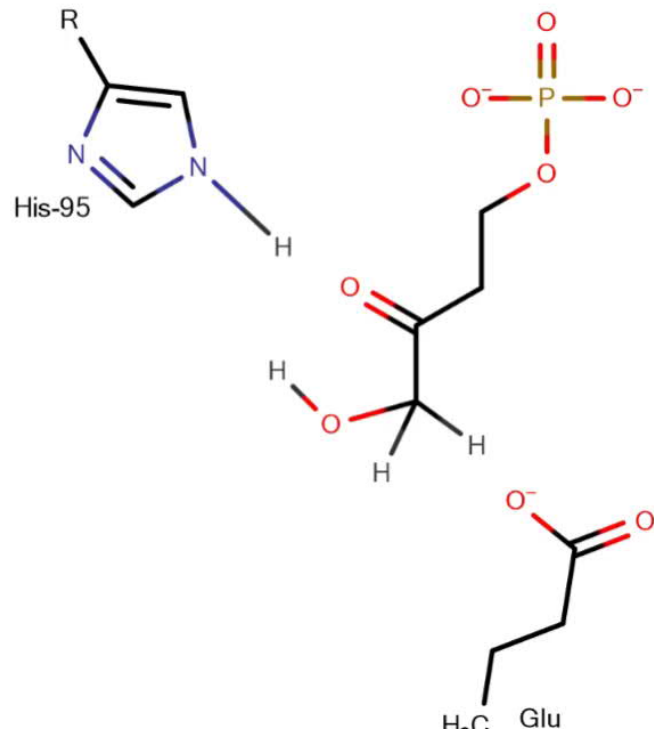
Reaktionopeus ja glykolyysi



Glykolyysin välituotteena muodostetaan dihydroasetonifosfaattia (DHAP) ja glyseraldehydifosfaattia (GAP) jotka voivat muuttua toisikseen.



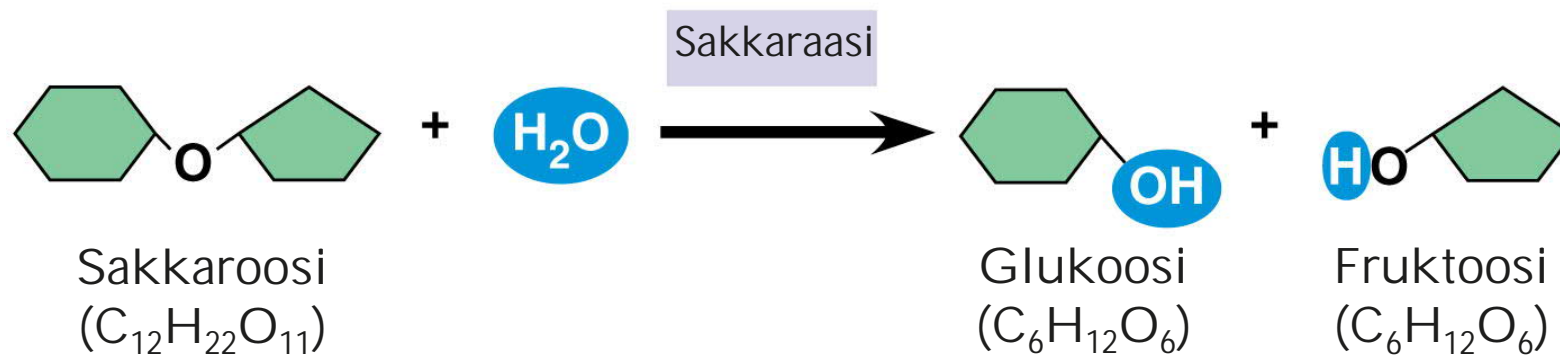
DHAP \leftrightarrow GAP



Entsyymit nopeuttavat reaktioita

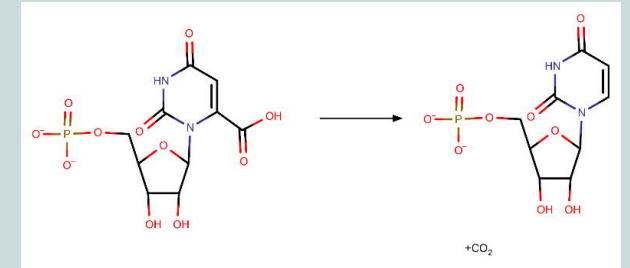
Entsyymit voivat nopeuttaa jo muutenkin spontaaneja tapahtumia

- Sakkaroosin hydrolyysi sakkaraasin välityksellä (invertaasi tekee samaa, mutta eri mekanismilla (lähinnä kasveilla))
- Sakkaroosin hydrolyysi glukoosiksi ja fruktoosiksi on eksergoninen ($\Delta G = -7$ kcal/mol)
- Steriiliin veteen liuotettu sakkaroosi voi silti säilyä vuosia hydrolysoitumatta
- Jos pieni määrä sakkaraasia lisätään liuokseen, sakkaroosi hydrolysoituu muutamissa sekunneissa



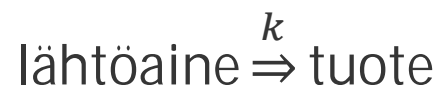
Entsyymit tekevät reaktiot mahdollisiksi

entsyymi	k (s ⁻¹)	k _{cat} (s ⁻¹)	tehtävät
OMP dekarboksylaasi	2,8*10 ⁻¹⁶	39	Pyrimidiini-synteesi
AMP nukleosidaasi	1*10 ⁻¹¹	60	AMP+H ₂ O ↔ D-ribose-5-phosphate + adeniini
Karboksypeptidaasi A	3*10 ⁻⁹	578	Peptidien pilkkominen
karboanhydraasi	1,3*10 ⁻¹	1*10 ⁶	CO ₂ +H ₂ O ↔ HCO ₃ ⁻ + H ⁺



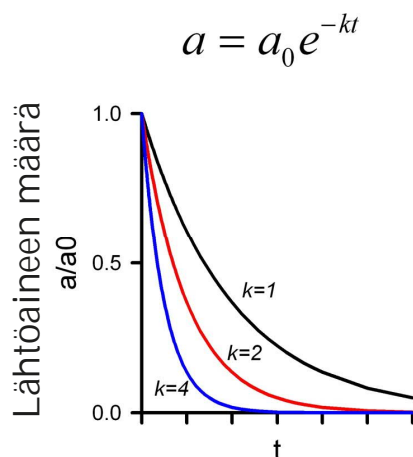
Mitä ihmeen reaktionopeuksia?

Oletetaan spontaani palautumaton reaktio

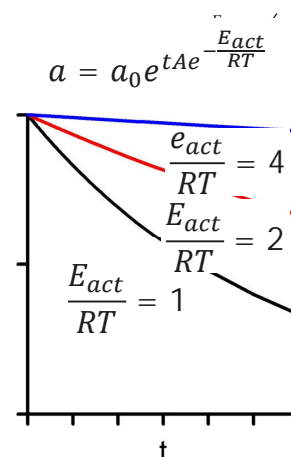


jossa k on reaktion nopeus.

Mitä suurempi reaktionopeus, sitä nopeammin lähtöaine muuttuu tuotteeksi.



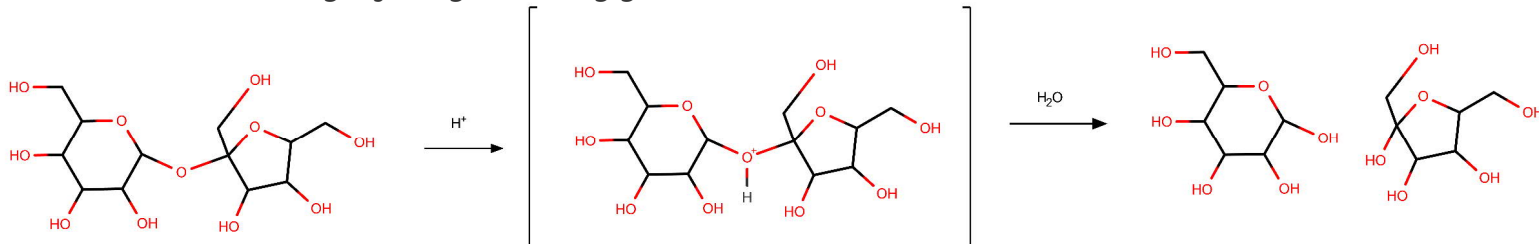
Reaktion nopeus riippuu aktivaatioenergiasta (E_{act}), joka tarvitaan reaction etenemiselle



Reaktiiviset välituotteet

Metabolian kemiallisiin reaktioihin sisältyy kemiallisten sidosten katkeamista ja uusien sidosten muodostumista

- Esim. sakkaroosin hydrolyysissä glukoosi-fruktoosi -sidoksen täytyy katketa ja uusien sidosten muodostua veden vety- ja hydroksyyli-ionien kanssa

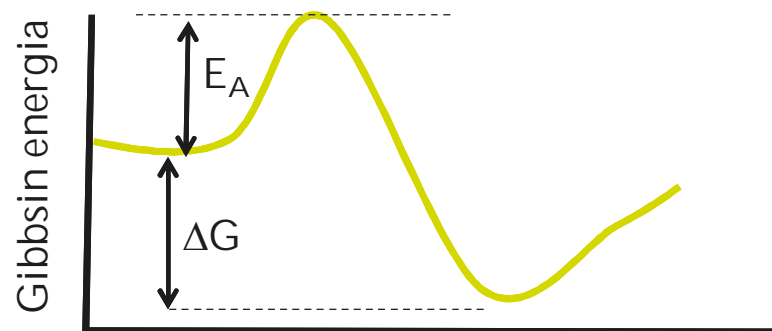


- Saavuttaakseen tilan, jossa sidoksia voi katketa ja syntyä, molekyylien täytyy absorboida energiaa ympäristöstään
 - Siten molekyyli on hetkellisesti korkeammalla energiatasolla (siirtymätila *)
 - Kun uudet sidokset muodostuvat, energiaa vapautuu lämpönä samalla kun molekyyliit saavuttavat vakaan tilan, jolla on alhaisempi energiataso

Aktivaatioenergia

Kemiallisen reaktion käynnistämiseen tarvittavaa energiaa kutsutaan aktivaatioenergiaksi (E_A)

- Aktivaatioenergia on se määrä energiaa, joka tarvitaan energiakynnyksen ylittämiseen, että reaktio voi käynnistyä
- Aktivaatioenergialla ei riipu tuotteen ja lähtöaineen energiaerosta vaan niiden stabiilisuudesta (nopeasti hajoavat aineet eivät tarvitse suurta aktivaatioenergiaa).

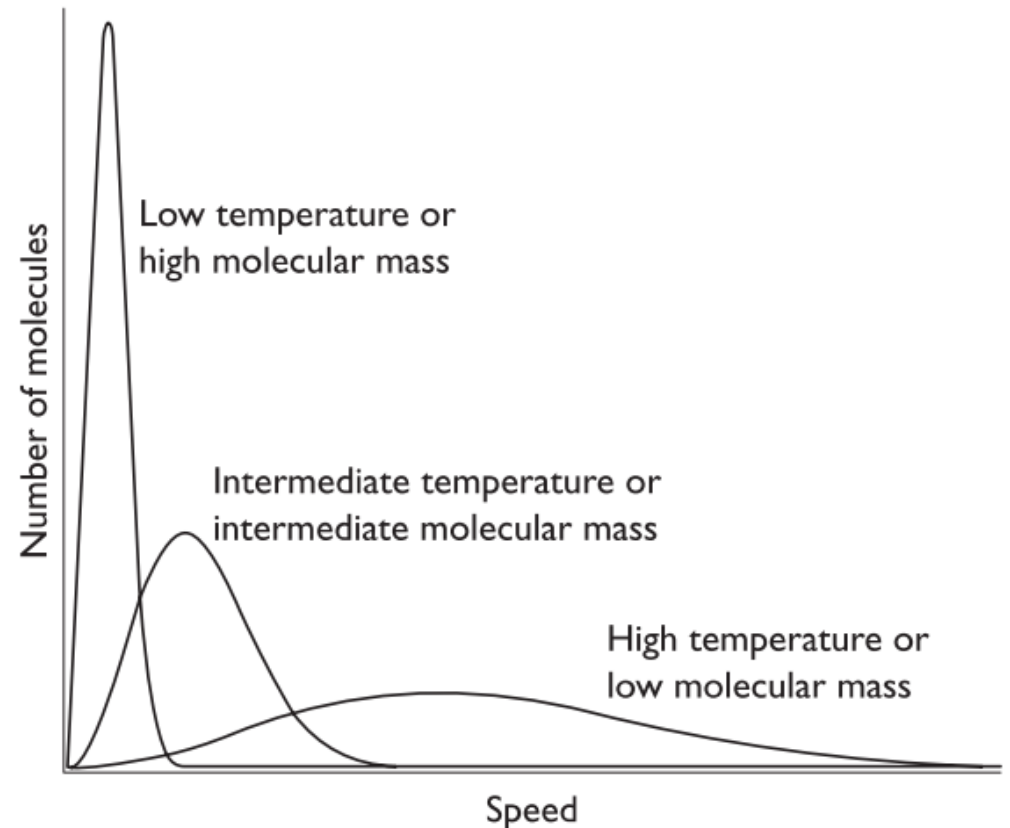


Aktivaatioenergia ja lämpöliike

Lämpö lisää epäjärjestystä (molekyylin liikettä), jolloin lämpimässä molekyyliellä on suurempi kokonaisenergia.

Tällöin suuremmalla osalla molekyyleistä on riittävästi energiaa aktivaatioenergiavallin ylitykseen.

Siten lämpimässä lähtöainemolekyylin liikkuvat kovempaa ja toisiinsa suuremmalla voimalla. Samalla atomien värähtely molekyyliissä lisääntyy, mikä helpottaa sidosten katkeamista



Reaktion eteneminen ja aktivaatioenergia

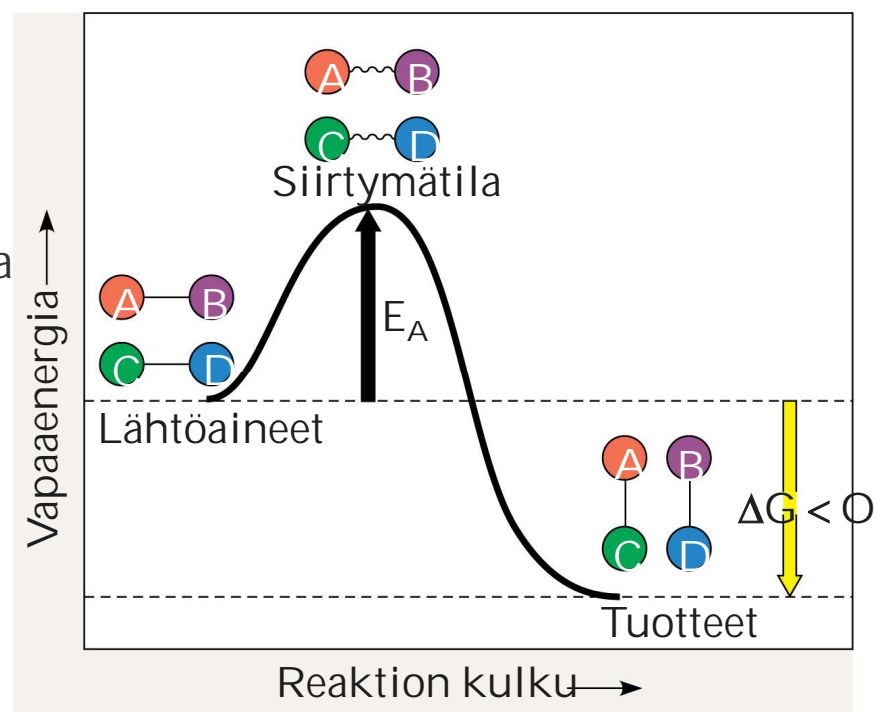
Tarkastellaan eksergonista reaktiota:



Lähtöaineiden aktivaatioenergiaa edustaa kaavion ylämäki, jolloin lähtöaineiden vapaaenergia kasvaa

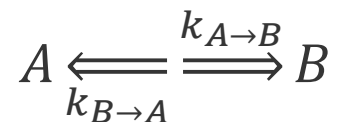
Huipulla, kun E_A :ta vastaava energiamäärä on absorboitu, ollaan siirtymätilassa, jolloin sidokset voivat katketa

Kaavion alamäki kuvaa uusien sidosten muodostumista, jolloin molekyylien vapaaenergia vähenee, kunnes on saavutettu uusi, vakaa tila ja energiaa vapautuu ympäristöön



Entä tasapainoreaktiot?

Tasapainoreaktiossa reaktionopeuskertoimia on kaksi:



- Mikäli reaktion $\Delta G = 0$, on reaktionopeus molempiin suuntiin yhtä suuri, jolloin myös aktivaatioenergia on saman suuruinen.
- Mikäli $\Delta G < 0$, etenee reaktio jompaankumpaan suuntaan, mikä vähentää molekyylin todennäköisyyttä olla korkeaenergisemmässä rakenteessa.
- Mikäli tasapainoreaktion tuotteen B määrää vähennetään, pienenee riittävän energeettisten B-molekyylien määrä, jolloin reaktio $B \rightarrow A$ etenee hitaammin. Tällöin tasapaino etenee $A \rightarrow B$ suuntaan (kts. Gibbsin energia)

Aktivaatioenergia biologisissa oloissa

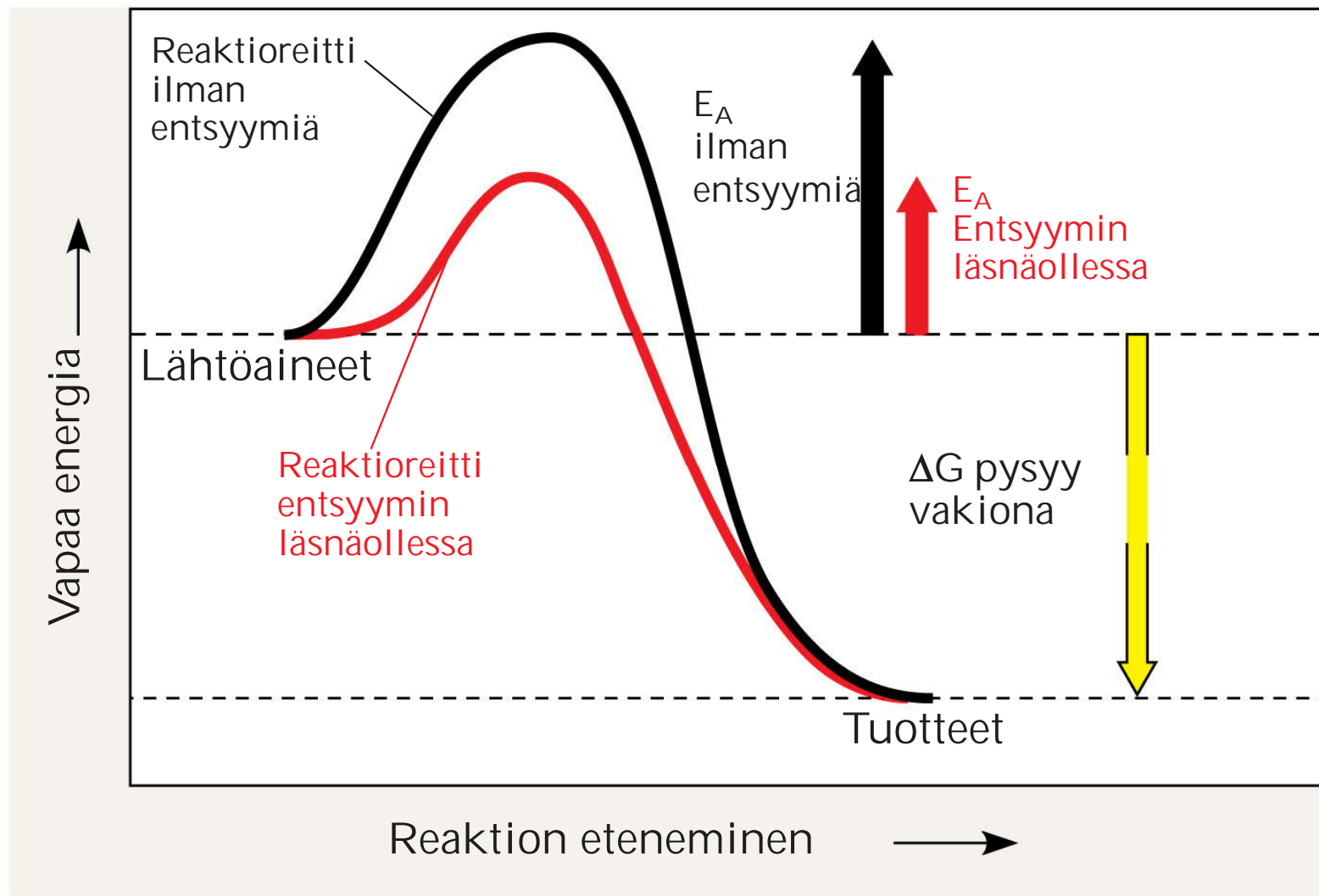
Joissakin reaktioissa E_A on pieni ja vallitseva lämpötila riittää reaktion käynnistämiseksi. Tällöin lähtöaine ei ole stabiili vaan hajoaa itsekseen.

- Kuitenkin useimmiten E_A on niin korkea, että reaktioita ei juuri tapahdu ilman lämmittämistä
 - Esim. biologiset makromolekyylit sisältävät paljon energiaa ja niiden hydrolyysi on spontaani, eksergoninen reaktio
- Elävässä solussa ei kuitenkaan ole riittävästi lämpöä E_A :n ylittämiseksi
 - Lämmön lisääminen ei ole ratkaisu: lämpö nopeuttaisi kaikkia reaktioita, eikä vain tarvittavia
 - Lämpö myös denaturoisi proteiinit ja tappaisi solut
- Ratkaisu: entsyymit, joiden avulla vain tarvittavat reaktiot saadaan tapahtumaan elämän mahdollistavassa lämpötilassa.

Entsyymit alentavat aktivaatioenergiaa

Elimistössämme on n. 20,000 proteiinia, joista kolmasosa toimii entsyymeinä.

- Entsyymit katalysoivat reaktioita alentamalla E_A :ta
- Reaktion siirtymätila voidaan siten saavuttaa alemmassa lämpötilassa
- Entsyymit eivät vaikuta vapaaenergian muutokseen (ΔG), vaan nopeuttavat reaktioita
 - Siten mahdoton reaktio muuttuu mahdolliseksi entsyymin avulla!
- E_A :n suuruuteen vaikuttaa se, mitä kautta reaktio tapahtuu, eli mitä osavaiheita reaktiossa on
 - Reaktioissa vapautuva kokonaisenergia on yhtä suuri, mutta E_A vaihtelee eri reaktioreiteillä
- Entsyymit katalysoivat reaktioita saamalla aikaan sellaisen reaktioreitin, että E_A on alhainen



Entsyymit ja glykolyysi

Metaboliavälituote	Entsyymi	ΔG (kJ/mol)	Reaktionopeus (s ⁻¹)
Glukoosi	Heksokinaasi	-33,3	79
Glukoosi-6-fosfaatti	fosfoglukoosi-isomeraasi	-2,7	2200
Fruktoosi-6-fosfaatti	fosfofruktokinaasi	-18,6	750
Fruktoosi-1,6-bisfosfaatti	aldolaasi	0,7	27
Dihydoksiasetonifosfaatti	trioosi fosfaatti-isomeraasi	2,6	68
Glyseraldehydi-3-fosfaatti	Glyseraldehydi-3-fosfaatti dehydrogenaasi	-1	140
1,3,-bisfosfoglyseraatti 2,3-bisfosfoglyseraatti	Fosfoglyseraattikinaasi	-0,6	114
3-fosfoglyseraatti	Fosfoglyseraattimutaasi	1	115
2-fosfoglyseraatti	Enolaasi	1,1	15
Fosfoenolpyruvaatti	Pyruvaattikinaasi	-23,3	590
Pyruvaatti			

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Katalyyysi

Entsyymireaktiot I : Entsyymit kiinnittyvät

Jotta entsyymi pystyy toimimaan, on sen kiinnityttävä lähtöaineisiin

- Molekyyliä, johon entsyymin toiminta kohdistuu, kutsutaan entsyymin substraatiksi
- Entsyymi (E) kiinnittyy substraattiinsa (S), jolloin muodostuu entsyymi-substraattikompleksi (ES)



jossa P on tuote, K_S entsyymin kiinnittymisen tasapainovakio
ja k_{cat} entsyymiaktiivisuudesta riippuva reaktionopeus

Ensyymien kiinnittyminen ja reaktionopeus

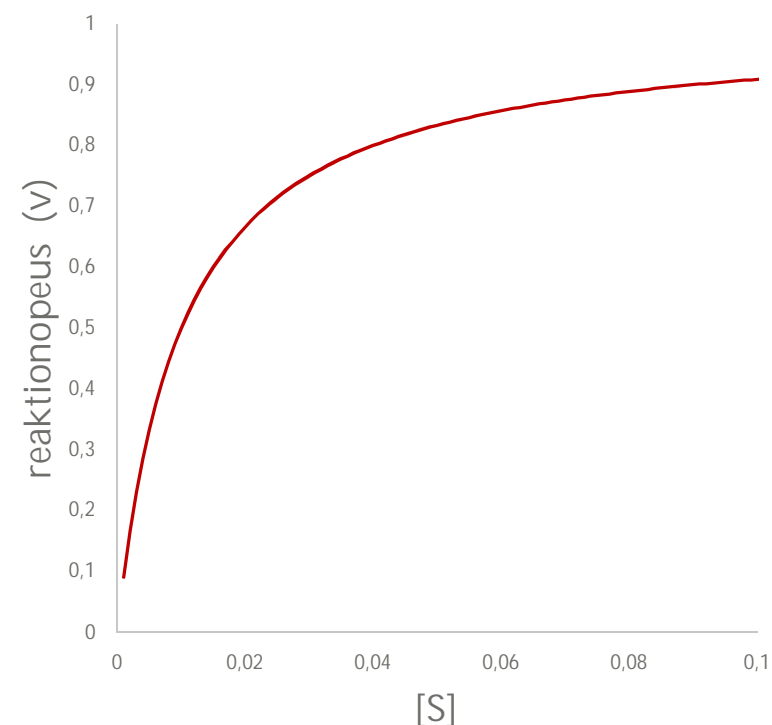
Ensyymien kiinnittyminen on yleensä entsyymireaktion hitain vaihe, jolloin reaktionopeus riippuu substraatin määrästä [S] ja kiinnittymisen tasapainovakiosta K_S

$$v = \frac{k_{\text{cat}}[E_t][S]}{[S] + K_S}$$

missä $[E_t]$ on entsyymien yhteismäärä.

Tällä Michaelis-Menten-yhtälöllä havaitaan, että pienillä substraattimäärillä entsyymireaktion nopeus kasvaa eksponentiaalisesti.

Yleensä soluissa $K_S > 100 \cdot [S]$, joten entsyymit toimivat tehokkaina substraattimäärien säätelijöinä.



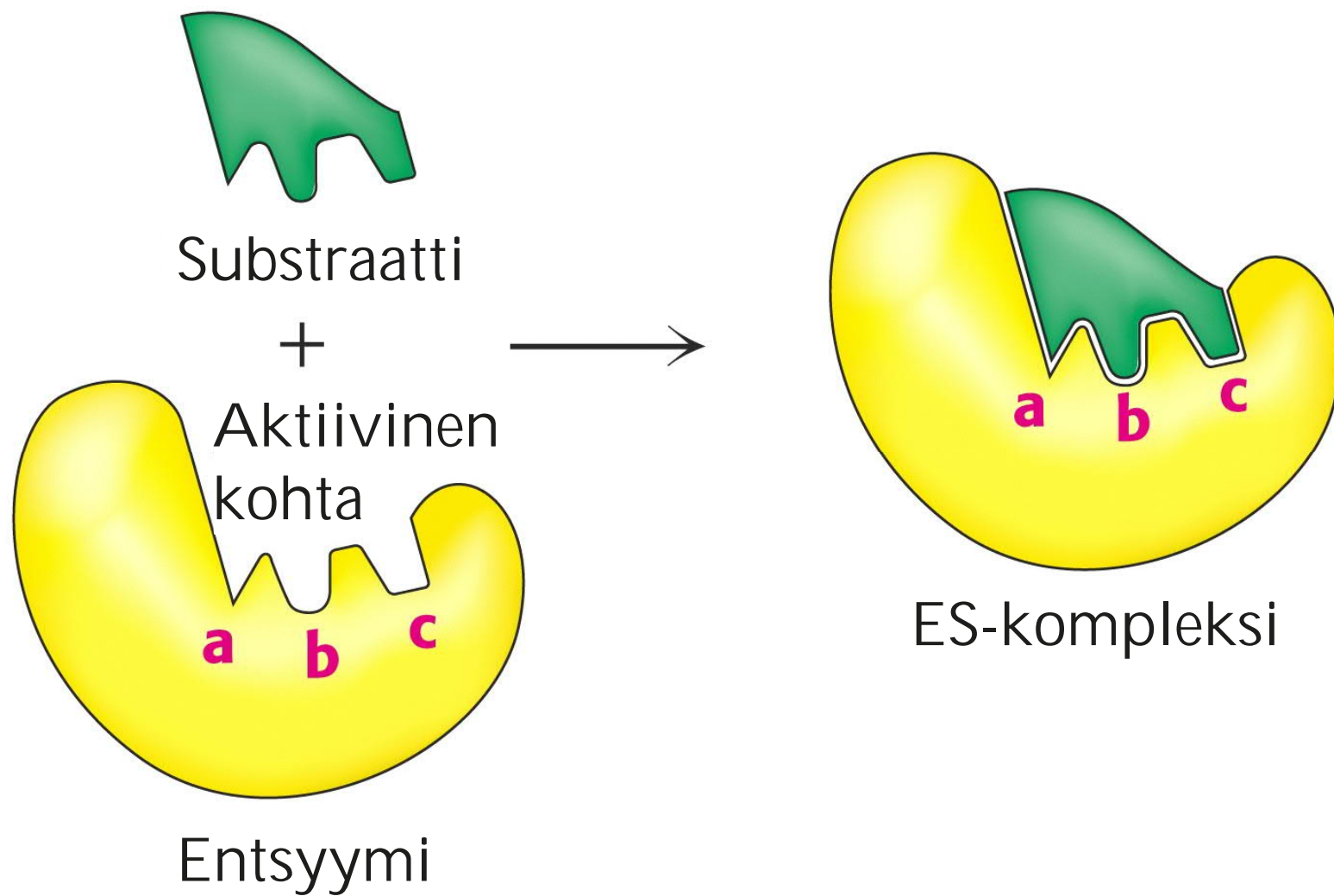
ES-sitoutumismekanismi

Entsyymi sitoutuu substraattiin aktiivisella keskuksella

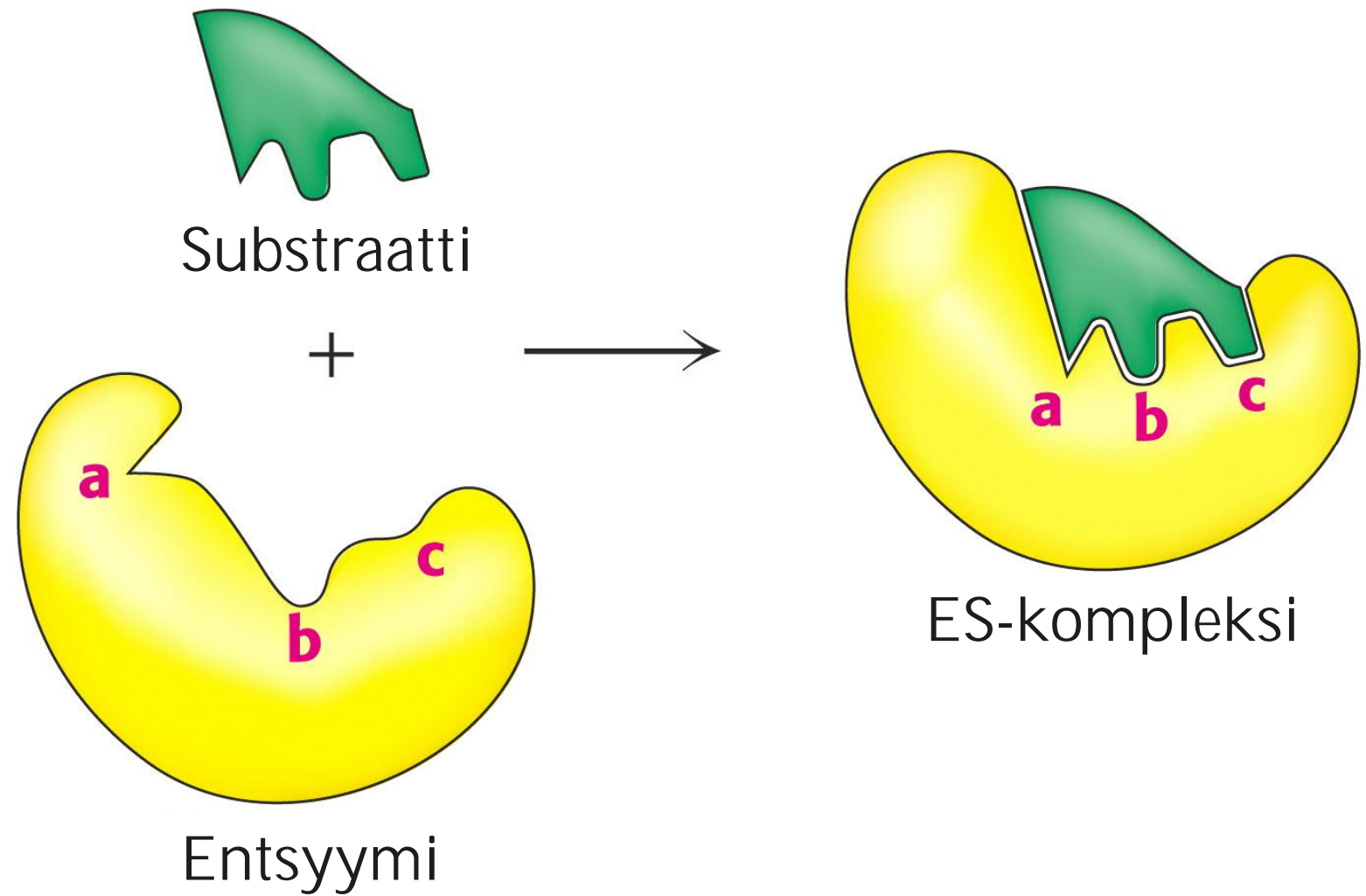
- Usein taskumainen uurre, joka koostuu vain muutamasta aminohaposta entsyymin sekvenssissä
 - Substraatin ja aktiivisen keskuksen muoto vastaavat toisiaan
- Aiemmin sitoutuminen ajateltiin tapahtuvan avain-lukkomallilla, kykyään entsyymin rakenteen muutoksella

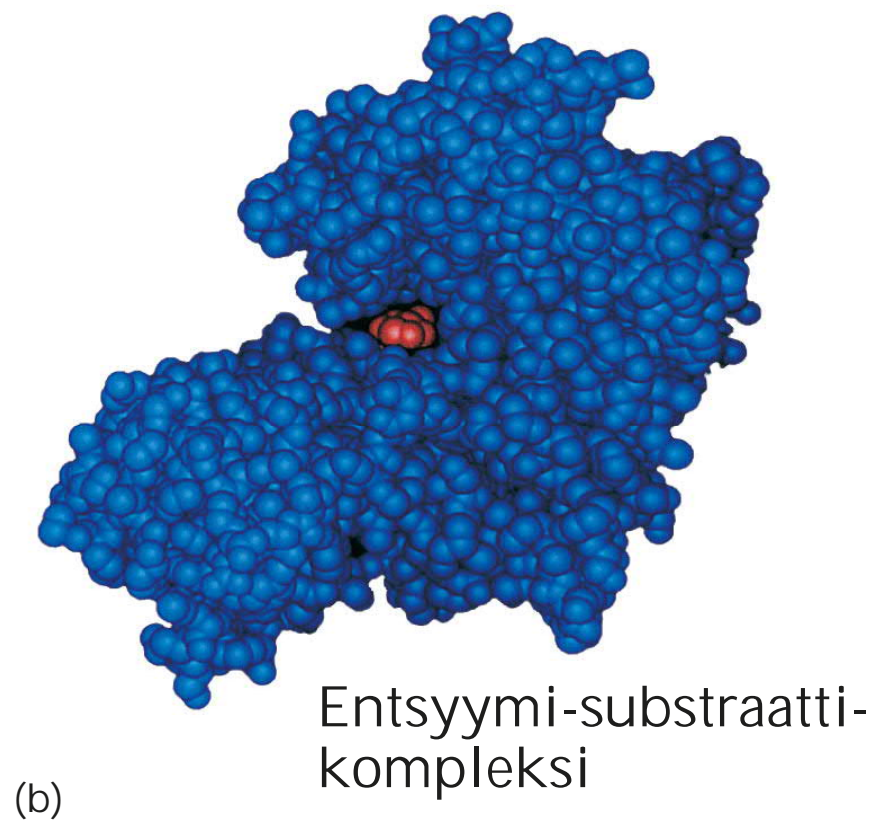
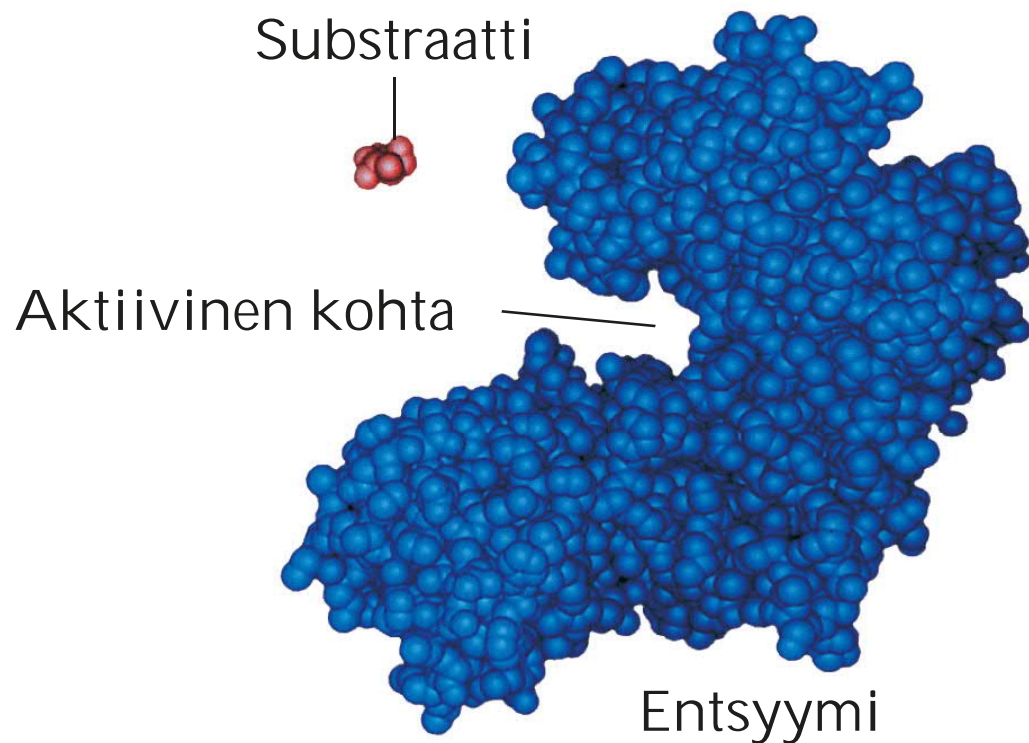
Avain-lukko -malli	Indusoitu sopiminen
Aktiivisen keskuksen pintarakenne vastaa sellaisenaan substraattia	Entsyymien muoto muuttuu substraatille sopivaksi vasta substraatin kiinnittyessä
Perinteinen yksinkertaistus	Substraatin asettuessa entsyymin muoto usein muuttuu, mikä indusoi reaktiota

Avain ja lukko



Indusoitu sitoutuminen





Katalyyysi

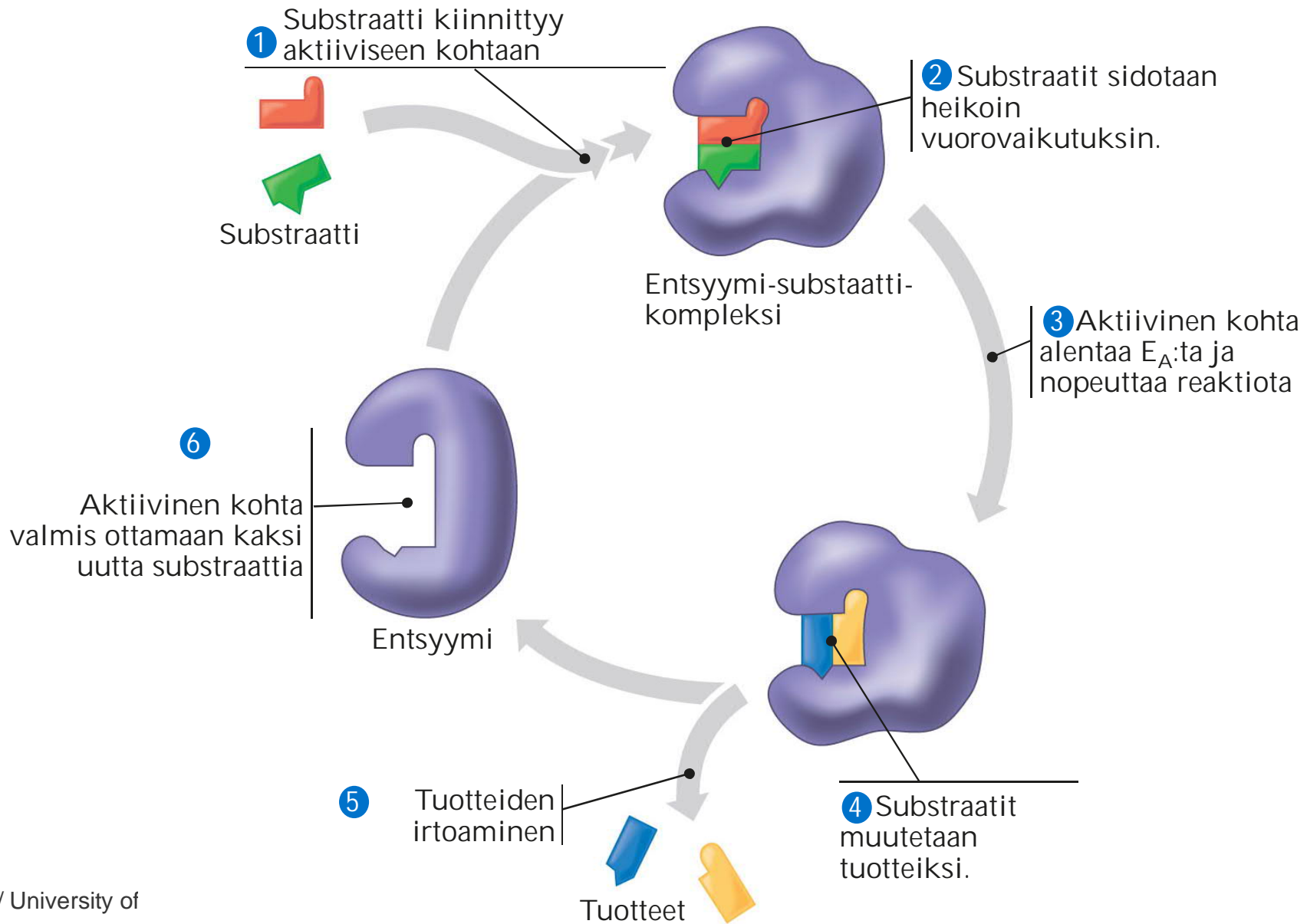
Substraatin kiinnittymisen jälkeen aktiivisessa keskuksessa tapahtuu katalyyysi, minkä jälkeen tuote (P) irtoaa.



- Usein substraatti on kiinnittynyt aktiiviseen keskukseseen heikoin vety- tai ionisidoksin
 - Tuotteen on kyettävä irrottautumaan entsyymistä, minkä vuoksi vahvoja sidoksia yleensä vältetään.
- Aktiivisen keskuksen aminohappojen sivuketjut ja niihin liittyneet ryhmät katalysoivat reaktion substraatista tuotteeksi
- Entsyymit voivat katalysoida reaktiota molempiin suuntiin
 - Suunta riippuu tuotteiden ja substraatin suhteellisista pitoisuuksista (ΔG)

Miksi aktivaatioenergia on alempi?

Mekanismi	Esimerkki
Substraattien asento	aktiivinen keskus ohjaa substraatit oikeaan asentoon reaktion helpottamiseksi (entropian vähentäminen)
Venytyks/taivutus	Entsyymi voi venyttää substraattimolekyylejä siirtymätilan muotoa kohti, rasittaen ja taivuttaen kemiallisia sidoksia, joiden täytyy katketa reaktiossa
Sitoutuminen	Entsyymit voivat hetkellisesti sitoutua kovalenttisesti substraattiin (tuotteen irrottua aminohappoketjut palautuvat ennalleen)
mikroympäristö	Keskuksessa voi olla alhaisempi pH, joka edesauttaa protonien (H^+) siirtymistä substraatille reaktion katalyysissä. Mikroympäristö voi aiheuttaa substraattia stabiloivan hydraatiokerroksen poistumisen. Monissa entsyymeissä on aktiivisessa kohdassa metalli-ioni, joka voi osallistua elektronien siirtoon

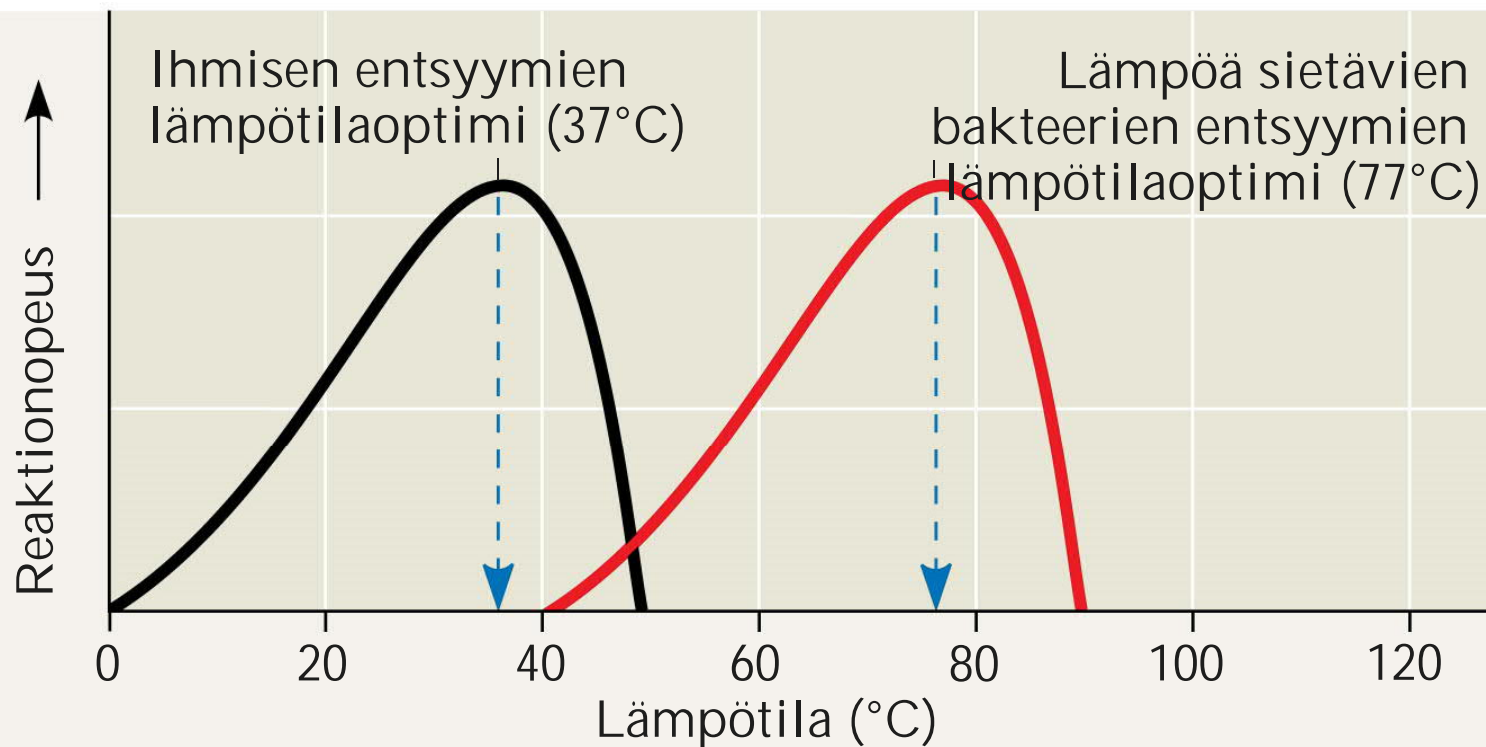


Entsyymiaktiivisuus ja olosuhteet

Paikalliset olosuhteet vaikuttavat runsaasti entsyymiaktiivisuuteen. Tällä saadaan esim. Ruoansulatus tapahtumaan säädellysti.

- Entsyymien aktiivisuuteen vaikuttavat yleiset ympäristöolosuhteet, kuten lämpötila ja pH
- Kukin entsyymi toimii parhaiten tietyissä optimiolosuhteissa, jotka suosivat entsyymien toiminnallista konformaatiota
- Lämpötilalla vaikuttaa kaikkien reaktioiden, myös entsyymireaktioiden nopeuteen.
 - Lämpimässä substraatit ja aktiiviset keskukset kohtaavat toisensa useammin, koska molekyylit liikkuvat nopeammin
 - Jos lämpötila nousee liikaa, proteiinin heikot sidokset muuttuvat epävakaiksi ja se denaturoituu

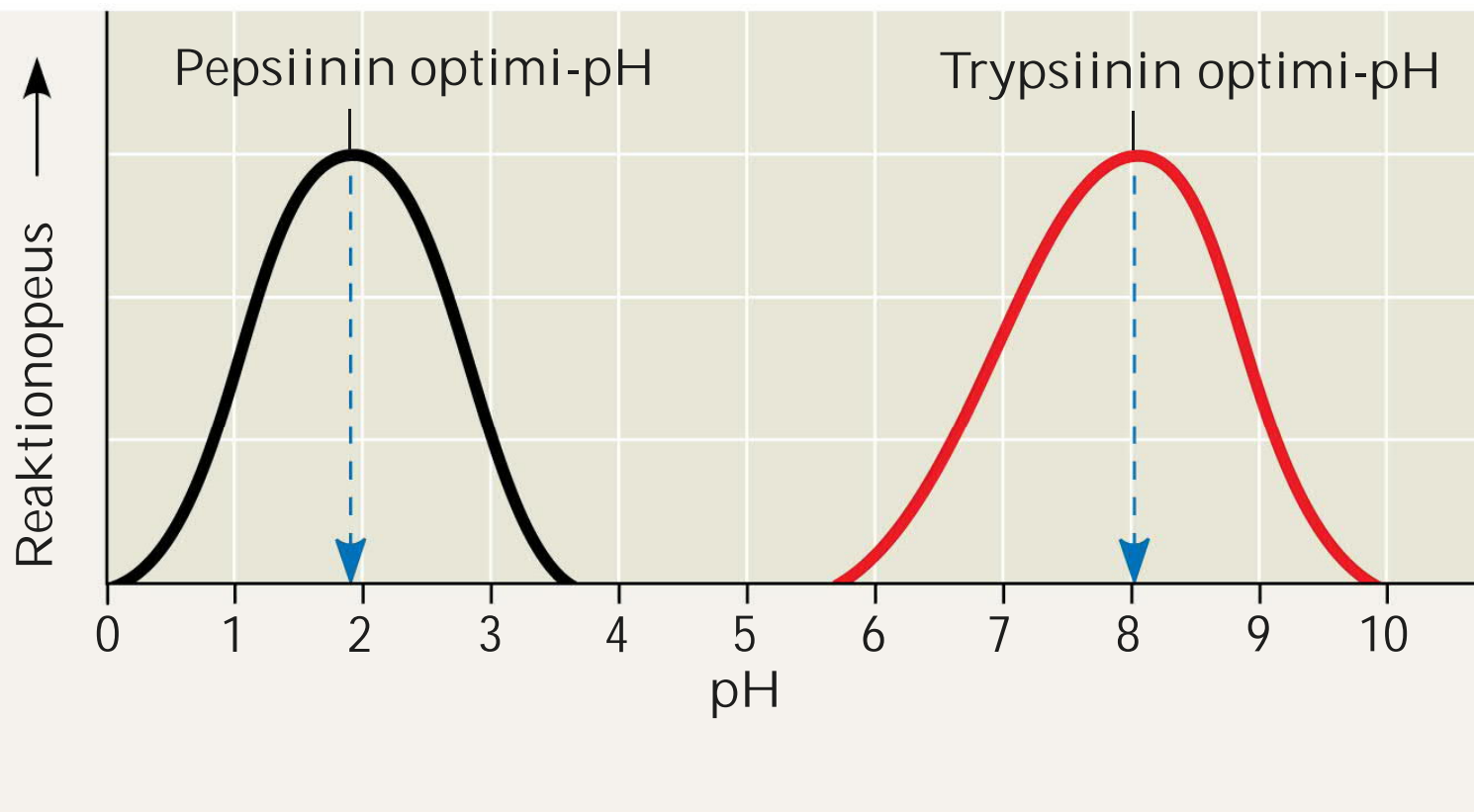
Entsyymiaktiivisuus ja optimilämpötila



Entsyymien optimilämpötilassa suurin määrä substraatin ja aktiivisten keskusten törmäyksiä ja nopein tuotteiden synty ilman, että lämpötila vaikuttaisi haitallisesti entsyymien rakenteeseen.

Vaihtolämpöisillä entsyymiaktiivisuuden lämpötilariippuvuus vaikuttaa lajien sopeutumismahdollisuuksiin

Entsyymiaktiivisuus ja pH



Aktiivisen konformaation ylläpitäminen edellyttää myös sopivaa happamuutta (pH:ta).

Optimaalinen pH on useimmiten 6–8

Ruuansulatusentsyymien optimi vaihtelee:

- vatsalaukun pepsiinillä pH 2
- Ohutsuolen trypsiinillä pH 7-8

Kiitos!



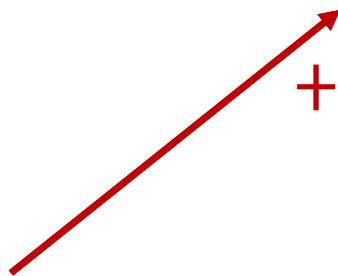
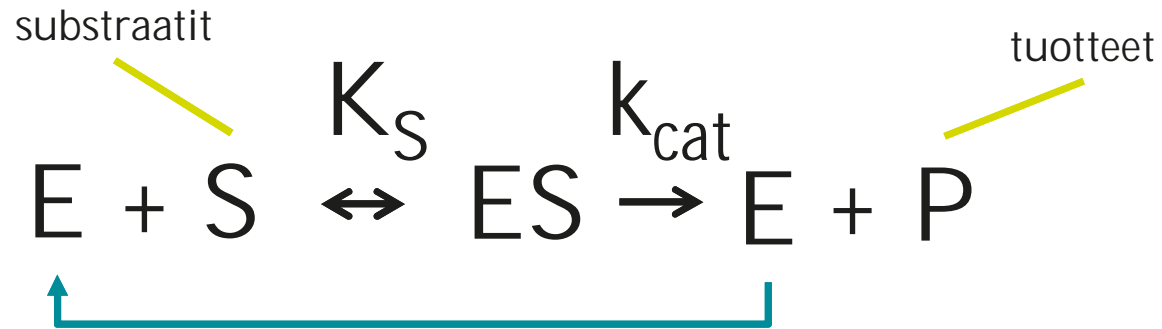
UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi



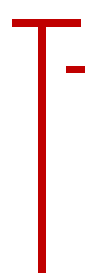
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Entsyymisäätelijät



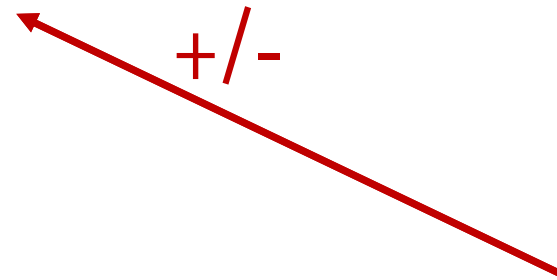
Toiminnan mahdollistajat

- Kofaktorit ja koentsyymit



Toiminnan estäjät

- Entsyymi-inhibiittorit



Toiminnan säätelijät

- Entsyymi-aktivaattorit

Kofaktorit

Moniin entsyymireaktioihin liittyy substraatin ja aktiivisen keskuksen aminohappojen sivuketjujen lisäksi jokin pienimolekyylinen yhdiste tai metalli-ioni, joita kutsutaan kofaktoreiksi

- Kofaktoreita tarvitaan usein entsyymireaktiossa siirtämään elektroneja.
- Orgaanista kofaktoria kutsutaan koentsyymiksi
 - Useimmat vitamiinit ovat koentsyymejä tai niiden esiasteita
- Tyypillisiä epäorgaanisia kofaktoreita ovat mm. sinkki-, kupari-, magnesium- ja rauta-ionit
- Kofaktorit sitoutuvat entsyymiin joko tiukasti (prosteettisiksi ryhmät) tai löyhästi

Koentsyymejä

Koentsyymi	triviaalinimi	Entsyymi	Tehtävä
Tiamiini-pyrofosfaatti	TPP, ThPP	Puryvaattidehydrogenaasi	Palorypälehapon muuttaminen
Flaviini adeniini nukleotidi	FAD	Monoamiinioksidaasi	Amiinien hajotus
Nikotinamidi adeniini dinukleotidi	NADP	Laktaattidehydrogenaasi	Palorypälehapo ↔ maitohapko
Pyridoksaali-fosfaatti	PLP	Glykogeenifosforylaasi	Glykogeenin pilkkominen glukookiksi
Koentsyymi A	CoA	Asetyyli CoA karboksylaasi	Rasvahapposynteesin säätely
Biotiini	B7	Pyruvaattikarboksylaasi	Palorypälehapon muuttaminen oksaloasetaatiksi
5'-deoxyadenosyyli-kobalmiini	B12	Metyyliamalonyyylimutaasi	Koentsyymiä sitruunahappokiertoon
Tetrahydrofolaatti	Foolihapko	thymidylaattisyntaasi	Tymidiiniä DNA-replikaatioon

Koentsyymejä: metallit

Metalli	Lyhenne	entsyymi	Tehtävä
sinkki	Zn ²⁺	karboksipeptidaasi	Proteiinin C-terminaalien hajotus
Magnesium	Mg ²⁺	Heksokinaasi	Glukoosi → glukoosi-6-P
Nikkeli	Ni ²⁺	Ureaasi	Urea + H ₂ O → CO ₂ + 2NH ₃
Molybdeeni	Mo	Nitraattireduktaasi	NO ₃ ⁻ → NO ₂ ⁻
Seleen	Se	Glutathioniperoksidaasi	Lipidi-vetyperoksidien hajotus
Mangaani	Mn ²⁺	Superoksididismutaasi	Happiradikaalien hajotus
Kalium	K ⁺	Propionyyli CoA karboksylaasi	Rasva- ja aminohappoja sitruunahappokiertoon

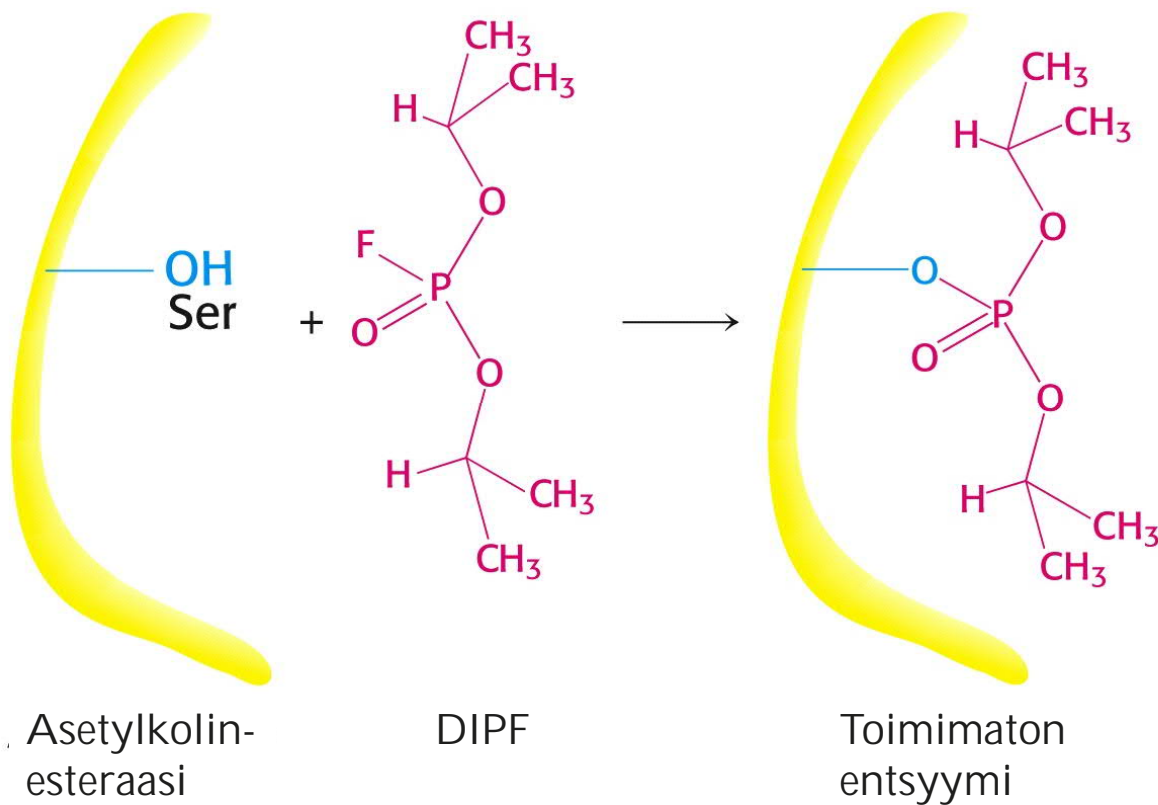
Koentsyymejä: vitamiinit

Vitamiini	Lyhenne	Koentsyymi	Tehtävä
Tiamiini	B1	tiamiinipyrofosfaatti	Adehydin siirto
Riboflaviini	B2	FAD	Hapetus-pelkistys
Pyridoksiini	B6	pyridoksifosfaatti	Aminohappojen muokkaus
Nikotiinihappo	Niasiini	NAD+	Hapetus-pelkistys
askorbiinihappo	C		Antioksidantti (happiradikaalien sieppaus)

Entsyymi-inhibiittorit

Entsyymi-inhibiittorit estävät entsyymin toimintaa selektiivisesti.

- inhibiitio voi olla palautumaton, irreversiibeli, jos inhibiittori liittyy kovalenttisesti, muulloin palautuva, reversiibeli
- Myrkylliset yhdisteet ovat usein irreversiibejä entsyymi-inhibiittoreita
 - Hermokaasut, kuten sariini, lamauttavat hermostoa inhiboimalla asetyylikoliiniesteraasin toimintaa
 - DDT toimii pestisidinä, koska se inhiboi hyönteisten hermostossa tärkeiden entsyymien toimintaa
 - Monet antibiootit inhiboivat bakteerien spesifisiä entsyymejä
- Selektiivinen inhibiitio on osa entsyymien luonnollista säätelyä



Hermokaasujen, kuten sariinin, aiheuttama asetyylikoliinin irreversiibeli inhibiitio perustuu liittymiseen kovalenttisella sidoksella entsyymin tietyn seriinin hydroksyyliiryhmään

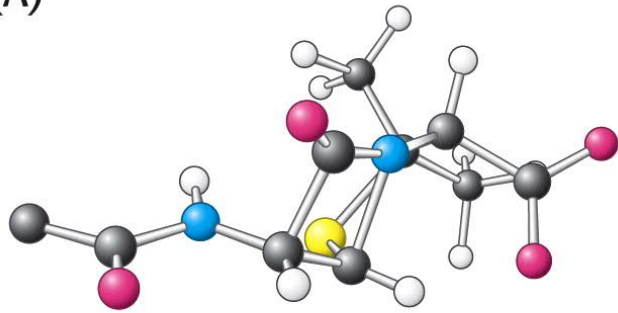
+ F⁻ + H⁺

Organofosfaatti DIPF on sariinianalogi (sen kaltainen yhdiste)

Kun entsyymi ei toimi, asetyylikoliinia ei poisteta synapseista, jolloin Ach vaikuttaa reseptoreissa jatkuvasti.

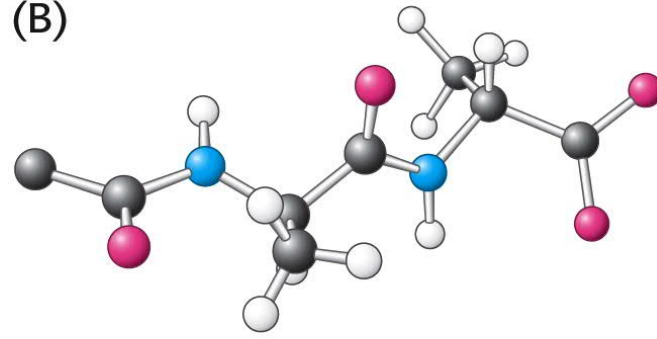


(A)



Penisilliini

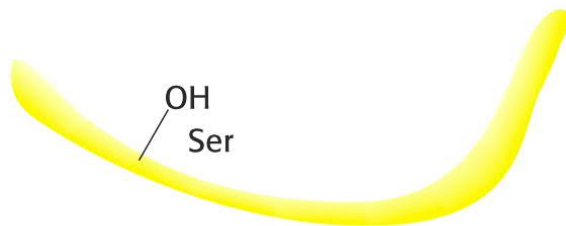
(B)



R-D-Ala-D-Ala peptidi

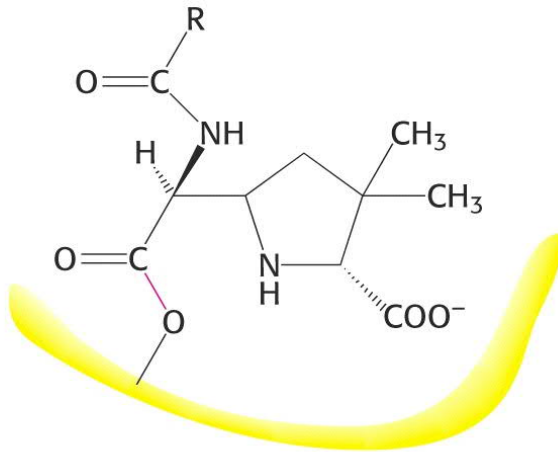
Penisilliini estää monien bakteerien soluseinän synteesiä.

Se inhiboi glykoproteiinien, peptido-glykaanisidosten muodostumista estämällä glykopeptiditranspeptidaasin toiminnan



Glykopeptidi-transpeptidaasi

Penisilliini



Penisilliini-Entsymikompleksi

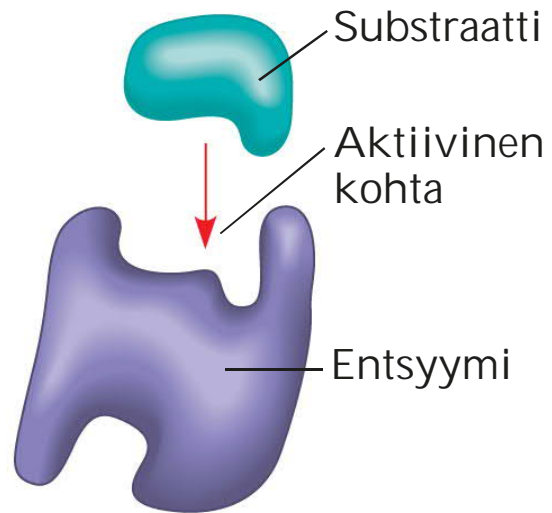
Penisilliini kiinnittyy glykopeptiditranspeptidaasin erään seriinin hydroksyyliin kovalenttisesti ja inhiboi entsyymin toiminnan

Hydrolysoivat entsyymit toimivat edelleen, mutta nyt soluseinää ei saada korjattua ja seuraa bakteerisolun hajoaminen

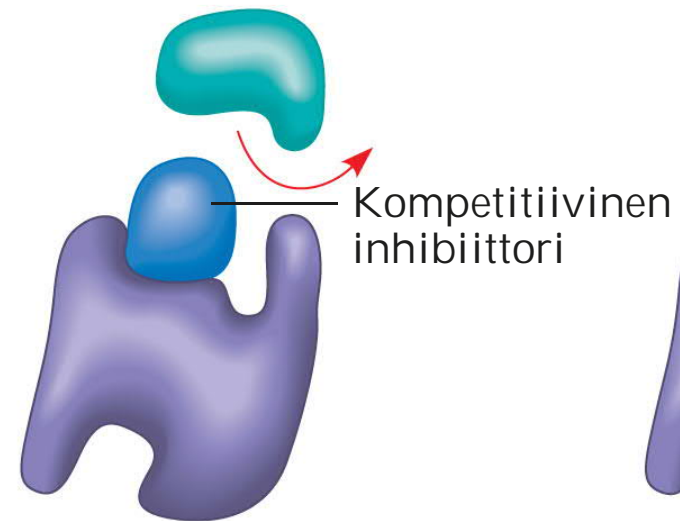
Kilpailevat ja ei-kilpailevat inhibiittorit

Kompetitiiviset inhibiittorit	Nonkompetitiiviset inhibiittorit
kiinnittyvät entsyymien aktiiviseen keskukseen, <u>kilpaillen</u> substraatin kanssa	kiinnittyvät muualle entsyymiin, aiheuttaen entsyymien muodon muuttumisen ja sen myötä entsyymien tehokkuuden vähenemisen
Entsyymissä voi olla kiinnittyneenä joko substraatti tai inhibiittori, mutta ei molemmat	Sekä substraatti että inhibiittori voivat olla kiinnittyneenä samaan aikaan (tai substraatti ei kiinnity, jos inhiboitu)
Inhibitiota voidaan vähentää lisäämällä substraatin määrää	Substraatin määrä ei vaikuta inhibiitioon

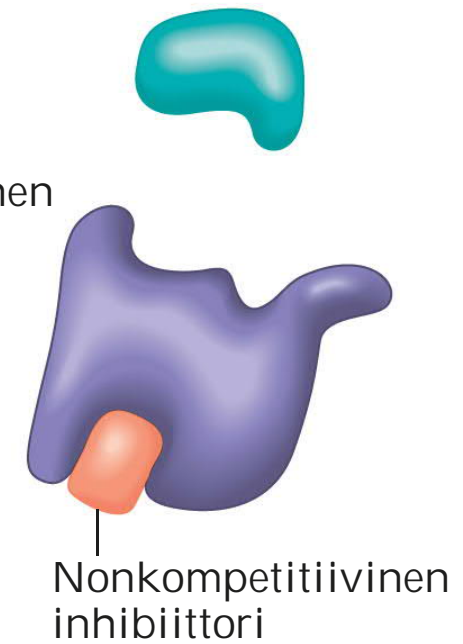
(a) Normaali sitoutuminen



(b) Kompetitiivinen inhibitio



(c) Nonkompetitiivinen inhibitio



© 2011 Pearson Education, Inc.

Entsyymit ja evoluutio

Eri eliöistä on löydetty ja nimetty yli 4000 erilaista entsyymiä; luku kasvaa edelleen. Miten tämä on mahdollista?

- Entsyymit ovat proteiineja, joita koodaavat geenit
 - Mutaatiot geneeissä johtavat muutoksiin entsyymien aminohappokoostumuksessa
- Jos muutos on aktiivisessa keskuksessa tai muussa toiminnan kannalta keskeisessä paikassa, muuntuneella entsyymillä voi olla uusi toiminnallinen aktiivisuus tai se voi käyttää erilaista substraattia
- Jos muutos hyödyttää eliötä, luonnonvalinta suosii geenin mutatoitunutta muotoa, joka yleistyy populaatiossa

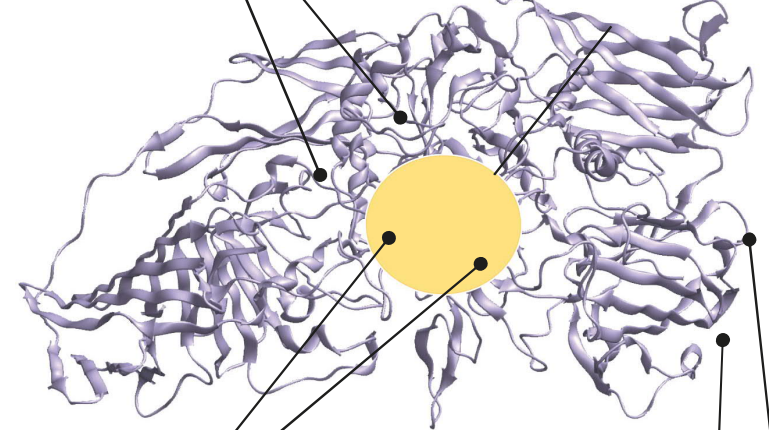
Voiko entsyymien evoluutiota jäljitellä?

β -galaktosidaasi on yleinen merkkientsyymi, joka pilkkoo laktoosia monosakkarideiksi.

- Kokeessa tutkittiin, kuinka β -galaktosidaasin toiminta voisi muuttua ajan myötä bakteeripopulaatiossa (*Escherichia coli*)
- *E. coli*in genomia mutatoitiin satunnaisesti, minkä jälkeen testattiin bakteerien kykyä pilkkoa hiukan laktoosista poikkeava disakkaridi
- Parhaiten tähän kykenevä mutantti eristettiin ja toistettiin mutatointi ja valintaprosessi
- Seitsemän kierroksen jälkeen muuntunut entsyymi sitoi uuden substraatin satoja kertoja tehokkaammin ja pilkkoi sitä 10-20 kertaa nopeammin kuin alkuperäinen entsyymi

Kaksi aminohappomuutosta aktiivisen kohdan ympärillä

Aktiivinen kohta



Kaksi aminohappomuutosta aktiivisessa kohdassa

Kaksi aminohappomuutosta entsyymin ulkolaidalla

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

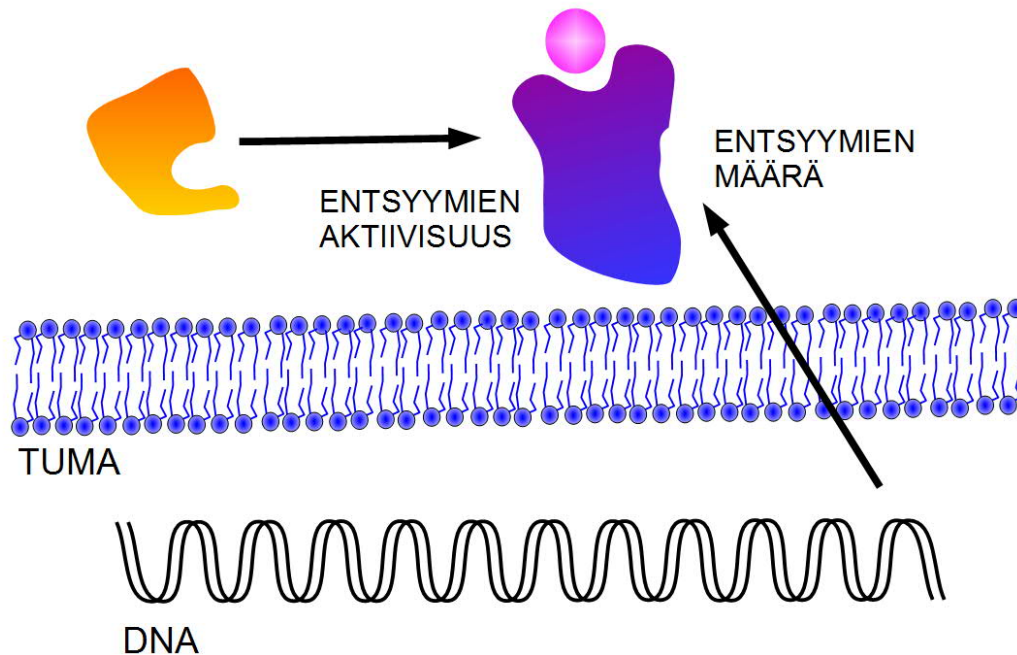
uef.fi



Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Energia ja elämä Luonnolliset entsyymien säätelijät

Entsyymiaktiivisuuden luonnolliset säätelijät



Lääkeaineiden ja myrkkujen lisäksi entsyymiaktiivisuutta säädellään soluissa jatkuvasti.

Entsyymiproteiinien määrää voidaan muuttaa vaikuttamalla niitä koodaavien geenien aktiivisuuteen

Soluissa on valtava entsyymiverkosto, jossa proteiinit toimivat toistensa säätelijöinä. Siten entsyymien aktiivisuutta voidaan lisätä tai vähentää.

Allosteerinen säätely

Solussa entsyymiaktiivisuutta säätelevät molekyylit toimivat sitoutuvat palautuvasti entsyymiin. Sitoutuminen ei tapahdu aktiiviseen kohtaan, joten substraattimäärä ei vaikuta säätelyn tehokkuuteen.

- Allosteerisessa säätelyssä säätelevän molekyylin sitoutuminen proteiiniin vaikuttaa sen toimintaan toisessa paikassa
 - Tämä säätely voi joko estää (inhiboida) tai kasvattaa entsyymin aktiivisuutta
 - αλλος (toinen, muu), στερεος (muoto)

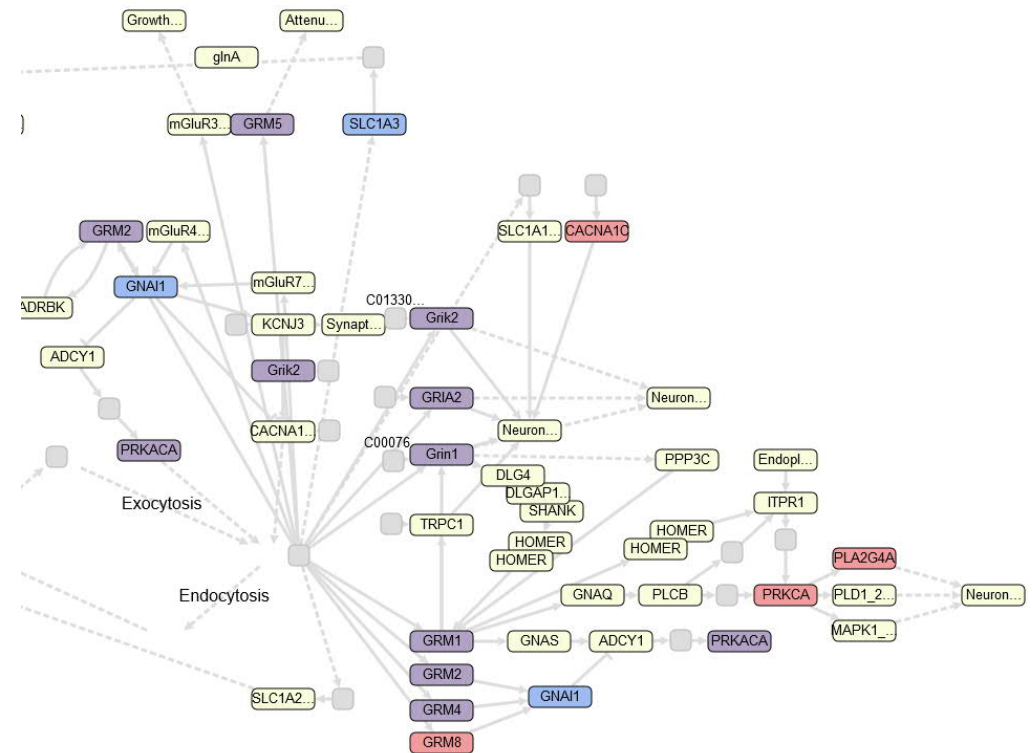
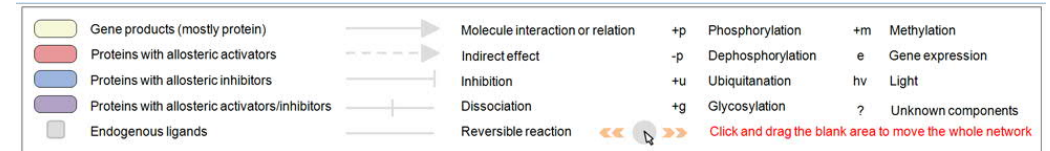
Säätelylle on omat tietokantansa:

<http://mdl.shsmu.edu.cn/ASD/module/mainpage/mainpage.jsp>

Säätelyreitit

Esim. glutamaattireseptori (GRM), joka on tärkein ärsyttävä hermovälittäjäaine nisäkkäiden aivoissa, liittyy erittäin moneen allosteerisesti säädeltyyn entsyymiin.

Signaalireittejä käsitellään tarkemmin solubiologian osiossa.

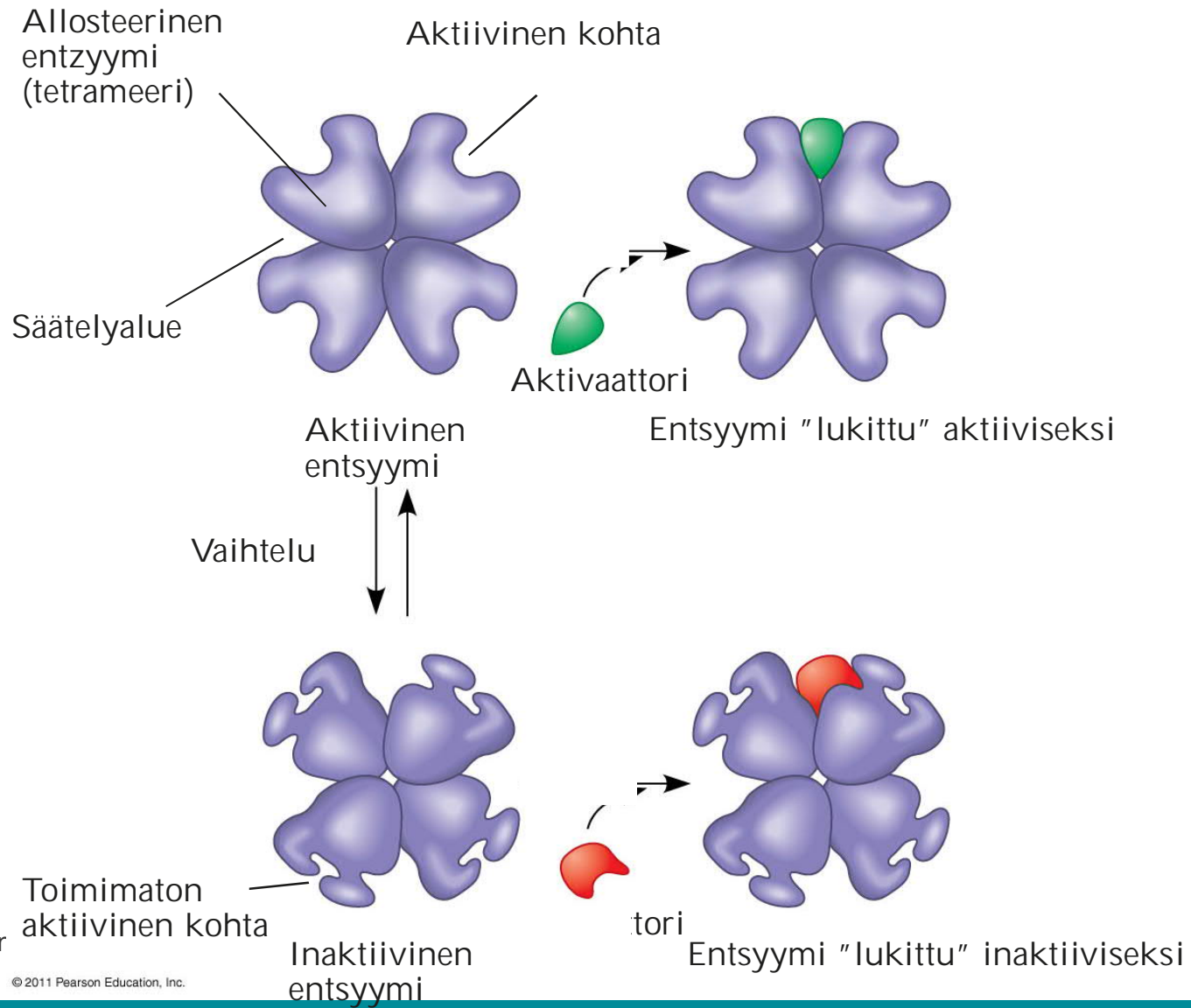


Allosteerinen aktivaatio ja inhibiitio

Usein entsyymit toimivat kahden (tai useamman) peptidin yhdistelmänä, jolloin niiden liikuttaminen vaikuttaa suoraan aktiivisuuteen

- Entsyymi voi esiintyä kahdessa eri muodossa, aktiivisessa ja inaktiivisessa
- Yksinkertaisimmassa tapauksessa aktivoiva tai inhiboiva molekyyli sitoutuu säätelyalueeseen (allosteerinen alue), joka sijaitsee usein alayksiköiden liittymäkohdassa
 - Aktivaattorin sitoutumien vakauttaa entsyymin aktiivisen muodon
 - Inhibiittorin sitoutuminen vakauttaa inaktiivisen muodon
- Allosteerisen entsyymin alayksiköt ovat sovittautuneet yhteen niin, että yhden alayksikön muodon muuttuminen välittyy muihin alayksiköihin
 - Tämän vuorovaikutuksen välityksellä yksittäinen aktivaattori- tai inhibiittorimolekyyli vaikuttaa kaikkien alayksiköiden aktiivisiin keskuksiin

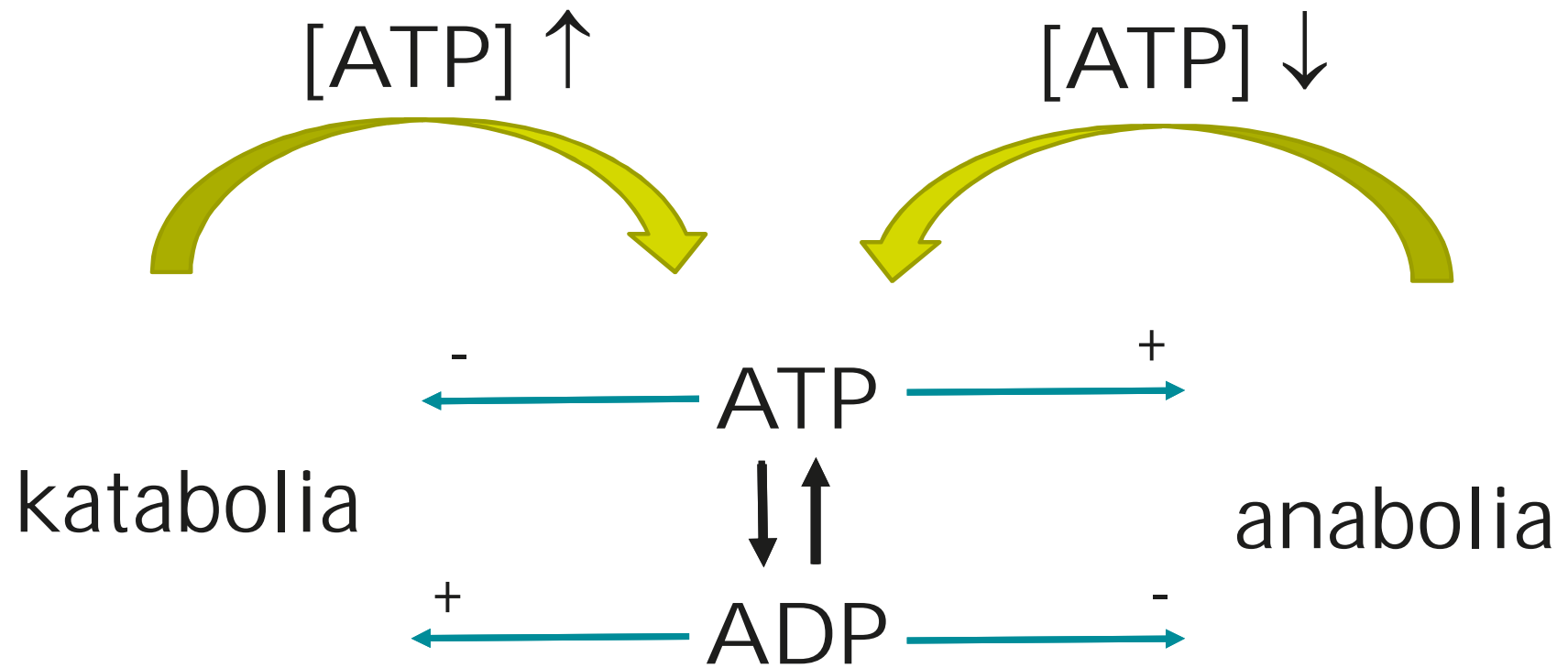
(a) Allosteeriset aktivaattorit ja inhibiittorit



ATP:n hydrolyysi ja entsyymien säätely

ATP:n hydrolyysin lähtöaineet ja tuotteet voivat kiinnittyä keskeisiin entsyymeihin, jolloin ne vaikuttavat anabolisten ja katabolisten reittien keskinäiseen säätelyyn

- ATP sitoutuu useisiin katabolisiin entsyymeihin allosteerisesti ja inhiboi niiden aktiivisuutta (alentaa sitoutumiskykyä substraattiin)
- ADP puolestaan toimii samojen entsyymien aktivaattorina
- ATP ja ADP toimivat vastaavaan tapaan myös anabolisten reittien säätelyssä (mutta päinvastoin)
- Allosteerinen säätely on siten keskeinen mekanismi tärkeimpien perusmetabolian reittien säätelyssä

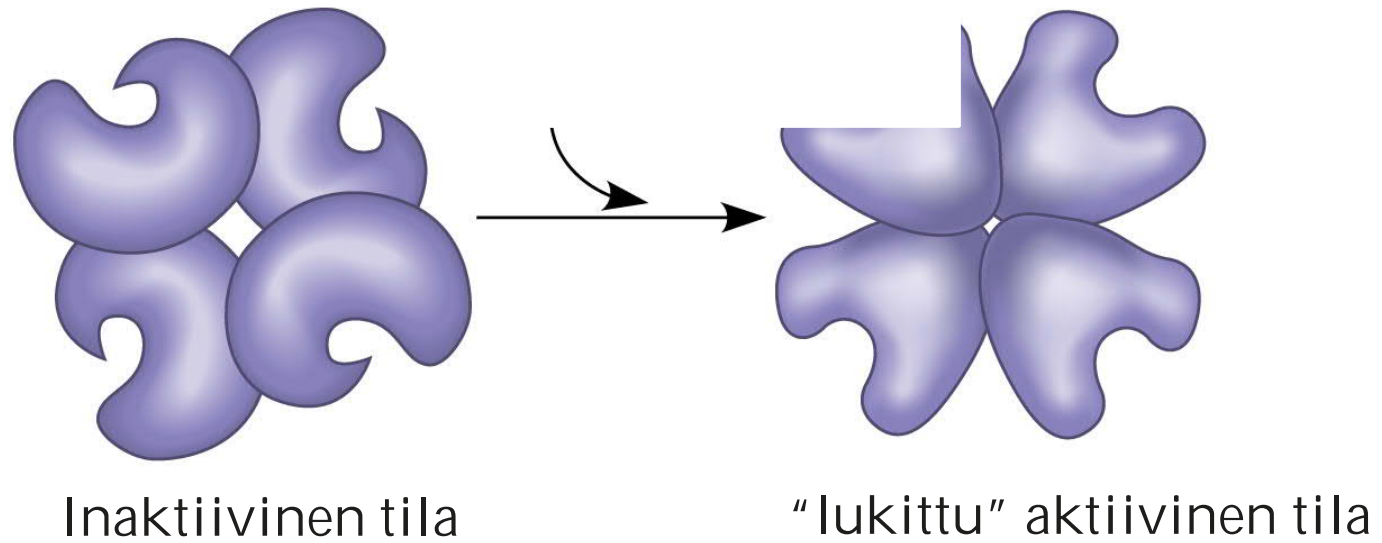


Kooperatiivinen entsyymien säätely

Entsyymeillä, joilla on useita katalyyttisiä alayksiköitä, substraattimolekyylin kiinnittyminen yhden alayksikön aktiiviseen keskukseen laukaisee muiden alayksiköiden muodon muuttumisen

- Tämä mekanismia kutsutaan kooperatiiviseksi säätelyksi
- Muut alayksiköt ottavat vastaan substraatin helpommin, mistä seuraa entsyymin toiminnan voimistuminen
- Kooperatiivisuus on allosterista, koska substraatin sitoutuminen yhteen paikkaan vaikuttaa katalyysiin toisessa paikassa (huomaa että kyseessä on substraatti)

(b) Kooperatiivinen säätely

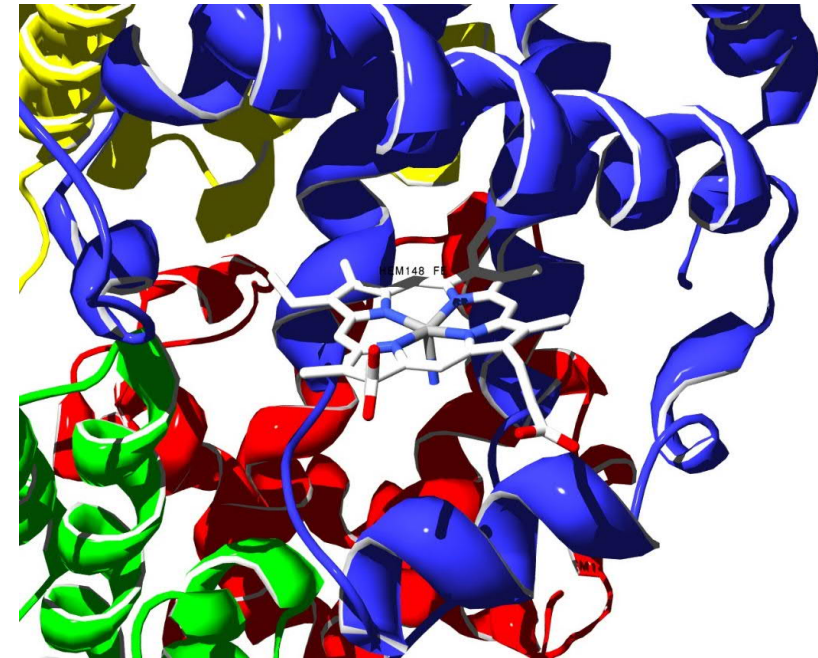


© 2011 Pearson Education, Inc.

Hemoglobiini ja kooperatiivisuus

Vaikka hemoglobiini ei ole entsyymi, se on hyvä esimerkki kooperatiivisuuden hyödyistä.

- Hemoglobiinissa on neljä alayksikköä, joista jokaisessa on happea sitova paikka
- Hapen sitoutuminen yhteen alayksikköön helpottaa hapen sitoutumista muihin alayksiköihin
- Tällöin vähähappisessa kudoksissa hemoglobiini ei sido helposti happea itseensä, vaan vapauttaa sitä helpommin
- Kun happea taas on runsaasti (keuhkot, kidukset) proteiini kykenee sitomaan happea tehokkaammin

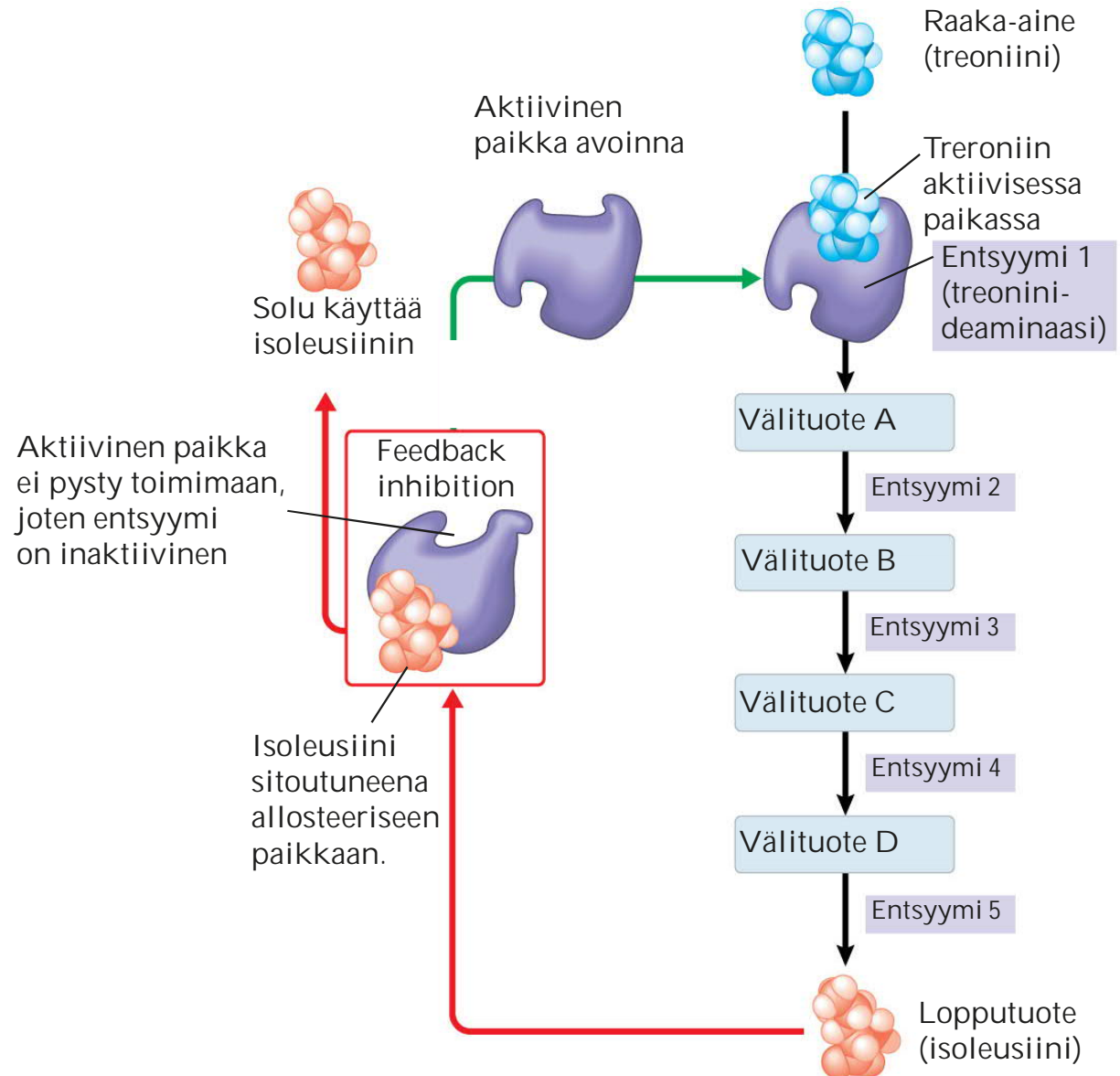


Feedback-inhibiitio

Yleinen mekanismi tietyn metaboliareitin säätelyyn ns. feedback-inhibiitio

Tässä reitin lopputuote inhiboi reitin alkupään vaihetta ja voi sulkea reitin toiminnan

Feedback-inhibiitio estää solua tuhlaamasta lähtöaineita ja energiaa syntetisoimalla enemmän tuotetta kuin tarvitaan

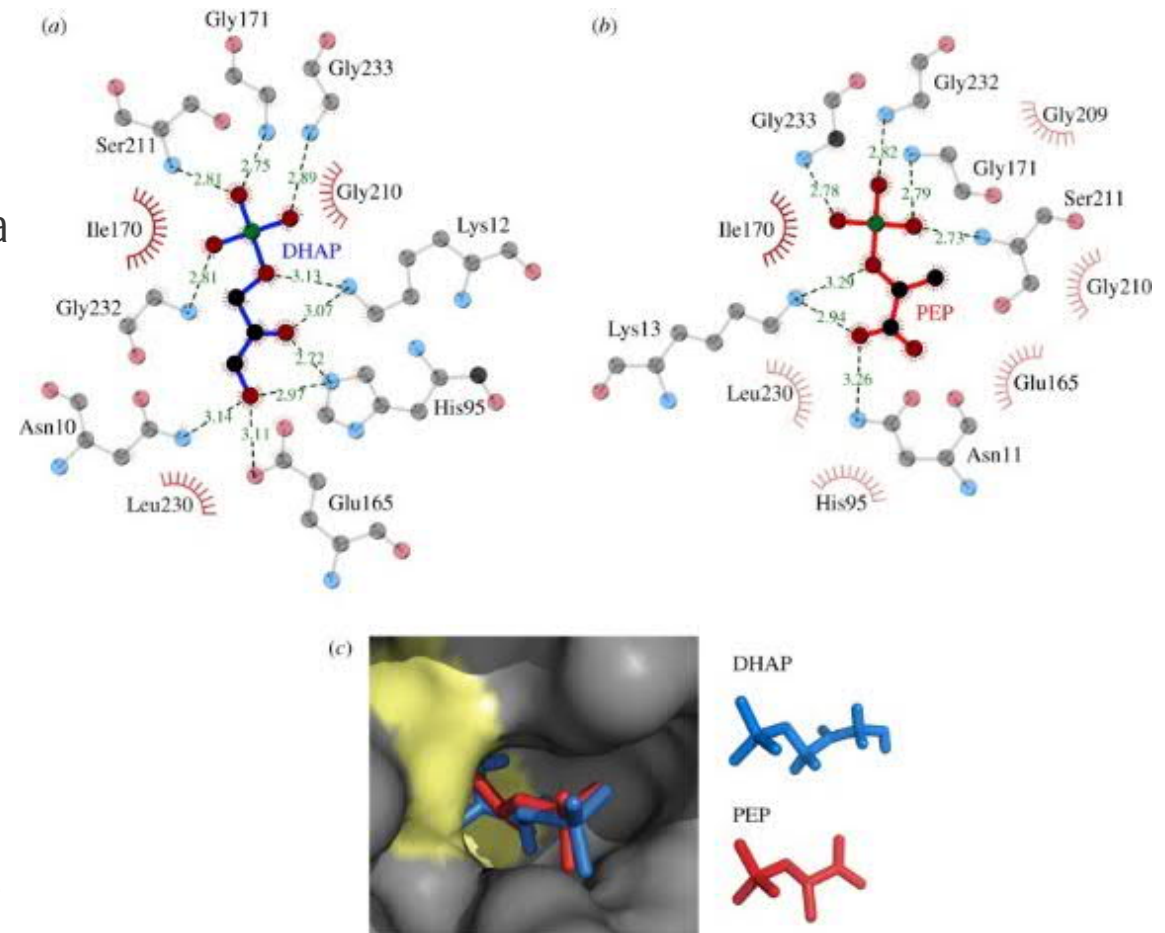


Trioosifosfaatti isomeraasin inhibiittori

Fosfoenolpyryvaatti (PEP) sitoutuu trioosifosfaatti isomeraariin samalla tavalla kuin DHAP. Siten se kilpailee sitoutumispaikasta (kompetitiivinen inhibitio).

Kemiallisen tarkastelun lisäksi tarvitaan runsaasti entsyymien tehokkuuden mittauksia, jotta inhibitio voidaan varmistaa.

PEP muodostetaan glykolyysin loppuvaiheessa, jolloin se toimii luonnollisena glykolyysin toiminnan hidastajana, mikäli pyruvaattia ei kuluteta.



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

