

Tervetuloa oppimismateriaalin pariin!

Tämä materiaalipaketti on suunniteltu erityisesti lukio-opiskelijoille tueksi biologiaan liittyvien keskeisten teemojen opiskeluun ja kertaamiseen. Materiaalin avulla pääset syventämään ja vahvistamaan osaamistasi Solu ja perinnöllisyys sekä Biotekniikka ja sen sovellukset -kirjojen aiheista. Materiaali on koottu BIOS-kirjasarjan pohjalta, mutta materiaali toimii myös muiden kirjasarjojen tukena.

Materiaalissa yhdistyvät:

- selkeä teoria - keskeiset käsitteet ja ilmiöt esitetään ymmärrettävässä muodossa,
- monipuoliset tehtävät - harjoituksia, joiden avulla voit testata ja vahvistaa omaa osaamistasi,
- mallivastaukset - itsearviointiin tueksi tai opetuksessa käytettäväksi.

Voit hyödyntää materiaalia itseopiskelussa tai opettajan johdolla opetuksessa (kestää noin 75 minuuttia). Tehtävien lomassa rohkaisemme sinua pohtimaan, soveltamaan ja tekemään havaintoja, jotta opiskelu olisi mahdollisimman mielekästä ja hauskaa.

Materiaalin on luonut ABOA 2025 iGEM -joukkue, joka osallistui vuonna 2025 maailman suurimpaan synteettisen biologian kilpailuun, iGEMiin. Toivomme, että tämän paketin avulla saat uusia oivalluksia ja intoa oppimiseen - ehkäpä innostut myös tutustumaan tarkemmin synteettisen biologian kiehtovaan maailmaan!



www.aboaturku.fi

Operaatio: Kadonnut antibiootti

HUOMIO:

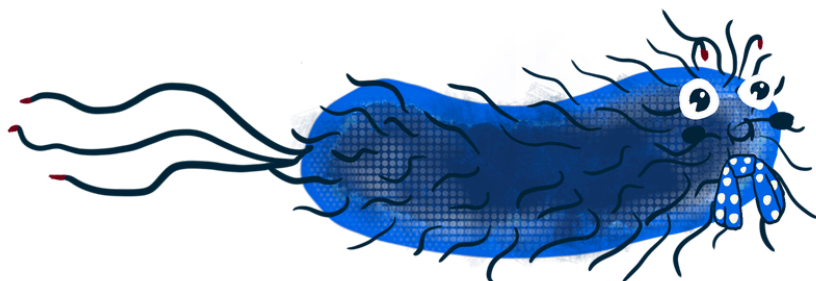
Tämä on fiktiivinen, opetuskäyttöön yksinkertaistettu tarina. Tämä ei ole oikea menetelmä antibioottiresistenssin tunnistukseen eikä korvaa laboratorio- tai hoitosuosituksia.

TARINA:

Paikallisessa sairaalassa on alkanut mystinen tartuntaketju. Oireilevien potilaiden näytteistä löytyy sama tuntematon bakteeri, joka ei näytä reagoivan tavallisiin antibiootteihin. Sairaala kutsuu sinut apuun etsimään vastauksen: mikä bakteeri on kyseessä ja millä antibiootilla se voidaan torjua?

Teidän tehtävänne etenevät oikean tutkimuksen lailla:

- DNA (eristää bakteerin DNA)
- PCR (monistaa bakteerin genomi)
- geelielektroforeesi (varmistaa, että PCR on toiminut ja onnistunut)
- sopivan antibiootin selvitys



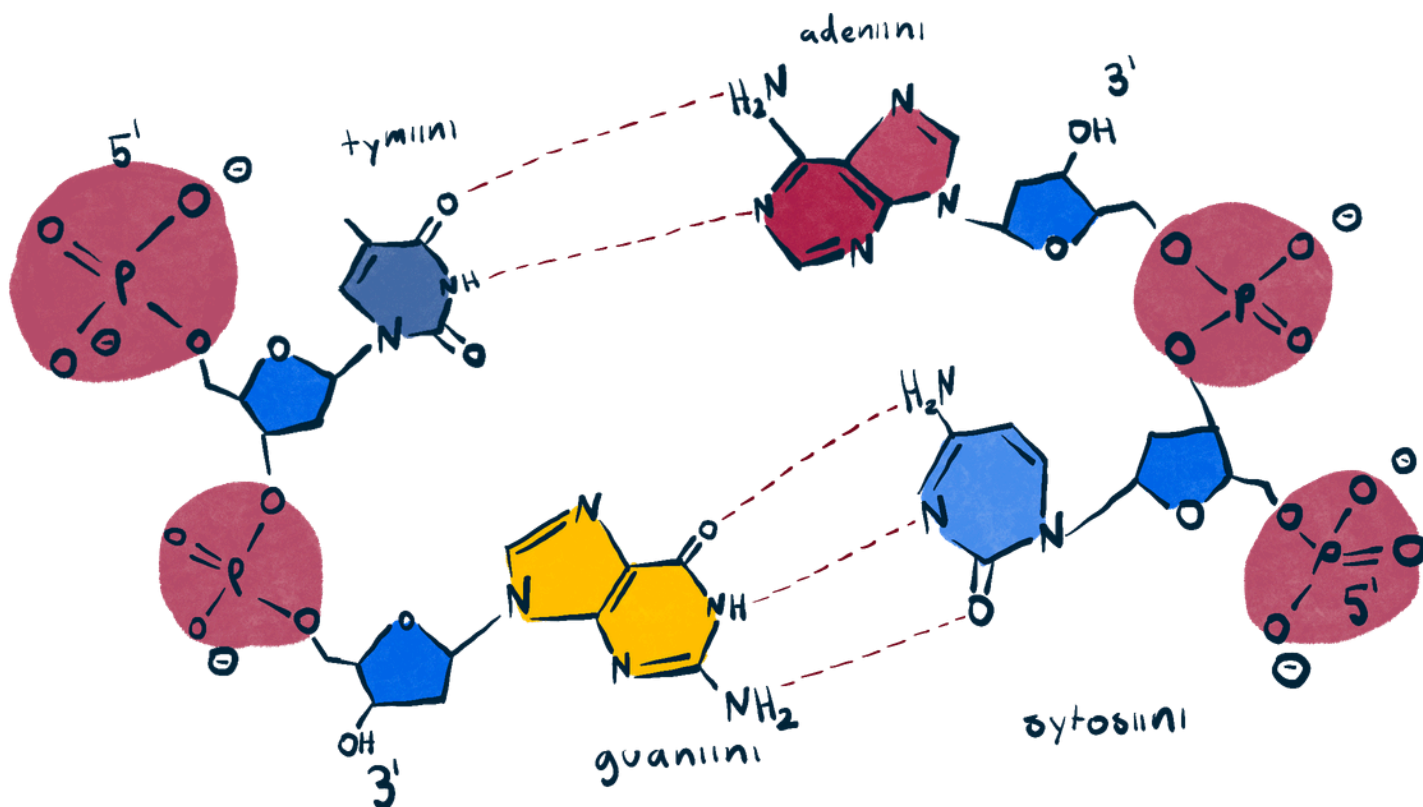
1. DNA

Tutkijat ottivat oireilevalta potilaalta näytteen, josta saatiin eristettyä bakteerin DNA:ta kemiallisin menetelmin. Ennen PCR:ää on hyvä kerrata DNA:n mekanismit ja toiminta.

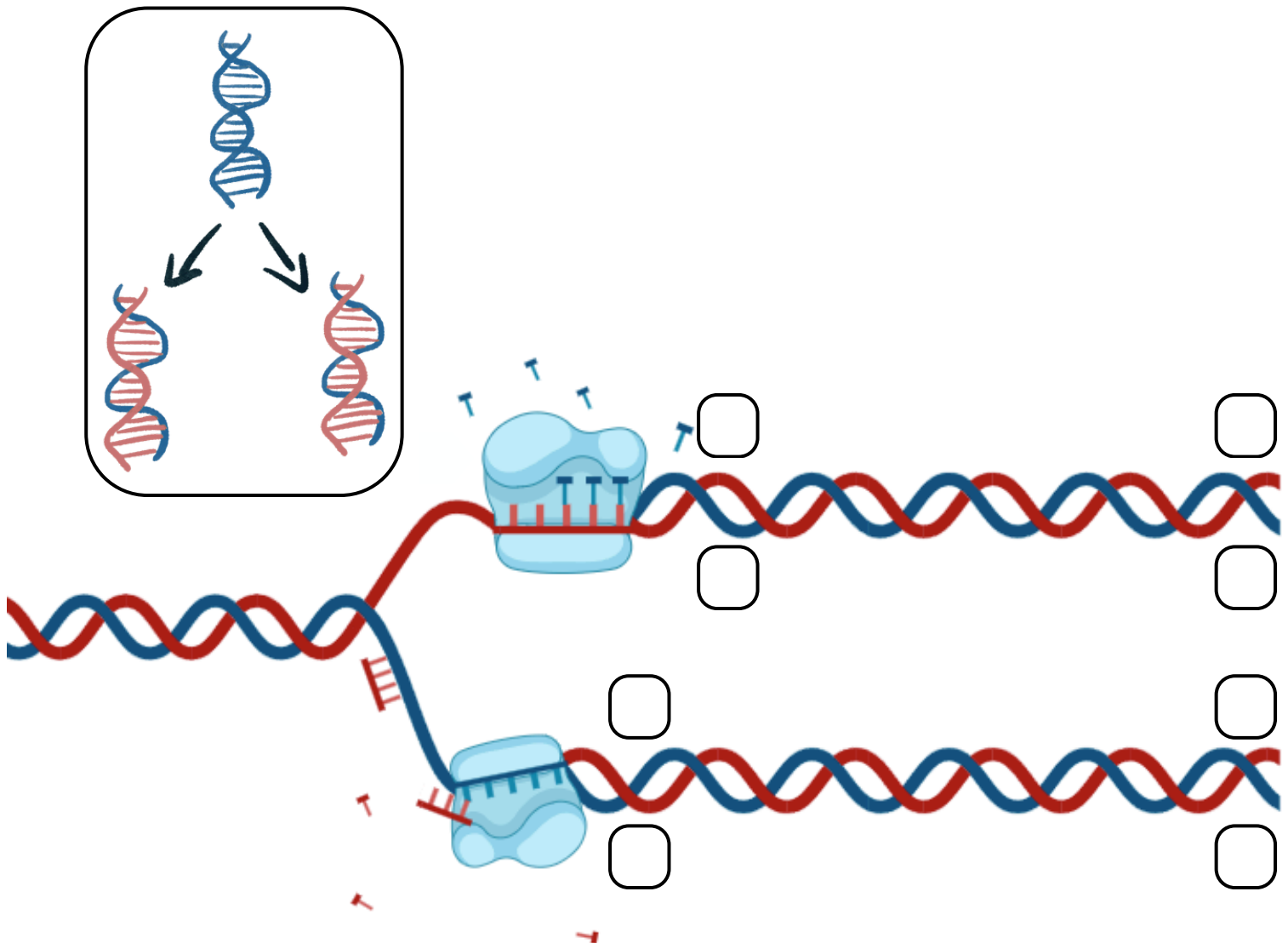
Tehtävä 1. a) Täydennä aukot

DNA eli _____ on makromolekyyli, joka kuuluu nukleiinihappoihin. DNA:han on tallennettu informaatio solujen toiminnasta. DNA on rakenteeltaan kaksijuosteista eli DNA:lla on niin kutsuttu tikapuurakenne ja se koostuu _____ eli pienistä rakenneyksiköistä, jotka toistuvat.

Nukleotidissä on sokeriosa eli deoksiriboosi, fosfaattiosa sekä emäsosa eli _____ (A), _____ (C), _____ (G) tai _____ (T). Nukleotidit kiinnittyvät toisiinsa fosfaattiosan avulla, niin että yhdessä DNA-juosteessa vuorottelevat sokeri- ja fosfaattiosa pitkittäissuunnassa. Emäsosa on puolestaan kiinnittynään sokeriosaan. Emäsosat muodostavat _____ sidoksia emäsparisäännön mukaan eli _____ muodostaa näitä sidoksia tyymiinin kanssa ja sytosiini _____ kanssa. Tämä mahdollistaa DNA-juosteiden pariutumisen ja emäkset muodostavat "tikapuun askelmat". Neljän emäksen avulla muodostetaan DNA:n geneettinen koodi, jonka avulla voidaan DNA-molekyyliin tallentaa informaatiota.



DNA:n kahdentuminen on semikonservatiivista eli toinen juosteista on peräisin alkuperäisestä juosteesta. DNA-synteesillä tarkoitetaan DNA:n replikaatiota eli kahdentumista. Siinä DNA kahdentuu eli yhdestä kaksijuosteisesta DNA-molekyylistä syntyy kaksi kaksijuosteista DNA-molekyyliä.



Created in [BioRender.com](https://www.biorender.com) 

Tehtävä 1. b) Merkitse kuvaan DNA:n 3' ja 5' päädyt kaikille neljälle juosteelle. Mihin suuntaan DNA:n replikaatio tapahtuu?

Tehtävä 1. c) Yhdistä DNA:n kahdentumisessa tarvittava entsyymi ja sen toiminta

DNA-polymeraasi	DNA:n emäsparien välisten vetysidosten katkaiseminen
Korjaaajaenstyymit	DNA-juosteen rakentaminen
Helikaasi	Kahdentumisvirheiden korjaaminen
Ligaasit	RNA-alukkeiden synteesi
RNA-polymeraasi eli primaasi	DNA-palojen yhteenliittäminen

Tehtävä 1. d) Täydennä DNA:n emäsparit

1. ATGGGCGATAGCTAGCTA
→

2. CTGATCGGATCGATGGTA
→

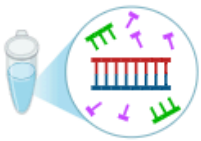
1. Sovella tietoa: Mikä ero on DNA-synteesillä (DNA:n kahdentuminen) ja transkriptiolla (proteiinisynteesi)?

2. PCR

Sairastuneilta potilailta otetuista näytteistä on saatu eristettyä vähän sairaalabakteerin DNA:ta. DNA:ta pitää monistaa PCR-tekniikan avulla, jotta sitä riittäisi tarpeeksi tutkimuksia varten.

PCR eli polymeerasiketjureaktio on menetelmä, jonka avulla DNA-pätkiä pystytään monistamaan. PCR-syklissä on kolme vaihetta: DNA:n denaturaatio eli luonnollisen rakenteen menettäminen, alukkeiden kiinnittyminen sekä pidentymisvaihe (elongaatio).

PCR-reaktio

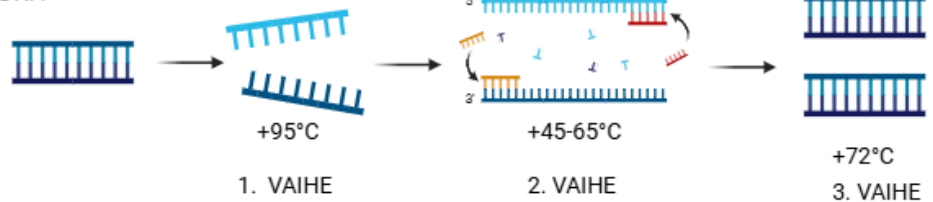


Tarvitaan:

- Monistettava DNA
- DNA-nukleotideja
- Alukkeita
- DNA-polymeerasientsyymi

PCR-sykli

Monistettava DNA



Created in BioRender.com

1. VAIHE:

Lämpötila nostetaan 95°C asteeseen, jotta DNA-juosteet eroavat toisistaan. Lämpötilan nostaminen katkaisee kaksoisjuosteiden vetysidokset, mikä aiheuttaa juosteiden erkanemisen toisistaan.

2. VAIHE:

Lämpötila lasketaan 45-65°C asteeseen, jolloin alukkeet kiinnittyvät näiden yksittäisten DNA-juosteiden 3' -päähän.

3. VAIHE:

Lämpötila nostetaan 72°C asteeseen, jossa DNA-polymeerasientsyymi aktivoituu ja muodostaa vastinjuosteiden avulla kaksijuosteista DNA:ta monistettavasta DNA:sta.

Alukkeet rajaavat kahdennettavan DNA-alueen. Syklejä voi olla niin monta kuin DNA-nukleotideja reaktiossa riittää, mutta yleensä sykliä toistetaan vähintään 25-30 kertaa, jotta DNA-molekyylä saadaan monistettua tarpeeksi. DNA kaksinkertaistuu jokaisen syklin jälkeen, joten x syklin jälkeen DNA:sta on 2^x kopiota.



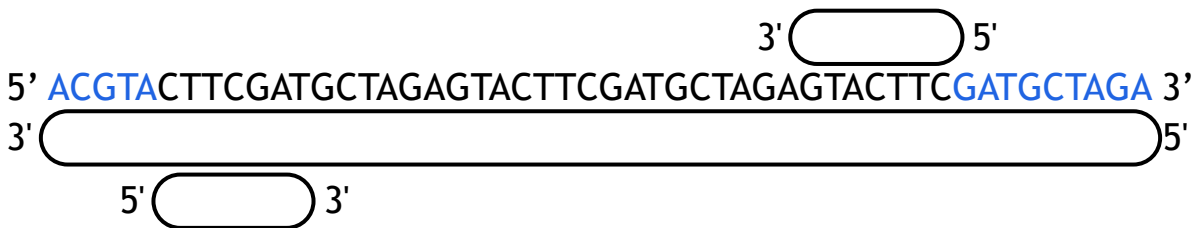
Tehtävä 2. a) Valitse oikeat asiat, jotka lisätä PCR-reaktioon

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="radio"/> Templaatti-DNA | <input type="radio"/> Helikaasi |
| <input type="radio"/> RNA | <input type="radio"/> DNA-nukleotidit |
| <input type="radio"/> Proteiineja | <input type="radio"/> DNA-polymeerasi |
| <input type="radio"/> Alukkeet | <input type="radio"/> Happoa |

Tehtävä 2. b) Mitkä ovat PCR syklin vaiheet? Mitä DNA:lle tapahtuu näissä vaiheissa?

Tehtävä 2. c) Miksi reaktioon tarvitaan alukkeita?

Tehtävä 2. d) Täydennä bakteerin DNA-sekvensille vastinjuoste ja kuuden nukleotidin pituiset alukkeet PCR:ää varten.



2. Sovella tietoa: PCR-reaktio ei toiminut ja bakteerin DNA ei monistunut. Pohdi, mikä voisi olla pielessä.

Miten varmistutaan, että näytteessä ei ole kontaminaatiota?

PCR-reaktion epäonnistumiseen voi olla monia syitä. Esimerkiksi:

PCR:n lämpösyklit ovat vääränlaiset

- PCR-reaktiolle optimaalinen lämpösykli vaihtelee DNA-pätkästä riippuen. Esimerkiksi pitkien juosteiden denaturoituminen saattaa vaatia korkeampaa lämpötilaa tai pidempää lämmitystä.
- Liian matala tai korkea lämpötila saattaa estää polymeraasin toiminnan.

Alukkeet

- Alukkeet suunniteltu väärin. 5' ja 3' -päät menevät helposti sekaisin alukkeiden suunnittelussa.
- Alukkeita on liian vähän.

Inhimillinen virhe

- Putket ovat menneet sekaisin
- Pipetointivirhe, jonka takia putkissa väärä määrä reagensseja

Rastita kaksi mielestäsi yleisintä virhettä ja pohdi, miten ne voisi ratkaista.

3. Geelielektroforeesi

Teet PCR-reaktion uudestaan ja tarkistat sen onnistumisen geelielektroforeesilla.

Tehtävä 3. a) Aseta elektroforeesin vaiheet ensimmäisestä viimeiseen.

- Negatiivisesti varautuneet molekyylit kulkevat kohti plus-napaa, positiiviset kohti miinus-napaa.
- Tutkittava aine pipetoidaan pieneen kaivoon geelin reunaan.
- Geeli värjätään tai valaistaan UV-valolla, jolloin muodostuu juovia, joista nähdään molekyylien koko.
- Pienemmät molekyylit kulkevat geelin huokosten läpi nopeammin ja etenevät pidemmälle kuin suuret.
- Geeliin johdetaan sähkövirta eli toiselle puolelle asetetaan miinusnapa (-) ja toiselle plusnapa (+).

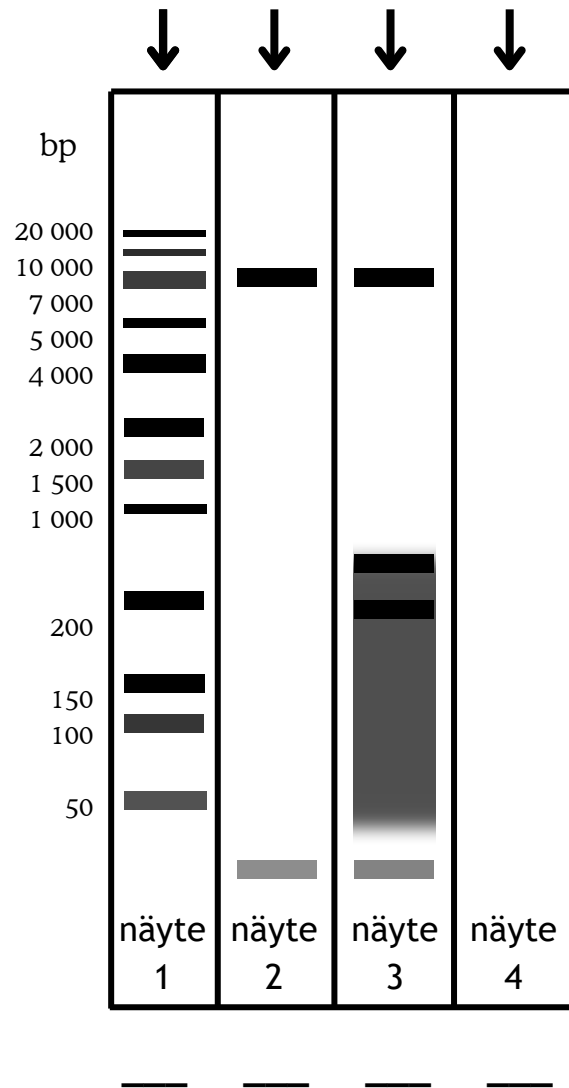
Onnistuneessa PCR-reaktiossa vain haluttu DNA-pätkä monistuu. Tämä voidaan reaktion lopuksi tarkistaa geelielektroforeesin avulla. Onnistuneesti monistuneen DNA-näytteen näytekauvon linjassa näkyy yksi selkeä viiva ja tämän viivan koko vastaa DNA:n, joka haluttiin monistaa, kokoa. Kaivojen linjoja luetaan pystysuunnassa ylhäältä alas.

Näytteen koko voidaan selvittää molekyylikoon vertailumarkkerin avulla. Vertailumarkkerin viivojen koot tiedetään entuudestaan. Se ladataan yhteen elektroforeesin kaivoista ja sen viivoja vertaamalla voidaan selvittää muiden näytteiden koko.

PCR on herkkä reaktio ja voi helposti kontaminoitua. Siksi on tärkeää varmistaa, ettei reaktioon ole vahingossa joutunut vierasta DNA:ta. Yksi keino tähän on negatiivisen kontrollin käyttö. Negatiivinen kontrolli on näyte, joka sisältää kaikki muut PCR-reaktioon vaadittavat asiat, mutta ei yhtään DNA:ta.



Tehtävä 3. b) Yhdistä oikea nimi oikeaan näytteeseen



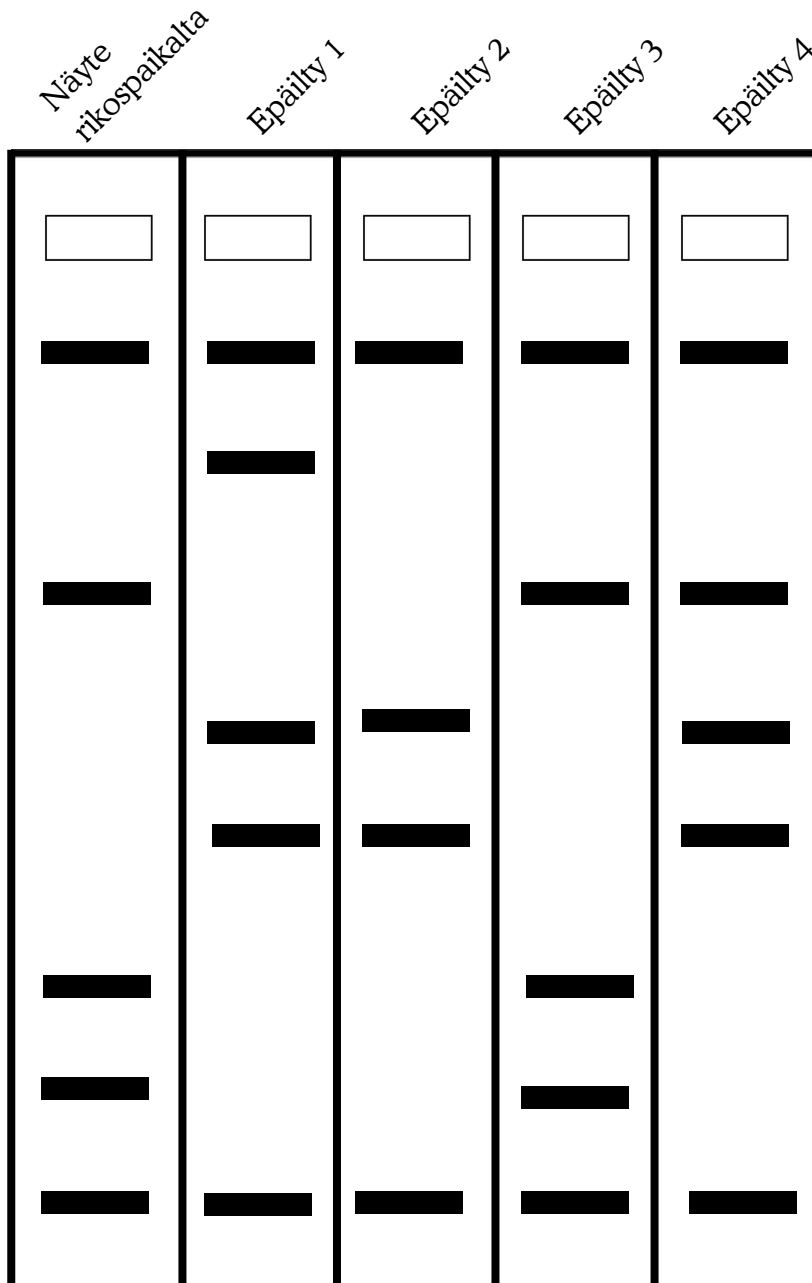
Tehtävä 3. c) Arvioi, minkä kokoinen monistamasi bakteerin DNA on.





PCR-reaktion ja geelielektroforeesin avulla voidaan selvittää myös ihmisen geneettinen sormenjälki, joka on jokaisella ainutlaatuinen. Rikostutkijat käyttävät menetelmää hyödyksi esimerkiksi epäillyn yhdistämisessä rikospaikalta löytyneeseen DNA-näytteeseen

3. Sovella tietoa: Poliisit vertaavat rikospaikalta löytynyttä DNA:ta neljän epäillyn DNA:han. Kuuluuko rikospaikalta löydetty näyte jollekin epäillyistä? _____



4. Sopivan antibiootin selvitys

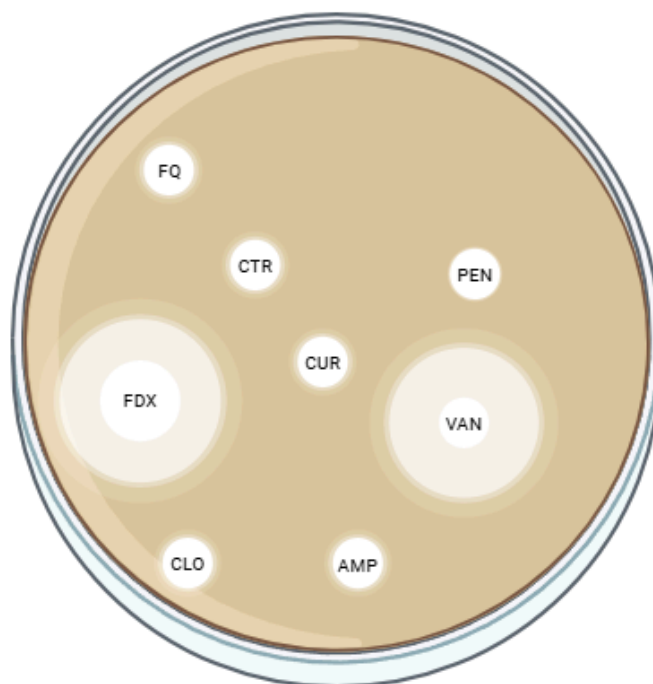
Viimeisenä askeleena haluat selvittää, mikä tai mitkä antibiootit bakteeriin tehoavat. Pystyt selvittämään tämän lisäämällä bakteeriviljelmään eri antibiootteja sisältäviä tabletteja. Jos tabletin ympärille muodostuu kirkas inhibitiorenkas, jossa ei kasva bakteereita, niin kyseinen antibiootti vaikuttaa bakteeriin. Inhibitiorenkaan halkaisijan perusteella voidaan päätellä antibiootin tehokkuus.

Tehtävä 4. a) Miten moniresistenttejä sairaalabakteereita syntyy? Käytä vastauksessasi seuraavia käsitteitä: geneettinen muuntelu, lisääntyminen, evoluutio, sairaalaympäristö

Tehtävä 4. b) Alla on kuva bakteerimaljasta, jolle on lisätty antibioottitabletteja. Mitkä antibiootit tehoavat bakteeriin kuvan perusteella? _____

Antibioottien lyhenteet:

VAN = vankomysiini
PEN = penisilliini
AMP = ampisilliini
CLO = kloksasilliini
CUR = kefuroksiini
FDX = fidaksomysiini
CTR = keftriaksoni
FQ = fluorokinolon



Tehtävä 4. c) Nyt sinulla on tarvittavat tiedot selvittääksesi, mikä bakteeri oikein on kyseessä. Vertaile bakteerin ominaisuuksia listaan tunnetuista bakteereista. Lista löytyy sivulta 10. Mikä bakteeri on kyseessä?

Tehtävä 4. d) Täytä sairaalaan lähetävä raportti, jossa kerrot tutkimustuloksesi.

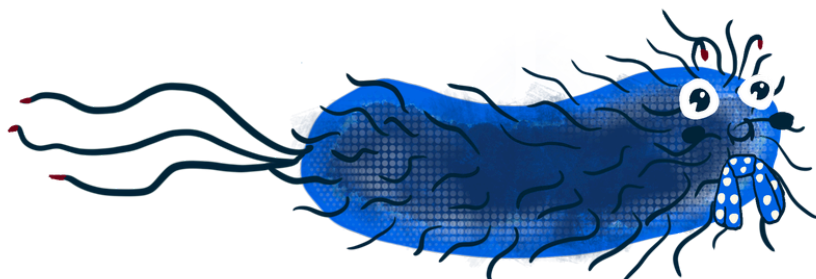
Olen selvittänyt, että kyseessä oleva bakteeri on _____.

Suosittelen sairastuneiden potilaiden hoitoon _____-antibioottia, koska _____

_____.



4. Sovella tietoa: Miksi on tärkeä syödä antibioottikuurit kokonaan?

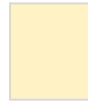


BAKTEERIT JA NIIHIN TEHOAVAT ANTIBIOOTIT

	Penisilliini	Ampisilliini	Kloksasilliini	Vankomysiini	Kefuroksiimi	Fidaksomysiin	Keftriaksoni	Fluorokinolon
E. Coli					Todennäköisesti tehoaa			Todennäköisesti tehoaa
S. Aureus			Todennäköisesti tehoaa	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen			Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen
E. faecalis		Todennäköisesti tehoaa		Todennäköisesti tehoaa				
Pneumokokki	Todennäköisesti tehoaa	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen		Todennäköisesti tehoaa	Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen
CRE **								
C. difficile				Todennäköisesti tehoaa		Todennäköisesti tehoaa		
VRE							Todennäköisesti tehoaa	
MSRA				Todennäköisesti tehoaa				
V. Lumina				Todennäköisesti tehoaa		Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen		



Todennäköisesti tehoaa



Saattaa tehotta, mutta ei optimaalinen

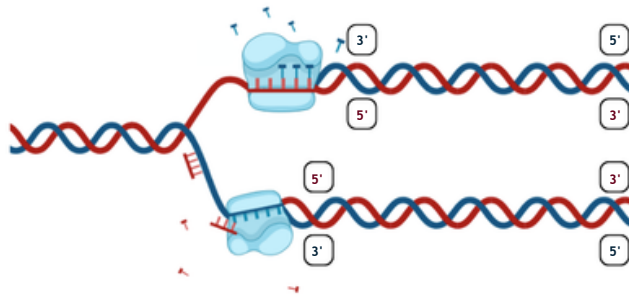
** Vaatii aina yksittäistapauksen tutkimista, ei yleisesti tehoavaa antibioottia

Huomaa: Lista on tehtävää varten tehty yksinkertaistus, eikä sitä tulisi ottaa totena

Vastaukset

1. a) deoksiribonukleiinihappo, adeniini, sytosiini, G, T, vetysidoksia, adeniini, guaniinin.

1. b) DNA:n replikaatio etenee aina 5' → 3' -suunnassa.



Created in BioRender.com bito

1. c) DNA-polymeraasi → DNA-juosteen rakentaminen, korjaaajenstyymit → kahdentumisvirheiden korjaaminen, helikaasi → DNA:n emäsparien välisten vetysidosten katkaiseminen, ligaasi → DNA-palojen yhteenliittäminen, RNA-polymeraasi → RNA-alukkeiden synteesi

1. d) TACCCGCTATCGATCGAT ja GACTAGCCTAGCTACCAT

1. Sovella tietoa:

DNA-synteesi (replikaatio)

- Tarkoitus: Kopioidaan koko DNA-molekyyli, jotta solunjakautumisessa molemmille tytärsoluille tulee täydellinen perimä.
- Tuote: Kaksi identtistä kaksoisjuosteista DNA-molekyyliä.
- Entsyymit: DNA-polymeraasi, helikaasi, ligaasi ym.
- Mallijuoste: Molempia DNA-juosteita käytetään mallina.
- Emäkset: Käytetään A, T, G, C - ja A pariutuu T:n kanssa, C pariutuu G:n kanssa.
- Suunta: Uusi DNA syntetisoidaan 5' → 3' -suunnassa.

Transkriptio

- Tarkoitus: Tehdään DNA:n geenistä RNA-kopio proteiinisynteesiä varten.
- Tuote: Yksi juosteinen RNA-molekyyli (esim. mRNA, tRNA, rRNA).
- Entsyymi: RNA-polymeraasi.
- Mallijuoste: Vain toinen DNA-juoste toimii mallina.
- Emäkset: Käytetään A, U, G, C - urasiili (U) korvaa tymiinin (T).
- Suunta: RNA syntetisoidaan myös 5' → 3' -suunnassa.

2. a) Templaatti-DNA, DNA-nukleotidit, DNA-polymeraasi, alukkeet.

2. b) DNA:n denaturaatio, alukkeiden kiinnittyminen ja pidentymisvaihe. DNA:n

denaturaatiovaiheessa DNA:n eri juosteet eroavat toisistaan, eli muodostuu yksittäisiä DNA-juosteita. Alukkeiden kiinnittymisessä alukkeet etsivät yksittäisestä DNA-juosteesta kohdan, johon se kiinnittyy. Pidentymisvaiheessa DNA-polymeraasientsyymi rakentaa vastinjuosteen ja emäspalasten avulla kaksijuosteista DNA:ta.

2. c) DNA-polymeraasi pystyy vain lisäämään nukleotideja DNA-juosteen 3'-päähän. Ilman aluketta, DNA-polymeraasilla ei ole paikkaa mihin liittää nukleotidi.

2. d) Vastinjuoste: 5' TCTAGCATCGAAGTACTCTAGCATCGAAGTACTCTAGCATCGAAGTACGT 3'

alukkeet: 5' CTTCGA 3' ja 5' GAAGTA 3'

Ensimmäisessä PCR-syklissä DNA jatkuu alukkeiden rajaaman alueen ulkopuolella. Ensimmäisen syklin jälkeen alukkeet ovat rajanneet DNA-pätkän, jonka monistamista jatketaan.

2. Sovella tietoa:

- **PCR:n lämpösyklit ovat vääränlaiset:** Varmistaa, että lämpötilat syklin eri vaiheissa ovat oikeat sekä testaa, ettei PCR-laitteessa ole vikaa, jolloin lämpötilat laitteessa ovat todellisuudessa eri kuin mitä siihen on ohjelmoituna.
- **Alukkeet:** Suunnittelee alukkeet uudelleen huolellisesti ja laittaa alukkeita reaktioon ylimäärin (enemmän kuin haluttujen monistettujen DNA-molekyylien määrä).
- **Inhimillinen virhe:** Merkitsemällä putket huolellisesti ja tarkasti sekä pitämällä selkeän työskentelyjärjestyksen. Esimerkiksi siirtämällä putken putkitelineen eri riville reagenssin lisäyksen jälkeen, jolloin voi seurata, mihin putkiin on reagenssia tähän mennessä lisätty ja mihin ei.

3. a) Tutkittava aine pipetoidaan pieneen kaivoon geelin reunaan. → Geeliin johdetaan sähkövirta eli toiselle puolelle asetetaan miinusnapa (-) ja toiselle plusnapa (+). → Negatiivisesti varautuneet molekyylit kulkevat kohti plus-napaa, positiiviset kohti miinus-napaa. → Pienemmät molekyylit kulkevat geelin huokosten läpi nopeammin ja etenevät pidemmälle kuin suuret. → Geeli värjätään tai valaistaan UV-valolla, jolloin muodostuu juovia, joista nähdään molekyylien koko.

3. b) Näyte 1- d) molekyylikoon vertailumarkkeri: Kaivossa näkyy viivoja eri kokoisten DNA-pätkien kohdalla., Näyte 2- c) bakteerin DNA: Kaivossa näkyy selkeästi pari viivaa., Näyte 3- b) kontaminoitunut bakteerin DNA: Kaivossa ei näy selkeitä viivoja, vaan epämääräinen värjäytymä., Näyte 4- a) negatiivinen kontrolli: Kaivo ei sisällä DNA:ta.

3. c) 9000 bp (bp = base pair = emäsparia)

3. Sovella tietoa: Rikospaikalta löydetty näyte kuuluu epäilylle 3.

4. a) Moniresistentit sairaalabakteerit syntyvät geneettisten muutosten (mutaatioiden ja geeninsiirron) sekä voimakkaan antibioottipaineen seurauksena. Antibioottien käytön jälkeen, jäljelle saattaa jäädä bakteereja, jotka kestävät antibioottia paremmin ja jatkavat lisääntymistään. Ne ovat siis evoluution tuote: sairaalaympäristö valikoi ne bakteerit, joilla on kyky selvitä monista eri antibiooteista.

4. b) Bakteeri on herkkä antibiooteille fidaksoysiini (FDX) ja vankomysiini (VAN).

4. c) *C. difficile* eli *Clostridioides difficile*.

4. d) Olen selvittänyt, että kyseessä oleva bakteeri on *Clostridioides difficile*/*C. difficile*.

Suosittelen sairastuneiden potilaiden hoitoon vancomycin- tai fidaxomicin-antibioottia, koska *C. difficile* ei ole resistentti kyseisille antibiooteille kasvatusmaljalla tehdyn antibioottitestin mukaan.

4. Sovella tietoa: On todella tärkeää syödä antibioottikuuri koko määrätty määrä loppuun asti, eikä lopettaa lääkettä heti kun oireet helpottavat. Syitä tähän on useita:

- Bakteerien täydellinen tuhoaminen
 - Antibiootit tappavat bakteereja asteittain. Jos lopetat ennen aikaisesti, osa bakteereista voi jäädä eloon. Nämä elossa jääneet bakteerit voivat aiheuttaa infektion uudelleen.
- Resistenssin ehkäisy
 - Jos bakteereja jää eloon, ne voivat kehittyä resistentiksi kyseiselle antibiootille. Tämä tarkoittaa, että sama antibiootti ei välttämättä tehoa seuraavalla kerralla, ja infektio voi olla vaikeampi hoitaa.
- Infektion uusiutuminen
 - Kesken jätetty kuuri voi johtaa siihen, että oireet palaavat tai infektiosta tulee krooninen.
- Ympäristön suojeleminen
 - Antibioottiresistenssi ei ole vain yksilön ongelma: resistentit bakteerit voivat levitä muille, mikä tekee tulevista infektioista vaarallisempia.