



Nuoret Tutkijat Young Scientists 2024

Lehdistötiedotteet / Press releases

Sisällys

1. Searching for new pharmaceuticals from soil bacteria.....	1
2. Testi helpottamaan sydäninfarktin diagnosointia	2
3. Erikoistyöpiskelija tutkii eroja bakteerien ja virusten välillä veren seerumista	3
4. Turun yliopistossa kehitteillä oleva menetelmä paljastaa pitkien ei-koodaavien RNA-juosteiden salaisuudet.....	4
5. Revealing the most effective methods for assessing pharmaceutical equipment	5
6. Analysis of fat molecules with the new generation separation method.....	6
7. Fermentation offers alternatives for sugar-free beverages.....	7
8. Luun järjestäytymisen tutkimuksella apua murtumien parantamiseen.....	8
9. Diplomityöntekijä selvitti prosessiparametrien vaikutuksia mikropartikkeleiden ominaisuuksiin.....	9
10. Suomalaisten järvien mikrolevissä potentiaalia omega-3 ravintolisiin	10
11. Erikoistyöpiskelija tutkii plasman ja potilasnäytteiden prosessointia	11
12. CA19-9 - a novel biomarker for prostate cancer?	12
13. Maisteriopiskelija tutkii kasvipohjaisten proteiini- lähteiden terveysvaikutuksia sokeri- ja rasva-aineenvaihduntaan.....	13
14. Uudet teknologiat biomuovien raaka-aineiden tuotannossa	14
15. Uusi pikatesti hinkuuskän toteamiseen.....	15
16. New antibody will enable precise detection of testosterone.....	16
17. Tyypin 2 diabeteksen luustovaurioiden hoitoon mahdollinen terapeuttinen kohdegeeni.....	17
18. Lopputyöntekijä kehitti tuotantoprosessia helpottavan vasta-aineiden aktiivisuusmäärityksen	18
19. Maisteriopiskelijän tutkimus valottaa omega-3 rasvahappojen ruoansulatukseen vaikuttavia tekijöitä	19
20. Finding tools to help detect a harmful algae toxin: anatoxin-a.....	20
21. A nano-particle based non-invasive technique for the early detection of Bladder Cancer.....	21
22. Olutmaltaiden kierrättäminen bioprosessoinnin avulla	22
23. Erikoistyö selvittää hoitoresistentin leukemian heikkouksia.....	23
24. Syanobakteerin sopeutumiskykyä voi hidastaa vain yhdellä geenimuutoksella	24
25. Unlocking the secrets of gene expression in bacteria: next-generation sequencing sheds light on regulatory mechanisms.....	25

26. Borrelioosin hoitoon etsitään uutta antibioottia.....	26
27. A possible solution to combat food shortages	27
28. Diplomityöopiskelija tutkii etyleenikaasun tuotantoa yhteyttävillä mikrobeilla	28
29. Proteiinin rakenne tutkimus edistää lääkekehitystä.....	29
30. Kuoppalevyjen tuotantoprosessia kehittämässä: Uuden tuotantolinjan testaus ja optimointi	30
31. Development of a mass spectrometry-based analysis method to detect poorly known lipids in fecal samples.....	31
32. Rapid detection of bladder cancer directly from human urine sources using lateral flow immunoassay.....	32
33. Preserving biodiversity: Importance of blue lupin analysis for promoting sustainable nutrition	33
34. Uusi menetelmä edistämään leimattujen vasta-aineiden laadunvalvontaa	34
35. Ruoan prosessoinnin vaikutus elimistön tulehdusarvoihin kiinnostaa elintarviketieteilijöitä.....	35
36. Uusi tutkimus osoittaa: proteiinipilkottu laktoositon A1A2-maito yhtä hyvin siedetty kuin A2-maito.....	36
37. Luotettavan geenimonistustestin taustalla ovat tehokkaat entsyymit.....	37
38. Lääkekehitysprosessiin parannusta uudella seulonalla	38
39. Decoding the aromatic symphony of Finnish apple juices and ciders - A path to premium beverage crafting.....	39
40. Hypoksian ja SUMOlaation tutkimus avaa uusia mahdollisuuksia munuaissyövän hoidossa	40
41. 3D-printed edible spoon to reduce waste.....	41
42. Identification of compounds contributing to sensory quality helps the development of novel protein products	42
43. Fermentation of Seaweed: Enhancing Health Benefits and Consumer Acceptance.	43
44. Effect of different soil conditions on fatty acids in hemp seeds	44
45. Uusi hapoton fiksatiivi molekyylipatologisiin tutkimuksiin	45
46. Stabilization of berry anthocyanins through lactic acid fermentation – potential for novel probiotic beverage?.....	46
47. Analysis and Profiling of a Newly Engineered Antibody Collection.....	47
48. From Field to Table: Innovations in Faba Bean Fermentation for Tastier and Healthier Foods	48
49. Growth location affects bioactive compounds in sea buckthorn leaves	49

50. Proof-of-Concept-Testing of Shape-Focused Pharmacophore Modeling using Acetylcholinesterase as a Test Case.....	50
51. Turun yliopiston opiskelija etsii uuden sukupolven lääkeproteiineja.....	51
52. Increasing the production of Industrial enzymes by Strain Development?	52
53. PIM-kinaasit vaikuttavat rintasyöpäsolujen toimintaan säätelemällä estrogeenireseptorin aktiivisuutta ja sen kohdegeenien ilmenemistä	53
54. Pieniä vasta-aineita tarkempaan kuvantamiseen	54
55. Kaurapohjaisten maidonkorvikkeiden tuotannon CIP-pesujen optimointi mahdollistaa miljoonien litrojen vesisäästöt.....	55
56. Oat Hulls – A Sustainable Solution for Innovative Food Products.....	56
57. Retinal point mutation could contribute to visual dysfunction.....	57
58. Tunneling Nanotubes: A New Route for Enterovirus Spread Between Cells.....	58
59. Study reveals diverse roles of chloroplast enzymes in plant physiology	59
60. Uudenlainen antibiootti lugdunomysiini tutkimuksen kohteena	60
61. Kauran myllyjätteestä voidaan tuottaa biopoltoainetta	61
62. Embigiini kiinnittää solun ympäristöönsä sekä osallistuu solun aineenvaihduntaan	62
63. Modifying the transcriptional machinery of cyanobacteria can unravel their biotechnological potential.....	63
64. Diplomityöntekijä perehtyy turkulaisyrityksen innovatiiviseen lääkevalmisteen valmistusprosessiin.....	64
65. Uusi sylkinäytteen keräystekniikka helpottamaan kotitestausta.....	65
66. Exploring the potential of bladderwrack’s fermentation	66
67. Sienillä on uskomattomia taitoja pilkkoa yhdisteitä hyödykseen.....	67
68. Perustutkimus kartoittaa tautia aiheuttavien bakteerien toimintamekanismeja	68
69. Paperipohjainen testialusta korvaamaan muovisia alustoja laboratorioon	69
70. 3D-tulostetun metallin vaikutus solujen elinkelpoisuuteen – mahdollisuus potilaskohtaisille nikkeli vapaille proteeseille?	70
71. Phenolic compounds in oat and rice products	71

Searching for new pharmaceuticals from soil bacteria

The soil bacteria, Streptomyces, produce a large variety of natural products. These natural products account for two-thirds of antibiotic drugs in use today. However, under the looming threat of an antimicrobial resistance crisis, new antibiotics are urgently needed. In hopes of discovering new drug candidates, Aleksi Kauro co-cultivated Streptomyces together with different yeasts to see if new natural products are produced in response to the introduction of another microbe. Preliminary results have shown that unknown natural products have been produced but further analyses are still needed to identify them.

Alexsi Kauro

Supervisors: Ph.D. Keith Yamada, Prof. Mikko Metsä-Ketelä

MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

Streptomyces bacteria are commonly found in soils where they interact with a plethora of other microbes. These microbial interactions can be competitive in nature and organism specific. This may cause *Streptomyces* to produce specific natural products to kill a specific competitor. Therefore, by utilizing *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida krusei* yeast strains in a co-cultivation, we should be able to get *Streptomyces* to produce specific natural products against these yeast strains. These natural products may then be developed into new antibiotics.

In this thesis work, Kauro used six different *Streptomyces* strains and co-cultivated them with two different yeast strains. He analyzed the effect of this co-cultivation at four different levels. First, all the genomes of the *Streptomyces* strains underwent a bioinformatic analysis where their biosynthetic potential to produce natural products was evaluated. Second, microscopic images of co-cultivations were evaluated to see the extent of yeast cell consumption by *Streptomyces*. Third, culture extracts were analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to see any metabolic differences caused by the co-cultivations. Fourth, total RNA, i.e., gene expression information, was extracted, sequenced, and analyzed to obtain more detailed information of the differences seen in the chromatographic analysis. These last gene expression results are yet to be analyzed.

Bioinformatic analysis shows that the selected strains have up to 29 biosynthetic gene clusters in their genomes which could, in specific conditions, produce natural products. Microscopic evaluation shows that the yeast cells are consumed by the *Streptomyces* strains in varied amounts and HPLC analysis shows that some unknown products are produced. These results were further investigated using a gene expression analysis which is currently underway and should better link the biosynthetic potential to produce a given natural product to the observed natural product.

This study is part of a long history of utilizing *Streptomyces* bacterial cultures in drug discovery research. Hopefully, in the future this method will be used as a starting point to further unlock the drug discovery potential of *Streptomyces* and aid to attenuate the antimicrobial crisis.

Testi helpottamaan sydäninfarktin diagnosointia

Sydäninfarktin diagnosointi ei ole aina suoraviivaista, vaikka niin saattaisi olettaa. Nykyiset testit eivät anna yksinään luotettavaa tulosta, vaan diagnosoinnissa joudutaan turvautumaan useisiin aikaa vieviin rinnakkaisiin menetelmiin. Turun yliopistossa diplomityötä tekevä Alvar Rosenqvist on kehittänyt testiä, jolla diagnosointia voitaisiin yksinkertaistaa.

Alvar Rosenqvist

Ohjaajat: TkT. Satu Lahtinen ja DI. Selma Salonen
BIOTEKNISET JÄRJESTELMÄT (DI)

Nykyinen sydäninfarktin diagnosointi perustuu sydänfilmin ohella potilaan verestä mitattavien sydänperäisten troponiinien pitoisuuden määrittämiseen. Kuitenkin veren troponiinipitoisuus voi olla koholla muista sairauksista tai terveydellisistä tiloista johtuen, mikä vaikeuttaa varman diagnoosin tekemistä. Rosenqvistin kehittämä testi pystyy mittaamaan samanaikaisesti sydänperäisen troponiini T:n eri muotoja.

—Kehittämämme testi pystyy mittaamaan samanaikaisesti troponiinin pitkän muodon ja veren kokonaistroponiinin pitoisuuden. Tämä voisi mahdollistaa varmemman diagnosoinnin ja voisi vähentää diagnosointiin vaadittavaa työmäärää, Rosenqvist kertoo.

Sydänlihaskaurion seurauksena verenkiertoon vapautuu sydänperäisiä troponiineja. Nämä troponiinit pilkkoutuvat ajan kuluessa pienemmiksi fragmenteiksi. Troponiinin pilkkoutumattomia muotoja on havaittu vain akuutissa sydäninfarktissa. Esimerkiksi maratoonareilla ja loppuvaiheen munuaistautipotilailla, joilla veren kokonaistroponiinin pitoisuus on ollut koholla, on havaittu vain pilkkoutuneita troponiinimuotoja.

—Testillä pystytään alustavasti mittaamaan pitkien troponiinimuotojen suhde kokonaistroponiinin pitoisuuteen. Tämän suhteen on havaittu olevan suurempi sydäninfarktipotilailla verrattuna esimerkiksi loppuvaiheen munuaistautipotilaisiin, Rosenqvist kertoo.

Herkkä samanaikainen tunnistus eri värisillä leimapartikkeleilla

Samanaikainen tunnistus toteutettiin käyttämällä kahta eri väristä valoa tuottavaa käänteisviritteistä leimapartikkelia. Toinen leimoista sitoutui vain pitkiin troponiinimuotoihin ja toinen kaikkiin yleisimpiin troponiinimuotoihin. Käänteisviritteiset nanopartikkelit sopivat erinomaisesti troponiinimäärityksiin, sillä niillä voidaan saavuttaa hyvä herkkyys, eli testi kykenee mittaamaan luotettavasti pienetkin troponiinipitoisuudet.

—Käytettävät leimat vaikuttavat huomattavasti testin suorituskykyyn. Työssämme leimaerien välillä oli paljon vaihtelua, mikä huononsi määrityksen luotettavuutta erityisesti plasmanäytteissä. Kuitenkin tulokset olivat lupaavia tästä huolimatta, Rosenqvist toteaa.

Erikoistyöopiskelija tutkii eroja bakteerien ja virusten välillä veren seerumista

*Seeruminäytteistä voidaan havaita selkeä ero bakteeri- ja virusinfektioihin sairastuneiden henkilöiden välillä. Ihmisen immuunipuolustuksen osana toimiva komplementtijärjestelmä vastaa ensiaskeleista taudin nujertamiseen ja jättää jälkeensä palasia, joiden toiminnan tehokkuutta on tutkinut Turun yliopistolle erikoistyöntekijä Anton Maunu. Kyseisten komplementin komponenttien tehokkuus nujertaa tunnetun bakteerin, *Escherichia coli*, eri nopeuksilla riippuen näytteen antaneen potilaan sairaudesta.*

Anton Maunu

Ohjaaja: Dos. Jari Nuutila
SOLUBIOLOGIA

Maunu tutkii Turun yliopistollisen keskussairaalan ensiapuun ja infektio-osastoille tulleiden potilaiden pakastettuja seeruminäytteitä. Maunu on jo löytänyt merkittäviä eroja seeruminäytteiden komplementtiaktiivisuuksissa bakteeri- ja virusinfektioita sairastavien potilaiden välillä. Menetelmässä lusiferaasigeenillä (*luxABCDE*) transformoitua *Escherichia coli*-liuosta lisätään puskurilla laimennettuun seeruminäytteeseen, minkä jälkeen bakteerisuspension elinkykyä seurataan mittaamalla bioluminesenssivalon tuottoa luminometrisesti - elinkykyinen bakteerisuspensio tuottaa voimakkaan valosignaalin, joka vähitellen heikkenee bakteerien kuollessa komplementtiaktivaation seurauksena. Maunu myös totesi, että reaktion alussa seerumin läsnäolo ensin aktivoi bakteerien aineenvaihduntaa, mikä voitiin havaita valon määrän kasvuna.

—Reaktion edetessä bakteerisuspension valontuotto saavuttaa maksimiarvonsa, minkä jälkeen seerumin komplementti alkaa tappaa bakteereita kiihtyvällä tahdilla. Aika, jona valontuotto lähtee laskuun, on bakteeri-infektioissa keskimäärin merkittävästi lyhyempi kuin virusinfektioissa, Maunu kertoo.

Toistaiseksi Maunu on verrannut tuloksia pelkästään vahvistettujen bakteeri- ja virusperäisten infektioiden välillä, mutta on mahdollista, että eroja saattaa löytyä myös muiden ryhmien, kuten esim. gram-negatiivisten ja -positiivisten bakteeri-infektioiden, sekä pneumonisten ja ei-pneumonisten virusinfektioiden välillä.

—Johtuen suhteellisen heikosta sensitiivisyydestä (63%) ja spesifisyydestä (64%), komplementtimenetelmä ei nykyisellään sovellu käytettäväksi bakteeri-virus-erotusdiagnostiikkaan. Syvällisempi tulosten tarkastelu voi kuitenkin jatkossa tuoda esiin uusia menetelmän herkkyyttä parantavia seikkoja, Maunu toteaa toiveikkaana.

Maunun mielestä tutkimusmenetelmällä on siis potentiaalia diagnostiikan lisätyökaluna.

—Tutkimusmenetelmä saattaa vaatia myös hiomista, mutta jatkan itse vielä eri diagnoosien parissa sekä perehdyn lisää tutkimustuloksiin.

Turun yliopistossa kehitteillä oleva menetelmä paljastaa pitkien ei-koodaavien RNA -juosteiden salaisuudet

Pitkän ei-koodaavan RNA:n on pitkään tiedetty säätelevän solujen kasvulle ja selviytymiselle keskeisiä toimintoja, kuten aineenvaihduntaa. Turun yliopiston maisteriopiskelija Beda Anttila on kehittänyt yhdessä Kööpenhaminan yliopiston kanssa uutta menetelmää, jonka avulla voitaisiin tunnistaa uusia RNA-juosteiden ja proteiinien muodostamia säätelykomplekseja.

Beda Anttila

Ohjaajat: FT. Matti Turtola, FT. Desire Garcia Pichardo, Prof. Sebastian Marquardt
BIOKEMIA

Anttila on viime vuoden aikana kehittänyt menetelmää, jolla pystyttäisiin vertailemaan, mitkä proteiinit kiinnittyvät proteiinia koodaaviin lähetti-RNA (eng. messengerRNA, mRNA) juosteisiin ja mitkä pitkiin ei-proteiinia koodaavien RNA-juosteisiin (eng. long non-coding RNA, lncRNA) hiivasoluissa. Tulokset uudesta menetelmästä ovat lupaavia.

— Menetelmällä on jo pystytty havaitsemaan ja eristämään RNA-proteiinikomplekseja ja kääntämään mRNA ja lncRNA juosteet helpommin tutkittavaksi vastin-DNAksi. Seuraava askel olisi sekvensoida vastin-DNA näytteet eli selvittää mitkä proteiinit vuorovaikuttavat mRNA juosteiden ja mitkä lncRNA juosteiden kanssa, Anttila intoilee.

Roska paljastuikin merkittäväksi

Anttilan tutkimus keskittyy tunnistamaan eroja mRNA- ja lncRNA-proteiinikompleksien väliltä. Erot voivat auttaa meitä ymmärtämään solujen säätelymekanismeja ja lncRNAn merkitystä entistä syvällisemmin.

— Tiedemaailmassa oli pitkään vallalla käsitys, että kaikki geenien välissä oleva DNA, joka ei koodaa proteiineja olisi hyödytöntä, niin sanottua ”roska-DNA:ta”. Viime vuosikymmenen aikana tästä ajatuksesta on jo onneksi vähitellen luovuttu, kun geenien välisestä DNA:sta on löydetty toiminnallisia jaksoja. Vaikka nämä jaksot eivät koodaa proteiinia, niillä on havaittu olevan selkeä tarkoitus solussa. Niiden on esimerkiksi havaittu säätelevän proteiineja koodaavia geenejä. Mahdolliset mRNA-proteiinikompleksien ja lncRNA-proteiinikompleksien väliset erot voivat paljastaa lncRNA:sta piileviä kykyjä, joita emme ole vain vielä huomanneet, Anttila kertoo.

Anttila uskoo, että menetelmää voisi tulevaisuudessa hyödyntää esimerkiksi sellaisten lncRNA:iden tutkimiseen, jotka vaikuttavat sairauksien puhkeamiseen.

— Käytin tutkimuksessa leivinhiihvasta rakennettua hiivakirjastoa, joka sisälsi tuhansia erilaisia geenimuunneltuja leivinhiivakantoja. Käytin kyseistä hiivakirjastoa, koska siihen tehdyt geenimuunnelmat mahdollistivat hiivasoluissa muodostuneiden RNA-proteiini kompleksien tunnistamisen ja eristämisen hiivasoluista. Mikään ei kuitenkaan estä rakentamasta samanlaista menetelmää tulevaisuudessa kasvi- tai ihmissoluviljelmiin. Jo nyt lncRNA:n tiedetään vaikuttavan ihmisillä esimerkiksi syövän kehittymiseen ja joidenkin neurologisten sairauksien puhkeamiseen. Siirtämällä tämä, kehitteillä oleva menetelmä ihmissoluviljelmiin voitaisiin tunnistaa lisää mekanismeja, joilla sairauksien syntyyn vaikuttavat lncRNA:t toimivat soluissa, Anttila pohtii.

Revealing the most effective methods for assessing pharmaceutical equipment

The most important aspects affecting the efficiency of qualification process are time and money, which are widely affected by the resources and expertise available. Thesis worker Cecilia Österlund has been investigating different qualification pipelines of pharmaceutical process equipment at Elomatic Oy and aims for designing the most efficient one to be utilized in their company.

Cecilia Österlund

Supervisors: Prof. Yagut Allahverdiyeva, M.Sc.Tech. Anne-Maarit Hiekka
SUSTAINABLE BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES (TECH.)

Qualification is a process establishing the suitability of the equipment for its intended purpose. In her project, Österlund is comparing two different qualification pipelines for pros and cons to find the most suitable for their company. The first qualification workflow was performed fully in-house, whereas the other consisted of a bought qualification test package supplemented by additional tests and documentation.

— All qualification projects are different. They depend on the equipment, the intended use of it, and the standard operating procedures of the company, explains Österlund.

Österlund claims, that despite the uniqueness of each qualification project, availability of the resources and expertise of the equipment plays key role in the efficiency of the workflow.

— If all necessary resources are available in-house, conducting the whole qualification process internally saves time and expenses. On the contrary, if there is lack of equipment-specific knowledge, studying and investigating the equipment can be extremely time-consuming and jeopardise the project for costly missteps.

Österlund's project was divided in two parts: documentation and testing. She explains that the responsibility on patient safety in pharmaceutical industry makes the qualification and its documentation especially strict. All her documents were reviewed and approved by several other people, to ensure accuracy and validity of the documentation.

In her experience, the qualification testing she performed, was quite straight forward. It was the outsourced testing, which caused more trouble. Österlund saw that the external qualification personnel needed to be supervised closely to understand the executed work and its outcome and to avoid errors in documentation. Thus, the approval of the qualification work would go as smoothly as possible.

Even though Österlund's results are targeted for their company only, she sees the opportunity for wider use of them.

— Qualification is applicable to all fields of study. Whenever a change is made or something new is taken into use in critical area, the suitability has to be verified, tells Österlund. The results from my project can be further examined and implemented in other companies as well, to find the most suitable and the most efficient qualification pipelines for their use.

Analysis of fat molecules with the new generation separation method

Dilakshi Naotunna, a Master of Technology student in Food Development, was able to develop a method to separate different fat molecules using a supercritical fluid chromatography (SFC) technique, which is a new generation separation instrument. Besides that, Naotunna applied the developed method to find the relative abundance of different fat molecules (sn-PPO, sn-OPP, POP, sn-OOP, sn-POO and OPO) in selected vegetable oils. The overall goal of this study was to familiarise oneself with the operating principles of SFC instrumentation.

Dilakshi Naotunna Palliya Guruge

Supervisors: Ph.D. Marika Kalpio, Prof. Baoru Yang
FOOD DEVELOPMENT

After experimenting with different methods with different SFC conditions, the optimum SFC conditions for the separation of different fat molecules were found. We used 2 similar chiral columns for the separation process. These new generation instruments enable more accurate and repeatable results without the need for extensive sample preparation. Additionally, this technique now facilitates chiral separation, further expanding the analytical capabilities of SFC. We employed a mass spectrometer with an electrospray ionization source for the detection of fat molecules.

What were the outcomes of this study?

The developed method demonstrates outstanding efficacy in separating fat molecules. However, some fat molecules with three different fatty acids posed challenges in separation, indicating potential areas for further exploration. The study examined a range of vegetable oils, including rapeseed oil, olive oil, oat oil, sunflower oil, avocado oil, and rice bran oil. Results revealed insights into the relative abundance and ratios of fat molecules present in these oils, suggesting the enantiomers present in these oils are not racemates. Through optimization of SFC conditions, we were able to separate fat molecules within 35 minutes.

Why is this study important?

This study helps us to understand how to deal with the challenges of studying different kinds of fats, which can make analysis more difficult. CO₂ used in SFC is environmentally friendly and consumes less amount of organic solvents compared to traditional methods. Therefore, SFC is considered a low-cost greener alternative to traditional techniques, and it requires less energy. This aligns well with the growing interest in sustainable and environmentally friendly analytical methods. Our research opens the door for more studies in various fields including food science, pharmaceuticals, and metabolomics. Using this new method, we can learn important things about the fats in our food and how they affect our body functions.

Fermentation offers alternatives for sugar-free beverages

Fermented beverages with live microorganisms are beneficial to health but are less stable during storage. To improve shelf life, Dzmitry Paturemski, Master's degree student of the University of Turku, has developed prototypes with low-calorie sweeteners for one such beverage – water kefir. The prototypes successfully produce flavor and taste characteristics similar to the original water kefir, thus opening a way for development of more stable probiotic drinks.

Dzmitry Paturemski

Supervisors: Ph.D. Saska Tuomasjukka, D.Sc. (Tech.) Niina Kelanne, Ph.D. Docent Oskar Laaksonen
FOOD DEVELOPMENT (TECH.)

In his research, Dzmitry Paturemski developed the product prototypes of flavoured water kefir by partially replacing fermentable sugars with natural non-fermentable sweeteners. Paturemski studied whether this change in the recipe resulted in differences in the taste, odour, and mouthfeel of the product. The results showed that differences in sweetness, sourness, and fizziness are detectable in water kefir with different sweeteners, but there is now perceivable difference in other odours and tastes.

“We can link the difference in sweetness and sourness to the concentration of sugar and other sweeteners in the tested prototypes. However, people perceive other flavours as similar in intensity. This is important because it shows us that change in sweeteners does not affect the fermentation nor the final product to a noticeable extent,” Paturemski adds.

A potential solution for more stable storage

Water kefir is soft, slightly alcoholic beverage made with sugared water or juices. They are produced with the help of water kefir grains that contain communities of yeasts and bacteria that ferment the drink. Previous studies associate part of the bacteria found in water kefir with potential health benefits, so Paturemski with his supervisor do not want to kill the microorganisms creating the drink.

“However, alive microorganisms and residual fermentable sugars equals to continuing fermentation even in cold storage,” Paturemski says. “This low-rate fermentation over several months can result in an extremely fizzy beverage that might be still good in taste but is not convenient to drink anymore,” he continues.

The researcher worked on a solution, in which he limited the amount of carbohydrates available for fermentation by using non-fermentable sweeteners. As the number of different bacterial and yeast species in water kefir is quite big, Paturemski assumed that addition of non-fermentable sweeteners could still affect the fermentation and change the sensory qualities of the product. Nevertheless, even though gas chromatography revealed differences in some volatile compounds, these differences proved to be not perceivable during tasting, as the sensory evaluation revealed.

According to the researcher, future product development could focus on the shelf life of the products and adjustments in their sweetener concentrations to adapt them to consumer preferences.

Luun järjestäytymisen tutkimuksella apua murtumien parantamiseen

Turun yliopiston biokemian laitoksen pro gradu -tutkimuksessa Eemeli Vahteristo tutkii tapoja vaikuttaa luun rakenteeseen laboratorio-oloissa kasvatetussa luussa. Sopivalla löydöllä voisi olla suuri vaikutus luusta tehtyjen proteesien valmistukseen tai murtumien parantamiseen.

Eemeli Vahteristo

Ohjaajat: Dos. Tuomas Näreöja, Katerina Filatova

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Luun pääraaka-aineet ovat kollageeni, suuri kuitumainen proteiini sekä hydroksiapatiitti eli luun mineraaliaines. Näiden ainesosien järjestäytyminen vaikuttaa luun lujuteen ja kestävyYTEEN; satunnaisesti järjestynyt luu on heikompaa kuin kerroksittain järjestynyt luu ja sitä esiintyy luonnossa yleensä vain luunmurtuman jälkeen.

Nykyiset proteesit valmistetaan metallista tai posliinista, eikä liitospintaan muodostu lujaa järjestäytyntä luuta. Tutkimuksessa pyritään määrittämään mitkä seikat ovat oleellisia järjestäytyneen kerrosmaisena rakenteen syntymisessä. Tiivis ja luja liitos estäisi proteesin mikrovauriot, jotka aiheuttavat hylkimisreaktioita ja lopulta proteesin irtoamisen.

Luuta valmistavat osteoblastit eli luunmuodostussolut, joiden olosuhteita muuttamalla voidaan vaikuttaa luun ominaisuuksiin. Ensisijainen teoria tutkimuksessa on ollut nestevirtauksen vaikutus osteoblasteihin. Luun taipuessa sen sisältämät hiussuonet ja kudospöte liikkuvat nopeasti pieniä kanavia pitkin luun sisällä.

Tutkimuksessa Vahteristo käyttää hiiren osteoblasteja, joita hän kasvattaa virtauksen mahdollistavilla kasvatusalustoilla. Osteoblastien kokeman virtauksen on tarkoitus matkia luiden taipumisen aiheuttamaa nesteen liikettä liikunnan aikana. Soluja kasvatetaan suoraan alustalla tai kollageenigeelillä tarkoituksena tutkia täysin uuden luukudoksen muodostumista sekä vanhan, satunnaisesti järjestäytyneen luun muokkausta järjestäytyneeksi.

Diplomityöntekijä selvitti prosessiparametrien vaikutuksia mikropartikkeleiden ominaisuuksiin

Monet prosessiparametrit vaikuttavat mikropartikkeleiden ominaisuuksiin, mikä hankaloittaa niiden kehittämistä lääkeaineiden kuljetussysteemeiksi. Turun yliopistossa diplomityötä tekevä Ella Suistala selvitti, että parametrit kuten polymeerin ja malliaineen konsentraatio sekä valmistusmenetelmä vaikuttivat mikropartikkeleiden kapselointitehokkuuteen sekä vapauttamiskäyttäytymiseen.

Ella Suistala

Ohjaajat: DI Juuso Pohjola, FT Riku Sundell

BIOTEKNIikka

Suistalan tavoitteena oli saada laaja kuva prosessiparametrien vaikutuksista mahdollisia tulevia lääkekehitysprojekteja varten. Mikropartikkeleiden valmistuksessa korkea kapselointitehokkuus on tärkeää, jotta kallista lääkeainetta ei joudu hukkaan. Suistala tutki kapselointia malliaineilla ja onnistui kapseloimaan malliaineita mikropartikkeleiden sisälle korkein kapselointitehokkuuksin.

—Yli 90 prosentin kapselointitehokkuus saavutettiin pienimmällä malliaineen konsentraatiolla. Lisäksi kapselointia tehosti kapselointi kaksoisemulsion sisälle yksittäisemulsion sijaan, Suistala toteaa.

Mikropartikkeleita voidaan hyödyntää lääkeaineiden kontrolloituun ja pitkäaikaiseen vapauttamiseen elimistössä. Mikropartikkeleiden heikkoutena on kuitenkin usein niiden epätasainen lääkeaineen vapauttaminen. Etenkin ensimmäisen päivän aikana lääkeainetta voi vapautua suuria määriä. Suuri lääkeaineen vapautuminen pienellä aikavälillä voi nostaa lääkeaineen pitoisuuden elimistössä myrkylliseen pitoisuuteen. Suistala tutki toisen malliaineen vapautumista mikropartikkeleista yli 100 päivän ajan.

—Vapautuminen oli ensimmäisen päivän aikana pienintä partikkeleilla, jotka oli valmistettu suurimmalla polymeerikonsentraatiolla ja kaksoisemulsiomenetelmällä, kertoo Suistala.

Suistala valmisti mikropartikkeleita kahdella eri valmistusmenetelmällä. Toinen oli perinteisempi menetelmä, jossa partikkelit valmistetaan homogenisattorin avulla ja toinen oli uudenaikaisempi menetelmä, jossa partikkelit muodostuvat mikrofluidistiikan avulla.

—Mikrofluidistisella menetelmällä vain toisen malliaineen kapselointi onnistui ja sen kapselointitehokkuus oli vain puolet siitä, mitä saavutettiin homogenisoinnalla. Mikrofluidistinen menetelmä on kuitenkin potentiaalinen tekniikka mikropartikkeleiden valmistukseen, sillä se mahdollisti hyvin tasalaatuisten plasebopartikkeleiden valmistuksen, mikä ei ollut mahdollista homogenisoinnilla, Suistala sanoo.

Suistala kehottaa mikrofluidistisen menetelmän kehittämisen jatkamista, sillä näkee siinä potentiaalia tulevaisuuden lääkekehityksessä.

Suomalaisten järvien mikrolevissä potentiaalia omega-3 ravintolisiin

Mikrolevät ovat täynnä hyviä ravintoaineita, mutta levien hyötykäyttö elintarvikkeena on vielä vähäistä. Elsa Haloila tutki diplomityössään kolmen valitun mikrolevälajin lipidi- ja rasvahappokoostumusta. Lajeista löytyi potentiaalia omega-3 -ravintolisien raaka-aineeksi.

Elsa Haloila

Ohjaajat: PhD Gabriele Beltrame, Dos. Annelie Damerou, Prof. Kaisa Linderborg
ELINTARVIKEKEHITYS

Haloila tutki työssään kolmen mikrolevälajin lipidikoostumusta. Välttämättömien pitkäketjuisten omega-3 -rasvahappojen eikosapentaeenihapon ja dokosaheksaeenihapon pitoisuuksissa löydettiin selkeitä eroja lajien välillä. Tutkimuksessa neutraalit ja polaariset lipidit eroteltiin toisistaan kiinteäfaasiuutolla lipidiryhmien tunnistamaisen helpottamiseksi. Tarkemmat lipidi- ja rasvahappoanalyysit tehtiin kromatografisilla menetelmillä. Neutraaleista lipideistä löydettiin eniten triasyyliglyseroleja ja polaarista lipideistä erityisesti levien kalvorakenteissa esiintyviä monogalaktoosyyliidiasyyliiglyseroleja.

Levien rasvahappo- ja lipidikoostumukset vastasivat aiempien samantyyppisten tutkimusten tuloksia mikrolevien koostumuksesta. Käytettyjä tutkimusmenetelmiä ei kuitenkaan oltu tutkimusryhmässä aiemmin kokeiltu levänäytteille ja ryhmässä syntyi ideoita, miten menetelmiä voisi edelleen parantaa levänäytteiden tutkimiseksi.

Tuotekehitys vaatii jatkotutkimusta

- Tutkimieni mikrolevälajien *Gymnodinium impatiens*, *Cryptomonas sp.* ja *Euglena velata* lipidikoostumuksista oli vain vähän aiempaa tutkimustietoa, mikä teki projektista mielenkiintoisen, Haloila kertoo.

Levät on alun perin kerätty suomalaisista järvistä, minkä jälkeen niitä on kasvatettu laboratoriossa. Levänäytteistä on kiittäminen Jyväskylän yliopiston AquaOmics -projektia ja apulaisprofessori Sami Taipalettä.

-Saamistani tuloksista on tietysti vielä pitkä matka siihen, että kyseisistä levistä voitaisiin alkaa tuottaa ravintolisiä teollisessa mittakaavassa. Uuden raaka-aineen käyttö vaatisi uuselintarvikeluvan, minkä lisäksi pitäisi varmistaa, ettei tuotteessa ole mikroleviin mahdollisesti kertyneitä haitallisia aineita kuten raskasmetalleja, Haloila muistuttaa.

Vaikka matkaa valmiiksi tuotteeksi on vielä paljon, on tutkimuskohde itsessään tärkeä. Tavallisesti pitkäketjuisia omega-3 -rasvahappoja saadaan runsaasti kalasta ja kalatuotteista. Kasvipohjaisten tuotteiden kehittämisen avulla voidaan vaikuttaa siihen, ettei vesistöjä liikakalasteta, ja että riittävä terveellisten rasvahappojen saanti voidaan taata kaikille.

Erikoistyöopiskelija tutkii plasman ja potilasnäytteiden prosessointia

Radiometer Turku Oy valmistaa myytävien tuotteidensa laadunvalvontatarkoituksiin puolivalmisteita, jotka koostuvat plasmamatriisista sekä potilas- tai rekombinanttiantigeenistä. Erikoistyöopiskelija Emilia Hemmilä on tutkinut Radiometer Turku Oy:llä potilasnäytepoolien suodattamista sekä plasman prosessointia ja sulatusta.

Emilia Hemmilä

Ohjaaja: Dr. Jonna Hakulinen

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Hemmilä testasi erikoistyössään eri valmistajien suodattimia potilasnäytepoolien suodattamiseen mahdollisten hyytymien poistamiseksi. Tutkimuksissa selvisi, että suurempi kiekkosuodattimen membraanin halkaisija sekä suurempi suodatusalue mahdollistivat paremman näytteen virtauksen suodattimen läpi. Lisäksi Hemmilä testasi, voisiko potilaspoolien suodatuksen poistaa kokonaan, ja miten potilasnäytepoolien tilavuus plasmamatriisiin kokonaistilavuudesta vaikuttaa plasman hyytymiseen. Hän sai selville, että ≥ 9 % potilasnäytepoolin tilavuussuhde plasman kokonaistilavuudesta johti plasmamatriisiin hyytymiseen potilasnäytepoolin suodatuksesta huolimatta.

Testatessaan lyhyempiä plasman sulatusprotokollia nykyisen pitkän sulatusprotokollan korvaajaksi, Hemmilä havaitsi, että 24 tuntia +4 °C:ssa sulatettu plasma ei hyytynyt +4 °C:een säilytyksessä, kun taas +37 °C:ssa sulatettu plasma hyytyi. Lisäksi tutkitut antigeenit pysyivät stabiileina molemmissa plasmamatriiseissa vaatimusten mukaisesti. Lyhyempi sulatusprotokolla helpottaisi ja nopeuttaisi huomattavasti näiden puolivalmisteiden valmistusprosessia, sillä tällä hetkellä plasmaa prosessoidaan viikon ajan eri lämpötiloissa ennen sen käyttöönottoa, Hemmilä toteaa. Hemmilä testasi myös vaihtoehdoisen plasmatoimittajan plasmaa puolivalmisteiden plasmamatriisiksi, ja tulokset olivat lupaavia, sillä antigeenit pysyivät stabiileina valmistajan plasmassa.

Erikoistyössä plasman prosessointiin liittyvät kokeet perustuivat kahden eri antigeenin stabiilisuuden tutkimiseen plasmamatriisissa. Tavoitteena oli, että antigeenit pysyvät stabiileina vaatimusten mukaisesti ja ettei plasmamatriisi lähde hyytymään.

Odottamattomilta käänteiltä erikoistyössä ei kuitenkaan ole vältytty.

Plasman +4 °C:een sulatuskokeessa Hemmilä havaitsi, että toinen tutkituista antigeeneistä ei ollut plasmamatriisissa yhtä stabiili kuin se oli aikaisemmissa kokeissa ollut, vaikkakin sen stabiilisuus oli vaatimusten sisällä. Hemmilä oli havainnut myös saman ilmiön testatessaan vaihtoehdoisen plasmatoimittajan kolmea eri plasmaerää, joissa yhdessä kyseisen antigeenin stabiilisuus laski odotettua nopeammin. Nämä tulokset osoittivat, että käytetyn antigeenin stabiilisuus on riippuvainen plasmaerästä - toisissa erissä se vaikuttaa olevan stabiilimpi kuin toisissa, Hemmilä toteaa.

Tutkimukset osoittivat lupaavia tuloksia plasman ja potilasnäytteiden prosessoinnin saralta. Jatkotutkimuksia kuitenkin tarvitaan, jotta uusi plasmatoimittaja, plasman sulatusprotokolla tai potilasnäytteiden suodatuksen poistaminen voitaisiin ottaa käyttöön, Hemmilä summaa.

CA19-9 - a novel biomarker for prostate cancer?

Glycovariant of cancer antigen 19-9 (CA19-9) could overcome the faults that prostate-specific antigen (PSA) has in prostate cancer diagnosis. Prostate cancer (PCa) is the second most common cancer in men. PSA has been used as a prostate cancer biomarker for decades. However, it has drawbacks. An MSc student Emma Relander together with a PhD student Misba Khan evaluated CA19-9 as a putative biomarker for prostate cancer. In addition, they identified protein expression patterns in prostate cancer.

Emma Relander

Supervisor: MSc Misba Khan

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

In her master's thesis, Emma evaluated a glycovariant of CA19-9 as a potential biomarker for prostate cancer (PCa). Additionally, she examined the localization of the CA19-9 glycan epitope on the proteins expressed in PCa and identified the protein expression patterns in prostate cancer.

Altered glycosylation is a hallmark of cancer. Different glycosylation sites can be detected using lectins, which are proteins that bind to carbohydrates. Our study used mannose-binding lectin (MBL), macrophage galactose-type lectin (MGL), and CA19-9 antibodies to evaluate CA19-9 as a PCa biomarker.

“When we used MBL to detect the binding, we found discrimination between the benign and prostate cancer samples. This result indicates that CA19-9 is a potential biomarker for the identification of patients with well-differentiated prostate cancer”, explains Emma.

Discovery of unique proteins expressed in prostate cancer

“To discover what proteins are expressed in the benign and prostate cancer samples, we used biotinylated CA19-9-binding antibody fragments and biotinylated MBL antibodies to bind proteins in benign and prostate cancer samples. According to the data, we identified specific proteins unique to prostate cancer samples. This is an interesting find that should be further investigated”, states Emma.

Further aspects of finding new biomarkers for prostate cancer

The current diagnosis of PCa relies on the PSA blood test. However, the PSA test has faults including deficient sensitivity and specificity of the test. In addition to the accuracy problems, the test is also unable to distinguish between metastatic tumors and those that remain indolent. These problems can lead to unnecessary biopsies of the prostate. Due to the inadequacy of using PSA as a biomarker for PCa, there is a crucial need for new biomarkers for differentiating between clinically significant PCa and benign conditions.

According to our study, the glycovariant of CA19-9 has shown its potential as a novel biomarker for identifying patients with well-differentiated PCa. In the future, it could hopefully be used as a validated prostate cancer biomarker.

Maisteriopiskelija tutkii kasvipohjaisten proteiinilähteiden terveysvaikutuksia sokeri- ja rasva-aineenvaihduntaan

Kasvipohjaisten proteiinivalmisteiden kulutus on viime vuosina kasvanut, minkä myötä markkinoille tulee jatkuvasti uusia kasviproteiinivalmisteita. Eri tavoin prosessoitujen kasvipohjaisten elintarvikkeiden vaikutuksista ihmisen terveyteen on kuitenkin saatavilla vain rajallinen määrä tieteellistä tietoa, minkä takia kaupallisten kasviproteiinituotteiden terveysvaikutusten tutkiminen on tärkeää. Turun yliopistossa kasvipohjaisten proteiinilähteiden terveysvaikutuksia on tutkinut pro gradu -tutkielmaa tekevä Emmi-Lotta Virta.

Emmi-Lotta Virta

Ohjaaja: FT Anna Kårlund, FT, laill. ravitsemusterapeutti Veera Houttu, Prof. Kati Hanhineva
ELINTARVIKEKEMIA

Elintarvikekemian maisteriopiskelija Emmi-Lotta Virta on perehtynyt pro gradu -tutkielmassaan eri prosessointiasteen omaavien kasvipohjaisten proteiinituotteiden terveysvaikutuksiin. Tutkimus on osa laajempaa Newplant-tutkimuskokonaisuutta, joka keskittyy laaja-alaisesti kasvipohjaisten proteiinilähteiden koostumuksen ja terveysvaikutusten tutkimiseen. Pro gradu - tutkielman tavoitteena on tutkia kaupallisten kasviproteiinia sisältävien tuotteiden kulutuksen vaikutusta ihmisten terveyteen aineenvaihdunnan toiminnan kannalta.

- Tutkimus on ajankohtainen, sillä elintarviketuotannossa prosessointi on lisääntyvä trendi, jonka terveysvaikutuksista tiedämme vasta vähän. Kuitenkin tiedetään, että niin kutsuttu ultraproessointi vaikuttaa elintarvikkeiden terveysvaikutuksiin yleensä negatiivisesti, Virta kertoo.

Tutkimusvälineenä ravitsemusinterventio

Terveysvaikutuksia tutkittiin ravitsemusintervention avulla. Viisi viikkoa kestänyt interventio piti sisällään kolme viikon pituista tutkimusruokavaliotjaksoa, joiden välissä tutkittavat saivat syödä tavanomaisen ruokavalionsa mukaan. Tutkimusruokavaliot koostuivat kolmen eri prosessointiluokan kasvipohjaisista proteiinituotteista (prosessoimattomat, kevyesti prosessoidut ja raskaasti prosessoidut). Interventioruokavalioiden vaikutuksia tutkittavien glukoosi- ja lipidiaineenvaihduntaan analysoitiin paastoverinäytteiden avulla.

- Pyrimme ymmärtämään paastoverinäytteiden avulla, miten eri tutkimusruokavaliot vaikuttavat tutkittavien rasva- ja sokeriaineenvaihdunnan merkkiaineisiin. Näiden merkkiaineiden muutoksia tutkiessa saamme tärkeää tietoa siitä, millaisia vaikutuksia interventiolla on ollut tutkittavien terveyteen, Virta avaa. Glukoosi- ja lipidiaineenvaihdunnan merkkiaineiden pitoisuudet on koottu, mutta tulosten käsittely on edelleen kesken.
- On ollut mielenkiintoista päästä tutustumaan kliinisen tutkimukseen. Tulevaisuudessa tuottamaamme tietoa voidaan käyttää esimerkiksi uusien terveellisempien kasviproteiinituotteiden kehittämiseen, Virta päättää.

Uudet teknologiat biomuovien raaka-aineiden tuotannossa

Syanobakteerit käyttävät hiilidioksidia ja auringovaloa valmistukseen orgaanisia hiiliyhdisteitä. Turun yliopiston molekulaarisen kasvibiologian yksikössä diplomityötään tekevä Frans Uusipaavalniemi tutkii geneettisesti muokattujen syanobakteerien mahdollisuuksia uusiutuvien kemikaalien tuotossa. Tutkimuksessa keskitytään 3-hydroksibutyraatin tuottamiseen, mistä voidaan valmistaa biomuoveja nyt käytössä olevien öljystä valmistettujen tuotteiden tilalle. Diplomityön taustalla on suuri määrä yksikössä tehtyä fotosynteesiin liittyvää molekyyli-tason tutkimusta.

Frans Uusipaavalniemi

Ohjaajat: maisteri Lauri Kakko, Samuli Pyytövaara, apulaisprofessori Pauli Kallio
KESTÄVÄT BIOTEKNISET PROSESSIT (DI)

Frans Uusipaavalniemi tutkii muokattujen syanobakteerien eli sinilevien käyttöä kemikaalien tuottamiseksi. Bakteereita kasvatetaan jatkuvatoimisessa bioreaktorissa, jossa olosuhteita on helpompi kontrolloida. Bakteereihin on geneettisesti muokkaamalla lisätty kyky tuottaa 3-hydroksibutyraattia, mikä ei ole luontainen metaboliatuote syanobakteerille. Tämä on ensimmäinen kerta, kun tällaisella menetelmällä tuotetaan syanobakteereille vierasta metabolituotetta. Tällä hetkellä bioreaktori on toiminnassa ja alustavia tuloksia bakteerien tuottopotentialista on saatu.

— Tyypillisesti syanobakteereita kasvatetaan biomassana mahdollisimman paljon, minkä jälkeen solut kerätään, hajotetaan, ja haluttu tuote eristetään muusta massasta. Tässä työssä erikoisuutena on käytettyjen bakteerien kyky erittää haluttu tuote ulos solusta, jolloin jatkuvatoiminen tuotanto on mahdollista ja jälkiprosessointiin ei kulu paljoa resursseja. Alustavat tulokset osoittavat kantojen tuottavan 3-hydroksibutyraattia, ja itse bioreaktori on ollut jo useamman viikon käynnissä, Uusipaavalniemi kertoo.

Jatkuvatoiminen kasvatus tulevaisuuden menetelmänä

Synechocystis eli työssä käytetty bakteeri on hyvin tunnettu ja toimii malliorganismina fotosynteettisten bakteerien tutkimuksessa. Muokattujen kantojen käytöstä fotobioreaktorilaitteistossa ei ole paljoa tutkimusta. Yllättäen juuri valon käyttäminen tuo omat haasteensa.

—Siinä missä valo on fotosynteesin ylläpitämisen vuoksi tärkeä energianlähde käyttämillemme syanobakteereille, on se samalla myös suurin stressitekijä. Kun tarjolla on runsaasti hiilidioksidia, syanobakteerit sitovat tehokkaammin valon energiaa kemialliseen muotoon ja kestävät paremmin voimakasta valoa. Tällöin myös tuottotehokkuus kasvaa, Uusipaavalniemi valistaa.

Kasvatukset bioreaktorissa ovat alkaneet hyvin, mutta laitteiston käyttö vaatii jatkuvaa hienosäätöä.

—Kasvatat syanobakteereita eri olosuhteissa, muuttaen pääasiassa valon voimakkuutta sekä hiilidioksidin määrää. Kerätyn datan perusteella voin määrittää tuottoprofiilit käytetyille kannoille sekä arvioida olosuhteiden vaikutusta tuotantoon. Tarkoituksena on kehittää tehokkaampia menetelmiä uusiutuvien kemikaalien valmistukseen fossiilisten raaka-aineiden korvaamiseksi. Tässä tutkimuksessa saadut tulokset vievät meitä taas askeleen oikeaan suuntaan, Uusipaavalniemi kertoo toiveikkaana.

Uusi pikatesti hinkuuskän toteamiseen

Hinkuuskä on bakteerin aiheuttama hengitysteiden infektio, jonka kuukausia kestävä oirekuva hankaloittaa taudin toteamista. Pro Gradu -tutkielmaansa Uniogen Oy:llä tekevä Heli Merenheimo on pyrkinyt parantamaan hinkuuskän diagnostiikkaa. Alustavat tulokset osoittavat nopean paperipohjaisen hinkuuskätestin mahdolliseksi.

Heli Merenheimo

Ohjaaja: FT Teppo Salminen

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Merenheimo kehittää hinkuuskän diagnosointiin uutta paperipohjaista pikatestiä. Hinkuuskä on bakteerin aiheuttama hengitystieinfektio, jonka tyypillisin oire on pitkittynyt yskä. Taudin alkuvaihe muistuttaa tavallista flunssaa, jonka jälkeen yskä voimistuu ja muuttuu puuskaiseksi. Etenkin nuorilla ja aikuisilla taudinkuva voi kuitenkin olla poikkeava, jolloin diagnosointi oireiden perusteella hankaloituu. Pitkittyneet hengitysoireet voivat johtaa myös epäilyyn astman puhkeamisesta.

–Kehitteillä olevalla testillä saadaan hoitopäätöksen kannalta oleellista tietoa jo 20 minuutissa, Merenheimo toteaa.

Hinkuuskää esiintyy maailmanlaajuisesti hyvästä rokotekattavuudesta huolimatta, ja viime vuosikymmeninä tartuntojen määrä on ollut kasvussa. Suomessa tapauksia on vuosittain noin 300–400.

–Testillä saadaan selville syy pitkittyneiden oireiden takana. Testillä voidaan myös seurata taudin tartuntamääriä ja saada arvokasta tietoa käytössä olevien rokotteiden toimivuudesta, Merenheimo lisää.

Hinkuuskän aiheuttaja on *Bordetella pertussis* -bakteeri. Oireiden pitkittyessä taudinaiheuttaja on jo väistynyt, jolloin tauti todetaan mittaamalla verenkiertoon muodostuneita vasta-aineita. Ongelmana kuitenkin on, että samanlaisia vasta-aineita on voinut muodostua verenkiertoon myös annetusta rokotteesta, vaikkei tartuntaa olisikaan saatu.

–Testimme pyrkii ratkaisemaan tämän ongelman mittaamalla kahta eri tyyppin vasta-ainetta, jolloin saatu tartunta voidaan todeta luotettavammin, Merenheimo toteaa.

Kehitettyä pikatestiä testataan nyt eri potilasnäytteillä.

–Alustavat tulokset ovat lupaavia ja pikatestillä pystytään jo havaitsemaan kahta eri vasta-ainetta samanaikaisesti. Tartunnan toteamista varten testin täytyy kuitenkin pystyä mittaamaan vasta-aineiden määriä tarkemmin, joten testin kehitys jatkuu.

New antibody will enable precise detection of testosterone

Testosterone, once believed to have limited roles in the body, is now recognized as a key player in various diseases and chronic conditions. In her master's thesis, Ida Bäckström has made significant progress in the development of testosterone-recognizing antibodies, a pivotal step towards enhancing testosterone detection methods.

Ida Bäckström

Supervisors: Docent Janne Leivo, Ph.D. Etvi Juntunen, Ph.D. Parvez Syed
MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

In her master's thesis project, a collaboration between University of Turku and Olo Health Oy, Ida Bäckström has developed a new antibody that can be used to detect testosterone, a hormone mostly known for its importance in male development. This antibody has the potential to significantly improve testosterone measurements and provide a basis for development of new detection methods needed in the healthcare industry.

A small molecule with big impact

The small molecular messenger testosterone is generally known for its role in reproduction biology and sexual physiology. Besides being involved in health conditions concerning these areas, research has recently revealed its involvement and importance in many other diseases in both men and women. Even slight hormonal abnormalities can increase the risk for disease, emphasizing the importance of accurate measurement methods.

Antibody sandwich – a clever way to improve detection

To be able to detect a compound in a sample, it must be kept in place while all other molecules in the sample are washed away. Then, a signal molecule is added for detection. A good strategy is to use two different antibodies for these tasks. In the so called “antibody sandwich” created by the molecules in the reaction, the target compound is bound to both antibodies simultaneously. The problem with testosterone is that it is too small for the sandwich concept. In her research, Bäckström has been working on a solution for this.

– The testosterone molecule is so tiny, it simply does not have enough area for two antibodies to bind to. There is, however, a way around it, if one can develop an antibody that binds only to the complex formed by the capture antibody and testosterone, Bäckström explains.

This is exactly what she has done in her thesis. Searching through a library of billions of antibodies lead to the discovery of a new antibody that binds to the antibody-testosterone complex. This antibody can be used to detect testosterone with greater accuracy and improve measurements of very low concentration samples.

– The successful development of this antibody opens possibilities for improved diagnostic measurements of testosterone. I'm excited to see how this will impact healthcare and diagnosis of testosterone-related health issues, Bäckström remarks.

Tyypin 2 diabeteksen luustovaurioiden hoitoon mahdollinen terapeuttinen kohdegeeni

Tyypin 2 diabetes on yleistynyt maailmalla länsimaisen ruokavalion ja ylipainon yleistyttyä. Diabetesta sairastavalla myös luut ovat hauraampia ja heikompia. Tioredoksiinin kanssa vuorovaikuttava proteiini (TXNIP) on proteiini, joka vaikuttaa solun oksidatiiviseen stressin lisääntymiseen ja sen ilmeneminen lisääntyy diabeettisessa ympäristössä. Turun Yliopistossa erikoistyötään tekevä Iida Karhu tutkii TXNIP:n hiljentämistä luusoluissa mahdollisena terapeuttisena kohdegeeninä tyypin 2 diabetekselle tyypillisen luukadon hoitoon.

Iida Karhu

Ohjaajat: PhD. Dos. Kaisa Ivaska-Papaioannou, M.Sc. Niki Jalava
BIOKEMIA

Tyypin 2 diabetesta sairastavilla potilailla luut ovat hauraampia ja alttiimpia murtumille, sekä luuydin rasvoittuu voimakkaasti. Erikoistyössään Iida Karhu tutkii luuytimen mesenkymaalisten stroomasolujen erilaistumista luuta muodostaviksi osteoblasteiksi ja rasvasoluiksi, eli adiposyyteiksi soluviljelyolosuhteissa. Soluissa hiljennettiin joko glukoosin kuljettaja proteiini 4 (GLUT4) tai TXNIP ja erilaistumista tutkittiin joko fysiologisessa tai hyperglykemisessä kasvuympäristössä. Tarkoituksena oli luoda diabeettinen ympäristö in vitro, jotta voidaan mallintaa mitä tapahtuu tyypin 2 diabetesta sairastavan luuytimessä.

– Koska diabetes on niin yleinen sairaus, on minusta tärkeää ymmärtää kokonaisvaltaisemmin sen vaikutukset elimistöön, kuten luustoon, Karhu toteaa.

Alustavasti on havaittu, että hiljentämällä GLUT4, luuytimen stroomasolut erilaistuvat herkästi rasvasoluiksi. Kuitenkaan hyperglykemisessä ympäristössä hiljennyksen vaikutuksia ei tiedetä. Erikoistyössään Karhu osoitti, että GLUT4 hiljennetyissä soluissa hyperglykemia edistää rasvasolujen muodostumista ja vähentää luunmuodostusta. TXNIP-proteiinin merkitystä luusoluissa ei ole aiemmin tutkittu, ja erikoistyön tulokset osoittivat, että GLUT4 ja TXNIP saattavat olla yhteydessä toisiinsa.

– TXNIP ja GLUT4 välisen mahdollisen yhteyden havainnointi oli erittäin kiinnostava löytö tutkimuksessa. Kiinnostavaa on nähdä mitä siitä selviää, Karhu kertoo.

TXNIP terapeuttisena kohdegeeninä?

Hiljentämällä TXNIP tai estämällä sen toiminta farmakologisesti voitaisiin vähentää solujen oksidatiivista stressiä. Diabeetikoilla tämä tarkoittaisi kudოსvaurioiden vähenemistä, myös luustossa. TXNIP hiljennyksen tutkiminen terapeuttisena mahdollisuutena vaatii lisää tutkimusta, jonka parissa Karhu jatkaakin loppuun erikoistyötään.

Lopputyöntekijä kehitti tuotantoprosessia helpottavan vasta-aineiden aktiivisuusmäärityksen

Lopputyöntekijä Iida Raaska kehitti immunoturbidimetriaan perustuvan aktiivisuusmäärityksen, jonka avulla voidaan seurata polyklonaalisten vasta-aineiden puhdistusprosessia. Menetelmä tulee helpottamaan tuotantoprosessia diagnostisia testejä valmistavassa yrityksessä Aidian Oy.

Iida Raaska

Ohjaaja: D.Sc Anne Usvalampi

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Iida Raaska kehitti sekä optimoi polyklonaalisille vasta-aineille tarkoitetun immunoturbidimetriaan perustuvan aktiivisuusmäärityksen. Polyklonaaliset vasta-aineet ovat kehon tuottamia proteiineja, joiden tehtävänä on tarttua antigeneihin, joita ovat esimerkiksi kehoon tunkeutuvien bakteerien pinnalla. Työssä tutkittiin hemoglobiiniin kiinnittyviä vasta-aineita. Immunoturbidimetrisessä määrityksessä mitataan polyklonaalisten vasta-aineiden sekä antigeenin kykyä muodostaa sidoksia keskenään. Määrityksen on tarkoitus helpottaa diagnostisissa testeissä käytettävien polyklonaalisten vasta-aineiden puhdistusprosessin seuraamista, sekä tuoda lisää tietoa vasta-aine-erän ominaisuuksista.

—Polyklonaaliset vasta-aineet ovat haasteellisia teollisessa tuotannossa, koska niiden eläinperäisestä tuottotavasta johtuen jokaisella erällä on erilainen aktiivisuus. Tämä tekee diagnostisten testien valmistuksesta hankalaa, kun tavoitteena on valmistaa tasalaatuisia eriä, Raaska toteaa.

Hemoglobiini esiintyy useassa eri muodossa, ja työssään Raaska tutki kahta muotoa: methemoglobiinia ja oksihemoglobiinia. Tutkimuksessa selvitettiin määritykseen soveltuva hemoglobiinivalmiste sekä puskureiden sisältämän säilöntäaineen, atsidin vaikutus määritykseen. Johtopäätöksenä voitiin todeta, että methemoglobiini-muotoinen hemoglobiinivalmiste oli määrityksessä toimivin, koska sillä saatiin paremmin mitattavissa oleva tulos, kuin oksihemoglobiinilla. Myös atsidilla todettiin olevan samansuuntainen vaikutus.

Raaska kehitti tutkimuksessaan myös biokerrosinterferometriaan pohjautuvan menetelmän vasta-aineiden ominaisuuksien mittaamiseen, mikä ei kuitenkaan lopulta soveltunut Aidianin tuotantoon.

—Menetelmä olisi tuonut lisää tietoa vasta-aineiden ominaisuuksista, mutta se oli lopulta liian työläs, eikä siitä saatavaa hyötyä katsottu riittävän suureksi, jotta määrityksiä olisi ollut järkevää tehdä, Raaska toteaa.

Jatkossa Raaska aikoo toteuttaa menetelmän käyttöönoton Aidianin tuotantoprosessiin.

Maisteriopiskelijän tutkimus valottaa omega-3 rasvahappojen ruoansulatukseen vaikuttavia tekijöitä

Aivojen ja näön toiminnalle välttämättömät omega-3 rasvahapot ovat usein konsentroitunut etyyliesterimuodossa ravintolisissä. Maisteriopiskelija Iida Valta on tutkinut α -linoleenihapon etyyliesterin (ALA-EE) pilkkoutumista imeytyvään muotoon simuloitulla ruoansulatusmallilla. Tulokset osoittavat etyyliestereiden pilkkoutuvan paremmin elimistön käyttöön rasvaisen aterian yhteydessä otettuna.

Iida Valta

Ohjaajat: FT Gabriele Beltrame, dos. Annelie Damerou, prof. Kaisa Linderborg
ELINTARVIKEKEMIA

Luonnossa omega-3 (n-3) rasvahapot esiintyvät tyypillisesti triasyyliglyseroleissa (TAG), mutta ravintolisissä ne ovat usein konsentroitunut etyyliestereinä (EE) lipaasien katalysoimassa transesteröinti-reaktiossa. Aiempien tutkimustulosten perusteella on epäselvää, imeytyvätkö n-3 rasvahappojen EE:t heikommin elimistön käyttöön kuin TAG:t. Etyyliestereiden imeytymisen tiedetään kuitenkin tehostuvan rasvaisen aterian kanssa otettuna. Tutkimuksessaan Valta pyrki selvittämään syytä tehostuneelle imeytymiselle.

-Haluttiin tutkia, voisiko ALA esteröityä öljyhapon asyyliglyseroliin (trioleiini ja 2-mono-oleiini) haiman lipaasin katalysoimassa reaktiossa osana etyyliestereiden ruoansulatusta. Tietääkseni asiaa ei ole aiemmin tutkittu simuloitulla INFOGEST-ruoansulatusmallilla, Valta täsmentää.

Tulosten perusteella erityisesti 2-mono-oleiinin läsnäolo tehostaa huomattavasti ALA-EE:n pilkkoutumista ja transesteröityjen tuotteiden muodostumista. Vallan mukaan transesteröinti ei kuitenkaan näytä olevan pääasiallinen reitti EE:n imeytymiselle elimistöön, vaan todennäköisemmin 2-mono-oleiini tehostaa rasvojen emulgointia, mikä on välttämätöntä lipaasin toiminnalle. Lisäksi tutkittiin hapettumiselta mikrokapseloinnin avulla suojatun EE-muotoisen pellavansiemenöljyn ruoansulatusta. Mikrokapseloinnissa suojausmolekyyleinä käytetyt polysakkaridit eivät estäneet öljyn vapautumista ruoansulatuskanavassa, vaan päinvastoin mikrokapselointi tehosti pilkkoutumista.

Rasvojen ruoansulatuksen tutkiminen vaatii INFOGEST-mallin optimointia

INFOGEST on standardisoitu ja laajasti hyödynnetty ruoansulatusmalli, mutta n-3 rasvahappojen pilkkoutumisen osalta se ei täysin vastaa ihmis- ja eläinkokeissa saavutettua ruoansulatuksen tehokkuutta. Valta optimoi protokollaa sopivammaksi lipidien ruoansulatuksen tutkimiseen.

-Työssä pidennettiin suolivaiheen kestoa kahdesta neljään tuntiin, minkä seurauksena 2-mono-oleiinia sisältävissä näytteissä EE:t pilkkoutuivat merkittävästi paremmin. Seuraavaksi haluaisin tutkia, onko sama trendi nähtävissä vielä vaikeammin pilkkoutuvalla dokosaheksaeenihapolla (DHA), Valta iloitsee tuloksistaan.

Omega-3 sarjan rasvahappoihin kuuluva α -linoleenihappo alentaa tulehdusta ja ehkäisee sydän- ja verisuonitautien riskiä. Tutkimuksen tuloksia voidaan soveltaa paremmin imeytyvien ravintolisien ja terveysvaikuteisten elintarvikkeiden kehittämisessä.

Finding tools to help detect a harmful algae toxin: anatoxin-a

As part of her master's thesis project, Irene Callus has been looking for antibodies which could bind to anatoxin-a that could then be used to develop more sensitive and efficient tests to detect this toxin from water. This is a target of interest as anatoxin-a, a dangerous toxin found in harmful algal blooms, threatens to contaminate water bodies globally. While it is crucial to test and monitor this toxin in order to protect animal and human health, detecting it is currently challenging. From her investigation, she has recently obtained some favorable and promising results that she is currently analyzing further.

Irene Callus

Supervisors: M.Sc. Sultana Akter & Prof. Urpo Lamminmäki
MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

This project's main aim was to pave the way to measure anatoxin-a levels in water based on an analytical technique known as 'immunoassay'. This requires specific antibodies that bind only to anatoxin-a so as to make the test more specific and accurate. In her research Callus has been trying to find these specific antibodies. However, she has stated that she had found some initial struggle as the target, anatoxin-a, is a very small molecule making it difficult to find an antibody that binds specifically and only to anatoxin-a. That said, she has not given up and together with her supervisors' guidance, she is still trying to find the right antibody for this toxin. She has now obtained positive results and has isolated some antibody candidates with high potential that could bind to anatoxin-a; which are now being investigated further for their specificity to the toxin.

Interrogating for the antibodies

As there is a tremendous number of antibodies for different targets, Callus started by trying to single out the antibody for anatoxin-a from an antibody library, specifically called a phage display library. This is made up of phages, which are viruses that infect bacteria. These phages have been engineered to produce millions of different antibodies on their outer layer. Using a technique called phage panning, one can then find the antibodies that bind to the target, in this case anatoxin-a, and then the number of the desired phages with the correct antibody is increased by doing several of these panning rounds. Callus has been using three different types of these antibody libraries to find the desired antibody.

Why do we need to test for anatoxin-a?

Anatoxin-a, a potent neurotoxin produced by certain cyanobacteria found in harmful algal blooms, poses a significant threat to those who consume the contaminated water. This includes humans, livestock, animals, and pets. Ingestion of this toxin can lead to severe neurological symptoms and has been linked to fatalities in animals and livestock. While methods to test for other toxins, such as microcystin, are already commercially available, testing for anatoxin-a is still limited. Thus, the main application of this research would be to then continue on developing a user-friendly test that could be used by anyone and anywhere.

A nano-particle based non-invasive technique for the early detection of Bladder Cancer

A new assay developed at Biotechnology division of University of Turku which reveals possible results for early detection of bladder cancer. The assay consisting of biomarkers (ITGA-3, EpCAM & CAM1) in combination with a plant lectin namely ULEX EUROPAEUS AGGLUTININ (UEA) were showed a possible discrimination of bladder cancer patients from benign control.

Israt Zahan Esti

Supervisor: Dr. Khirul Islam

MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

Israt is trying to develop and validate a highly sensitive nanoparticle-based time resolved fluorometry immunoassay (TRFIA) to detect bladder cancer patients compared to clinically challenging benign samples. Bladder cancer (BlCa) remains a significant health concern worldwide with a high incidence rate and substantial morbidity and mortality. Early detection of bladder cancer is critical for timely intervention and improved patient outcomes. While current diagnostic methods such as cystoscopy and urine cytology play essential roles, unfortunately they have limitations in terms of invasiveness, sensitivity, and specificity.

Israt states -“we focused on the development of a combination of biotinylated antibody as a capture and europium chelate-doped nanoparticles (NPs)-coated lectin as a tracer used in immunoassay format for the detection of BlCa patients. Captures such as cancer-associated integrin (ITGA-3) and cell adhesion molecules (CAM1 & EpCAM) in combination with UEA lectin were tested to find out the best functional biomarkers and their corresponding potential assays. Then the functional biomarker combinations were characterized and validated using cell culture medium (CCM) & isolated extracellular vesicle (EV) derived from cancer cell lines. Further, assay was optimized in pooled urine of prostate cancer and bladder cancer patients using various salts and buffer. After extensive assay optimization, 100 bladder cancer clinical samples were run in ITGA3-UEA, EpCAM-UEA and CAM1-UEA assays where she obtained p-values of .03, .04 and .05, respectively. She also emphasized the potential for achieving more significant results through the utilization of larger sample sizes in future research endeavors.

“Does novel TRIFA Technique Holds Promise for Bladder Cancer Detection?”

Compared to traditional methods, TRIFA offers a multitude of advantages, including a broader detection range, the ability for multi-label detection, reduced sample interference, cost-effectiveness, shorter assay duration, compatibility with automation, and high sensitivity. These features make TRIFA as a promising tool for early cancer detection.

Israt hopes that the research conducted with her thesis project will contribute to the advancement of early detection of bladder cancer.

Olutmaltaiden kierrättäminen bioprosessin avulla

Olutmäski on hankalasti hyödynnettävä sivuvirta oluentuotannossa. Mäskin tämänhetkinen käyttö on eläinrehuna ja biojätteenä. Turun Yliopistossa maisterintutkimtoa tekevä Jaakko Hakakari tarkastaa ja kehittää menetelmiä, joilla olutmäskiä voisi hyödyntää oluttuotannossa. Tähän mennessä Hakakarin testaamat menetelmät on pystynyt tuottamaan sokereita ja mahdollisia makuyhdisteitä mm. fenolisten happojen muodossa.

Jaakko Hakakari

Ohjaaja: Dos. Oskar Laaksonen
ELINTARVIKEKEMIA

Oluttuotannon suurimpia jätteitä on olut mäski. Sen hyödyntämistä uudelleen oluentuotannossa ei ole vielä kehitelty. Hakakari selvittää kustannustehokkaita eristysmenetelmiä, joita voi soveltaa erityisesti pienpanimoiden operaatioihin. Olutmäskin arvokkaita aineksia ovat mm. sokerit ja fenoliset yhdisteet. Hakakari on onnistunut tuottamaan olutmäskistä fenolisia happoja kuten p-kumaarihappoa ja ferulahappoa. Mäskistä on tuotettu myös maltoosia ja sakkaroosia. Uusi menetelmä käyttää kaupallisia entsyymejä sekä maitohappobakteereja, ilman lämpökäsittelyä tai emäksistä prosessointia.

- Kehitin menetelmää ajatuksella ”Miten olutmäskiävoisi hyödyntää pienessä mittakaavassa?”, Jaakko kuvailee. Olutmäskistä on mahdollista eristää erilaisia arvojakeita, mutta tehokkaimmat menetelmät pohjautuvat väkevien emäksien ja korkeiden lämpötilojen käyttöön. Olutmäski myös pilaantuu muutamassa päivässä, joten menetelmän täytyy pystyä toteuttamaan heti oluttuotannon ohella.

Suuret bioprosessit pieneen mittakaavaan.

Entsyaattisessa käsittelyssä käytettiin selluloosan, hemiselluloosan ja ligniinin pilkkomiseen erikoistuneita entsyymejä. Käyttämällä useampaa entsyymiä, voidaan arvokkaiden yhdisteiden tuottoa tehostaa pilkkomalla useampaa sidosta.

Maitohappobakteeri *Lactiplantibacillus plantarum* kykenee tuottamaan glukoosista maitohappoa. Maitohapon avulla olutmäskin pH:ta voidaan laskea käytettyjen entsyymien tehostamiseksi. Maitohappoa käytetään jo valmiiksi oluentuotannossa ja on turvallinen elintarvikekäyttöön.

—Tavoitteena on tuottaa mäskistä sokereita ja miellyttäviä makuyhdisteitä, joita voi lisätä oluttuotannon mäsikäysvaiheeseen. Keittovaiheessa vierteeseen lisätään humalaa, joka sisältää antimikrobiaalisia yhdisteitä kuten iso-alpha happoja. Mahdollisia sokeriyhdisteitä samalla voi hyödyntää oluthiivat.

Tähän mennessä olutmäskistä ei ole vielä tuotettu olutta. Mahdollisen koe-erän resepti vaatii tuloksen tuottoisammasta käsittelymenetelmästä.

Erikoistyö selvittää hoitoresistentin leukemian heikkouksia.

Kokeellinen Clever-1 reseptoria kohdentava leukemialääke on osoittanut lupaavaa tehokkuutta potilaille, jotka eivät vastaa nykyisiin hoitoihin. Turun yliopiston opiskelija Jesper Mickos selvittää, miten mahdollinen vaikutus syöpäsolujen energia-aineenvaihduntaan herkistää leukemiasolut hoidoille.

Jesper Mickos

Ohjaajat: FM Rita Turpin, Dos. Maija Hollmén
SOLUBIOLOGIA

Nykyiset hoidot tehoavat akuuttia myelooista leukemiaa sairastavissa potilaissa, mutta monilla tauti uusiutuu ja hoito lakkaa tehoamasta. Mickos on selvittänyt, että leukemiasolulinjoissa resistenssi saattaa yllättäen herkistää syöpäsolut Clever-1 vasta-aineelle lisäämällä lääkkeen kykyä sitoutua kohdesoluihin. Vasta-aineen kykyä vaikuttaa solujen energia-aineenvaihduntaan voidaan mahdollisesti käyttää rajoittamaan kantasolumaisten solujen sopeutumiskykyä, ylläpitäen syövän vastetta hoitoon. Leukemian kantasolut aiheuttavat taudin uusiutuminen, minkä vuoksi ne ovat tärkeä hoidon kohde.

Erityinen mahdollisuus leukemiassa?

Kliinisten kokeiden perusteella Clever-1:n kohdentaminen vasta-aineella aktivoi kehon luontaista immuunivastetta useissa eri syövässä, vaikuttamalla immuunijärjestelmän soluihin. Reseptorilla uskotaan kuitenkin olevan erityinen rooli myelooisissa kasvaimissa.

—Myelooiset kasvaimet ovat ainoita syöpätyyppejä, joissa syöpäsolu itse ilmentää Clever-1:tä. Sen vuoksi uskomme, että akuutissa myelooisessa leukemiassa reseptorilla on erityinen rooli. Sen kohdentaminen vasta-aineella voisi sekä vaikuttaa suoraan syöpäsoluun että aktivoida immuunijärjestelmää, jolloin syöpää voitaisiin hillitä useammalla mekanismilla, Mickos toteaa.

Leukemiasolujen uskotaan kehittävän resistenssin nykyisille hoidoille muuttumalla enemmän kantasolumaisiksi. Leukemian kantasolut ovat kuitenkin erityisen riippuvaisia oksidatiivisesta fosforylaatiosta eli siitä energia-aineenvaihdunnasta, johon reseptorin kohdentaminen vaikuttaa. Tutkimuksen tavoitteena on parantaa taudista kärsivien potilaiden elämänlaatua ja selviytymismahdollisuuksia.

—Juuri kantasolumaiset syöpäsolut ovat hoidossa tärkein kohde. Ne kykenevät uusimaan taudin, joten hoidolle resistentit kantasolujamaiset syöpäsolut ovat erityisen huono ennuste potilaille. Pyrimme selvittämään, mitkä ovat ne solujen ominaisuudet, jotka mahdollistavat hoidon Clever-1:n kautta. Vaikutus energia-aineenvaihduntaan antaa lupauksia siitä, että vasta-aine tehoaisi juuri hoidon kannalta tärkeimpiin syöpäsoluihin.

Tutkimuksessa seuraavana pyritään tarkemmin selvittämään, miten Clever-1:n kohdentaminen vaikuttaa oksidatiiviseen fosforylaatioon ja miten se vaikuttaa resistenteissä soluissa.

Syanobakteerin sopeutumiskykyä voi hidastaa vain yhdellä geenimuutoksella

Geeniperimää tulkitsevan RNA-polymeraasikompleksin pienen ω -alalyksikön voi poistaa syanobakteereilta, mutta poistogeeniset Δ rpoZ-solut kadottavat kykynsä sopeutua ympäristön hiilidioksidipitoisuuden muutoksiin. Turun Yliopistossa nyt tehdyssä jatkotutkimuksessa on havaittu, että Δ rpoZ-solujen kyky sopeutua typenpuutokseen hidastuu vain vähän verrattuna villityypin soluihin.

Joonas Silmu

Ohjaajat: FT Juha Kurkela ja Dos. Taina Tyystjärvi
MOLEKULAARINEN KASVIBIOLOGIA

Pro Gradu -tutkija Joonas Silmu selvittää, miten typen puutostila vaikuttaa geenimuunneltuun *Synechocystis* -syanobakteeriin. Typpi on elämälle välttämätön alkuaine, jota on tavallisesti runsaasti maaperässä ja vesistöissä erilaisissa yhdisteissä, mutta niiden puutteessa syanobakteerit joutuvat turvautumaan omien typpirikkaiden proteiiniensa hajotukseen, heikentäen niiden yhteyttämiskykyä. Tutkimuksen kohde-eliön, Δ rpoZ-mutanttiin, yhteyttämiskyky on normaalioloissa hieman alhaisempi tavalliseen bakteerikantaan verrattuna, Silmu toteaa. Erityistä on kuitenkin se, että typenpuutostila vaikuttaa vähän hitaammin Δ rpoZ-soluihin kuin villityypin soluihin, joka näkyy typen puutteen aiheuttaman vihreän värin haalenemisen hitautena mutantilla verrattuna villityypin soluihin.

Miten mutantti poikkeaa tavallisesta syanobakteerista?

- Δ rpoZ-mutanttiin RNA-polymeraasista puuttuu omega-alalyksikkö. RNA-polymeraasin tehtävä on tulkita perimän geenejä ja tuottaa solulle proteiininvalmistusohjeita, lähetti-RNA:ta. Toiminnalliseen RNA-polymeraasiin on kiinnittyneenä yksi useasta mahdollisesta sigmatekijästä. Jokaisella sigmatekijällä on oma ryhmä geenejä, joihin ne ohjaavat polymeraasin. Sigmatekijät siis tavallaan päättävät, mitkä geenit perimästä tulkitaan. Omega-alalyksikön puuttuminen muuttaa polymeraasiin kiinnittyneiden sigmatekijöiden suhdetta, joka taas muuttaa geeniekspressiota. Mutanttimme on siis sikäli erityinen, että sen poikkeavuus voi vaikuttaa mihin tahansa toimintoon solussa.

Fotosynteesin voimakkaan vähenemisen lisäksi Silmu havaitsi pimeässä tapahtuvan soluhengityksen lisääntyvän typenpuutteessa molemmilla kannoilla. Tämä on oletettavissa, sillä soluhengitys on vaihtoehtoinen tapa tuottaa energiaa kun fotosynteesi toimii huonosti, Silmu selittää. Kuitenkin mutanttikanta vastustaa jälleen muutoksia, sillä sen soluhengitysaktiivisuus ei nouse yhtä korkealle.

Miten tästä voi jatkaa?

-Meillä on nyt seuraukset, mutta ei syitä. Seuraavaksi tarkastellaan mitä muutoksia tapahtuu proteiinitasolla fotosynteesiin ja soluhengitykseen osallistuvissa komplekseissa. Alustavien tulosten mukaan fotosynteettisen aktiivisuuden eroavaisuudet voidaan osittain selittää valoenergiaa keräävän proteiinin hajoamisella, mutta soluhengityksen tutkimustuloksia odotellaan vielä.

Proteiinitutkimusten lisäksi Silmu aikoo myös etsiä mahdollista selitystä RNA-polymeraasin tuottamasta RNA:sta, jolloin nähdään Δ rpoZ-mutaation suora vaikutus eliön toimintaan.

Unlocking the secrets of gene expression in bacteria: next-generation sequencing sheds light on regulatory mechanisms

Transcription is the crucial first step of gene expression and it is affected by many known and unknown factors. The regulatory factors involved in transcription in spirochaetal bacteria have been the topic of novel research conducted by master's thesis student Juho Kotikoski, whose research aims to unravel the dynamic network of factors within the transcription system.

Juho Kotikoski

Supervisors: M.Sc. Vilma Trapp, Assoc. Prof. Georgi Belogurov
SYSTEMS BIOLOGY

Transcription is the process in which the genetic information of the DNA is copied to create RNA by the enzyme RNA polymerase. The RNA is subsequently processed to get the information to make proteins, which are the building blocks of all life. The role of transcription is important to ensure that the correct proteins are being made at just the right time. Accordingly, there are many proteins, called transcription factors, which are involved in transcription to ensure everything works as it should.

“I wanted to discover, exactly how much transcription-related proteins the spirochetes were producing. I investigated this by measuring and quantifying all the RNA contained in the spirochete cells. Then the task was as simple as finding out which genes the RNA came from, and which proteins they would create” Kotikoski stated.

In the study, Kotikoski used next-generation sequencing to measure the RNA contents. Kotikoski followed the investigation with a second approach: he also experimented on how well the transcription reaction happened in a test tube, i.e. *in vitro*, when given all the necessary components and emulating the conditions in a bacterium. His research indicates that there are vast differences in how the regulation system functions at different stages of the cell's life. Sigma factors, which are the proteins that help RNA polymerase choose its target, were abundant when the cell growth was at its fastest, and their amount further increased when the cell growth started to slow down.

The ratios of other well-known factors also fluctuated with the growth phase: CarD, which assists at the early stages of transcription is needed more at later growth phases, while NusA, which is related to how quickly long strings of RNA are generated, was more present at the fast growth phase.

Why spirochetes?

“I was motivated by the novelty: spirochaetal transcription is currently by no means a well-charted territory, despite the acute need. Many species of spirochetes cause severe, and often, fatal diseases. For example, the bacteria that cause syphilis and Lyme disease are closely related to the harmless bacterium, *Spirochaeta africana*, which I employed in the study. I believe one of the greater downstream applications of the research we conduct to be the creation of medicine targeting spirochaetal transcription mechanisms.” Kotikoski concluded.

Borrelioosin hoitoon etsitään uutta antibioottia

Tutkimusryhmä Rakennebioinformatiikan laboratoriossa (Structural Bioinformatics Laboratory, SBL) Åbo Akademiassa etsii uutta täsmäantibioottia *Lyman borrelioosin* hoitoon. Tutkimusryhmä on selvittänyt, että borrelioosia aiheuttavan *Borrelia burgdorferi* bakteerin BmpD-proteiini olisi sopiva kohdeproteiini, sillä se osallistuu bakteerille elintärkeiden nukleosidien kuljetukseen sekä todistettavasti voi kuljettaa myös antibiootteja bakteerisolun sisälle. Turun yliopiston biokemian opiskelija Julia Känkänen tuottaa ja puhdistaa BmpD-proteiinia, jotta sitä voidaan kiteyttää uusien projektissa kehitettyjen molekyylien kanssa. Tämä mahdollistaa molekyylien vuorovaikutusten tarkastelun ja edistää molekyylien jatkokehitystä mahdollisiksi täsmälääkeaineiksi.

Julia Känkänen

Ohjaajat: M.Sc. Mikko Huhtala, Prof. Tiina A. Salminen
BIOKEMIA

Känkänen tuottaa ja puhdistaa *Borrelia burgdorferi* -bakteerin BmpD-proteiinia (eng. Basic membrane protein D), joka on potentiaalinen borrelioosiantibiootin kohde. BmpD:tä tuotetaan *Escherichia coli* bakteerissa, puhdistetaan ja kiteytetään, jotta proteiinin kolmiulotteinen muoto saadaan selville. BmpD on bakteerin solukalvojen välisen eli periplasmisen tilan proteiini, jonka avulla *Borrelia*-bakteeri kuljettaa nukleosideja, mm. adenosiniä, bakteerin sisälle. Ilman ympäristöstä saatavia nukleosideja *Borrelia*-bakteeri kuolee, sillä se ei pysty syntetisoimaan niitä itse, mutta tarvitsee niitä elintärkeään nukleiinihapposynteesiinsä.

SBL:ssä on aiemmin kiteytetty BmpD yhdessä puriininukleosidi adenosinin kanssa, ja näin saatu määritettyä proteiinin kolmiulotteinen muoto adenosinin sitoutuneena. Känkäsen projektin tarkoituksena on kiteyttää BmpD uusien molekyylien kanssa, jotta saataisiin selville, miten proteiini sitoutuu näihin mahdollisiin täsmälääkeaineisiin.

Tutkimusryhmä on tuottanut BmpD:tä rekombinanttiproteiinina siten, että proteiinia koodaavan geenin päähän on lisätty puhdistuksessa hyödynnettävä kuudesta histidiini-aminohaposta koostuva pätkä, ns. puhdistuskahva. Nämä histidiinit tarttuvat affiniteettikromatografiassa käytettävään nikkelipylvääseen, jolloin tuotettava proteiini saadaan erotettua muista *E. coli* tuottamista proteiineista. BmpD käsitellään puhdistuksen aikana urealla (denaturointi), jolloin BmpD:hen sitoutunut adenosini irtoaa proteiinin menettäessä kolmiulotteisen muotonsa. Käsittelyn aikana BmpD:n on kuitenkin todettu irtoavan osittain nikkelipylvästä, minkä vuoksi proteiinin saanto on jäänyt haluttua heikommaksi eikä adenosinista ole päästy kokonaan eroon. Känkänen on kehittänyt ja testannut projektissaan uudenlaisia puhdistuskahvoja, joiden avulla proteiini sitoutuisi paremmin ja pysyisi kiinni nikkelipylväessä adenosinin poistoon tähtäävän käsittelyn ajan. Toistaiseksi ainakin yksi uusista puhdistuskahvoista on antanut lupaavia tuloksia, ja rekombinantti BmpD on pysynyt pylväessä ureakäsittelyn ajan. Myös adenosinin määrä vaikuttaa olevan pienempi verrattuna aiempaan, ja BmpD:n kiteyttämistä uusien molekyylien kanssa voidaan pian kokeilla.

A possible solution to combat food shortages

Fusarium graminearum is one of the most commonly found pathogen in cereals. It produces a toxin called deoxynivalenol (DON) that can cause serious health affects if consumed in large quantities. This fungal pathogen wreaks havoc on crop yields annually, with cases on the rise due to climate change and poor farming practices. A special project unveils promising insights into combatting the accumulation of the toxin through an innovative method.

Julia Pyysalo

Anastassios Papageorgiou

BIOMOLECULAR PRODUCTION (TECH.)

Fusarium graminearum is a fungus that infects cereals. It produces a toxin called deoxynivalenol (DON) that can cause food poisoning like symptoms if digested in large quantities. This special project gave more insight into using glutathione transferases (GSTs) for combatting DON accumulation in wheat. The project looked at a specific GST from wood degrading fungus *Trichoderma reesei* (TrGST). It was found that enzyme bound to DON and glutathione (GSH). Other results looking more specifically at the enzyme itself showed it having typical characteristics of a GST, like a dimeric structure, and a change in its structure during the detoxification process.

Cases of *F. graminearum* infection have only increased causing major yield losses annually due to climate change and improper farming practices such as no till farming and lack of crop rotation. This has caused an increase in DON which is a problem for many wheat farmers since there regulations in place for how much DON can be consumed. The EU has regulated the consumptions to 0.5 mg/kg body weight based on a no effect level (NOEL).

Why is it important to find alternative ways to combat the infection?

Currently, fungicides are used to combat the pathogen. There are though many issues with using them.

— Fungicides need to be applied during the flowering of wheat. Another issue with fungicides is the dose and resistance developed by *F. graminearum*. If incorrect fungicide is used at a wrong dosage the fungus can produce more DON than it did before, says Pyysalo.

This is why looking at a biological solution for combatting fungus is essential.

—GSTs are found in many organisms and are part of a cells defence. Engineering a highly specific GSTs to detoxify DON in wheat and other cereals would be interesting and a good prospect for the future, Pyysalo claims.

TrGST's DON detoxifying abilities have only been looked at outside of wheat. The next step in this research would be to see what the ideal application system for the use of the enzyme wheat. For this to be done, there is a need for in depth knowledge of the enzyme's functionality.

Diplomityöopiskelija tutkii etyleenikaasun tuotantoa yhteyttävillä mikrobeilla

Etyleeni on tärkeä muoviteollisuuden raaka-aine. Tätä ilmaa kevyempää kaasua on mahdollista tuottaa suoraan valoenergian ja hiilidioksidin avulla hyödyntämällä yhteyttäviä mikrobeja. Turun yliopistossa diplomityötään tekevä Juuso Triipponen tutkii erityisellä korkean solutiheyden kasvatuslaitteistolla etyleenin tuotantoa syanobakteereiden eli tuttavallisemmin sinilevien avulla. Tulokset osoittavat, että kyseisellä kasvatusmenetelmällä on mahdollista saavuttaa verrattain hyvä etyleenin tuotto.

Juuso Triipponen

Ohjaajat: Samuli Pyytövaara, Apul. prof. Pauli Kallio
KESTÄVÄT BIOTEKNISET PROSESSIT (DI)

Triipponen hyödyntää työssään erilliseen kasvatuskaappiin sijoitettua korkean solutiheyden bioreaktorilaitteistoa, jossa hän kasvattaa kasvien lailla yhteyttäviä syanobakteereja. Alustavien tulosten valossa näyttää siltä, että etyleenin tuotto on kasvatuksen tilavuuteen nähden samaa suuruusluokkaa kuin parhaimmat kirjallisuudessa julkaistut tuottotehokkuudet.

—Etyleeni on yksi tärkeistä muoviteollisuuden raaka-aineista. Sitä kuitenkin tuotetaan tällä hetkellä pääsääntöisesti öljystä höyrykrakkaamalla, joka kuluttaa paljon energiaa ja tuottaa hiilidioksidipäästöjä. Etyleenin tuotantoon tarvittaisiin kestävämpiä ratkaisuja, ja isossa kuvassa oma työni tähtää uusiutuvan etyleenin tuotto-prosessin tutkimukseen ja potentiaalın arviointiin, Triipponen toteaa.

Uusi kestävämpi ratkaisu etyleenin tuotantoon?

Triipponen käyttää työssään tuotto-organismina geneettisesti muokattua *Synechocystis* sp. PCC 6803 -syanobakteeria, joka kykenee tuottamaan etyleenikaasua. Tämä on mahdollista, sillä solut ilmentävät *Pseudomonas syringae* -bakteerista peräisin olevaa etyleeniä tuottavaa EFE-entsyymiä.

—Etyleeni on siinä mielessä käytännöllinen lopputuote, että solujen tuottaessa sitä se vapautuu kaasumaisena yhdisteenä suoraan kasvatuksen kaasutilaan, josta sen tuottoa voidaan mitata. Yksi työn hienouksista onkin se, että pääsin mittauksissa soveltamaan Turun yliopistolla kehitettyä sensoria, joka mahdollistaa etyleenin tuoton mittauksen reaaliajassa, Triipponen toteaa.

Etyleenin tuottoa ei ole ennen tutkittu Triipponen käyttämällä kasvatuslaitteistolla, mikä on yksi työn uutuusarvoista.

—Vaikka tällä kasvatusmenetelmällä pystytäänkin saavuttamaan varsin hyvä etyleenin tuotto melko pienellä kasvatuksen tilavuudella, systeemin soveltamisessa suurempaan mittakaavaan on vielä haasteita. Työ kuitenkin tarjoaa arvokasta tietoa, jota voitaisiin hyödyntää esimerkiksi tekoälyyn pohjautuvan kasvuolosuhteiden optimoinnin kehityksessä, Triipponen pohtii.

Proteiinirakenne tutkimus edistää lääkekehitystä

Antrasykliinit ovat merkittävimpiä käytössä olevia syöpälääkkeitä. Bakteerisolut tuottavat niitä luonnollisesti. Bakteerien genomia muokkaamalla on mahdollista tuottaa uudenlaisia yhdisteitä ja yhä parempia lääkkeitä. Katariina Rauhasen erikoistyössä on saatu osoitettua uusi kemiallinen reaktio erään antrasykliinin, chartreusiinin muodostumisessa. Työ avaa mahdollisuuksia ymmärtää paremmin mekanismeja, joilla antrasykliinejä muodostetaan.

Katariina Rauhanen

Ohjaaja: Prof. Mikko Metsä-Ketelä, FM. Alekski Nuutila ja FM Magdalena Joanna Niemczura
BIOKEMIA

Antrasykliinit ovat valtavan monipuolinen luonnonyhdisteiden ryhmä. Tämä johtuu niiden monivaiheisista synteeseireiteistä, joihin osallistuu lukuisia eri entsyymejä. Synteeseireittien loppupuolella entsyymit tekevät hienovaraisempia muokkauksia muodostaen pieniä eroja eri antrasykliinien välille. Katariina Rauhasen työssä tutkitaan yhtä aiemmin tuntematonta vaihetta chartreusiinin synteeseireitillä. Lopullisena tavoitteena on ratkaista reaktioon osallistuvan proteiinin rakenne. Tämä olisi mielenkiintoista erityisesti, koska kyseinen proteiini tekee aivan uudenlaisen reaktion kuin kyseisen proteiiniperheen muut entsyymit.

— Hyvin erilaiset reaktiot saman proteiiniperheen sisällä kertovat proteiinien erilaistumisesta evoluution kuluessa. Todennäköisesti synteisiin osallistuvissa proteiinin osissa on tapahtunut merkittäviä mutaatioita ja ne ovat lähteneet erilaistumaan kantamuodostaan hyvin erilaisiksi proteiineiksi -Rauhanen avaa.

Proteiinien rakenteen ymmärtäminen on erittäin tärkeää niiden toiminnan ymmärtämisessä ja muokkaamisessa. Rakenne voidaan selvittää käyttämällä röntgenkristallografiaa, jossa proteiiniin kohdistetaan röntgensäteitä. Tätä ennen proteiini täytyy saada kiteytymään.

— Kiteet ovat symmetrisiä rakennelmia, joihin proteiinit ovat järjestäytyneet. Kiteytymisessä tasapainotellaan proteiinin liukenemisen ja saostumisen kanssa. Kiteytystä kutsutaankin järjestelmälliseksi saostumiseksi. Proteiini ei voi olla täysin liunneena eikä myöskään täysin saostuneena muodostaakseen kiteitä vaan liukenemisen ja saostumisen välimaastossa, Rauhanen kertoo.

Antrasykliinien luonnollisten synteisimekanismien ymmärtäminen on avainasemassa parempien lääkkeiden kehittämisessä. Kun tiedetään, mitä proteiinit luonnollisesti muodostavat, voidaan lähteä muokkaamaan niiden toimintaa haluttuun suuntaan. Muokattuja geenejä voidaan yhdistää uudenlaisella tavalla geeniklustereihin, joissa on samoihin toimintoihin keskittyviä geenejä. Näin saataisiin tuotettua haluttuja lääkeaineita, jotka voivat olla turvallisempia tai tehokkaampia.

Kuoppalevyjen tuotantoprosessia kehittämässä: Uuden tuotantolinjan testaus ja optimointi

Raskauden aikaisissa seulontatesteissä käytettäviä kuoppalevyjä voidaan tuottaa Wallac Oy:ssä entistä tehokkaammin. Tulos saatiin osana Katja Niittysalon yritykselle tekemää diplomityötä, jossa tutkittiin mahdollisuutta siirtää levyjen tuotanto uudelle automatisoidummalle tuotantolinjalle. Tulos tarkoittaa, että levyjä voidaan jatkossa tuottaa sekä uudella että vanhalla tuotantolinjalla.

Katja Niittysalo

Ohjaajat: FM Pauliina Luoto, FM Peppi Pietarinen & ins. Laura Nurmi
BIOTEKNISET JÄRJESTELMÄT (DI)

Työssään Niittysalo tutki tuotannon siirron vaikutuksia raskauden aikaisissa seulontatesteissä käytettävien kuoppalevyjen laatuun ja toimintaan. Työssä keskityttiin seuraamaan muutoksia levyjen tasalaatuisuudessa, taustasignaalin määrässä ja signaalin kehittämisessä. Tulosten perusteella uudella tuotantolinjalla valmistetut levyt täyttävät laatuvaatimukset, mutta parametrien optimointia ja uusien inkubointiaikojen testausta jatketaan edelleen. Uudet inkubointiajat mahdollistavat entistä joustavamman tuotannon, sillä levyt voidaan jättää inkubointihuoneeseen esimerkiksi viikonlopun yli.

- Diagnostiikka-ala on tarkoin säädelty, joten tuotantoa ei voi noin vain siirtää linjalta toiselle ilman asiaankuuluvaa testausta. Testauksen kautta varmistetaan, että levyt toimivat käyttötarkoituksessaan edelleen vähintään yhtä hyvin kuin ennen. Se on erittäin tärkeää, sillä määritysten perusteella tehdään ihmisten terveyteen vaikuttavia päätöksiä, Niittysalo selventää.

Lähtökohtana asiakastilaukset

Vanhalla tuotantolinjalla valmistus vaatii enemmän manuaalista työtä ja lisäksi laiterikkojen riski on kohonnut, sillä laitteisto on nimensä mukaisesti vanhaa. Uuden tuotantolinjan johdosta kuoppalevyjen tuotantoa saataisiin joustavammaksi, tehokkaammaksi ja riskittömämmäksi. Tällöin myös asiakastilaukset saataisiin entistä paremmin täytettyä.

- Asiakastilausten sujuva toimitus on kuitenkin loppujen lopuksi työn lähtökohta. Kaikkien matkalla olevien välikäsien kautta kuoppalevyt päätyvät lopulta terveydenhuoltoon käytettäväksi raskauden aikaisessa seulonnassa. Esimerkiksi Suomessa on tietyt seulontatestit, joita tarjotaan kaikille raskaana oleville. Siksi onkin tärkeää, että tuotteet saadaan asiakkaille sopimusten mukaan ja niin, ettei kukaan jää ilman mahdollisuutta testiin, Niittysalo tähdentää.

Development of a mass spectrometry-based analysis method to detect poorly known lipids in fecal samples

Lipids are essential building blocks and communication tools for our cells, but they are less studied than water-soluble molecules. At the Turku Bioscience Centre, a Master's thesis worker, Katja Salonen, has been developing an analysis method to detect a large set of previously less known and also unknown lipid molecules in biological samples.

Katja Salonen

Supervisors: Doc. Matilda Kråkström, Dos. Santosh Lamichhane, Dos. Alex Dickens & Prof. Matej Orešič

MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

Katja Salonen has been developing an analysis method for studying previously unidentified lipids in fecal samples. Fecal lipids come from several sources, mainly from food and the metabolism of gut microbes. By analyzing fecal lipids, we can gather information about gut physiology. Cells communicate via lipid molecules, and since gut bacteria can produce various lipids, it is not surprising that gut microbes are essential to our health. Multiple studies have shown lipid disturbances are associated with specific diseases such as type 1 diabetes. So far, Salonen has been developing a mass spectrometry-based method capable of detecting 890 lipids, belonging to the acyl amides lipid class. Salonen says that revealing the existence of these novel lipid molecules and the ability to study their physiological roles is important to enable a better understanding of physiology.

Mass spectrometry approaches are widely used to study lipids. Salonen explains that lipids as analytes and feces as sample material are not the easiest to study. Fecal material is quite complex, and lipid conjugates have varying chemical properties, so relatively sensitive instruments and proper sample preparation are a must. Salonen used synthetic molecules provided by their collaborator as reference material to start the development of the method.

—Since we don't know how many different lipids exist in biological systems, synthetic molecules guide us about what to focus on in future studies, Salonen states.

Although our gut microbes are known to produce many lipids, studying them from other body fluids and tissues would be essential. Fat-soluble molecules can pass cell membranes and travel across organs.

In the future, Salonen aims to develop the method further so that over a thousand different molecules can be screened efficiently from various biological samples. Salonen says that from these studies, we potentially get information that enables new insights into our physiology.

Rapid detection of bladder cancer directly from human urine sources using lateral flow immunoassay

Bladder cancer (BlCa) poses a substantial health burden globally, demanding advancements in diagnostic methodologies. Presently existing approaches are highly painful and expensive. In this study conducted at the University of Turku, we discovered a rapid, cheap, and painless diagnostic tool utilizing an upconverting nanoparticle based-lateral flow immunoassay (UCNP-LFIA) to detect BlCa from urine samples by targeting urinary extracellular vesicles (uEVs).

Klinton Ali

Supervisor: Dr. Md. Khirul Islam, MSc, PhD, M. Pharm
MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

In our developed tests, we have used a specific antibody known as CD63, which helps us to capture key information called uEVs from samples. Additionally, we employed Rabbit Anti-Mouse Antibody (RAM) as a control to ensure our results are accurate and reliable. This anti-CD63 antibody and RAM were printed onto a nitrocellulose membrane. To visualize our results, we have used a tracer, labeled with upconverting nanoparticles, to subsequently detect uEVs. This innovative approach allows us to accurately detect and measure substances of interest in our studies.

Is the result significant?

The results from our study demonstrates its high sensitivity in detecting EVs derived from cancer sources, it successfully differentiated people who have bladder cancer, people with non-cancerous issues, and healthy people. So far, this is very good news, but we will also need to do more test with more samples to confirm and strengthen our results. This progress is a big step toward making cancer diagnosis better.

How it was developed?

We have optimized our test by using tiny particles (EVs) released from cancer cells. To make sure this method works, we tested it on urine samples from 20 people with bladder cancer, 20 with a non-cancerous condition called benign prostate hyperplasia, and 30 healthy volunteers. The results were accurately measured using a specialized device that reads luminescence signals. This breakthrough could mean a quicker, easier and less invasive way to diagnosis bladder cancer at an early stage.

How can we benefit from it?

The UCNP- LFIA technology holds promise for use in straightforward, fast and cost effective point of care applications, requiring only a minimal time of 1.2 hours. In future, based on our developed UCNP-LFIA, cancer associated biomarkers in combination with lectins will be evaluated to detect bladder cancer more specifically.

Preserving biodiversity: Importance of blue lupin analysis for promoting sustainable nutrition

Lakshmi Karath, a master's student in Food Development optimized a sample pretreatment and extraction method to study and compare the alkaloid content in blue lupin products. This research highlights the importance of conducting a comparative analysis of the quinolizidine alkaloid levels in fermented and nonfermented blue lupin milk products to ensure safe levels of consumption. Lupin milk samples were fermented with three different types of lactic acid bacteria (LAB) and were pretreated with and without a thickening agent (barley starch, 4% w/v). Studies on lupins are rewarding since lupin-derived products are more affordable and sustainable since they replace the traditional sources of meat and dairy proteins encouraging the sustainable use of land, solutions for animal feed, and biodiversity.

Lakshmi Karath

Supervisors: Doc. Jukka-Pekka Suomela, Ph.D. Marika Kalpio, Doctoral Researcher

Jasmin Raita

FOOD DEVELOPMENT

Evaluation of quinolizidine alkaloids in blue lupin products

The study revealed that commercial blue lupin flour and some fermented lupin milk samples contained alkaloids more than the maximum limit of 200 mg/kg based on international regulations. The quinolizidine alkaloids analyzed in this study were angustifoline, alpha-isolupanine, lupanine, sparteine, and 13-hydroxylupanine. The total alkaloid content in nonfermented lupin milk samples was observed to be lower than in fermented lupin milk samples. Nonfermented samples with a thickening agent showed lower total alkaloid content than those without. Notably, samples containing a thickening agent fermented with Mix E; an in-house (Natural Resources Institute Finland) isolate, originating from the plant, exhibited a total alkaloid content lower than other fermented samples. While comparing the different fermentations without the thickening agent, total alkaloids were found to be the lowest (146.00 mg/kg) when fermented with the LAB starter SYAB1 (containing LAB species commonly used in yogurt production) followed by 199.92 mg/kg, when fermented with *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LAB labeled B2_1B and highest when fermented with MixE; 223.88 mg/kg.

Conclusion and applications of the study

Based on this study it could be inferred that total alkaloid content was observed to be much lower in nonfermented lupin milk samples containing a thickening agent as well as those fermented with LAB in-house isolate (MixE). This study also emphasizes the importance and need to use optimal sample pretreatment and analysis methods to reliably study the alkaloid content in blue lupin ingredients and products during product development.

Uusi menetelmä edistämään leimattujen vasta-aineiden laadunvalvontaa

Immunomääritysten toiminta perustuu keskeisesti havaitsemisessa käytettyihin leimattuihin vasta-aineisiin., Leimatuille vasta-aineille tärkeä ominaisuus on leima-aste, eli se, kuinka monta leimaa kuhunkin vasta-aineeseen on kiinnittynyt. Laura Kauppi on tutkinut diplomityössään uuden hydrofobiseen vuorovaikutuskromatografiaan perustuvan menetelmän soveltuvuutta leimattujen vasta-aineiden erotteluun niiden leima-asteen perusteella. Tulosten mukaan menetelmän käyttö tuo etuja, joita leima-asteen määrittämiseen tällä hetkellä käytetyillä menetelmillä ei ole mahdollista saavuttaa.

Laura Kauppi

Ohjaajat: M.Eng. Mikael Jaakkola, Prof. Tero Soukka

BIOTEKNISET JÄRJESTELMÄT (DI)

Kaupin tutkimus on keskittynyt kehittämään leimatuille vasta-aineille hydrofobiseen vuorovaikutuskromatografiaan perustuvan karakterisointimenetelmän. Kaupin kehittämällä menetelmällä voidaan erotella leimattuja vasta-aineita niiden leima-asteen perusteella.

—Hydrofobinen vuorovaikutuskromatografia erottelee proteiineja niiden pinnan hydrofobisuuden perusteella. Tutkimuksen hypotesina oli, että leima-aste kasvattaa vasta-aineen pinnan hydrofobisuutta ja se näyttää pitävän paikkaansa. Erottelu ei ole ollut täydellistä, mutta menetelmä mahdollistaa esimerkiksi leimaamattoman vasta-aineen erottamisen leimatusta. Se on iso edistysaskel, Kauppi kertoo.

Haasteista huolimatta parannusta nykyiseen

Leimattujen vasta-aineiden leima-asteissa on vaihtelua. Leimausreaktiossa leimat kiinnittyvät satunnaisesti osaan vasta-aineen pinnalla olevista useista kymmenistä lysineistä. Uusia menetelmiä tarvitaan, sillä nykyisin leima-aste määritetään menetelmillä, jotka antavat leima-asteelle vain keskiarvon.

—Leima-aste vaikuttaa monella tapaa määritysten toimivuuteen. Yleensä tavoitellaan mahdollisimman korkeaa leima-astetta, jotta saadaan mahdollisimman herkkiä määrityksiä, mutta liian korkea leima-aste voi esimerkiksi estää vasta-aineen sitoutumista analyttiin. Siksi on tärkeää kehittää menetelmiä, joilla voidaan erottaa sekä liian matalan, mutta myös liian korkean leima-asteen vasta-aineet, Kauppi toteaa.

Kauppi näkee menetelmässä potentiaalia.

—Haasteena on ollut leimattujen vasta-aineiden liian tiukka sitoutuminen, minkä vuoksi juoduin käyttämään menetelmässä korkeita liuotinpitoisuuksia. Lisätutkimusta tarvittaisiin esimerkiksi vähemmän hydrofobisista pylväsmatriiseista, jotka voisivat puolestaan mahdollistaa pienemmät liuotinpitoisuudet. Ideaalilanteessa menetelmää voitaisiin käyttää preparatiivisesti, eli määrityskäyttöön valittaisiin tällä menetelmällä vain ne vasta-aineet, joiden leima-aste on sopiva. Toistaiseksi kuitenkin näen menetelmällä vain analyyttistä käyttöä, Kauppi selventää.

Ruoan prosessoinnin vaikutus elimistön tulehdusarvoihin kiinnostaa elintarviketieteilijöitä

Kasvipohjainen ruokavalio on ollut pitkään pinnalla ja sen vaikutuksia terveyteen on tutkittu laajasti. Yhdeksi kiinnostuksen kohteeksi onkin noussut ruoan prosessointi ja sen mahdolliset haittavaikutukset. Pro gradu – työssään Laura Mikkola tutki, miten kolmen eri prosessointitason kasvipohjaisen proteiinin nauttiminen vaikutti terveiden vapaaehtoisten tulehdusarvoihin.

Laura Mikkola

Ohjaajat: FT Anna Kårlund, FT laill. ravitsemusterapeutti Veera Houttu, Prof. Kati Hanhineva
ELINTARVIKEKEMIA

Ruoan prosessointitasot on jaettu tässä tutkimuksessa kolmeen eri kategoriaan: prosessoimattomiin, lievästi prosessoituihin ja raskaasti prosessoituihin kasvipohjaisiin tuotteisiin. Elintarviketieteilijä Laura Mikkola on syventynyt tutkimaan, nostavatko kyseiset ruokavaliot tutkimuksessa käsiteltyjen tulehdusmerkkiaineiden (interleukiini 6, tuumorinekroositekijäalfa ja herkkä CRP) pitoisuuksia, täten aiheuttaen matalan tulehdusvasteen. Tutkimus on osa suurempaa tutkimuskokonaisuutta, professori Kati Hanhinevan johtamaa Newplant projektia.

- Aiheen tutkiminen on varsin tärkeää tulevaisuuden kannalta, sillä monipuoliset ruokainnovaatiot ja tuotekehitys ovat juuri sitä, mitä elintarviketeollisuus tarvitsee. Uskon, että saaduista tuloksista on hyötyä tulevassa, sillä tutkimuksia kyseisestä aiheesta, ja varsinkin terveillä koehenkilöillä on toistaiseksi niukasti, Mikkola pohtii.

Kuinka vaarallista prosessoitu ruoka on?

- Kysymys on melko laaja eikä sille ole yksiselitteistä vastausta. Prosessoidulla ruoalla saattaa olla huono maine terveyteen liittyen, mutta prosessoinnin tasoja on monia. Tärkeää on havainnoida ruoan ravintosisältöä ja huolehtia ettei prosessoinnissa menetettäisi kaikkia ravintorikkaita raaka-aineitaan. Pelkästään ruoan prosessointi ei välttämättä tarkoita sen olevan vaarallista terveydelle, Mikkola toteaa.

Tulehdusmerkkiaineiden pitoisuuksien mittausta suoritettiin tarkkuutta vaativalla entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (ELISA), joka on yleisesti käytetty menetelmä kliinisissä analyyseissä. Sen periaatteena on mitata näytteessä olevan tutkittavan aineen pitoisuus, joka tapahtuu sitoutuvien vasta-aineiden avulla. Lopussa entsyymi tuottaa havaittavaa mitattavissa olevaa signaalia.

- Laboratoriotyötä tehdessä sai olla tarkkana, sillä kyseinen menetelmä on poikkeuksellisen herkkä, ja virheitähän pyrimme kaikin keinoin välttämään. Aikaa analysointiin kului paljon, mutta kaikki on sen arvoista, kun pääsee tutkimaan saatuja tuloksia, Mikkola kommentoi.

Tällä hetkellä näytteiden tulosten käsittely on alustavasti jo käynnissä, ja merkittävimmät tulokset ovat tiedossa. Käsittely kuitenkin jatkuu edelleen.

Uusi tutkimus osoittaa: proteiinipilkottu laktoositon A1A2-maito yhtä hyvin siedetty kuin A2-maito

Maito on olennainen osa monien ihmisten ruokavaliota, mutta joillekin maidosta aiheutuu vatsavaivoja. Laktoosin lisäksi oireiden syyksi on esitetty kaseiiniproteiineja. Kaseiinit eroavat suolistokäyttäytymiseltään. Proteiinien pilkkominen jo meijerissä laktoosin poiston yhteydessä vaikuttaa sekin kaseiinien hajoamiseen ruoansulatuskanavassa. Tuoreessa tutkimuksessa on selvitetty eri kaseiini-, ja laktoosikoostumuksen omaavien maitojen vaikutusta tavallisesta maidosta oireita saavien vapaaehtoisten vatsahyvinvointiin ja tulehdusmerkkiaineisiin.

Liisa Hokkanen

Ohjaajat: FM, Enni Mannila, prof., Kaisa Linderborg
ELINTARVIKEKEMIA

Elintarvikekemian maisteriopiskelija Liisa Hokkanen on perehtynyt pro gradu - tutkimuksessaan A2-maidon sekä hydrolysoidun laktoosittoman A1A2-maidon vaikutuksiin suolisto-oireisiin ja tulehdusmerkkiaineisiin. A2 maitoa ei ollut saatavilla laktoosittomana, joten A2-maito nautittiin laktaasientsyymilisällä ja ilman. Tutkimukseen osallistui 36 henkilöä, jotka kokivat saavansa vatsaoireita tavallisesta maidosta. Tutkimus toteutettiin satunnaistettuna, kaksoissokkoutettuna vaihtovuorotutkimuksena. Vatsaoireita arvioitiin päiväkirjojen, ja tulehdusta veri- sekä ulostenäytteiden avulla.

—Tällainen tutkimus vie paljon aikaa ja resursseja, mutta se on äärimmäisen tärkeää, kun pyrimme ymmärtämään, miten eri maidot vaikuttavat ihmisten vatsaterveyteen, kommentoi Hokkanen. —Tulosten tulkinta ei kuitenkaan ole aina helppoa, sillä vatsaoireet ovat äärimmäisen yksilöllisiä ja monisyisiä ilmiöitä, Hokkanen lisää.

A2-maito herättää kiinnostusta maailmalla

Maailmalla on käyty vilkasta keskustelua A2-maidon mahdollisista terveysvaikutuksista, mutta Suomen päivittäistavara-kaupoissa tämä tuote on vielä harvinaisuus. Tutkimuksessa selvitetään, miten maidosta oireilevat kokevat A2-maidon verrattuna proteiinipilkottuun laktoosittomaan A1A2-maitoon, ja mikä on laktoosin tai sen siedon merkitys.

Tutkimuksen tulokset ovat mielenkiintoisia: tutkittavat kokivat maitoa sisältävinä jaksoina enemmän vatsaoireita kuin täysin maidottomana jaksana. Olisikin ollut mielenkiintoista sisällyttää tutkimukseen myös maidoton lumejuoma. Tarkasteltaessa vain laktoosi-intolerantikoita, vähiten oireita aiheutti laktoositon maito. Laktoosia sietävien vatsaoireissa ei ollut eroja eri maitojaksoilla. Tunnetuimmissa tulehdusmerkkiaineissa kuten ulosteen kalprotektiinissa tai veren matala-asteista tulehdusta mittaavassa herkässä CRP:ssä eroja eri maitojaksojen välillä ei havaittu.

—Tutkimus on tärkeää, sillä maailman mittakaavassa maidon kulutus kasvaa edelleen. Tutkittua tietoa tarvitaan myös auttamaan vertailuissa erilaisten maitojen ja kasvijuomien välillä, Hokkanen toteaa. —Tutkimuksessamme hydrolysoitu laktoositon A1A2-maito osoittautui yhtä hyvin siedetyksi kuin A2-maito, vaikka A2-maitoa usein markkinoidaankin vatsaystävällisenä, Hokkanen lisää.

Luotettavan geenimonistustestin taustalla ovat tehokkaat entsyymit

Geenimonistustestin kehityksessä optimaalisten reaktio-olosuhteiden löytäminen on merkittävä menetelmän käyttökelpoisuuteen vaikuttava tekijä. Reaktio-olosuhteiden optimointiin on perehtynyt Uniogen Oy:ssä diplomityötä tekevä Linda Laiholahi, jonka alustavat tulokset osoittavat entsyymivalintojen tärkeyden luotettavaa testiä tavoiteltaessa.

Linda Laiholahi

Ohjaaja: DI Jiri Vainio

BIOTEKNIikka

Monet infektioautien diagnostiikassa käytettävät geenimonistustestit perustuvat entsyymejä hyödyntävään käänteiskopiointipolymeraasiketjureaktioon (RT-PCR), jossa kiinnostuksen kohteena oleva geeni on RNA:ta. Tekniikka mahdollistaa taudinaiheuttajien nopean tunnistuksen ihmisestä otetusta näytteestä.

Laiholahi optimoi RT-PCR:n reaktio-olosuhteita terveysteknologiayhtiö Uniogen Oy:ssä kehitteillä olevaa testijärjestelmää varten. Diplomityössään Laiholahi löysi useita lupaavia entsyymejä ja entsyymien kanssa yhteensopivia reaktio-olosuhteita. Odotetusti hän havaitsi eroja eri valmistajien entsyymien välillä.

RT-PCR:n keskiössä ovat kaksi entsyymiä, joilla on analyysissä omat tehtävänsä. Käänteiskopioijaentsyymien avulla tutkittavasta RNA:sta tuotetaan DNA-versio eli vastin-DNA. Sen jälkeen DNA-polymeraasi monistaa DNA-juostetta.

—Mitä enemmän käänteiskopioija pystyy valmistamaan vastin-DNA:ta ja mitä tehokkaammin DNA-polymeraasi kopioi DNA:ta, sitä pienempiä kohde-RNA-pitoisuuksia näytteestä voidaan havaita luotettavasti. Kun olin saanut käsiini tehokkaita entsyymejä, aloin säätää reaktiokomponenttien pitoisuuksia, Laiholahi kertoo.

Pikadiagnostiikalla nopeampi hoitopäätös

Uusi testijärjestelmä on tarkoitettu infektioautien pikadiagnostiikkaan. Noin puolen tunnin pituisen määrittelyn ansiosta potilas voi saada diagnoosin ja hoitopäätöksen yhdellä vastaanottokäynnillä.

—Tuotteen valmistuksessa entsyymit ja muut PCR-reagenssit kuivataan reaktiokammiona toimivalle muovilastulle, mikä yksinkertaistaa määrittystä. Tuotteessa entsyymien täytyy säilyä lastulle kuivattuna huoneenlämmössä vähintään vuoden ajan, Laiholahi sanoo.

Toistaiseksi näyttöä on vasta kahden kuukauden säilyvyydestä, mutta tulokset ovat olleet lupaavia.

—Lähikuukausien testitulokset mahdollistavat laajemmat tulkinnat, Laiholahi toteaa.

Seuraavaksi Laiholahi aikoo syventyä erilaisiin lisäaineisiin, joita käytetään toisinaan PCR:n peruskomponenttien ohella tehostamaan monistumista.

Lääkekehitysprosessiin parannusta uudentavalla seulonnalla

Vasta-aineproteiinin kehitys lääkkeeksi on pitkä ja paljon resursseja vievä prosessi. Diplomityötään Orion Oyj:llä tekevä Linnea Korhonen pyrkii selvittämään, voisiko vasta-aineiden kehitykseen lisätä seulontavaiheen huonojen vasta-ainevarianttien poistamiseksi, mikä puolestaan helpottaisi ja nopeuttaisi lääkekehitystä.

Linnea Korhonen

Ohjaajat: FT Antti Kulmala ja DI Saara Östman
BIOTEKNIikka (DI)

Vasta-aineiden käyttö lääkeaineina lisääntyy jatkuvasti, ja niiden kehitysprosessin parantaminen on hyvin ajankohtainen aihe. Aiemmin on keskitytty pääasiassa vasta-aineen sitoutumiseen kohteeseensa, mutta vasta-aineilla on todettu olevan myös monia muita ominaisuuksia, jotka voivat haitata sen mahdollisuuksia toimia lääkeaineena.

—Seulonta huonojen varianttien poistamiseksi pitäisi huolen siitä, että epätoivottuja biofysikaalisia ominaisuuksia omaavia vasta-aineita ei pääsisi eteenpäin kehitysprosessissa. Kehitysprosessi voi kestää jopa yli kymmenen vuotta, eikä se ole halpaa. Siksi olisi erittäin tärkeää, että vain sellaisia vasta-aineita, joilla on oikeaa potentiaalia lääkkeeksi, pääsisi eteenpäin seuraaviin vaiheisiin, Korhonen selittää.

Apuna nisäkässolut

Korhonen tutkii seulonnan mahdollisuutta nisäkässolunäyttökniikkaa hyödyntäen. Nisäkässolunäyttökniikassa halutun proteiinin geeni lisätään nisäkässoluun, joka sitten tuottaa kyseistä proteiinia pinnalleen. Solujen pinnoilla olevia proteiineja voidaan helposti vertailla toisiinsa ja erotella toivottuja ominaisuuksia epätoivottuista.

Korhonen on käyttänyt virheitä tuottavaa polymeraasiketjureaktiota saadakseen aikaan mutaatioita kolmen eri kaupallisen vasta-aineen DNA:han. Kun kaikki mutaatioita sisältävät vasta-ainegeenit lisätään nisäkässoluihin, saadaan aikaan vasta-ainekirjastoja.

Fluoresenssia mittaamalla kerätään tietoa

Seulonta on tarkoitus toteuttaa käyttämällä joukkoa sellaisia reagensseja, jotka sitoutuvat huonoja biofysikaalisia ominaisuuksia omaaviin vasta-aineisiin. Reagenssit on ensin leimattu fluoresoivalla yhdisteellä, jotta niiden läsnäoloa on mahdollista mitata. Kun vasta-aineita tuottaneet solut ja leimattu reagenssi lisätään yhteen, voidaan tutkia mitkä vasta-aineet sitoutuvat reagenssiin ja mitkä eivät. Näin saadaan tietoa vasta-aineiden ominaisuuksista.

—Kiinnostavaa on myös se, minkälaiset mutaatiot vasta-aineen DNA:ssa ovat saaneet aikaan sen, että eri vasta-ainevariantit sitoutuvat eri reagensseihin. Siksi aionkin sekvensoida eli selvittää DNA:n nukleotidijärjestyksen osasta variantteja, kertoo Korhonen.

Decoding the aromatic symphony of Finnish apple juices and ciders - A path to premium beverage crafting

While over 60% of apples are enjoyed fresh, around 20% undergo processing to create value-enhanced products like apple juice and cider. Master's student Mahsa Sadat Jafari discovered how apple varieties and yeast strains contribute to the unique aroma qualities of apple juice and ciders. To do so, apple beverages crafted from Finnish apple cultivars treated with different yeast species were examined.

Mahsa Sadat Jafari

Supervisors: D.Sc. (Tech) Niina Kelanne, Docent. Oskar Laaksonen
FOOD DEVELOPMENT

Exploring Role of Cultivar & Yeasts in Apple beverages

Cider is an alcoholic beverage crafted from unfiltered apple juice. In this study, apple juices were made from six different apple cultivars sourced from Marie Priest's Garden orchard (Turku, Finland). Then, the extracted juice samples were inoculated with two yeast species: *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii*. Jafari aimed to find out how apple varieties affect aroma-active compounds in apple beverages as well as investigate how yeast species boost aroma-contributing compounds. Jafari discovered noticeable differences among the samples, the aroma-active compounds being notably influenced by both the yeast species and the apple cultivar.

“The profile of aroma-active compounds in apple beverages is greatly influenced by both the choice of apple variety and the specific yeast strains. Different apple cultivars, with their unique chemical compositions, impart distinct aroma-contributing compounds (some sweeter and more inviting, while others may add tangy or sour notes). Additionally, various yeast strains, each with its own fermentation abilities and metabolic traits, contribute uniquely to the aromatic profiles of apple-derived beverages.” Mahsa explained.

Both apple juice and cider shared some similar aroma-active compounds, such as esters, higher alcohols, and volatile acids contributing to fruity, green and alcohol, and vinegar-like scents respectively, but ciders correlated with a wider variety of intriguing aroma profiles. Ciders showed correlations with acetals and lactones representing fruity and creamy aromas that weren't present in juice products. Noteworthy, *S. cerevisiae* correlated with esters and volatile acids, while *T. delbrueckii* contributed to a broader range of aroma-forming compounds, including acetals, ketones, terpenes, and aldehydes.

Among the six apple cultivars studied, three exhibited strong correlations with specific volatile compounds. Notably, varieties such as Mustialainen iso venäläinen, Rambo, and Antonovka, were predominantly associated with ester and higher alcohol compounds.

Pioneering locally sourced apple drinks

This study paves the way for crafting premium apple-based beverages, with potential implications for the commercialization of Finnish apple varieties. Finally, these insights could drive the growth of more efficient utilization of local fruit crops.

Hypoksian ja SUMOlaation tutkimus avaa uusia mahdollisuuksia munuaissyövän hoidossa

Hypoksia eli alhainen happipitoisuus saa aikaan hypoksian indusoituvan tekijän (HIF) määrän lisääntymisen soluissa ja lisää kasvaimen kasvua edistävien geenien ilmentymistä. HIF:n toimintaa on näytetty säätelevän SUMOlaatio, proteiinisynteesin jälkeinen muokkaus. Hypoksian ja SUMOlaation yhteisvaikutuksista on niukalti tietoa munuaissyövässä, mistä erikoistyötä tekevä Marleena Kangas tutkii Turun yliopistossa.

Marleena Kangas

Ohjaajat: Dos. Maria Sundvall, Prof. Panu Jaakkola, FM Antti Kukkula
SOLUBIOLOGIA

Kangas tutkii hypoksian ja SUMOlaation yhteisvaikutuksia munuaissyövässä, ja on havainnut niiden säätelevän munuaissyöpäsolujen kasvua ja proteiinien tuotantoa. Tutkimustulokset viittaavat siihen, että hypoksia vaikuttaa solujen SUMOlaatiotasoihin ja SUMOlaation esto solujen kasvuun eri munuaissyöpäsolulinjoissa.

—Hypoksia ja HIF:n säätely ovat keskeisiä tekijöitä syövän kehittymisen kannalta. Useimmissa munuaissolukarsinoomatapauksissa hypoksiassa aktivoituva HIF, on jatkuvasti aktiivinen von-Hippel-Lindau geenin (VHL) mutaation seurauksena. HIF-tekijät lisäävät kasvaimen kasvua edistävien geenien ilmentymistä. HIF:n toimintaa estävä lääke on hyväksytty munuaissyövän hoitoon. Siksi hypoksiaan liittyvien säätelyreittien ymmärtäminen lääketieteellisesti on tärkeää, Kangas selittää.

—SUMOlaatiossa pienet ubikitiinin kaltaiset SUMO-proteiinit säätelevät kohdeproteiinien toimintaa. Sen on havaittu muuttuvan vähähappisissa olosuhteissa ja vaikuttavan muiden proteiinien säätelyyn syövässä. Hiljattain on kehitetty ensimmäinen SUMOlaatiota estävä lääke, jonka vaikutuksia tutkitaan maailmalla syöpäpotilailla. SUMOlaation on näytetty säätelevän HIF:n toimintaa, mutta kokonaisuutena hypoksian vaikutuksesta SUMOlaation tai SUMOlaation eston vaikutuksista munuaissyöpäsoluissa ei ole vielä paljoa tietoa, Kangas kertoo.

Erilaiset menetelmät työkaluina tutkimuksessa

Kangas käyttää tutkimusprojektissaan kolmea eri munuaissyöpäsolulinjaa ja tutkii SUMOlaatiota sekä tavallisessa että vähähappisissa olosuhteissa. Kokeissa tutkitaan SUMOlaation ja hypoksiaan liittyvien erilaisten proteiinien tasojen vaihteluita eri menetelmiä käyttäen. Tutkimuksen keskeinen menetelmä proteiinitasoja tutkiessa on vasta-aineisiin perustuva western blot -analyysi. Lisäksi tutkimuksessa tarkastellaan solujen SUMOlaatiotasoa vähentävän lääkeaineen vaikutusta solujen kasvuun ja proteiinien ilmentymiseen hypoksiassa. Työssä on käytetty muun muassa paremmin luonnollista kasvuympäristöä jäljittelevää 3D-soluviljelyä mallintamaan lääkkeen vaikutusta solujen kasvuun.

—Hypoksian ja SUMOlaation tutkiminen on tärkeää uusien mahdollisten hoitomenetelmien löytämiseksi. Tuloksia on paljon ja ne tarjoavat uusia ideoita sekä avaavat uusia väyliä jatkotutkimuksille, Kangas toteaa.

3D-printed edible spoon to reduce waste

Food production sidestreams have the potential to be used to produce edible spoons to replace plastic. Furthermore, 3D printing could be easily combined with circular economy practices. The spoons scored well in the sensory evaluation but had poor mechanical properties. Thus, functional additives are still needed to improve the overall quality of the spoons.

Marta Stachnik

Supervisors: M.Sc. Eija Kulju, Doc. Oskar Laaksonen
FOOD DEVELOPMENT

The pollution problem of single-use plastics has primarily been addressed by bans on sales. The demand is addressed with alternatives like paper, or biodegradable composites. Another sustainable trend is the circular economy in food production, aimed at reducing waste.

The waste issue

Turning raw materials into edible food generates a substantial amount of by-products. The cider industry's apple pomace and the wine industry's grape residues pose transportation and disposal challenges. Similarly, the beer industry generates large volumes of by-products like brewer's spent grain (BSG), hot trub, and brewer's yeast, all of which are nutrient-rich.

Marta set out to design edible spoon prototypes using food production by-products. She chose brewer's spent grains, apple pulp from cider making, fruit pulp from wine processing, and residues from berry oil extraction. A low-waste 3D printing was utilized for crafting the spoons.

Innovation at the core

First, BSG was mixed with wheat and oat flours in varying ratios to develop food ink with good printing properties. Food ink is an edible material that is 3D printed layer by layer to recreate the shape of the desired item. Good printability is characterised by ink's ability to become more viscous (liquid-like) when extruded from cartage but regains its structure and holds the shape post-print. For the core tests, six food inks were prepared from various sidestreams. Inks were analysed by rheological measurements, whereas spoons were submerged in water for 24 hours and oil for an hour.

The evaluations indicated that the inks were viscous upon extrusion and didn't sag. However, none managed to fully restore their original internal structure after being deformed. Additionally, when the spoons were submerged in water for 24 hours, they absorbed significant amounts of water but not oil. The amount of absorbed water depended on the recipe, but no significant differences were noted for oil absorption. Sensory tests showed that the spoons didn't alter the food's aroma and were generally well-received in texture and appearance. However, the taste was not as highly rated, except for the spoon made with fruit pulp, which stood out among all six recipes.

“The analysis of food inks and spoons shows the necessity for functional additives to enhance the quality of the spoons. Nevertheless, tested sidestreams showed great potential as ingredients for sustainable single-use utensils”, says Marta.

Identification of compounds contributing to sensory quality helps the development of novel protein products

Novel proteins made by bacteria can hold a variety of color pigments and phenolic compounds that may impact their appearance and flavor. By identifying these compounds and their possible contributions to sensory quality, more development can be done to make these novel proteins more attractive to consumers.

Meeri Santikko

Supervisors: Ph.D. Terhi Pohjanheimo, Ph.D. Doc. Oskar Laaksonen
ELINTARVIKEKEHITYS (DI)

For her master's thesis project, Santikko studied and compared five novel protein samples produced by bacteria, aiming to identify key color pigments and non-volatile phenolic compounds. She observed that across all five samples, most pigments were the carotenoid zeaxanthin and its derivatives; around 90-100%, while most of phenolic compounds remained unidentifiable. However, she found phenolic acids and their derivatives to be the most common phenolic compound class, with hydroxybenzoic acid and its derivatives accounting for 20-50% of observed phenolic concentrations.

—The data provided from this study will provide a basis for future studies regarding proteins of this type. While most compounds remained unidentifiable due to lack of previous studies or established data, by honing these methodologies more accurate identifications and quantifications can be achieved., Santikko points out.

The phenolic and carotenoid profiles were observed using liquid chromatography and mass spectrometry. Analytical methods from previous studies were utilized but were not perfect due to the novel nature of the sample material. In future studies the methods should be improved to fit the raw material. However, Santikko deems this part of the learning curve.

—While the used methods were not perfect for this raw material, lessons were learned and now we know how they should be improved in the future. For example, most of the compounds were either esterified or glycosylated, so proper saponification should be included in sample preparation to extract these compounds in their free form to make identification based on their structure more viable. Nevertheless, it was challenging, but also rewarding to see how much one can learn within the span of this study, Santikko surmises.

The data that was collected from this study was combined with sensory studies of the same samples to further investigate the connection between compounds and their influence on sensory quality. As the global population increases, more sustainable protein sources are called for. Bacteria based protein, alongside other novel single-cell proteins, have significantly lower impact on the environment compared to traditional animal agriculture, which makes them a promising alternative in the future protein market. However, the presence of off-flavours, such as phenolic compounds that bring bitterness to the product, and color pigments such as carotenoids that influence the products colour, are something to be accounted for. Identifying the key compounds responsible for influencing the sensory quality will make it easier for future food developers to improve these novel proteins.

Fermentation of Seaweed: Enhancing Health Benefits and Consumer Acceptance

Fermentation of seaweed, specifically Fucus vesiculosus, seen a reduction in overall aroma, seaweed, and grassy aroma intensities according to the trained sensory panel. Master's degree student, Megan Maher from the University of Turku performed different fermentation strategies to improve sensory qualities of seaweed in an attempt to develop a product with better acceptance within the diets of Western cultures.

Megan Maher

Supervisors: D.Sc. (tech.) Niina Kelanne, Doc. Annelie Damerou, Doc. Oskar Laaksonen, Prof. Baoru Yang
FOOD DEVELOPMENT (TECH.)

Maher's research has identified some key areas of fermentation optimisation on seaweed which may lead to better acceptance of the sustainable product within Western diets. Utilizing seaweed from the coasts of the Finnish archipelago, it was found that chopped samples produced more lactic acid during fermentation compared to blended samples. Additionally, further testing revealed that 10 % glucose concentration was a more suitable quantity compared to 20 % for the lactic acid production. Sensory evaluation showed a significant reduction in seaweed and grassy aromas in fermented samples compared to raw and heat-treated seaweeds.

Monitoring the challenging fermentation process

The fermentation progress was monitored through chemical analysis: lactic acid concentration was monitored using gas chromatogram coupled with flame ionization detector across different fermentation masses and durations. As the progress was monitored, adjustments were made to optimise the fermentation. Initially, we found that the pH was not dropping as expected, so the amounts of seaweed within the fermentation was reduced. "We also tried different sugar concentrations, inoculation rates and various heat treatments, however, the fermentation time was taking considerably longer than those reported in literature", Megan explains.

Sensory evaluations of seaweeds and product innovations

A sensory evaluation by trained panellists assessed appearance, aromas, and textures. They evaluated four samples of two product innovations (pesto & sauerkraut style product) based on likeness and some selected aroma attributes. The panel also performed descriptive analysis on samples subjected to different treatments: raw, heat-treated, 2-day fermentation, and 12-day fermentation. Results showed fermentation reduced overall aroma intensity compared to raw samples. Additionally, both 2-day and 12-day fermentations significantly decreased grassy and seaweed aromas compared to raw and heat-treated samples.

Moving forward, Maher's research lays the groundwork for further exploration into the potential applications of seaweed fermentation. Future studies could delve deeper into the mechanisms underlying fermentation and explore additional avenues for product development, potentially unlocking even greater benefits for consumers.

Effect of different soil conditions on fatty acids in hemp seeds

Adding mycorrhizal fungi to the soil positively affects the total lipid content of hemp seeds. Master's Degree student Michaela Kotsiou has been testing how different soil conditions affect the total lipid content and the concentrations of different fatty acids in hemp seeds.

Michaela Kotsiou

Supervisors: Doc. Annelie Damerou, Doc. Benjamin Fuchs, Prof. Baoru Yang
FOOD DEVELOPMENT (TECH.)

Michaela Kotsiou is comparing the fatty acid composition of hemp seeds from plants that were cultivated in four different soil treatments. The treatments were control soil, control soil with the addition of mycorrhizal fungi, soil that contains glyphosate residues, and soil with glyphosate residues and mycorrhizal fungi. The plants were cultivated in research greenhouses at the Botanical Garden of the University of Turku and are part of a multidisciplinary project investigating the impact of herbicide residues in soil and plant-beneficial microbes on crop quality. Hemp seeds have a high concentration of polyunsaturated fatty acids which is responsible for their benefits on human health. Hemp seed oil is used in multiple products, such as animal feed, different types of food, nutritional supplements, and also cosmetics.

Significant differences in total lipid content.

Michaela found that the total lipid content of the seeds significantly increased with the addition of mycorrhizal fungi to the soil. However, the content (in %) of polyunsaturated fatty acids was lower in the case of mycorrhizal fungi-treated plants. Polyunsaturated fatty acids are the most beneficial fatty acids for human health since they can help reduce LDL (bad) cholesterol and boost heart health.

Fatty acid composition.

From the gas chromatography results, Michaela found out that all the samples consisted of the same fatty acids. The more important ones, which had the highest concentration, were linoleic acid, with a concentration of about 50%, and α -linoleic acid, with a concentration of about 20%. Those two fatty acids are important because they contribute to the n-6 to n-3 ratio. The ratio of the samples ranged between 2-3.3:1 which is in recommended range for a healthy diet. The best ratio, which is the one with the lower percentage of n-6 fatty acids, was found in the plants that were cultivated in the soil with glyphosate residues.

Uusi hapoton fiksatiivi molekyylipatologisiin tutkimuksiin

Hapoton glyoksaali (engl. Glyoxal Acid Free, GAF) on uusi fiksatiivi histologisten kudosten kiinnittämiseen. Erikoistyössään Miisa Litmanen analysoi GAF-fiksatiivilla kiinnitettyjen tuorekudosnäytteiden laatua vertaamalla niitä standardifiksatiivi formaliinilla kiinnitettyihin näytteisiin. Alustavat tulokset osoittavat uuden fiksatiivin säilyttävän nukleiinihappoja laadullisesti paremmin.

Miisa Litmanen

Ohjaaja: FM Teppo Haapaniemi

MOLEKULAARINEN BIOTEKNOLOGIA JA DIAGNOSTIIKKA

Verrattuna aikaisempiin glyoksaali fiksatiiveihin, GAF on lähes neutraali (pH 7.2–7.4) ja happovapaa. Litmanen tutki GAF-fiksatiivia tuorekudosten kiinnitykseen vaihtoehtona formaliinille, sen hyvien kemiallisten ominaisuuksien sekä turvallisen käytön vuoksi. Tutkimuksessaan Litmanen havaitsi, että morfologinen laatu on pääasiassa verrattavissa formaliniin, mutta antigeenien detektio immunohistokemiallisilla värjäyksillä jää heikommaksi GAF-kiinnitetyissä näytteissä. Tulokset ovat lupaavimpia molekulaarisista analyyseistä, joissa GAF-fiksoitu näyte sisältää vähemmän hajonnutta RNA:ta ja rikastuneen DNA-fragmenttikoon verrattuna formaliinilla kiinnitettyyn näytteeseen.

—GAF näyttäisi säilyttävän DNA:ta ja RNA:ta laadullisesti formaliniin paremmin, mikä on tärkeää molekyylipatologisten tutkimusten kannalta, Litmanen toteaa.

GAF korvaamaan formalini?

Käytetty fiksatiivi ja kiinnityksen kesto ovat kaksi preanalyttistä tekijää, jotka vaikuttavat suuresti kudoksen laatuun. Formaliniin on käytetty standardifiksatiivina patologian laboratorioissa jo vuosikymmenien ajan. Osa kudoksista tulee kuitenkin dissekoida ja tutkia tuoreena ja näytteitä voi joutua kuljettamaan laboratorion toiseen formaliniin upotettuna. Tämä ei ole optimaalista formaliniinialtistuksen, pitkittyneen fiksaation ja huonontuneen DNA:n ja RNA:n laadun vuoksi.

—Mikäli formaliniinista halutaan päästä tulevaisuudessa eroon, uuden fiksatiivin tulisi olla turvallisempi ja vähintäänkin yhtä tehokas kuin formaliniin. GAF-fiksatiivi on potentiaalinen vaihtoehto tähän, mutta lisätutkimuksia tarvitaan, Litmanen toteaa.

Kaikki patologian histologiset prosessit ovat optimoitu formaliinille. Näitä menetelmiä ovat esimerkiksi kudokäsittely fiksaation jälkeen, analyyttiset värjäykset, ja nukleiinihappojen eristäminen parafiiniin upotetuista kudoksista. Patologian prosessit tulisi optimoida uudelle fiksatiiville, sillä esimerkiksi penetraatio nopeus ja proteiinien ristsidosten muodostuminen vaihtelee eri kiinnitysaineilla sekä kudoksilla.

—Jatkotutkimusten tulisi keskittyä histologisten prosessien optimointiin GAF-fiksatiiville. Esimerkiksi pidemmällä antigeenin paljastuksella immunohistokemiallisissa värjäyksissä voitaisiin saada parempia tuloksia antigeenisyyden osalta, Litmanen pohtii.

Stabilization of berry anthocyanins through lactic acid fermentation – potential for novel probiotic beverage?

Master's thesis student Niklas Nurminen observed that lactic acid fermentation of crowberry juice could impact the degradation of anthocyanins and help to better preserve these compounds. He hopes that these kinds of results would eventually lead to development of new probiotic beverages and better commercial utilization of neglected crowberry.

Niklas Nurminen

Supervisors: Ph.D. Doc. Oskar Laaksonen, Ph.D. Doc. Ye Tian

FOOD CHEMISTRY

Potential of lactic acid fermentation to improve the taste of crowberry juice and lack of studies on the matter were driving factors behind the choice of Master's thesis topic by Niklas Nurminen. In his research on the effects of fermentation on various phenolic compounds, he observed that fermentation may influence the rate at which anthocyanins degrade. Based on preliminary results from high performance liquid chromatography, total anthocyanin levels decreased more slowly in fermented juice than in normal, untreated juice. Anthocyanins are a group of phenolic compounds associated with many potential health benefits due to their antioxidative properties and can be found in many blue, purple and red vegetables, berries and fruit. As anthocyanins are quite unstable molecules, the results of this research may bring hope to applications that wish to better preserve these compounds and their associated health benefits.

A new type of probiotic beverage?

Even though lots of studies have been conducted on lactic acid fermentation of berry and fruit juices other than crowberry, commercial applications are still lacking. Nurminen hopes the results he obtained for anthocyanin content would be a small step towards changing that.

“You don't really see these kinds of juice products in the stores. But, if lactic acid fermentation could be used to better preserve anthocyanins and other potentially beneficial compounds in juices, things might change. Besides, as many lactic acid bacteria are probiotic, this kind of fermentation could be used to create a new type of probiotic beverage,” Nurminen continues.

New life to a neglected berry?

Although crowberry produces the third-largest annual berry crop of wild berries in Finland after lingonberry and bilberry, it is not utilized to the same extent as these other two berries. Nurminen thinks that this is unfortunate, considering that crowberries are rich in many phenolic compounds. In some studies their anthocyanin content has actually been reported to be at a similar level to bilberries.

“Sometimes you can see crowberry juice or jam in stores, but its overall use is quite limited. I hope that finding alternative processing methods, such as lactic acid fermentation, could eventually change that.”

Analysis and Profiling of a Newly Engineered Antibody Collection

As the development of innovative antibody-based therapeutics allows for treating cancer, the idea behind this collection was to use structural mutation to create more stable antibodies. Measuring the quality of these novel antibodies by testing them against cancer-related targets is the core of this research.

Niloufar Kazemi

Supervisors: PhD Eeva-Christine Brockmann, Professor Urpo Lamminmäki
MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Through a series of experiments, we found that many of the antibodies from this collection bind well to their targets; we tested these new antibodies for three cancer-related targets, HER2, known for being overexpressed in breast and ovarian cancer; hTROP2, found in various cancers such as breast, lung, and colon; and Gremlin, mainly found in colorectal and pancreatic cancers. Among our collection, we found some unique binders for HER2 and Gremlin.

We began evaluating the antibody collection by using a special protein called Protein L, which binds only to the ones that were folded correctly and eliminates those with mistakes in their genetic code. Then, we used three different antigens, HER2, hTROP2 and gremlin-1, to see if any antibodies in our collection could bind to them well. We tested how well the antibody collection worked against each target and selected the antibodies that performed the best. After that, we checked the sequence of these top-performing antibodies. We aimed to identify the unique antibodies to examine how well they bind to their targets and how stable they are.

This study focuses on single chain variable fragment (scFv), which is the smallest antibody fragment and has poorer temperature stability than the other antibody fragments. Antibodies are composed of individually folded domains. Each of these domains is naturally stabilized by a disulfide bridge, which is the connection between two cysteines that stabilizes the folded structure in antibodies. In our collection, scFv has an additional disulfide bridge, which is positioned between the two antigen-binding domains to improve stability.

We found antibodies that bind to the specific targets by a popular method called phage display. It uses a particular virus that infects bacteria. This virus is great for showing off antibodies because it can display them on its surface. So, to prevent any issues in this production, we removed one of the native disulfide bridges.

Would this collection be a good substitute?

This unique collection, which has an extra disulfide bridge, could be a valuable source of highly stable scFv fragments. This is because during our selection process, we found that our antibodies were highly enriched for their ability to bind to specific targets, and they also showed potent activity against those targets. The next step is to determine whether restoring the missing native disulfide bridge can preserve the binding properties of specific binders.

From Field to Table: Innovations in Faba Bean Fermentation for Tastier and Healthier Foods

*Master's (Tech) Food Development student Nuwandi Jayasenthu explored various Lactic Acid Bacteria cultures to develop a method to create novel-food products with a palatable flavor profile. In her research, she identified the novel products made using pure *Lactiplantibacillus plantarum* and a lower percentage of yogurt as the most promising combinations for consumer acceptance. As plant-based foods continue to pique consumers' interest, Nuwandi's innovative products made through the valorization of the underutilized legume Faba Bean indicate a high potential for commercialization.*

Jayasenthu Kankanamge Nuwandi Piyumika

Supervisors: M.Sc. (Tech.) Shania Saini, Ph.D. Doc. Oskar Laaksonen

FOOD DEVELOPMENT (TECH.)

What do the results say?

Upon fermentation, Faba Bean batters showed a notable increase in the lactic acid content across all samples accompanied by a reduction in pH, indicating a successful fermentation. Moreover, there were significant alterations in the fructose, sucrose, and malic acid levels before and after fermentation, highlighting the impact of fermentation on flavor characteristics. Further, we found that Faba Bean flour fermented with *L. plantarum* and a lower percentage of yogurt exhibited high levels of lactic acid content and lower levels of malic acid, potentially enhancing consumer acceptance, Nuwandi explains. The presence of lactic acid may help mitigate the sour flavor associated with malic acid, making our fermented products more palatable. Moreover, the developed products bear semblance to dark bread and could be a quick alternative to oven-baked bread.

How were these novel products created?

We utilized different percentages of varied lactic acid bacteria cultures for fermentation. These included pure 1% pure *Lactiplantibacillus plantarum*, 25%/ 50% *Lactiplantibacillus acidophilus*-*Bifidobacterium sp.* fortified yogurt, and 15%/ 30% mixed curd cultures to produce batters from FB flour and incubated them at 30 °C for 24 hours (n=6, 2 replicate fermentations). Then, we microwaved the batters at 500W for 8 minutes. Finally, we analyzed the sugar and acid contents of the fermented batters using a gas chromatogram coupled with a flame ionization detector.

What's next?

By emphasizing the impact of lactic acid fermentation on flavor attribute through sugar and acid level estimation, this research highlights the need for further investigation into antinutritional factors (like vicine and convicine) and the sensory profile of the most promising Faba Bean fermented product combinations.

Growth location affects bioactive compounds in sea buckthorn leaves

Growth location plays a key role in the accumulation of bioactive compounds in plants. In his master's thesis study, MSc Tech student Iboi Osagie investigates the effect of growth location and environmental conditions on tocopherols and phenolic compounds for sea buckthorn leaves harvested in southern and northern Finland. The results show that sea buckthorn leaves harvested in southern Finland have a higher tocopherol content and vitamin E activity than their northern counterpart. Preliminary qualitative results show leaves cultivated in the north had a higher phenolic profile compared to their southern counterpart.

OSAGIE CHRISTIAN IBOI

Supervisors: Assist. Prof. Maaria Kortensniemi, Adj. Prof. Jukka Pekka Suomela
FOOD DEVELOPMENT (TECH)

Data shows that leaves in the south have a higher tocopherol content than the leaves from the north. The study further showed that the inherent climatic attributes of different geographical locations influence the amount of tocopherols in sea buckthorn leaves. Fresher sea buckthorn leaves samples which have been stored for a shorter length of time, retain higher levels of tocopherols compared to older ones.

Temperature and precipitation sum influence

Osagie found that the samples from the south with higher tocopherol concentration have a positive correlation with temperature sum or warmer climate bolstering the accumulation of tocopherols while the northern samples with lower tocopherol concentration correlate positively with precipitation.

Storage time indicative of freshness

Storage time was considered in the study as tocopherols are sensitive to light and the concentration may decrease over time. We noticed that samples with short storage time (fresher) have a higher tocopherol content than samples with longer storage time (less fresh), says Osagie. The fresher the sample, the closer its tocopherol levels are likely to be near those it had at harvest, as degradation mechanisms that can diminish tocopherol levels are minimized in fresher samples. The samples harvested from the south have a lower storage time when compared with the northern samples.

Implication for consumers and growers

The extract of the leaves can be encapsulated into dietary supplements. Consumers should prioritize freshness and origin in making purchasing decisions on sea buckthorn products to maximize the health potential of sea buckthorn leaves. Cultivators should prioritize processing the leaves as soon as it is harvested to ensure that the antioxidant qualities of sea buckthorn leaves remain intact.

What's next?

Osagie plans to continue this study to consider other environmental variables such as the soil condition and post-harvest management and their impact on the antioxidant properties of sea buckthorn leaves in the two climates.

Proof-of-Concept-Testing of Shape-Focused Pharmacophore Modeling using Acetylcholinesterase as a Test Case

O-LAP is a brand-new C++/Qt5-based graph clustering software intended to facilitate effective shape-focused pharmacophore modelling or flexible molecular docking rescoring. It is used to merge together overlapping atomic content that fills the target protein's ligand-binding cavity. The clustered O-LAP models can then be used in shape similarity comparison to improve the performance of standard docking algorithms. In her Master's Thesis work Paola Moyano-Gómez tested thoroughly a variety of cavity-filling input options and software settings for the O-LAP modelling using acetylcholinesterase as a test case.

Paola Moyano-Gómez

Supervisors: Doc. Pekka A. Postila and Prof. Olli T. Pentikäinen

MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

The Master's Thesis research of Paola Moyano-Gómez focused on evaluating how the O-LAP modelling methodology could be used to improve the docking-based virtual screening effectiveness in computer-aided drug discovery. This proof-of-concept study suggests that the O-LAP modelling can significantly boost the yield of docking rescoring, but that the cavity-filling atomic input and graph clustering settings need to be carefully considered; moreover, the generated O-LAP models should be optimized posteriori using greedy search, if a training set is available.

O-LAP models building and validation:

- O-LAP models can be generated using different kinds of cavity-filling input such as docked ligands and/or cavity-based negative images.
- O-LAP modelling method validation was done using a demanding benchmark library for acetylcholinesterase that was randomly divided into training and test sets to facilitate unbiased assessment.
- O-LAP models are compared against the flexibly docked ligand poses using a shape/charge similarity comparison algorithm (e.g., ShaaEP). This comparison is effective in ranking compounds because the ligand-cavity shape complementarity plays a key role in molecular recognition.

Acetylcholinesterase as the test case for O-LAP modelling:

Acetylcholinesterase was selected as the test case for the O-LAP testing due to the availability of protein 3D structures and abundance known ligands, thus, benchmarking work could be done. Regardless, the enzyme also has a prominent role in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. The enzyme breaks down the neurotransmitter acetylcholine into choline and acetic acid, thereby ceasing the nervous impulse in the cholinergic synapses. New acetylcholinesterase inhibitors are still in demand to treat not only neurodegenerative diseases but also to improve the effectiveness of acetylcholine receptor-related therapeutics, and, ultimately, the best O-LAP models could be used in virtual screening, therapy campaigns that are followed by compound purchases and *in vitro* testing.

Turun yliopiston opiskelija etsii uuden sukupolven lääkeproteiineja

*DARPin*it saattavat tarjota uudenlaisia mahdollisuuksia sairauksien hoitoon. Turun yliopiston ja Orionin yhteisprojektina lopputyötään tekevä Paulus Nyman etsii kirjastosta kahteen kohdeproteiiniin sitoutuvia *DARPin*eja. Tulokset osoittavat alustavia onnistumisia.

Paulus Nyman

Ohjaajat: Tuomas Huovinen, PhD; Bryce Nelson, PhD, Ralf Paul, PhD
BIOMOLEKYYLIEN TUOTANTO

Turkulainen biotekniikan diplomi-insinööriopiskelija Paulus Nyman seuroi *DARPin*eja (*designed ankyrin repeat protein*) kirjastosta kahteen solunsisäiseen kohteeseen sitoutuvia proteiineja, joita voitaisiin jatkokehittää lääkkeiksi. Tutkimuksessa hän on löytänyt sijoitajaproteiineja ja seuraavaksi hän tutkii niiden ominaisuuksia tarkemmin. Onnistuminen osoittaa käytettyjen menetelmien ja kirjaston toimivuuden tähän tarkoitukseen.

Vaikka tuloksena löydetty sijoitajaproteiinit olivat kirjastossa olemassa jo työn alusta asti, niiden erottaminen miljardien muiden joukosta ei ollut yksinkertaista. Tähän tarkoitukseen Nyman hyödynsi faaginäyttötekniikkaa.

-Siinä faagit, jotka ovat bakteerien viruksia, tuottavat pinnalleen yksittäiset *DARPin*it sen mukaan mikä DNA-sekvenssi on niissä sisällä. Kun kohdeproteiinia kiinnitettiin paikoilleen ja faagien annettiin sitoutua siihen, oli mahdollista pestä sitoutumattomat pois. Jäljelle jääneillä faageilla infektoidiin bakteerisoluja, jotka tuottivat faageista uusia kopioita. Näillä faageilla sitoutuminen ja pesu toistettiin aitojen sijoitajien rikastamiseksi ja sattumalta sitoutuneiden poistamiseksi. Neljän tällaisen kierroksen jälkeen sijoitajien osuus faageista oli hyvällä tasolla, Nyman kertoo.

Seuraavassa vaiheessa Nyman aikoo tuottaa ja puhdistaa löydettyjä sijoitajaproteiineja jatkokäytöksi varten.

-Tarkoituksena on vielä mitata tarkasti *DARPin*ien sitoutumisprofiili kohdeproteiiniin. Vahva sitoutuminen on tärkeää, koska silloin haluttu vaikutus saadaan pienellä määrällä ainetta, mikä on tärkeää lääkekäytössä. Lisäksi halutaan tietää ainakin lämmönkestävyys, joka kertoo, kuinka vakaa proteiini on. Stabiilisuus helpottaisi säilytystä ja potentiaalisesti pidentää lääkkeen vaikutusaikaa kehossa. Muutenkin *DARPin*eja on yksinkertaisina molekyyleinä paljon helpompi tuottaa verrattuna vasta-aineisiin, mikä pienentäisi valmistuskustannuksia. Täytyy tietysti muistaa, että matka ideasta lääkkeeksi vie yleensä vuosia ja miljardeja. Missä tahansa vaiheessa yritys voidaan hylätä toimimattomana.

Ihan hetken Orion-logollisia *DARPin*ilääkkeitä ei siis löydä apteekin hyllyltä. Nyman vaikuttaa kuitenkin tyytyväiseltä tähän mennessä saatuun tulokseen. Hän uskoo, että käytettyä *DARPin*ikirjastoa voitaisiin jatkossa käyttää sijoitajien löytämiseen mihin tahansa kohdeproteiineihin.

Increasing the production of Industrial enzymes by Strain Development?

Strain development of an enzyme-producing bacteria, which is traditionally long and laborious in the production of industrial enzymes, might be in its turning point. Pete Tarvonen is doing his thesis work in the University of Turku working with a new methodology of finding and improving these highly sought-after bacteria. The method aims to shift strain development process from tens of thousands of individual flask cultivations to a single cultivation.

Pete Tarvonen

Supervisors: Postdoc Benjamin Nji Wandji, Prof. Mikko Metsä-Ketelä
BIOTECHNOLOGY

Actinobacteria are important producers of enzymes, but the original bacteria strain isolated from nature typically requires extensive strain development prior to industrial usage. To accelerate this laborious process, Pete have used a metabolic engineering tool based on random mutagenesis, selective pressure and single-cell fluorescent activated cell sorting. In his study, he is doing strain development for five strains of *Streptomyces lavendulae* producing industrial enzymes. These enzymes are used in agriculture to control plant diseases, in wine and beer industries, and in detergent industries.

Enzymes are proteins that are in charge of breaking down fats, carbohydrates and other proteins in our bodies. *Streptomyces lavendulae* belongs to actinomycetes that are soil-dwelling bacteria used in the manufacturing of industrial enzymes and antibiotics. Pete Tarvonen has developed five strains and achieved up to 8-fold increase in yield in a single round of strain development using the new method.

—Actinomycetes are a very interesting group of bacteria. They naturally produce enzymes that decompose plants and parts of crustacean in the soil and antibiotics that can be used in chemotherapy. They also form mycelium, just like most fungi. This has made using single-cell techniques that have greatly improved strain development of bacteria and yeasts in general very challenging for actinomycetes. Our method enables the use of single-cell techniques with actinomycetes and results of the strain development have been promising, Tarvonen describes.

Further potential of the methodology?

Strain development is a process of finding the best producing individual cell and possibly mutating or otherwise altering it to further improve the production of your desired product. Industrial strains take multiple rounds of strain development to have reasonable level of yield to be usable in the production. The strain development methodology that Tarvonen uses not only eases the time-demand and workload of strain development for industrial enzymes; the methodology is applicable as long as the desired product can be produced in actinomycetes.

—There is a chance that this methodology can be used to produce other compounds in actinomycetes. For example, actinomycetes are known to produce antibiotics. This methodology can be used to find new antibiotic or to produce some known antibiotic in industrial scale in the future, Tarvonen ends.

PIM-kinaasit vaikuttavat rintasyöpäsolujen toimintaan säätelemällä estrogeenireseptorin aktiivisuutta ja sen kohdegeenien ilmenemistä

Rintasyöpä on maailmanlaajuisesti yleisin syöpä. Noin 70 % rintasyövistä ilmentää estrogeenihormonin reseptoria, joka säätelee rintasyövän kasvulle ja kehitykselle tärkeitä geenejä. Turun yliopistossa erikoistyötään tekevä Ronja Mehtonen on tutkimuksissaan havainnut, että PIM-kinaasit vaikuttavat rintasyöpäsoluissa estrogeenireseptorin aktiivisuuteen ja sen kohdegeenien ilmenemiseen.

Ronja Mehtonen

Ohjaajat: FT, Dos. Päivi Koskinen, FM William Eccleshall
SOLUBIOLOGIA

Ronja Mehtonen on työskennellyt dosentti Päivi Koskisen tutkimusryhmässä, jossa on aiemmin havaittu, että PIM-kinaasit voivat fosforyloida estrogeenireseptorin. Kinaasit ovat entsyymejä, jotka liittävät kohdeproteiineihinsa fosfaattiryhmän, ja siten säätelevät niiden ilmenemistä ja/tai aktiivisuutta. PIM-kinaaseja esiintyy monessa eri syövässä moninkertaisesti enemmän kuin normaalikudoksissa, ja niiden on osoitettu edistävän syövän kasvua, kehittymistä ja etenemistä. Mehtonen keskittyi tutkimuksessaan selvittämään, millaisia vaikutuksia estrogeenireseptorin PIM-välitteisellä fosforylaatiolla on rintasyöpäsoluissa.

- Saamani tulokset viittaavat siihen, että PIM-kinaasit osallistuvat estrogeenivälitteiseen geenien ja proteiinien ilmenemisen säätelyyn. Se, mitä geenejä ja proteiineja solussa ilmennetään, vaikuttaa solun ominaisuuksiin, Mehtonen kertoo.

Uudella genomimuokkausmenetelmällä saadaan aiempaa luotettavampia tuloksia

Mehtonen tutki estrogeenireseptorin fosforylaation vaikutusta rintasyöpäsoluissa poistamalla prime-editoinniksi kutsutulla genomimuokkausmenetelmällä soluista kohdan, johon fosforylaatio normaalisti kohdistuisi. Prime-editointi on melko uusi menetelmä, jolla saadaan hyvin tarkasti tehtyä pysyviä muutoksia genomiin ilman, että niitä tulee myös muualle ei-toivottuihin kohtiin, mikä parantaa tulosten luotettavuutta.

-Muokkauksen jälkeen soluja, joista fosforylaatiokohta oli poistettu, verrattiin muokkaamattomiin soluihin, joissa kohta fosforyloitui normaalisti. Näiden solujen välisistä eroista voitiin tehdä johtopäätöksiä fosforylaation vaikutuksista niin solujen kasvuun kuin geenien ilmenemiseen, Mehtonen selittää.

Muokkausmenetelmän käyttö vie kuitenkin melko paljon aikaa, joten toistaiseksi PIM-kinaasien fosforylaatiokohta on saatu poistettua soluista vain osittain.

-Jotta estrogeenireseptorin PIM-välitteisen fosforylaation merkitystä voitaisiin arvioida luotettavammin, fosforylaatiokohta pitäisi poistaa soluista kokonaan. Osittaisella poistollakin jo havaittiin merkittäviä muutoksia, joten nämä tulokset kannustavat jatkotutkimuksiin, Mehtonen toteaa.

Pieniä vasta-aineita tarkempaan kuvantamiseen

Kuvantaminen on tärkeä osa diagnostiikkaa ja solujen tutkimista. Kuvantamisessa hyödynnetään usein pieniä vasta-aineita, jotka sitoutuvat haluttuun kohteeseen. Kuvantamista voidaan parantaa käyttämällä erilaisia leima-aineita, jotka ovat kiinnitetty vasta-aineeseen ja leima-ainetta voidaan aktivoida esimerkiksi valon avulla. Pro gradu -tutkielmassaan Roope Korkea-aho etsii tehokkaita vasta-aineita, joiden avulla voitaisiin tutkia yksittäisiä solunulkoisia vesikkeleitä ja auttaa diagnosoimaan sydän- ja verisuonitauteja.

Roope Korkea-aho

Ohjaaja: Dos. Janne Leivo

MOLEKULAARINEN BIOTEKNIikka JA DIAGNOSTIIKKA

Korkea-aho etsii vasta-aineita, joita voitaisiin käyttää kahdessa eri kuvantamistekniikassa. Kuvantamista hyödynnetään monissa eri tutkimusaloissa ja on usein myös osa eri sairauksien diagnosointia. Yksi tekniikoista käyttäisi radioaktiivisesti leimattuja vasta-aineita PET-kuvantamisessa sydän- ja verisuonitautien diagnosoinnissa. Toinen kuvantamistekniikka voisi käyttää monia eri leimatekniikoita, kuten esimerkiksi fluoresoivia leimoja tuottamaan mitattavaa signaalia, jonka avulla voitaisiin kuvata yksittäisiä solunulkoisia vesikkeleitä. Vasta-ainefragmentit, joita projektissa käytetään ovat vain yksi osa kokonaisuudesta vasta-aineesta, joten ne ovat huomattavasti pienempiä. Korkea-aho on mahdollisesti löytänyt sydän- ja verisuonitautien diagnosointiin käytettäviä vasta-aineita.

–Kuvantamiseen käytettäviä vasta-aineita tarvitaan moneen eri käyttötarkoitukseen, mutta niillä täytyy olla monia ominaisuuksia, jotta niitä voidaan käyttää. Sydän- ja verisuonitautien diagnosointiin käytettävistä vasta-aineista on saatu lupaavia tuloksia, mutta jatkotutkimuksia on vielä tehtävä, jotta voidaan olla varmoja, että ne ovat hyviä, Korkea-aho sanoo.

Faagien avulla vasta-aineita

Faagit eli bakteriofaagit ovat bakteereja infektioivia viruksia, joita hyödynnetään faaginäyttötekniikassa. Faaginäyttötekniikka on yksi parhaimmista tavoista löytää hyviä vasta-aineita periaatteessa mille tahansa kohteelle.

–Faaginäyttötekniikkaan on pro gradu -tutkielmani aikana tullut perehdyttyä ja se on hyvin kätevä tekniikka. Löydetyt vasta-aineet vaikuttivat hyviltä ja en malta odottaa, että pääsen tekemään niille lisää karakterisointia, Korkea-aho selittää.

–Faaginäyttötekniikassa on kuitenkin se ongelma, että monesti käy niin, että kierroksia ja niiden olosuhteita on muokattava riippuen käytettävästä kohteesta. Tämä johtaa monesti siihen, että kierroksia on useampaan kertaan toistettava ja tämän takia faaginäyttötekniikka voi tuntua toistuvalla. Minulla oli myös ongelmia vasta-aineiden leimauksessa, jonka takia eri jatkotutkimukset edellyttäisivät joidenkin työvaiheiden toistamista, Korkea-aho toteaa.

Tulevaisuudessa Korkea-aho aikoo selvittää löytyneiden vasta-aineiden sitoutumiskyvykkyyttä ja -voimakkuutta erilaisilla määrityksillä.

Kaurapohjaisten maidonkorvikkeiden tuotannon CIP-pesujen optimointi mahdollistaa miljoonien litrojen vesisäästöt

Kasvipohjaisten, eläinperäistentuotteita korvaavien tuotteiden kysyntä on kasvanut räjähdysmäisesti viimeisen vuosikymmenen aikana. Raisio Oy:n Algot-tehdas on perustettu valmistamaan kaurapohjaisia maidonkorvikkeita, mutta nopean tuotannon käynnistyksen myötä tehtaan prosesseja ei ole optimoitu huolellisesti loppuun. Roosa Pelkonen pystyi parametrimuutoksilla tekemään vuositasolla jopa 2 miljoonaa litran säästöt veden kulutuksessa.

Roosa Pelkonen

Ohjaajat: Dos. Oskar Laaksonen, BSc. Krister Kumpulainen
ELINTARVIKEKEHITYS

Roosa Pelkonen pyrki vähentämään kaurapohjaisten maidonkorvikkeiden tuotannon CIP-pesujen veden kulutusta. Taustaselvityksen mukaan kannattavimmaksi veden käyttöä tehostavaksi keinoksi osoittautui huuhteluparametrien optimoiminen. Työssä parametrimuutoksilla pystyttiin vähentämään veden kulutusta jopa 25,4 %, mistä merkittävimpiä olivat huuhtelukierron (16,3 %) kierron täytön (6,2 %) ja sekoitusalueen (2,9 %) optimoiminen.

– Tuotannon muutokset ja pesukohteiden yksilöllisyys tekivät työn toteuttamisesta haasteellisemmän, mutta siitä huolimatta työ saatiin toteutettua onnistuneesti, Pelkonen toteaa.

Tutkimuksen tulokset pohjautuvat fysikaalisten, kemiallisten ja mikrobiologisten analyysien tuloksiin, joista korostui erityisesti tuotejämiä kuvaavien analyysien merkitys. Puolestaan mikrobiologiset analyysit eivät olleet täysin valideja, minkä takia tulokset eivät tuoneet lisäarvoa työhön.

– Todennäköisesti mikrobiologisten analyysien tulokset kertoivat pesukohteen yleisestä puhtaudesta, eikä yksittäisen pesuparametrien muutoksien onnistumisesta, Pelkonen jatkaa. Yksittäisissä pesukohteissa muutoksia ylläpidettiin parin viikon ajan, millä varmistettiin muutoksien onnistumista, vaikka mikrobiologisen analyysin sopivuus olikin epävarma.

Optimoinnilla parempi tulevaisuus

CIP-pesujen optimoinnin avulla pystytään tekemään suuria veden kulutuksen ja tuotantoajan säästöjä, mitkä mahdollistavat taloudellisia hyötyjä. Veden kulutuksen optimointi vähentää puhtaan veden kulutusta, syntyvän jäteveden määrää ja tuotantoaika, mitkä edistävät ympäristötavoitteiden saavuttamista paremman maailman puolesta.

Työn mahdollistama hyöty on kuitenkin vasta alkua. Työtä pystytään soveltamaan työn ulkopuolelle jääneille pesukohteille sekä laajentamaan työn ulkopuolelle rajattuihin pesuvaiheisiin, kuten flip-vaiheisiin.

– Tuotannon prosesseissa on aina kehitettävää, eikä niiden mahdollista hyötyä pidä aliarvioida, Pelkonen tiivistää työtään.

Oat Hulls – A Sustainable Solution for Innovative Food Products

The increase in oat consumption results in a corresponding rise in oat hull generation. People often underestimate the value of oat hulls because they currently dispose of them in landfills. In this study, Sambavi investigates a green method of extracting valuable nutrients from oat hulls to offer a sustainable solution for the creation of innovative food products. To accomplish that she employs enzymatic bioprocessing.

Sambavi Amirthalingam

Supervisors: Dr. Ying Zhou, Docent. Dr. Oskar Laaksonen, Prof. Baoru Yang
FOOD DEVELOPMENT

The results showed significant improvement in the extraction of protein content, free sugars, and organic acids in enzyme-treated oat hulls compared to the control samples. This study confirms that enzyme hydrolysis is a promising green method to valorize oat hulls towards nutrient-rich novel foods. ‘ Furthermore, the research findings indicate that the utilization of a mixture of commercial carbohydrase and feruloyl esterase enhances the extraction of nutrients in the liquid fraction of oat hulls’, says Sambavi.

In protease-treated oat hulls, some compounds can tentatively be identified as oligosaccharides. Further validation of this finding could pave the way for the utilization of the fiber fraction of oat hulls in novel food application.

The importance of the research findings in practical application

Sambavi explains that cereal-side streams are undervalued due to a lack of awareness, technical challenges, and challenges in meeting government quality and safety standards. However, utilizing them in industries offers benefits such as maximizing resource use, providing economic benefits to manufacturers, and fostering innovative product development.

According to data from the Food and Agriculture Organization statistics ([FAOSTAT](#)), Finland ranks fifth in global oat production, highlighting a significant generation of side-stream oat hulls. In this study, ‘Enzymatic treatment improved the protein and fiber content in the liquid fraction of oat hulls. Following this, we can spray-dry the liquid fraction and convert it into **protein - and fiber-rich powders**. Industries can then utilize these powders according to their needs and this will create a win-win situation among oat producers and the industries benefiting from them’, states Sambavi.

To date, oat hulls are mostly disposed of in landfills or used as animal feed. However, their full potential remains largely unexplored. This green method provides a solid idea of how to improve the extraction of nutrients in oat hulls, which have the potential to be used as ingredients in novel food application.

What’s next?

Sambavi expects to continue this research to study the compounds tentatively identified as oligosaccharides. The reason is that oligosaccharides have health-promoting properties such as prebiotic effects (supporting beneficial gut microorganisms’ growth), improving digestive health, enhancing immune function, and improving nutrient absorption. If the study yields favorable results, various industrial settings will find this knowledge useful.

Retinal point mutation could contribute to visual dysfunction

The retina is responsible for the visual function associated with the eyes. Ocular health relies on the intricate communication between retinal cells, and several factors, such as genetic factors can offset the balance in communication. Consequently, this gives rise to visual problems. As part of his master's thesis project at the University of Turku, Samuel Svärd characterized the eyes of a novel retinopathic mouse model carrying a point mutation in its MITF gene.

Samuel Svärd

Supervisor: Doc. Gennady Yegutkin

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

In his work, Svärd characterized the eyes of a novel mouse model (MITF^{mi-enu22(398)}) with a point mutation in its microphthalmia-associated transcription factor (MITF) gene like that seen in patients with Waardenburg syndrome or Tietz syndrome. The point mutation truncates a significant segment of the MITF gene product without abolishing its complete function. The research findings may be particularly relevant in cases dealing with patients who carry MITF mutations. However, the studies also shed light on the dynamic retinal cell–cell interplay. Highlighting, how the point mutation in the affected retinal pigmented epithelium can ultimately impact the whole eye over time.

-Working with eyes requires a lot of thinking outside the box, the retina is incredibly delicate and degrades very easily. Initially, I was mostly focused on establishing systematic methods for retinal tissue processing and multiplexed three-dimensional immunofluorescent imaging. But upon discovering the MITF mutation's robust change in the organization of the retinal cells and the overall retinal structure, I immediately started digging deeper into the pathological changes induced by the point mutation, Svärd tells enthusiastically.

Svärd further elaborates that the exact mechanism or series of events is still unknown but that it is almost as if the eye responds to an inflammatory event. Based on his findings primarily glial cells respond to the changes induced by the mutation and consequently, form distinct lesions in the innermost layers of the retina. This is also where the most important neurons in terms of visual output are located.

Additionally, the mice have less pigmentation and Svärd studied this using an electron microscope. There were no tell-tale signs explaining what was going on, although the mutated mice had a different pigmentation pattern. Therefore, Svärd has moved on to finding potential molecular markers revealing functional changes. Like the established methods, discovering molecular markers improves the quality of subsequent studies of other eye specimens and ocular diseases.

Following up on the discovery of mysterious lesions in the retina by completing functional readings on the electrical output of the eyes remains one of the key elements of describing the model as it would reveal to what extent the visual capability of MITF^{mi-enu22(398)} mice is affected. Svärd remains hopeful that he will have this data available soon.

Tunneling Nanotubes: A New Route for Enterovirus Spread Between Cells

Researchers have uncovered an alternate route of enteroviruses to spread from one cell to another, avoiding the immune defense of the host. BSc Sayma Farabi, who is completing her Master's thesis at the University of Turku, investigated how instead of disrupting cells, the virus may exploit host's cellular open membranous channels known as Tunneling Nanotubes (TNTs) to connect neighboring cells for transmission. This finding could shed light on the mechanisms of viral spread within the central nervous system of newborns.

Sayma Farabi

Supervisor: PhD, Docent, Sisko Tauriainen and PhD, Docent, Petri Susi
MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

Enteroviruses, though small in size, pose significant threats to human health, potentially leading to serious conditions such as aseptic meningitis, encephalitis, and cardiorespiratory failure. These non-enveloped viruses employ sophisticated strategies to infect cells and evade the immune system.

"Our findings suggest that enteroviruses, for example Coxsackievirus B3 and Coxsackievirus A9 exploit TNTs to facilitate direct cell-to-cell transmission, bypassing traditional barriers like intrinsic immunities and neutralizing antibody evasion. That is potentially contributing to the severity of neurological symptoms observed in patients," explains BSc Sayma Farabi.

Can Tunneling Nanotubes Transform Cellular Trafficking?

Tunneling nanotubes (TNTs) are open membranous channels that connect adjacent cells, represent a novel way of communication between distant cells and the exchange of various cellular materials. These materials include signals for cell survival or death, genetic material, organelles, and pathogens. With diameters ranging from 50 to 700 nm, TNTs are primarily composed of intermediate filaments, microtubules, and actin filaments. Studies have shown that certain viruses, such as HIV and SARS-CoV-2, exploit TNTs for direct cell-to-cell transmission, allowing them to evade detection by the immune system.

— Using advanced imaging techniques and fluorescent markers, the researchers observed increased TNT formation following virus infection in Green Monkey Kidney (GMK) cells. After virus infection in GMK cells, we used immunofluorescent staining and fluorescent small molecules to show infection, changes in cellular morphology, formations of TNTs in infected and non-infected cells. To confirm intercellular connectivity via TNTs we utilized split green fluorescent protein (GFP) technology in a way that when different cell populations, harboring only parts of GFP, were connecting to each other the fluorescent signal would appear when GFP becomes intact.

Although further investigation is needed to fully elucidate the precise mechanisms of viral transmission through TNTs, BSc Farabi hopes this study marks a significant step forward in understanding enterovirus pathogenesis.

Study reveals diverse roles of chloroplast enzymes in plant physiology

The functions of two chloroplast acetyltransferase enzymes, GNAT1 and GNAT2, in the model plant Arabidopsis thaliana are the subject of recent research by Shahnawaz Ami. The study provides important new understandings into how photosynthesis and plant development are regulated, opening up new directions for future plant physiology research.

Shahnawaz Ami

Supervisors: Paula Mulo, Minna Konert, Laura Laihonen
MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

A closer look into the world of chloroplast acetyltransferase enzymes

As part of his ongoing master's thesis, Shahnawaz Ami is investigating the physiological roles of the chloroplast acetyltransferase enzymes GNAT1 and GNAT2 in Arabidopsis thaliana. These enzymes, which are members of the superfamily General control non-repressible 5-related N-acetyltransferases (GNATs), are essential for the acetylation of chloroplast proteins, which affects many aspects of plant growth and development.

Revealing the Effects on Photosynthetic Networks

Ami's work explores the complex mechanisms of chloroplast acetylation with particular emphasis on how it affects thylakoid dynamics and photosynthetic light harvesting. The study specifically emphasizes how GNAT2 controls the acetylation levels of important proteins in the light harvesting complex II (LHCII). The level of acetylation is deemed to be essential for photosynthesis in an efficient manner, especially under varying light conditions.

The changes that a naked eye can see

By means of recurrent experiments, Ami reveals the more substantial physiological consequences of GNAT2 deficit that are easily apparent. Significant declines in root growth and sprouting rates are found in the study, both in normal standard growth condition and in response to mannitol-induced osmotic stress. These results highlight the essential function of chloroplast acetyltransferase enzymes in basic processes such as root growth and seedling establishment.

Current efforts

Although the discovery sheds light on the physiological functions of the enzymes chloroplast acetyltransferase, more research is needed to clarify the underlying molecular mechanisms. The assembly of Photosystem II and the thorough examination of thylakoid protein acetylation patterns are two current projects that provide opportunities for further study and possible agricultural biotechnology applications.

Uudenlainen antibiootti lugdunomysiini tutkimuksen kohteena

Lugdunomysiini on rakenteeltaan poikkeuksellinen antibiootti, jota tuotetaan geenimuokatuissa *Streptomyces*-bakteerikannoissa. Turun Yliopistossa erikoistyötään tekevä Sofia Antin pyrkii selvittämään lugdunomysiinin muodostumiseen johtavan reaktion yksityiskohtia.

Sofia Antin

Ohjaaja: Prof. Mikko Metsä-Ketelä, FM Alekski Nuutila
SOLUBIOLOGIA

Sofia Antin keskittyy erikoistyössään tutkimuksissa kiinnostavaksi osoittautuneeseen lugdunomysiiniin ja sen tuoton mekanismeihin maaperässä laajalti esiintyvissä *Streptomyces*-suvun bakteerissa. Uusien antibioottien löytäminen on välttämätöntä maailmanlaajuisen antibioottiresistenssin helpottamiseksi. Tuottoon tarvittavat geenit tunnetaan, joskin niiden rooli synteessin eri vaiheissa on yhä osittain epäselvä. Tavoitteena on tuottaa geenikirjasto, joka mahdollistaa lugdunomysiinin synteessin välivaiheissa muodostuvien yhdisteiden tuottamisen. Tuotetut välivaiheiden yhdisteet voidaan eristää, jolloin niitä voidaan tutkia entsyymaattisesti lugdunomysiinisynteesin reaktiovaiheiden ymmärtämiseksi.

Lugdunomysiinin kiinnostavin ominaisuus on sen ainutlaatuinen, monimutkainen rakenne. Se edustaa nimittäin rakenteensa puolesta uudenlaista, yhä tuntematonta antibioottien ryhmää. Sen rakenteen muodostumisen tunteminen mahdollistaisi vastaavanlaisten synteettisten antibioottien tuoton tulevaisuudessa.

Geenimuokatut *Streptomyces*-kannat antibiootin tuottajina

Streptomyces-suvun bakteerien tiedetään omaavan valtava geneettinen potentiaali monenlaisten mikrobien kasvua estävien yhdisteiden tuottamiseksi. Sen lisäksi, että ne tuottavat jo valtaosan käytössä olevista mikrobilääkkeistä, niillä on lukuisia ”hiljaisia” geenejä, jotka voisivat tuottaa lukuisia, yhä tuntemattomia yhdisteitä. Näitä yhdisteitä ei kuitenkaan muodostu normaaleissa laboratorio-olosuhteissa, joissa bakteeri ei joudu puolustautumaan muita eliöitä vastaan. Sen vuoksi yhdisteiden tuotto täytyy aktivoida geenimuokatuilla kannoilla.

Geenimuokkaus tapahtuu malliorganismi *E. colissa*, josta kootut geenikonstruktit siirretään tuottoisäntä *Streptomyces coelicoloriin*. Geenikonstruktioiden rakentaminen, siirtäminen tuottoisäntään ja tuotto ei ole aina suoraviivaista, vaan vaatii usein optimointia haluttujen yhdisteiden saamiseksi.

—Monipuolisen geenikirjaston kokoaminen on edellyttänyt paljon optimointia paitsi kasvuolosuhteiden, myös geneettisten komponenttien suhteen. Joidenkin välituotteiden tuotto ja puhdistus on onnistunut aluksi tuotetuilla kannoilla, mutta muiden haluttujen tuotteiden saamiseksi on kokeiltava toisenlaisia konstrukteja, jotka ovat parhaillaan työn alla, Antin kertoo.

Kauran myllyjätteestä voidaan tuottaa biopolttoainetta

Turun yliopistolla lopputyötä tekevä opiskelija, Sonja Tuominen, tuottaa kestäväää biometaania kauran kuoripölystä käyttämällä mikrobeja. Biometaani on fossiilista metaania parempi vaihtoehto, sillä hiiliatomit tulevat metaaniin biomassasta.

Sonja Tuominen

Ohjaaja: DSc (Tech.) Lari Vähäsalo, Prof. Yagut Allahverdiyeva-Rinne
KESTÄVÄT BIOTEKNISET PROSESSIT

Kaurankuoripöly voi tuottaa potentiaalisesti 640 litraa metaania 2 kiloa kuoripölyä kohden. Vastaavasti hemiselluloosasuodate voi tuottaa 180 litraa metaania 2 litrasta suodatetta. Tutkimuksessa käytetyt mikrobit tuottavat biokaasua, joka koostuu pääosin metaanista ja hiilidioksidista. Metaani voidaan eristää hiilidioksidista erilaisin keinoin, tässä tutkimuksessa johtamalla se lipeään.

Biometaani on kestävä biopolttoaine, jota voidaan käyttää esimerkiksi autoissa, uuneissa ja energian tuotannossa. Fossiilisen metaanin sijaan biometaani käyttää hiiltä luonnon hiilikierrosta, eikä siis lisää hiilidioksidin määrää ilmakehässä.

Miksi kauran myllyjätteestä

Maailmassa kaurantuotannon jätettä tulee jopa 28 000 miljoonaa kiloa vuosittain, josta akanoita on 6 300 miljoonaa kiloa. Kauran akanoita käytetään eläinten rehuna, mutta niiden ravitsemukselliset ominaisuudet eivät ole eläimille tarpeeksi laadukkaat sellaisenaan. Ihmisten ravintona akanoita ei lähtökohtaisesti käytetä ollenkaan.

Tuominen tekee tutkimuksen yritykseen CH-Bioforce Oy, joka tuottaa biopolymeerejä erilaisista biomassoista, muun muassa kauran akanoista. Kauran kuoripöly ja hemiselluloosasuodate ovat edelleen CH-Bioforce Oy:n hukkavirtoja, joten materiaalien hyödyntäminen metaanin tuotantoon kaatopaikan tai vedenpuhdistamon sijaan on askel kohti kiertotaloutta.

– Sen sijaan, että kaurankuoripöly laitettaisiin kaatopaikalle tuottamaan metaania, tällä menetelmällä metaani saadaan kerättyä talteen, Tuominen kertoo.

Laajat kemialliset analyysit paljastavat kaurankuoripölyn ja hemiselluloosasuodatteiden olevan potentiaalisia materiaaleja biometaanin tuotantoon.

Mikrobit tuottavat metaania anaerobisissa eli hapettomissa olosuhteissa. Kyseessä on siis mädätysprosessi, jota tapahtuu itsestään kaatopaikoilla ja luonnossa. Mikrobit käyttävät biomassan hiilihydraatteja ravintonaan, jota pilkkoessaan se tuottaa metaania erilaisia aineenvaihduntateitä pitkin. Kasvatus kestää tutkimusvaiheessa 30 päivän ajan. Tuominen odottaa innolla tuloksia tutkimuksestaan.

– Kasvatusprosessi kaurankuoripölyllä on laitettu käyntiin, ja huomasimme metaanin tuotannon lähteneen jo hyvään vauhtiin. Kuukauden päivät pitää kuitenkin vielä odottaa, ennen kuin voi tehdä lopullisia päätelmiä metaanin määrästä, Tuominen toteaa.

Seuraavan kasvatuksen Tuominen tekee hemiselluloosasuodatteesta.

Embigiini kiinnittää solun ympäristöönsä sekä osallistuu solun aineenvaihduntaan

Embigiini-proteiini osallistuu solun kiinnittymiseen ympäristöönsä sekä solun aineenvaihduntaan. Turun yliopistossa erikoistyötään tekevä Susanna Kallio tutkii, kuinka tämän proteiinin esiintymisen määrän muutokset vaikuttavat näihin osa-alueisiin ihmisalkion munuaissoluissa. Alustavien tulosten perusteella, embigiinin esiintymismäärä vaikuttaa sekä solun kiinnittymiseen, että aineenvaihduntaan.

Susanna Kallio

Ohjaajat: FT Johanna Jokinen, FM Salli Talvi, Prof. Jyrki Heino
SOLUBIOLOGIA

Solun pinnan proteiinin embigiinin esiintymisen vähentäminen laskee solun kykyä kiinnittyä fibronektiiniin. Fibronektiini on solua ympäröivän tilan proteiini, johon solu kiinnittyy useammalla eri reseptorilla, joista yksi on embigiini. Solu kiinnittyy ympäristöönsä selviytyäkseen, mutta myös esimerkiksi kommunikoidakseen ympäröivien solujen kanssa. Lisäksi erikoistyöstä saatujen alustavien tulosten perusteella, embigiinin esiintymismäärän alentaminen vaikuttaa myös monokarboksylaattikuljettimien esiintymiseen alentavasti. Monokarboksylaattikuljettimet kuljettavat monokarboksylaatteja, kuten laktaattia, solun pinnan läpi.

—Embigiini on tärkeä monokarboksylaattikuljettimille, sillä se auttaa niitä kulkeutumaan solun pinnalle ja muodostaa niiden kanssa kompleksin pinnalla. Näin ollen embigiinillä on merkitys monokarboksylaattikuljettimien toiminnassa ja siten solun aineenvaihdunnassa, Kallio sanoo.

Kallio tekee erikoistyötään käyttäen ihmisalkion munuaissoluja. Tutkimusryhmän aiempi tutkimus on keskittynyt hiiren soluihin ja hiiriin. Nyt tutkimus on aloitettu tutkimusryhmässä ihmisen soluissa. Embigiini-proteiini on osa immunoglobuliinien superperhettä, mutta tutkimus on keskittynyt maailmalla enemmän perheen muihin proteiineihin.

—On ollut hienoa päästä tekemään erikoistyössä perustutkimusta liittyen proteiiniin, josta ei ole niin paljon tietoa saatavilla, Kallio toteaa.

Embigiini on tärkeä muun muassa alkionkehityksessä

Aiemmin tutkimusryhmä on havainnut, että embigiinin puuttuminen viivästyttää alkion keuhkojen kehittymistä ja aiheuttaa korkeaa vastasyntyneiden kuolemaa hiirissä. Alkion kehittymisen jälkeen embigiiniä esiintyy erityisesti epiteelisoluissa, jotka ovat tärkeitä esimerkiksi syövän kehityksessä. Embigiinillä on tietyissä syöpätyypeissä, kuten haimasyövässä, syövän etenemistä lisäävä vaikutus.

—Jatkossa voisi tutkia, kuinka embigiinimäärän muutos vaikuttaa ihmisolujen aineenvaihduntaan eli esimerkiksi vaikuttaako embigiinin esiintymismäärän alentaminen monokarboksylaattien kuljettamiseen pois solusta. Tyypillisesti syöpäsolut kärsivät hapenpuutteesta ja ne näin ollen tuottavat laktaattia, Kallio pohtii.

Modifying the transcriptional machinery of cyanobacteria can unravel their biotechnological potential

Cyanobacteria are potentially suitable host organisms for bioproduction, biotransformation and bioremediation. However, these applications require robust cyanobacterial strains. We have constructed one such strain by overexpressing the stress-responsive transcriptional activator protein, SigB, in the SigB-overexpression (SigB-oe) strain. In the present study, I have shown that when grown in optimal growth conditions the gene expression pattern of SigB-oe remains normal, possibly explaining the normal growth and production capacity of SigB-oe.

Tayyab Saleem

Supervisors: MSc. Otso Turunen, Doc. Taina Tyystjärvi

MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY

In my master's thesis research, I compared the transcriptomes of the SigB-oe mutant with the wild-type strain of the model cyanobacterium *Synechocystis* in standard growth conditions, and found close resemblance between them. According to my results the *sigB* gene was 6-fold upregulated in SigB-oe, yet the SigB amount in the RNAP holoenzyme was similar between the mutant and the wild-type strain. Moreover, I observed no differences in the contents of other sigma (σ) factors in the RNAP holoenzyme of the two strains either. A possible post-transcriptional mechanism limits RNAP-SigB holoenzyme abundance in standard conditions, and requires further exploration.

Method for studying transcriptomes and formation of the RNAP holoenzyme

For the transcriptomic comparison, I used the hot phenol method to isolate total RNA from liquid cell cultures, which was then commercially sequenced. After that, I used bioinformatics tools to compare the SigB-oe and wild-type transcriptomes. Whereas, for quantifying the σ factor proteins in the RNAP holoenzyme, a histidine tag was added to the gamma (γ) subunit of the RNAP core. After isolating total proteins, I used cobalt-coated magnetic beads to pull down RNAP complexes. For analyzing the σ factor content in the isolated RNAP holoenzymes, specific antibodies and the Western blot technique were utilized.

σ factors regulate bacterial gene expression by forming RNAP- σ holoenzymes. *Synechocystis* has nine different σ factors, including the stress responsive SigB. The σ factor present in the RNAP holoenzyme guides the complex to the promoter DNA of a σ -specific gene set, and gene expression begins.

Significance of our results for the biotechnological use of cyanobacteria

Cyanobacteria have emerged as sustainable microbial factories for bioproduction of commercial metabolites. SigB-oe could potentially be used as a host strain since, through post-transcriptional regulation, it contains the same amount of RNAP-SigB holoenzymes as the wild-type strain in normal conditions. Given its role in stress acclimation, SigB overexpression could potentially help maintain the maximal growth of commercial cyanobacterial strains in fluctuating industrial environments, and possibly improve their metabolic efficiency.

Diplomityöntekijä perehtyy turkulaisyrityksen innovatiiviseen lääkevalmisteen valmistusprosessiin

DelSiTech:n valmistamat silikapohjaiset lääkevalmistegeelit ovat osoittautuneet lupaaviksi monipuolisten lääkeaineiden kuljetukseen kehossa. Diplomityöntekijä Teemu Lintunen on yhdessä yrityksen kanssa työskennellyt valmistusprosessin toistettavuuden parissa. Tähänastiset tulokset puhuvat valmistusprosessin vakauden puolesta.

Teemu Lintunen

Ohjaajat: Prof. Mikko Metsä-Ketelä, TkT Mika Jokinen, Ins. Tatu Assmuth

BIOTEKNIikka

Lintunen tutkii sooli-geeli-tekniikkaan perustuvaa geelimäistä lääkevalmistemateriaalia sen valmistuksen näkökulmasta. Prosessi on melko suoraviivainen, mutta dynaamisia, vaihtelua aiheuttavia vaiheita löytyy. Tietokoneavusteista koesuunnittelua hyödyntäen tutkimusryhmä etenee paikantaen vaihtelua aiheuttavia seikkoja. Aikaiset tutkimustulokset viittaavat siihen, että prosessi on vakaa eikä perehtynyt työntekijä saa aikaan suurta ei-haluttua vaihtelua väli- tai lopputuotteeseen vahingossa. Tutkittavaa on kuitenkin vielä paljon.

— Kokeellisen tutkimuksen suorittamiseksi olen saanut hyvän perehdytyksen ja prosessia on pyritty kontrolloimaan vertailtavuuden takaamiseksi. Toisaalta todistan itse prosessin toimivuutta valmistaessani keskenään hyvin samanlaisia materiaaleja lyhyellä kokemuksellani, pohtii Lintunen.

Kohti suuremman mittakaavan tuotantoa?

Lääkemolekyylin monimutkaisuus kulkee käsi kädessä sen rakenteen hienovaraisuuden kanssa, joten monen lupaavan biomolekyylin käytettävyys lääkkeenä on vaatinut ja tulee vaatimaan innovatiivisia ratkaisuja erityisesti lääkekuljetuksen saralla. DelSiTech:n silikamikropartikkeli-silikahydrogeeli-komposiitti kykenee osaltaan vastaamaan haasteeseen.

—Toistaiseksi saamiemme tulosten valossa valmistusprosessi on toistettava ja tehokas, mutta täytyy muistaa, että prosessi on kokonaisuudessaan paljon tähän mennessä tutkittua laajempi. Odotettavissa on tyytyväisyyttä aiheuttavien tulosten lisäksi haasteita, joita tutkiessa saadaan olennaista tietoa jo ennestään hyvin tutusta prosessista, Lintunen sanoo realistisena.

Tutkimus tukee yrityksen valmiustason nostamista mahdolliseen kysynnän kasvuun varautuen.

—Pitkällä aikavälillä yritys on toivottavasti valmiina nostamaan tuotantokapasiteettiaan ja -mittakaavaansa, jolloin teknologia pääsee aidosti oikeuksiinsa, Lintunen haaveilee.

Lintunen jatkaa DelSiTech:n kanssa tuotantoprosessiin perehtymistä kauttaaltaan, tavoitteena saada kokonaisvaltainen käsitys sen käyttäytymisestä eri olosuhteissa.

Uusi sylkinäytteen keräystekniikka helpottamaan kotitestausta

Kotona tehtävissä diagnosoivissa testeissä olennaista on näytteenkeräys. Testin onnistumisen edellytyksenä on, että käyttäjä osaa tehdä testin oikein. Olo Health Oy:ssä diplomityötään tekevä Teemu Ranta on kehittänyt kasettia, johon sisältyisi sylkinäytteen vaivattomasti keräävä tekniikka.

Teemu Ranta

Ohjaaja: FT Etvi Juntunen

BIOTEKNISET JÄRJESTELMÄT (DI)

Ranta tutkii työssään lateraalivirtaustestiin sopivaa kasettia, johon on sisällytetty syljenkeräysjärjestelmä. Tavoitteena on kehittää kasetti, jossa kaikki tarvittavat toiminnot ovat yhdessä paketissa, eikä käyttäjän tarvitse annostella mitään. Tavoitteena on saada kasetista helposti massatuotettava ja materiaalit sellaisena, että valmistuskustannukset pysyvät matalina.

-Tämän tekniikan selkeä hyöty verrattuna muihin markkinoilla oleviin on, ettei käyttäjän tarvitse lisätä mitään puskuria. Lisäksi kasetin muotoilu mahdollistaa, ettei sylki heti pääse kosketuksiin lateraalivirtausliuskan kanssa vaan vasta halutun ajan päästä, Ranta kertoo.

Syljen kerääminen tapahtuu pitämällä näyteliuskaa suussa, minkä jälkeen liuska vedetään kasetin läpi. Sitten kasetin sisällä oleva rakenne puristaa sylkeä näyteliuskalta kasetin näytekaivoon. Lateraalivirtausliuska oli näytekaivon lähellä siten, että sen näytetyyny voidaan kastaa näytteeseen haluttuna ajankohtana.

-Laitetaan vain näyteliuska suuhun, kunnes liuska on märkä syljestä. Sitten vedetään toiselta puolelta liuska kasetin läpi, jolloin näyte päättyy haluttuun kohtaan kasettia, Ranta demonstroi testin tekoa.

Sovelluksia laajemmin

Sylkinäytteistä tehtävien testien yleistyessä on markkinoilla tarvetta kuluttajalle helppoon ja virheettömään näytteenotto tekniikkaan, jossa on alhaiset valmistuskustannukset

-Täällä Olo Health:ssä keskitymme tällä hetkellä hormonaaliseen testaamiseen, mutta uskon tämän näytteenkeräyksen soveltuvan myös muihin syljestä mitattaviin aineisiin, Ranta toteaa

Exploring the potential of bladderwrack's fermentation

Fermented bladderwrack has the potential to be a novel plant-based product retaining its potential health benefits and desirable flavours to suit consumer preference. Master's degree student, Temitope Oyedokun explored the fermentation of bladderwrack to address the rise in demand for vegan diet options. She investigated the changes in composition to shed light on the prospect of utilising bladderwrack to offer new innovative plant-based products in the food industry.

Temitope Oyedokun

Supervisors: D.Sc. (Tech) Niina Kelanne, Doc. Oskar Laaksonen, Doc. Annelie Damerau, Prof. Baoru Yang
FOOD DEVELOPMENT (TECH.)

In this study, the thirty-eight volatiles identified after fermentation were classified with flavours such as sweet almond, earthy mushroom-like, mild alcohol and fruity smell to mention a few compared to the green grassy smell in raw bladderwrack. This diverse volatile profile offers direction on flavour enhancement and product development. Oyedokun attempted to produce fermented bladderwrack using different forms of heat treatments and enzymes. Fermented bladderwrack was produced by adding lactic acid bacteria strains to the broth. The findings showed a decrease in pH of heat-treated samples compared to the raw samples. In the analysis of organic acids, lactic acid and malic acid were present in fermented samples.

From sea to table: bladderwrack's potential as a food innovation

Fermentation has for centuries been proven to be an important processing in food enhancement, however its impact on aquatic plants has been sparsely explored. Bladderwrack is held as a promising aquatic source of food for its richness in nutrients Oyedokun seeks to understand the intricacies of fermentation's influence on bladderwrack which would potentially open new opportunities in food innovation.

Path for future research development

The identification of thirty-eight volatile compounds found in fermented bladderwrack samples highlight the complexity of its fermentation process. "While previous research has suggested that bladderwrack's complex polysaccharides composition poses intrinsic challenges for a successful fermentation, fermentation still remains a viable means in the development of innovative seaweed products" believes Oyedokun.

"This study lays the groundwork for succeeding research in the fermentation of bladderwrack for food and beyond" she states. Temitope emphasises exploring different starter cultures, alternative seaweed pre-treatments and enhancers will promote the fermentation process of bladderwrack for potential food applications.

Sienillä on uskomattomia taitoja pilkkoa yhdisteitä hyödykseen

Sienikasvatuksissa glutamiinia pilkkovan entsyymien, glutaminaasin, tuotto kasvaa kasvatuksen myötä. Entsyymien tuotto riippuu myös sienien kannasta. Glutaminaasi entsyymi on käytetty erityisesti elintarviketeollisuudessa erilaisissa sovelluksissa. Nyt, Tuisku Immonen todentaa menetelmiä sienten entsyymien tuoton tutkimiseen ja analysoi menetelmien avulla muun muassa glutaminaasin tuoton kehitystä.

Tuisku Immonen

Ohjaaja: Ph.D. Outi Mäkinen

BIOMOLEKYYLIEN TUOTANTO (DI)

Immosen tutkimuksen kohteena on sienikasvatuksissa muodostuvien entsyymien kehitys kasvatuksen edetessä. Entsyymit ovat elintärkeitä kasvavalle sienelle. Entsyymien avulla sieni pystyy ottamaan käyttöön ravintoa kasvupinnastansa. Immonen tutkii erityisesti glutaminaasi- ja proteaasientsyymien kehitystä sekä kehittää menetelmiä näiden tutkimiseksi. Näillä entsyymeillä on kaupallista arvoa erityisesti elintarviketeollisuudessa. Tällä hetkellä Immonen on pystynyt paljastamaan, että glutaminaasientsyymien tuotto kasvaa seuraten samankaltaista kaavaa kaikilla tutkittavilla sienillä. Myös kantojen välisiä eroja on löytynyt. Proteaasi-menetelmän kehityksessä on kuitenkin kohdattu ongelmia.

—Proteaasin tuotosta tuloksia on ollut vaikea saada. Menetelmä proteaasin tuoton tutkimiseen ei ole toiminut halutulla tavalla ja siihen on täytynyt tehdä perusteellisia muutoksia. Uskon, kuitenkin, että tuloksia vielä saadaan, ja ne tulevat täydentämään jo saatuja glutaminaasin tuloksia. Ilmankin tuloksia tärkeää työtä proteaasin menetelmän luomiseksi on tehty, Immonen pohtii.

Sienet kasvavat mielellään kiinteässä alustassa

Työssään Immonen kasvattaa sieniä raaka-ainekoostumukseltaan erilaisilla kasvatusalustoilla, jotka koostuvat elintarviketeollisuuden sivuvirroista. Näiden kasvatusalustojen avulla sieni pystyy kasvamaan sille luonnollisemmalla tavalla kuin nestekasvatuksissa. Teoriassa tämä johtaa myös suurempiin entsyymipitoisuuksiin.

—Kiintoaineessa sieni joutuu kasvaakseen tehdä työtä ravinnon saavuttamiseksi. Sienet pilkkovat entsyymien avulla kompleksisia raaka-aineita helpommin saavutettaviksi. Näin myös entsyymien tuotto kohoaa runsampiin pitoisuuksiin, Immonen toteaa.

Immonen kokeilee kahta erilaista kasvualustaa sienikasvatukseen ja selvittää kasvualustan vaihdon vaikutuksia entsyymeihin.

—On myös mielenkiintoista nähdä, kuinka kasvualustan vaihdos voi vaikuttaa entsyymeihin, ja seuraavatko ne samankaltaisia kaavoja riippumatta kasvualustasta. Tulevaisuudessa olisikin mielenkiintoista pureutua pidemmälle siihen, miten muutokset olosuhteissa vaikuttavat sienten entsyymien tuottoon, Immonen pohtii lupaavasti.

Perustutkimus kartoittaa tautia aiheuttavien bakteerien toimintamekanismeja

Geenien ilmentämisessä toimiva RNA-polymeraasi entsyymi tarvitsee aputekijöitä sekä tietyn happamuustason toimiakseen oikealla tavalla. Erikoistyötään tekevä Ville Levola tutki Spirochaeta africana -bakteerin RNA-polymeraasin toimintaa transkriptiotekijä CarD:n läsnäollessa emäksisissä olosuhteissa.

Ville Levola

Ohjaajat: M.Sc. Vilma Trapp, Assoc. Prof. Georgy Belogurov
BIOKEMIA

Spirochaeta africana -bakteerin geenien ilmentäminen tapahtuu aputekijöiden läsnäollessa sekä tietyssä happamuustasossa. RNA-polymeraasi entsyymi vastaa bakteerin geenien informaation kääntämisestä proteiinien valmistusohjeeksi. Tässä tapahtumassa RNA-polymeraasi valmistaa ensin geenien informaation mukaan RNA:ta ja lopulta syntyy valmis proteiini, joka ohjautuu solussa omaan tehtäväänsä.

-Tutkin RNA-polymeraasin toimintaa transkriptiotekijä CarD:n läsnäollessa sekä kahdessa eri happamuudessa. Tulokset osoittavat, että verrattuna paljon tutkittuun *Escherichia colin* RNA-polymeraasiin *Spirochaeta africana* -bakteerin RNA-polymeraasi vaatii samankaltaisen tehokkuuden saavuttaakseen elinympäristönsä kaltaiset emäksiset olosuhteet sekä transkriptiotekijä CarD:n läsnäolon, Levola kertoo innoissaan tuloksiaan.

Yhteensä Levola tutki erikoistyössään RNA-polymeraasin toiminnan tehokkuutta kymmenellä erilaisella promoottorilla. Promoottori on geenin alussa sijaitseva osa, johon RNA-polymeraasi sitoutuu alkaessaan valmistaa RNA:ta. Solussa proteiineja valmistetaan eri määriä aina tietyn tarpeen mukaan ja proteiinin valmistustehokkuuteen vaikuttaakin olennaisesti promoottorin rakenne.

-Erilaisia promoottoreja tutkimalla sain laajan kokonaiskuvan *Spirochaeta africana* -bakteerin RNA-polymeraasin toiminnasta ottamalla huomioon eri geenien RNA:n tuoton tehokkuuden, Levola kertoo tutkimuksestaan.

Uusi lääke borrelioosiin?

Tautia aiheuttavien bakteerien RNA-polymeraaseihin kohdistuvia lääkkeitä on markkinoilla todella vähän. Tutkimusryhmän yhtenä tavoitteena on selvittää kyseisen entsyymin fysiologisia mekanismeja *Spirochaeta africana* -bakteerissa. Tätä tietoa voidaan käyttää hyväksi, kun kehitetään lääkkeitä tautia aiheuttavia bakteereita vastaan. Borrelioosi on borreliabakteerin levittämä vaikea tauti. Tutkimusryhmän kiinnostuksen kohteena oleva bakteeri *Spirochaeta africana* on sukua borreliabakteerille, ja tästä syystä sen tutkiminen on tärkeässä roolissa, kun puhutaan uusien tehokkaampien lääkkeiden kehittämisestä.

-Toki tässä ollaan selvittämässä vasta perusasioita, mutta ilman tällaista tietopohjaa lääkkeiden kehittäminen on mahdotonta, erikoistyötään tekevä Levola huomauttaa.

Paperipohjainen testialusta korvaamaan muovisia alustoja laboratorioon

Työssä tutkittiin paperipohjaisen testialustan ominaisuuksia ja voiko tulevaisuudessa muoviset testilevyt korvata halvemmalla ja biohajoavalla selluloosa paperi –testillä. Työn keskeisin tulos oli, että paperin päälle voidaan rakentaa proteiinikompleksi, jonka avulla sitojaproteiineja voidaan tutkia ekologisemmin.

Vilma Rynnänen

Ohjaaja: Ph.D. Tuomas Huovinen

MOLEKULAARINEN BIOTEKNOLOGIA JA DIAGNOSTIIKKA

Monet kokeet biotieteiden alalla tehdään muovisilla levyillä, jota ei voida uusiokäyttää. Vilma Rynnänen on syventynyt tämän ongelman ratkaisuun pro gradu -tutkielmassaan, jonka tavoitteena on luoda vaihtoehtoinen alusta proteiinien sitoutumisen tutkimiseen muovilevyjen tilalle. Tutkimustavoitteina ovat selluloosaan sitoutuvan proteiinin (CBM) ominaisuuksien tutkimus ja todistus, että CBM tosiaan tarvitaan kokeen onnistumisen kannalta, sekä nesteen kapillaari-imun rajaaminen halutulle alueelle.

Paperikokeissa saatiin selville, että signaalia esiintyy vain alueilla, joissa on CBM yhdistettynä signaalimolekyylillä sitovaan proteiiniin. Signaalimolekyylinä testeissä toimii vihreää fluoresoiva GFP, joka sitoutuu paperin pinnalle tarttuneeseen CBM kompleksiin. Testien pohjalta selvisi, että toisen CBM sitojaproteiinin lisääminen kompleksiin ei tee määrittämisestä herkempää eikä nosta signaalin tasoa niin kuin aluksi Rynnänen oletti.

Paperikokeen dynaamista pitoisuusaluetta tutkittiin laittamalla suurin mahdollinen pitoisuus, jota puhdistettua tuotetta oli, sekä siitä pienempiä pitoisuuksia. Määrittämisestä tulisi siis parantaa tuhat kertaisesti, mikäli sen paikka halutaan varmistaa muovilevy-määrittäysten rinnalle, Rynnänen pohtii.

Määrittämisissä signaalin määrä ja itse kokeen herkkyys riippuvat paljon mitä leima-ainetta käytetään. Kokeeseen valittu GFP ei ole herkin mahdollinen leima-aine, mutta sen optimaalinen pitoisuus määritettiin paperitestiä varten.

Kokeiden herkkyyteen vaikuttaa myös CBM irtoaminen paperin pinnalta. Mikäli irtoaminen tapahtuu helposti pesujen yhteydessä, suuri osa tutkittavasta proteiinista voi peseytyä määrittämisestä pois. Tätä tutkittiin lisäämällä paperin pesujen määrää nolasta pesusta kahteenkymmeneen pesuun asti. Tuloksien pohjalta Rynnänen toteaa, ettei CBM kompleksi irtoa pesujen lisäyksen myötä, joka on positiivinen uutinen paperimäärittäysten jatkokehitykselle.

Kapillaari-imun tukkimista on tutkittu alalla paljon ja yleisin menetelmä on leikata paperi haluttuun muotoon, jota hyödynnetään lateraalivirtaustesteissä. Muita yleisiä keinoja on rakentaa vettä hylkivä polymeeri paperin väliin esim. erityistulostimen avulla. Tutkielmassaan Rynnänen on 3D tulostanut 96 kaivon rei'ittimen, joka leikkaa paperin ympyröihin, joiden pinnalla määrittäminen voidaan tehdä. Rei'ittimen lisäksi hän on 3D mallintanut alustan, jonka pohjalle paperikiekot menevät ja määrittäminen voidaan tehdä. Toistaiseksi rei'itin ei ole toiminut toiveiden mukaan, mutta toivoa on vielä jäljellä.

3D-tulostetun metallin vaikutus solujen elinkelpoisuuteen – mahdollisuus potilaskohtaisille nikkeli vapaille proteeseille?

Tällä hetkellä ortopediset proteesit valmistetaan koneistamalla ja standardikokoisina, mutta 3D-tulostamisen myötä on mahdollista valmistaa jokaiselle potilaalle henkilökohtaisesti räätälöity proteesi. Proteesit valmistetaan usein vahvasta ja korroosionkestävästä metallista, mutta useimmat metalliseokset sisältävät nikkeliä, joka saattaa aiheuttaa allergisia reaktioita. Vilma Tupalan tutkimuksessa selvitettiin uudenlaisen 3D-tulostetun nikkeli vapaan teräksen vaikutusta solujen elinkykyyn, mikä on tärkeä ensiaskel selvittäessä niiden soveltuvuutta potilaskäyttöön.

Vilma Tupala

Ohjaajat: FT, Dos. Terhi Heino, FM Karoliina Kajander

SOLUBIOLOGIA

Väestön ikääntyessä ja tuki- ja liikuntaelinsairauksien yleistyessä tarve uudentyyntä ortopedisille proteeseille kasvaa. 3D-tulostaminen on uusi menetelmä, joka nopeuttaa proteesien valmistamista ja vähentää niiden uusimisen tarvetta, sillä tulostamalla saadaan tehtyä jokaiselle potilaalle proteesi mittatilaustyönä. 3D-tulostamisen haasteena on kuitenkin oikeanlaisen materiaalin löytäminen. Tarvittavan materiaalin tulee olla sekä 3D-tulostettava, että ihmiskehoon sopiva. Se ei saa aiheuttaa esimerkiksi immuunivastetta tai tulehdusta kehossa.

Tupala kertoo, kuinka 3D-tulostaminen on mullistamassa terveydenhuoltoa, mutta sen käyttöönotto vaatii vielä lisätutkimuksia. Ruostumaton teräs on hyvin korroosionkestävää ja kantavaa, joten se on usein käytetty metalli proteeseissa. Vaikka proteeseissa käytettäviä metalleja pidetään varsin pysyvinä materiaaleina, on aina mahdollista, että metalleista liukenee tekijöitä, jotka vaikuttavat negatiivisesti proteesia ympäröivään kudokseen ja solujen kasvuun.

Tutkimuksessaan Tupala kasvatti luuta muodostavia osteoblastisoluja sekä nikkeli vapaan PANACEA-metallin että kontrollimateriaalina käytetyn tavallisen teräksen 316ss päällä, tavoitteenaan selvittää, miten metallit vaikuttavat osteoblastien kasvuun ja erilaistumiseen. Tulokset osoittivat, että solujen kasvu metallien päällä oli heikkoa verrattuna solujen kasvuun normaaleissa kasvuolosuhteissa. Nikkeli vapaan PANACEAn päällä solut kasvoivat kuitenkin paremmin verrattuna metalliin 316ss, mutta metallien välinen ero oli pieni. Yhtä selkeitä eroja ei nähty tutkittaessa solujen erilaistumista. Havaittiin, että ne solut, jotka olivat saaneet kasvaa ilman metalleja, erilaistuivat paremmin, mutta erilaistumista oli selkeästi havaittavissa myös metallien päällä kasvaneilla soluilla.

Tutkimuksen tulevaisuudennäkymät

—Tulokset antoivat suuntaa jatkotutkimuksille. Tutkimuksen aikana pystyimme mikroskoopilla seuraamaan solujen kasvua normaaleissa olosuhteissa, mutta koska metalli ei läpäise valoa, solujen kasvua metallipalojen päällä ei pystytty seuraamaan tavallisen valomikroskoopin avulla. Seuraavissa soluviljelmissä voisi soluja tutkia käyttämällä pyyhkäisyelektronimikroskooppia, joka mahdollistaisi solujen tarkan kuvantamisen ja näyttäisi solujen pintarakenteet yksityiskohtaisesti, Tupala pohtii.

Phenolic compounds in oat and rice products

Md Zakir Hossain, a Master's student in Food Development, identified and quantified the phenolic compounds in oat and rice-based commercial products after cooking. In 2022, Finland was one of the biggest producers of oat and the fourth largest exporter of oat. The import of rice in Finland is also increasing. Phenolic compounds present in plants mainly act in their defense against ultraviolet radiation, insects, predators, and pathogens, as well as contribute to plant color. Phenolic compounds have several beneficial effects on health, such as antioxidative, anti-inflammatory, anti-carcinogenic, anti-microbial, and anti-cardioprotective effects.

Zakir Hossain

Supervisors: MSc. Enni Mannila, Doc. Annelie Damerou, Prof. Kaisa Linderborg
FOOD DEVELOPMENT

The oat and rice samples were chosen from the OAT-GUT-BRAIN research project. In this 6-week clinical trial, 71 participants were given oat and another gluten-free diet, one based on rice, to examine their antioxidant activity after consuming these cereals. Oat samples were oat flakes, oat grains, oat ready-meal, oat muesli, oat snack bars, and oatmeal, which contained oat and oat-based bread. Rice samples contained rice flakes, rice grains, ready-meal rice crispies, rice cakes, and ricemeal, which included rice cake and rice flakes. In the laboratory experiment, we found more phenolic acids in oat products than in rice products. Avenanthramides were a specific kind of phenolic compound that was only present in oat samples.

How was the analysis of the phenolic compounds conducted?

All the oat and rice products were cooked in the Food Development laboratory at the University of Turku according to the instructions in their packages. Then, we freeze-dried and ground the samples to make them into fine powder for extraction. After that, we extracted the samples with 80% methanol and finally analyzed them with High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection (HPLC-DAD), a technique used to identify and quantify phenolic compounds.

Is this study different from others?

From the literature review, I have found that this study is probably the first one analyzing phenolic compounds from two different cereals-based cooked or processed products and finding the relationship between the nutritional composition of the products and their phenolic content, Zakir explains. Most studies analyzing phenolic compounds have focused on fresh plants; however, consumers eat most of these products after processing.

What is the importance of this study?

Oat and rice are the main staple energy sources for many people around the world, and most people consume them daily. If we could know more about the phenolic compounds present after the industrial and household food processing steps, we could know the phenolic content consumers consume. Future studies should focus on changes in phenolic content in cooked oats and rice, finding the reasons behind these changes.