

Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání?

Laboratorní práce, při které se studenti seznámí s proteiny, s jejich prostorovým uspořádáním a prostřednictvím vlastní činnosti poznají základní principy skládání proteinů. Studenti pracují s jednoduchými modely proteinů představujícími základní řetězec proteinu a aminokyselinové zbytky. Aminokyseliny však nejsou zastoupeny jednotlivě, barevně jsou odlišeny skupiny aminokyselin s postranními řetězci s podobnými chemickými vlastnostmi (hydrofilní, hydrofobní, kyselé a zásadité postranní řetězce). Cílem úlohy je složit model proteinu do takového prostorového uspořádání, aby postranní řetězce aminokyselin správně interagovaly samy se sebou a také s okolním prostředím (předpokládáme, že protein se nachází v polárním prostředí).

Modely proteinů v zahraničí označované jako *toobers* je možné koupit přes internet, studenti si je však mohou vyrobit i sami.

Téma: Prostorové uspořádání proteinů

Zařazení do RVP: obor Chemie – Biochemie

Úroveň: 3. nebo 4. stupeň čtyřleté SŠ

Organizační forma výuky: LP

Doba trvání: 2VH

Cíl: Student popíše interakce jednotlivých skupin aminokyselin jak s vodou tak s jinými skupinami aminokyselin a na základě těchto interakcí vysvětlí základní princip skládání proteinů.

Pomůcky: modely proteinů mini toobers (viz např.: <http://education.pdb.org/olympiad/mini.html>); do každé pracovní skupiny fotoaparát s displayem (případně mobilní telefon s fotoaparátem)

Domácí výroba modelu proteinů:

Podobný model jako toobers je možné vyrobit ve škole nebo doma. Budete k tomu potřebovat pěnovou izolační trubku, dobře lepící leukoplast nebo nějakou textilní kobercovou lepící pásku, měděný vázací drát, barevné napínáčky.

Izolační trubku dlouhou přibližně 1m a s vnějším průměrem 3cm rozřízneme podélně na 2 poloviny (každá poslouží jako jeden model). Vezmeme stejně dlouhý vázací drát, vložíme jej podélně do izolační pěnové trubky a pečlivě oblepíme leukoplastem po celé délce. Leukoplast je třeba relativně hodně utahovat, aby vázací drát nevytlékal z izolační trubky v místě rozříznutí (oba kraje izolační trubky tiskneme pevně k sobě).

Model proteinu sestává ze základního řetězce (pěnová trubka) a postranních řetězců aminokyselin (barevné napínáčky). Jedna sada napínáčků by měla obsahovat 6 žlutých (zastupují hydrofobní postranní řetězce), 3 bílé (hydrofilní postranní řetězce), 2 červené (kyselé p. ř.), 2 modré (zásadité p. ř.) a 2 zelené napínáčky (cysteiny), tedy celkem 15 napínáčků. Barvy mohou být samozřejmě i jiné, jde o poměr zastoupení jednotlivých skupin aminokyselin.

Motivační úvod hodiny:

Učitel ukáže studentům obrázky modelů proteinů s různým prostorovým uspořádáním. V úvodní ppt.

Prezentaci, která je součástí tohoto výukového materiálu, jsou obrázky ATP-synthasy, kolagenu a kinesinu (protein podobný miosinu). Jejich struktura je na první pohled velmi odlišná.

Učitel položí studentům následující (nebo obdobné) otázky:

- Pozná někdo z vás, jaké látky vám ukazují? *Proteiny.*
- Kde se můžeme s podobnými látkami setkat? *Jsou součástí všech živých organismů.*
- Jaké je jejich chemické složení? *Aminokyseliny by měli studenti znát jako deriváty karboxylových kyselin, měli by také vědět že jsou základními stavebními jednotkami proteinů a že proteiny patří mezi biopolymery.*
- Pokuste se tyto látky porovnat. V čem vidíte základní rozdíl? *Odlišné prostorové uspořádání.*
- Myslíte si, že v organismu plní stejnou funkci? *Určitě ne. Funkce proteinu vyplývá z jeho prostorového uspořádání. Učitel může studentům napovědět už názvy daných proteinů, z některých je možné vyvodit*

jejich funkci, jiné budou studenti znát. ATP-synthasa je enzymový komplex, který katalyzuje vznik ATP z ADP a P_i . Kolagen je vláknitý protein tvořící hlavní stavební jednotku pojivových tkání. Kinesiny jsou pohybové proteiny poháněné ATP, podobně jako např. myosin, známý ze svalových vláken. Zajišťují transport a správné umístění velkých molekul v buňkách.

Důležité je, že pro správnou funkci proteinu v organismu je nutné, aby protein zaujímal správné prostorové uspořádání. Protein, který se při svém vzniku špatně složí, fungovat nebude.

Součástí úvodní ppt. prezentace je i několik obrázků sekundární struktury proteinů (šroubovice a skládaný list). Učitel by měl studentům na obrázcích ukázat, že sekundární struktura je stabilizována především H-můstky spojujícími jednotlivé atomy základního řetězce. Úkolem studentů bude hledat vazby a interakce, které odpovídají za vyšší úroveň uspořádání proteinů.

Na závěr ukáže učitel studentům jeden model proteinu, nebo spíše krátkého polypeptidu, podobný těm, které budou sami při hodině sestavovat. Další, jiné prostorové uspořádání. Studenti tak získají představu, co by měli během LP vytvořit.

Otázka, na kterou budou studenti během LP hledat odpověď:

Jak se proteiny skládají? Co určuje jejich výsledné prostorové uspořádání?

Shromažďování dat:

Učitel by měl vybídnout studenty, aby se zamysleli, co by si měli před hledáním odpovědi zjistit. Dílčí otázky mohou studenti vybrat pomocí metody brainstormingu. Studenti dávají návrhy, učitel je zapíše na tabuli a poté společně vyberou ty podstatné. Informace budou studenti získávat při vypracování první části pracovního listu (Aminokyseliny v proteinech – shromažďování dat). Pokud by studenti potřebovali ještě některé informace doplnit, může jim učitel poskytnout odbornou literaturu, zpracovávající dané téma.

Co je potřeba vědět, abychom mohli pochopit skládání proteinů:

1. Chemické složení proteinů.
2. Jak vypadají aminokyseliny, které se v proteinech vyskytují.
3. Co mají tyto aminokyseliny společné a v čem se naopak liší.

Na základě informací, které studenti získají při vypracování pracovního listu nebo najdou v literatuře, by měli formulovat svojí hypotézu. Co ovlivňuje skládání proteinů? Jakými chemickými zákonitostmi se skládání proteinů řídí? Svoji hypotézu zapíší studenti do pracovního listu.

Poté, co studenti formulují svojí hypotézu, měli by začít pracovat na jejím ověření. To je praktická část této LP.

Praktická část LP:

Studenti se rozdělí do pracovních skupin (dvojice, trojice), Každá skupina obdrží od učitele jeden model proteinu (mini toobers, nebo vlastnoručně vyrobený model, plastický podlouhlý válec) a k němu sadu barevných napínáčků (15 ks).

Učitel studentům vysvětlí, že válec představuje polypeptidový řetězec a napínáčky postranní řetězce aminokyselin. Různé barvy napínáčků představují různé skupiny aminokyselin (viz tabulka). Napínáčky budou studenti zapichovat do válce přibližně 7 cm od sebe. Postupně budou studenti řešit několik úkolů z pracovního listu.

barva napínáčků	skupina aminokyselin (podle povahy postranních řetězců)
žlutá (ž)	hydrofobní
bílá (b)	hydrofilní
červená (č)	kyselé
modrá (m)	zásadité
zelená (z)	cystein

Tabulku by bylo vhodné rozdat nebo ukázat studentům až těsně před tím, než budou s modely pracovat.

Úkol č.1:

Prvním úkolem je složit protein podle předem daného pořadí aminokyselin (barev napínáčků). Studenti si nejdříve připraví polypeptidový řetězec s postranními řetězci aminokyselin a poté ho mají složit. Musí si uvědomit, jak budou postranní řetězce aminokyselin interagovat navzájem a také, jak interagují s okolním, vodným, prostředím. Každá pracovní skupina vytvoří svůj model a poté jej srovná se skupinou sousední. Jejich proteiny se budou možná lišit, měli by diskutovat proč se liší a navzájem si vysvětlit, proč složili svůj protein právě do takového tvaru. Tyto dvě skupiny pak vyberou protein, který se jim zdá správněji složený (nebo ho složí znovu). Proteiny pak studenti prezentují před celou třídou a stručně vysvětlí, jak při skládání postupovali. Pokud se skupiny neshodují, měla by proběhnout diskuse, při níž studenti vysvětlují svůj postup skládání.

Výsledkem diskuse by měla být formulace několika základních pravidel skládání proteinů. Tato pravidla (nebo jinak formulovaná) zapíší studenti do pracovního listu.

- **Hydrofobní postranní řetězce se shlukují tak, aby bylo zamezeno jejich kontaktu s okolním vodným prostředím.**
- **Hydrofilní postranní řetězce naopak interagují s okolní vodou, tvoří s ní H-můstky, takže jsou na povrchu proteinu.**
- **Kyselé a zásadité postranní řetězce se budou také spíše vyskytovat na povrchu proteinu. Navzájem mohou tvořit solné můstky.**
- **Cysteinové zbytky spolu tvoří tzv. cystin, propojují polypeptidový řetězec disulfidovou vazbou.**

Úkol č. 2:

Druhý úkol už by měl být pro studenty snadnější (teď už by všichni měli vědět, jak protein skládat). Sami si určí pořadí aminokyselin a pokusí se protein složit. Může se stát, že si aminokyseliny namíchají tak, že nebude možné složit protein a dodržet při tom základní pravidla interakcí postranních řetězců aminokyselin. Jak je možné, že se toto nestane při syntéze proteinů v organismech? V průběhu evoluce byly vybírány takové kombinace aminokyselin, které je možné složit a jejichž výsledné prostorové uspořádání je schopné plnit v organismu určitou funkci. Učitel může poukázat na případy, kdy dojde k nějaké mutaci a proteiny se špatně složí (například záměna jedné aminokyseliny v molekule hemoglobinu a jeho následná nefunkčnost a z toho plynoucí nemoc srpkovitá anémie). V dané chvíli může také zavést pojem nativní struktura. Nativní struktura je právě takové prostorové uspořádání, ve kterém protein plní svoji biologickou funkci.

Další úlohy jsou součástí pracovního listu a slouží k procvičení skládání modelů proteinů.

Prezentace výsledků:

Studenti by měli všechny své výsledky (v tomto případě struktury, které složili, a různé závěry, plynoucí z vlastní práce) prezentovat před třídou. Při dvouhodinovém laboratorním cvičení však není dostatek času na to, aby každá skupina prezentovala všechny své výsledky. Tento problém může učitel vyřešit tak, že prezentaci daného úkolu přidělí vždy jedné nebo dvěma skupinám (kromě prvního úkolu, ten by měly prezentovat všechny

d
v
o
j
i
c
e

s
k
u
p
i
n
,