

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra učitelství a didaktiky chemie



**Mgr. Anna Fendrychová**

Praktické úlohy pro výuku biochemie, Struktura proteinů  
Hands-on Activities for Biochemistry Education, Protein Structure

Rigorózní práce

Praha, 2015

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 5. 6. 2015

Podpis

Děkuji za mnoho důležitých rad a připomínek a za veškerou pomoc Doc. RNDr. Václavu Martínkovi, Ph.D., s nímž jsem měla možnost svoji práci konzultovat. Také děkuji svým rodičům za pečlivé přečtení a zhodnocení mé práce.

## **Abstrakt**

Materiály připravené v rámci této práce představují jednoduché pokusy s proteiny a tvorbou vlastních bílkovin, respektive jejich modelů. Jejich originalita a dobrý aktivizační potenciál spočívají především v tom, že si studenti vlastníma rukama připraví model zadaného proteinu a při tom využívají znalosti principů hlavních mezimolekulových interakcí. Materiály byly také připravovány tak, aby odpovídaly současným trendům v přírodovědném vzdělávání, zahrnují hlavní prvky badatelsky orientované výuky. Přínos materiálů pro osvojení učiva struktury proteinů byl ověřován na několika středních školách.

## **Klíčová slova**

badatelsky orientovaná výuka, modely proteinů, prostorové uspořádání proteinů, výuka biochemie, inzulin

## **Abstract**

Materials prepared within this rigorous thesis include simple experiments with proteins and some hands-on activities with protein folding using toobers (protein models). Their originality and strong activation potential consist in creating a protein structure by students own hands. Students have to apply knowledge, how main intermolecular interactions work. Materials were also prepared to respect the contemporary tendencies in science education, they contain the main principles of Inquiry Based Science Education. Their efectivity for acquiring protein structure curriculum was tested in several secondary schools.

## **Keywords**

Inquiry Based Science Education, toobers, protein structure, biochemistry education, insulin

## Seznam zkratk

ADP	adenosindifosfát
ATP	adenosintrifosfát
BOV	badatelsky orientovaná výuka
DNA	deoxyribonukleová kyselina
LP	laboratorní práce
PDB	Protein Data Bank
PISA	Programme for International Student Assessment (program pro mezinárodní hodnocení žáků)
P <sub>i</sub>	anorganický fosfát
PL	pracovní list
RVP	rámcový vzdělávací program
SOŠ	střední odborná škola
SOU	střední odborné učiliště
SPŠ	střední průmyslová škola
SZŠ	střední zdravotnická škola
ŠVP	školní vzdělávací program
TIMMS	Trends in International Mathematics and Science Study (mezinárodní trendy v matematickém a přírodovědném vzdělávání)
UK	Univerzita Karlova
VH	vyučovací hodina
ZŠ	základní škola
2D	dvojměrný
3D	trojměrný

# Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíle rigorózní práce.....	9
3 Teoretická část.....	10
3.1 Současné pojetí výuky přírodovědných předmětů.....	10
3.1.1 Vývoj výuky přírodovědných předmětů od 2. poloviny minulého století.....	10
3.1.2 Hlavní myšlenky badatelsky orientované výuky.....	12
3.1.3 Problémy spojené se zavedením BOV do výuky.....	16
3.2 Význam studentského experimentu ve výuce chemie.....	19
3.3 Využití modelů proteinů při výuce biochemie.....	21
4 Praktická část.....	24
4.1 Dotazníkové šetření.....	24
4.2 Materiály připravené v rámci této práce.....	25
4.2.1 Seznam připravených materiálů.....	25
4.2.2 Charakteristika a ukázky jednotlivých úloh.....	28
4.3 Testování materiálů na středních školách.....	44
4.3.1 Průběh pilotního nasazení materiálu Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání.....	45
4.3.2 Průběh pilotního nasazení materiálu Jak poškodit protein.....	45
4.3.3 Průběh pilotního nasazení materiálu Modelování molekuly inzulínu.....	48
4.4 Výsledky ověřování materiálů.....	50
4.4.1 Výsledky první fáze ověřování.....	50
4.4.2 Výsledky druhé fáze ověřování.....	52
5 Diskuze.....	59
6 Závěr.....	65
Literatura.....	66
Přílohy.....	71

# 1 Úvod

Tato rigorózní práce navazuje na moji diplomovou práci *Nové materiály na podporu výuky biochemie, Proteiny* [1], v níž jsem zpracovávala téma aminokyseliny a proteiny převážně teoreticky. V této práci byly připraveny materiály na laboratorní výuku biochemie. Věnují se v první řadě struktuře proteinů, jejich skládání a denaturaci. Pro přiblížení struktury proteinů byly vyrobeny zjednodušené modely, na nichž je patrná hlavně terciární struktura proteinů a interakce postranních řetězců aminokyselin, které ji vytvářejí. Modely byly připraveny podle originálních modelů mini toobers, které se v zahraničí používají, v České republice však nejsou k dostání. Pro vysvětlení denaturace proteinů byl použit hydrofobní písek, jehož chování ve vodě a v nepolárních rozpouštědlech připomíná reakci proteinů na přítomnost hydrofobního rozpouštědla, které je denaturuje. Hydrofobní písek najde však své místo i v jiných oblastech výuky chemie, např. při vysvětlování slabých vazeb nebo polaritý látek.

Laboratorní úlohy, které byly připraveny pro tuto práci, se řídí základními pravidly badatelsky orientované výuky. Tato metoda je běžně používaná v zahraničí, poslední dobou se začíná objevovat i v českých školách. Badatelsky orientovaná výuka klade velký důraz na samostatnou činnost studentů, učení probíhá podle následujícího schématu – badatelská otázka; hypotéza; experiment, nebo jiné bádání; závěr (přičemž proces není takto lineární, může se vracet k předchozím bodům, opakovat je nebo přeskakovat). Studenti nepracují podle předloženého návodu, práci si organizují sami.

Laboratorní úlohy byly testovány na několika středních školách, jejich efektivita byla hodnocena podle testů, které studenti řešili před a po absolvování laboratorních prací. Na základě testování byly materiály upravovány a připravovány pro poskytnutí učitelům na našich středních nebo základních školách.



## 2 Cíle rigorózní práce

1. Posoudit přínosy a úskalí badatelsky orientované výuky na základě české i zahraniční literatury.
2. Vytvořit materiály k laboratorním pracím na téma proteiny, které pracují s dostupným materiálem a splňují požadavky na moderní výuku přírodovědných předmětů. Materiály poskytnout učitelům např. na internetovém portálu [www.studiumchemie.cz](http://www.studiumchemie.cz).
3. Otestovat tyto materiály na středních školách.

## 3 Teoretická část

### 3.1 Současné pojetí výuky přírodovědných předmětů

#### 3.1.1 Vývoj výuky přírodovědných předmětů od 2. poloviny minulého století

Od druhé poloviny 20. století se velmi rychle rozvíjí věda a technika a obsah učiva v přírodovědných předmětech stejně rychle narůstá. Další a další teoretické poznatky a nová fakta začala postupně vytěšňovat experimentální činnost ve školách. Studenti reagují tak, že hodnotí přírodovědné předměty jako nejméně oblíbené a příliš těžké [2]. Výsledky přírodovědného vzdělávání se zhoršují. Přestože bylo prokázáno, že čeští studenti mají osvojeno mnoho přírodovědných poznatků a faktů, nedokážou samostatně uvažovat o vědeckých problémech, navrhnout hypotézy, klást otázky, směřovat samostatně svoji práci k objevování nových informací, formulovat závěry a interpretovat zjištěná data. Jednoduše řečeno, neumějí své vědomosti uplatnit, neumějí např. řešit úlohy s přesahem do jiného oboru [3, 4]. Tato zjištění vyplývají i z mezinárodních šetření TIMSS a PISA [5, 6].

Rámcový vzdělávací program (dále jen RVP) pro středoškolské vzdělávání, tedy závazné kurikulum pro Českou republiku, však tyto dovednosti vyžaduje: „Smyslem vzdělávání na gymnáziu není předat žákům co největší objem dílčích poznatků, fakt a dat, ale vybavit je systematickou a vyváženou strukturou vědění, naučit je zařazovat informace do smysluplného kontextu životní praxe a motivovat je k tomu, aby chtěli své vědomosti a dovednosti po celý život dále rozvíjet. To předpokládá ..... uplatňovat metody podporující tvořivé myšlení, pohotovost a samostatnost žáků...“ [7]. RVP zavádí mimo jiné tyto klíčové kompetence, které by si měl student na gymnáziu osvojit: kompetence k učení, k řešení problémů, kompetence komunikativní, sociální a personální.

Otázkou je, jak osvojení těchto kompetencí a naplnění úvodních požadavků RVP dosáhnout. Zdáli je tradiční převážně frontální pojetí výuky, zaměřené především na předávání hotových poznatků, které mají studenti jen pasivně přijímat, schopné tyto cíle naplnit.

Mnozí autoři považují tento typ výuky v současnosti za nedostatečný. [2, 3, 8 – 12]. Základem moderní výuky je aktivní účast studentů. Učitel by měl při hodinách hlavně poskytnout studentům prostor pro jejich samostatnou činnost, měl by ji spíše usměrňovat a podporovat než řídit. Měl by hlavně využívat nebo vytvářet vhodné materiály pro samostatnou práci studentů. Studenti by naopak měli při hodinách daleko více spolupracovat, měli by rozvíjet praktické dovednosti, učit se kriticky myslet. Výuka přírodovědných předmětů by se také měla zaměřit na metody výzkumné práce. To zahrnuje kladení otázek, plánování a pečlivé provedení experimentů, vyhodnocování a prezentace výsledků [2]. Výuka však stále musí být vysoce efektivní, protože, jak již bylo zmíněno, objem předávaných informací narůstá. Moderní přístupy k učení stavějící na samostatné činnosti studentů se však zdají být efektivnější než tradiční výuka [13].

K podobným závěrům docházejí nebo už před mnoha lety došli také pedagogové v zahraničí. Např. ve Spojených státech amerických začali už v 60. letech minulého století zavádět do výuky nové přístupy k přírodovědnému vzdělávání, konkrétně tzv. Inquiry Based Science Education (v češtině je tento pojem překládán volně jako badatelsky orientovaná výchova, dále BOV). Koncem minulého století bylo Inquiry Based Science Education dokonce zařazeno do národního kurikula Spojených států [3]. Podobně je tomu i v mnoha státech Evropy. Např. Zpráva z mezinárodní konference o zavádění Inquiry Based Science Education na středních školách popisuje stejné problémy tradiční výuky ve Velké Británii, jaké pozorujeme u nás. Podle této zprávy se i britští studenti přestávají zajímat o přírodovědné předměty, považují je za nezajímavé a nudné, většina z nich se jimi nechce zabývat v budoucnosti. Částečně to může být způsobeno malým podílem praktické činnosti ve výuce, nebo převažující frontální výukou, před níž studenti údajně upřednostňují skupinovou práci. Zpráva také uvádí, k čemu by výuka přírodovědných předmětů měla směřovat (platí pro Velkou Británii, ale k podobným závěrům dochází např. i Nezvalová [8] a další autoři v Čechách):

- porozumět základním vědeckým myšlenkám a teoriím
- porozumět podstatě vědy, vědecké práci (jít cestou od neznámého, od otázek, na něž teprve studenti musí hledat odpovědi)
- naučit se získávat a používat vědecké důkazy
- získat dovednosti pro celoživotní vzdělávání
- naučit se komunikovat odborným jazykem v psané i mluvené podobě

Podle této zprávy je právě Inquiry Based Science Education vhodným prostředkem pro dosažení těchto cílů [9]. V České republice není tato metoda (v českém prostředí BOV) ještě tolik používaná jako v zahraničí. Nicméně i u nás se již objevují různé projekty na její přiblížení učitelům a hlavně na přípravu materiálů pro výuku (např. projekt Věda není žádná věda [14]). Kvalitní příprava na badatelsky zaměřené hodiny je totiž klíčová pro úspěch takového vyučování.

Zajímavé je, že zmínky o badatelské a problémové metodě (která je postavena na podobných principech jako BOV) najdeme i ve starší české literatuře. Pachman ve své učebnici Obecná didaktika chemie z roku 1981 dokonce považuje tyto metody za velmi užitečné a ve výuce žádoucí. Vedou totiž k podněcování aktivity, samostatnosti a tvořivosti studentů. Pachman dokonce uvádí, že zjišťující pokusy (při nichž student získává nové poznatky; mezi ně zařazuje i badatelské a problémové úlohy) jsou pro učení studentů hodnotnější než pokusy dokládající (ty upevňují probrané učivo) a měly by být ve výuce upřednostňovány. Současně však cituje studie, které dokládají, že už koncem minulého století převažovalo ve školách stereotypní frontální vyučování a např. samostatné práci studentů nebyl věnován téměř žádný čas [15].

### 3.1.2 Hlavní myšlenky badatelsky orientované výuky

Na úvod příklad jedné badatelské úlohy z projektu Věda není žádná věda: ***Jak vyčistit špinavou vodu?*** Úloha, kterou zvládnou i děti v první třídě ZŠ. Dostanou nádobu se zakalenou vodou, mnoho různého materiálu na tvorbu filtrů, nejdříve diskutují o problémech znečištění vody a různých typech znečištění a pak už sami tvoří všelijaké filtry a porovnávají jejich schopnost čistit vodu [14].

BOV vznikala jako protiklad k tradičnímu vyučování, v němž je student příjemcem poznatků předávaných a striktně formulovaných učitelem.

Základem BOV je konstruktivistický přístup k učení. Ten předpokládá, že při učení si student aktivně staví vlastní strukturu poznání závislou na vlastním porozumění. Vlastní porozumění se však odvíjí od předchozích zkušeností a vědomostí a zároveň se porozumění a struktura poznání časem mění, upravuje se s novými zkušenostmi a vědomostmi. Dalším významným činitelem při tvorbě poznatkové struktury je interakce s okolím. Každý student si tedy poznání konstruuje samostatně a jedinečně

a jeho poznání je velmi ovlivněno prostředím, ve kterém žije. Na rozdíl od tradičního vyučování si při konstruktivistickém přístupu student neosvojuje již hotové poznatky, ale nové skutečnosti sám objevuje [8, 16]. Aktivní zapojení studentů je hlavním rysem moderních způsobů vyučování a tím, co je od tradiční výuky odlišuje. Gallagher-Bolos a Smithenry v knize Teaching Inquiry-Based Chemistry popisují, že učení je efektivní jen tehdy, když se studenti významně podílejí na výuce. Když jsou zodpovědní za svoje učení, když si svoje činnosti sami organizují, učitel jejich práci neřídí, ale spíše je při ní provází [17].

Učitelé si také od badatelského přístupu k učení slibují to, že studenti budou daleko více motivováni k práci. Motivovat by je měly zajímavé, pečlivě připravené úlohy, ale hlavně vlastní činnost a opravdové porozumění zkoumanému problému (na rozdíl od tradičního přístupu vyučování, kdy je hlavní motivací úspěch při testování naučených znalostí) [18].

Badatelsky orientovaná výuka by měla v podstatě simulovat proces vědeckého bádání. Ten má několik základních úrovní, které se objevují i v badatelsky orientovaných úlohách:

1. Seznámení s jevem, který bude zkoumán. Seznámení může být uskutečněno formou badatelské otázky (Např. Dokázali byste vyčistit takto zakalenou vodu? [14]), příběhu, demonstračního pokusu, problém však může vzejít i přímo od studentů. Důležité je, aby daný problém dával studentům nějaký smysl, aby mu porozuměli. Otázky by proto měly vycházet z toho, co studenty zajímá, co je obklopuje, co nějak ovlivňuje jejich život (příklad z knihy Jak nevyhodit školu do povětří: „To je hezký, že víš, že vzduch je směs, Markéto. Jak mi to ale dokážeš?“ [19]).
2. Průzkumná část. V přírodovědných předmětech se jedná převážně o vymýšlení a provádění experimentů, shromažďování dat. Do této části však patří také vyhledávání informací ať už v literatuře, nebo na internetu, nebo využívání předchozích znalostí a propojování je s novým tématem pomocí pracovních listů, učitelových otázek atd..
3. Vyhodnocování výsledků, závěry, shrnutí. Tato část je nejdůležitější a studentům bude zpočátku činit největší potíže. Při badatelsky orientovaných úlohách by se

totiž měli naučit samostatně vyhodnotit své pokusy, svoje bádání. Měli by být schopni rozhodnout, které výsledky jsou podstatné, co vlastně svými pokusy zjistili, co se naučili. Měli by se postupně také učit prezentovat své výsledky a závěry před širším publikem (nejčastěji před svými spolužáky) a měli by být schopni o nich diskutovat.

Tento proces není lineární. Při provádění pokusů mohou studenti zjistit, že jim chybí nějaká důležitá data, která musí ještě vyhledat. Při prezentaci výsledků a závěrů se mohou dostat do rozporu se svými spolužáky a dojít k tomu, že některé pokusy bude nutné provést znovu, některé výsledky mohou vést k novým badatelským otázkám. Během všech fází výuky (bádání) by měli studenti dostat prostor pro diskuzi. Komunikace s ostatními je ve vědeckém prostředí (stejně jako kdekoliv jinde ve společnosti) naprosto nezbytná, studenti by se proto měli učit diskutovat, rozebírat svoje pokusy, výsledky, svoji práci. Dalším důležitým prvkem při BOV je spolupráce. Badatelské úlohy (a to se netýká jen laboratorních prací) by měli studenti řešit ve skupinách a ne samostatně. Cílem je získat komunikační dovednosti, umět s ostatními spolupracovat a ne jen soutěžit [18].

Podle konstruktivistické teorie (na níž je badatelské učení postaveno) si tedy student vytváří svojí představu o fungování světa sám na základě svých předchozích zkušeností a znalostí. Cílem BOV je navodit takové problémy, pokládat takové otázky a poskytnout takové učební prostředí, aby student mohl vědeckým zákonitostem správně porozumět a to pomocí vlastní činnosti, tedy díky novým zkušenostem. Aby mohl upravit svoje předchozí chápání, pokud nebylo zcela správné, nebo aby si mohl nové znalosti správně zabudovat do svých předchozích myšlenkových struktur. Smyslem je, aby student vědeckým principům porozuměl (tak, jak je na své mentální úrovni schopen porozumět), aby pouze nepřejímal fakta, kterým nerozumí nebo rozumí ne zcela správně. Proto se při BOV klade důraz na to, aby student sám formuloval hypotézy, sám např. předpovídal, jak jeho experiment (který si samostatně naplánuje) dopadne, a aby po vyhodnocení vlastního bádání (ať už praktického experimentování nebo teoretického vyhledávání a shromažďování informací) svoje hypotézy přehodnotil. Role studenta při BOV je úplně jiná než při tradičním způsobu vyučování. Musí se na vyučovacím procesu velmi aktivně podílet, musí si klást otázky, spolupracovat s ostatními,

experimentovat, promýšlet svojí činnost a ne jen postupovat podle návodu, který dostane od učitele [18]. Je to samozřejmě daleko náročnější než jen sedět, poslouchat, zapsat a pak se slovo od slova naučit. Studenti se proto musí postupně učit jak badatelsky pracovat. Není možné počítat s tím, že budou schopni hned na začátku řešit úplně samostatně složité badatelsky orientované úlohy. Učitel je na to musí postupně připravovat, pokud chce, aby byli nakonec schopni sami naplánovat pokus, provést ho, uvědomit si, co vlastně měli zjišťovat, pokus vyhodnotit a své výsledky prezentovat. BOV má různé úrovně lišící se zapojením a samostatnou činností studentů. Ty také ukazují, jak je možné přejít z tradičního způsobu výuky na BOV (viz Tab. 1).

**Tab. 1 Úrovně samostatné činnosti studentů**

Levá část tabulky ukazuje nejnižší úroveň samostatné činnosti studentů (v podstatě tradiční výuku), v pravé části vidíme stav, do kterého se BOV snaží dospět. Student je schopen samostatně si klást otázky, shromažďovat data, formulovat objasnění svého bádání (upraveno podle [8]).

Míra samostatnosti studenta	Nízká (učitel je hlavní činitel)	Míra zapojení studenta stoupá směrem doprava, učitel se stává spíše průvodcem.		Student řídí své učení sám.
Výzkumné otázky	Student se zapojuje do jejich řešení.	Student je upravuje a objasňuje.	Student si vybírá z nabídky, nebo otázky tvoří sám.	Student je tvoří sám.
Data	Učitel předkládá návod, jak data analyzovat.	Student je samostatně analyzuje.	Vyhledává student.	Shromažďuje student a hledá v nich důkazy.
Důkazy a objasnění	Poskytuje učitel.	Poskytuje učitel, student hledá souvislosti mezi nimi.	Student formuluje objasnění na základě předložených důkazů.	Shromažďuje a formuluje student samostatně.

Badatelsky orientované úlohy mohou být zaměřené na stejná témata jako klasické laboratorní práce (např. důkazy kationtů kovů). Jejich zadání je však naprosto odlišné. Studenti nedostávají návod, jak mají při své práci postupovat. Musí si postup své práce vymyslet sami. Na začátku stojí otázka, např.: *Jak objevit nebezpečné látky rozpuštěné ve vodě?* Studenti pak pomocí otázek a úkolů, které jim učitel připravil, nebo také pomocí literatury zjišťují, jaké jsou různé metody pro analýzu neznámých roztoků. Učitel jim pro jejich pokusy poskytne materiál, laboratorní pomůcky, pracovní listy, pomocí různých otázek je může nasměrovat, ale postup své práce, svoje experimenty a jejich vyhodnocení si studenti vymýšlejí sami. Měli by tak v každé fázi své činnosti vědět, co dělají a proč to dělají [14]. Tím, že studenti sami navrhnou metody řešení problémů, přibližují své učení vědeckému bádání.

Práce s literaturou je při badatelských aktivitách také jiná než při běžné výuce. Studenti vyhledávají informace, které potřebují pro přípravu, provedení nebo vysvětlení vlastních experimentů. Hledají odpovědi na konkrétní otázky, které si mnohdy sami pokládají. Učí se pracovat s literaturou efektivně. Díky tomu, že jim učitel všechno hned neprozradí, zjišťují, že to bez dalších zdrojů mnohdy nejde [14].

### **3.1.3 Problémy spojené se zavedením BOV do výuky**

BOV se zdá být dobrým řešením současné krize přírodovědného vzdělávání [4]. Pozitivní efekt na výuku potvrzuje mnoho studií. Např. výzkum Ryplové a Rehákové (Implementace BOV do výuky na základních školách) potvrzuje zvýšení zájmu o probíranou látku i vyšší úspěšnost v testu u studentů vyučovaných touto metodou oproti studentům, kteří absolvovali klasickou výuku daného tématu [20]. BOV je založena na rozvíjení kompetencí k řešení problémů, tvořivého myšlení, schopností neustále se učit a objevovat nové věci. Zapojení studenta do objevování nových poznatků, typické pro tento přístup k učení, by mělo vést k jejich hlubšímu porozumění [8].

Některé studie však nejsou tak optimistické k zavádění BOV do škol. Čtrnáctová, Cídllová a kol. zkoumaly úroveň chemických dovedností českých studentů ZŠ a gymnázií nutných pro absolvování BOV. Pro úspěšné začlenění badatelsky orientovaných úloh do výuky totiž nestačí, aby byli dobře připraveni učitelé a výukové materiály. I pro studenty bude zpočátku náročné pracovat bez přesných návodů, tvořit



výzkumné otázky, vyhledávat informace v různých zdrojích a kriticky je hodnotit, formulovat a prezentovat závěry. Autorky této studie zjistily, že naši studenti nejsou dostatečně připraveni na řešení badatelsky orientovaných úloh. Hlavní problém zjišťují v neschopnosti studentů propojit chemické znalosti s jinými předměty a běžným životem [10]. BOV však pomáhá studentům právě tyto dovednosti získat. Proto je vhodné začleňovat badatelsky orientované úlohy do výuky pravidelně, začínat od jednodušších a připravovat studenty na tento styl učení i v běžných hodinách. Učit je klást otázky a navrhnout možné způsoby řešení problémů, nechat je zapisovat vlastní teorie o probíraných jevech, skupinově řešit jednoduché úkoly [2].

Dalším problémem při zavádění badatelsky orientované výuky do škol budou jistě nároky, které tato metoda klade na učitele. Nejde jen o přípravu materiálů a větší časovou náročnost. Badatelsky orientované projekty nebo laboratorní práce se například nesnadno kontrolují a hodnotí. Některé učitele může také odrazovat to, že výsledek práce studentů je nejistý. Může se stát, že vůbec nedojdou tam, kam si učitel při přípravě materiálu představoval. Ze svých výsledků mohou také studenti vyvodit špatné závěry a zafixovat si je [11]. S tím vším však musí učitel počítat, zařazovat badatelské úlohy postupně, práci se studenty rozebírat, nechat je se ptát a diskutovat.

V zahraniční literatuře se vyskytují práce, které efektivitu BOV vysloveně zpochybňují. Kirschner a kol. zkoumají učební metody založené na konstruktivistické teorii (BOV, problémové vyučování, učení objevováním a další) z hlediska lidských poznávacích mechanismů (kognitivního systému). Na lidském učení se podílí jak dlouhodobá, tak pracovní paměť. Pracovní paměť má velmi malou kapacitu a výdrž. Výuka založená na minimálním vedení (pokud si mají studenti práci organizovat více méně sami) klade příliš velké nároky na pracovní paměť. Pracovní paměť je natolik zaměstnaná vymýšlením postupů práce, že už nestačí ukládat nové poznatky do paměti dlouhodobé. Podle Kirschnerovy práce neexistují důkazy podporující učení založené na konstruktivistické teorii. Zvláště u méně zkušených studentů má taková výuka horší výsledky než výuka tradiční. Často se může stát, že studenti postupují špatně nebo vyvodí ze svých výsledků nesprávné závěry. Výsledkem pak bude spíše zmatení studentů než získání nových vědomostí. Tak mohou být vysvětleny horší výsledky při porovnávání tradičního a konstruktivistického přístupu vyučování. Přestože BOV a jí

podobné metody bývají studenty různých věkových kategorií přijímány kladně, začínají být efektivní až u velmi pokročilých studentů, kteří mají potřebné dovednosti pro zvládnutí badatelských úloh [21].

Jiní autoři se soustředí na porovnání úspěšnosti ve standardizovaných testech ve školách, které začlenily do svého kurikula BOV, a v těch, kde se studenti učí tradičním způsobem. Testování neprokázalo významné zvýšení úspěšnosti studentů vyučovaných v duchu BOV. Do testování byly zařazeny také střední školy, které vytvářely své vzdělávací badatelsky orientované programy ve spolupráci s vysokými školami. Tyto programy byly velice důkladně připravené, školám byl poskytnut materiál, technické vybavení, učitelé byli proškoleni v dané problematice. Studenti z těchto škol dosahovali lepších výsledků ve standardizovaných testech než jejich vrstevníci ze škol ostatních. Autoři práce proto dospěli k vcelku logickému závěru, že metoda BOV sama o sobě nestačí – vzdělávací program je nutné precizně připravit, otestovat, reforma vzdělávacího systému musí být komplexní a musí zahrnovat i proškolení učitelů. Zároveň i oni uvádějí, že studenti nejsou schopni hned přejít na tento způsob výuky, potřebují si postupně zvyknout na učení pomocí bádání [22].

Problémy spojené se zaváděním BOV do českých škol popisuje M. Papáček [4]. V české republice chybí učebnice a metodické příručky pro učitele, které by se konstruktivistickému přístupu k učení věnovaly. Podle Činčery [23] se však situace v posledních letech mění, viz např. projekt Věda není žádná věda [14], materiály a různá školení pro učitele poskytují i nezávislá centra vzdělávání jako např. Sdružení Tereza. Učivo přírodovědných předmětů však stále není pokryto kompletně. Podle Papáčka je dalším a hlavním problémem nepřipravenost učitelů. Na tento způsob výuky nejsou připravováni budoucí učitelé během studia učitelství a stávající učitelé jsou natolik zatíženi svojí prací, že je pro ně velmi problematické zavádět do svého vyučování další novou metodu [4].

Ukazuje se tedy, že BOV má potenciál pozitivně ovlivnit výuku přírodovědných předmětů, motivovat studenty pro vědecké studium, poskytnout jim hlubší porozumění vědeckým zákonitostem. Výuka však musí být pečlivě připravena, také studenti si musí postupně zvyknout na badatelsky orientovaný přístup k učení.

V rámci této rigorózní práce byly připraveny materiály, které splňují základní principy BOV a mohly by ulehčit učitelům zavádění této metody do jejich hodin.

### 3.2 Význam studentského experimentu ve výuce chemie

Studentské pokusy neodmyslitelně patří k výuce chemie, přestože od nich řada učitelů ustupuje a ve výuce jsou stále častěji nahrazovány hodinami teorie. Některé studie uvádějí, že skoro polovina českých studentů neprovádí nikdy nebo téměř nikdy praktické pokusy v laboratoři [2]. Přitom se autoři zabývající chemickým vzděláváním shodují, že studentský pokus je jednou z nejvýznamnějších metod výuky chemie. Marie Solárová [24] se věnuje smyslu praktické výuky chemie. Podle ní naplňuje studentský experiment následující klíčové kompetence, které mají studenti podle RVP na střední škole získat:

- *kompetence k učení:* Školní chemický experiment nabízí konkretizaci teoretických znalostí, díky níž studenti porozumí obsahu chemického vzdělávání do hloubky. Provádění experimentu nutí studenty třídít získané informace a propojovat je s teoretickými znalostmi, analyzovat výsledky a vyvozovat z nich obecnější informace (pokud je školní pokus vhodně uspořádán).
- *kompetence k řešení problémů:* Problémové situace vidí student díky pokusům v širší souvislosti, při mnohých experimentech musí přemýšlet o vhodném provedení pokusu, nebo naopak vysvětlit, proč dopadl výsledek jinak, než student očekával. Pokud student během experimentu ověří správnost teoretického řešení problému, může pak tento postup aplikovat na novou problémovou situaci.
- *kompetence komunikativní:* Studenti pracují při laboratorních pracích většinou ve skupinách. Pokud prezentují své výsledky (což je důležitá součást moderních metod výuky, např. BOV), jsou nuceni formulovat své závěry a obhájit je. Diskuze nad proběhlým experimentem, ať už s učitelem nebo se spolužáky, je velmi efektivní součástí vyučovacího procesu.
- *kompetence sociální a personální:* I tyto kompetence naplňuje skupinová práce. Studenti se při ní učí spolupracovat, stanovovat si určitá pravidla pro práci ve skupině, dosáhnout společně co nejlepšího výsledku.
- *kompetence pracovní:* Celý průběh pokusu směřuje k této kompetenci, systematická příprava na provedení pokusu, používání laboratorních přístrojů, zaznamenávání dat, dodržování zásad práce v laboratoři a zároveň přemýšlení o teoretické stránce provedeného pokusu, to vše vede studenty k vytvoření

správných pracovních návyků (pokud se laboratorní výuky aktivně účastní) [24]. Chemický pokus má při výuce chemie prvořadý význam. Jeho zařazením snadno dosáhneme zapojení, motivování studentů, zvýšíme značně jejich pracovní aktivitu a pomocí některých pokusů rozvíjíme jejich tvořivost a samostatnost [15]. Cíle praktické výuky chemie by měly být následující:

- naučit studenty pozorovat a pozorování výstižně zapsat (pozorování není pro studenty samozřejmostí, zpočátku nevědí, na co se mají zaměřit, jindy jsou schopni vidět takový průběh pokusu, jaký předpokládali, i když pokus proběhl úplně jinak; k procvičování této dovednosti jsou vhodné zejména demonstrační pokusy, kdy se všichni studenti soustředí na to samé)
- seznámit studenty s metodami vědeckého uvažování a vědecké práce (kromě plánování experimentální činnosti je to také interpretace výsledků, vyvozování závěrů, přehodnocení počátečních hypotéz; na to všechno potřebují studenti určité množství teoretických znalostí, jinak svým pokusům neporozumí)
- rozvíjet manuální dovednosti
- ověřit dosavadní znalosti a propojit teorii s praktickým poznáním
- naučit se hledat řešení problému
- zvýšit motivaci k učení a atraktivitu studia chemie

Součástí studentských experimentů by tedy měly být i metody vědecké práce, např. samostatné plánování experimentů, pozorování a jeho vyhodnocování. Na to však nejsou naši studenti zvyklí, tradiční laboratorní cvičení, kdy se pracuje podle předloženého postupu, tuto dovednost vynechává. Důvody pro upřednostňování tradičního typu laboratorních cvičení (metoda i výsledek jsou dané učitelem) mohou být např. tyto: snadné hodnocení takové práce, jednoduchá koordinace pracovních skupin, snadná kontrola výsledků, důkladné procvičení práce s konkrétní laboratorní technikou a nízké nároky na přípravu takových laboratorních prací pro učitele. Taková praktická činnost je však velmi vzdálená vědecké práci [2].

Některé studie se zabývají efektivitou školních laboratorních prací. Tyto práce docházejí k závěru, že je třeba vždy ověřovat přínos studentských laboratorních prací. Obecně je totiž efektivita školních experimentů nedostatečně prověřována. Laboratorní práce, která není pečlivě připravena a předem ověřena, nemusí studentům poskytnout žádné nové vědomosti ani dovednosti. Z tohoto pohledu byl také srovnáván běžný typ

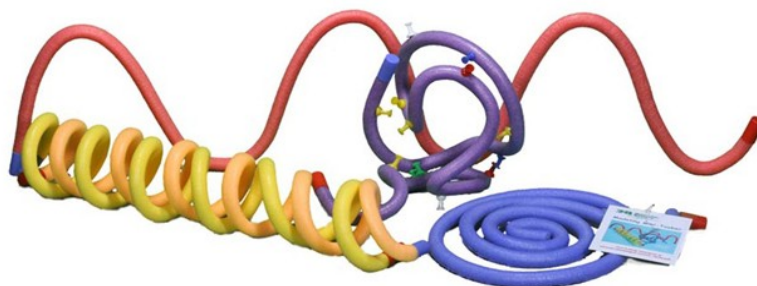
studentských experimentů s badatelskými experimenty (ty jsou popsány v kapitole 3.1). Srovnání odhalilo, že studenti absolvující badatelsky orientované laboratorní práce se cítí více zapojeni do vlastní výuky, pozitivně hodnotí, že práce má otevřený konec, že není předem jasně stanovená. Tito studenti také snadněji nacházejí souvislosti mezi chemickou teorií a vlastním praktickým pokusem. Dobře připravená badatelsky zaměřená laboratorní práce dokáže podle tohoto výzkumu zvyšovat schopnost studentů se učit, klást otázky, poznávat podstatu vědecké práce, komunikovat se spolužáky [25]. Není ale asi možné připravovat všechny školní experimenty v duchu BOV. Studenti potřebují získat určitou praxi, jistotu při práci v laboratoři, musí být schopni manipulovat s laboratorním nádobím a technikou na základní úrovni, aby se mohli při badatelsky orientovaných úlohách soustředit na plánování a vyhodnocování vlastních experimentů [2].

### **3.3 Využití modelů proteinů při výuce biochemie**

Při výuce chemie jsou často používány modely molekul a látek pro přiblížení daných struktur studentům. Molekuly si studenti prohlédnout nemohou, ale jejich modely, ať už fyzické nebo počítačové jim mohou pomoci porozumět struktuře daných látek. Fyzické modely se uplatňují při výuce organické i anorganické chemie (uhlovodíky a jejich deriváty, krystalové struktury), s počítačovým modelováním se můžeme setkat v podstatě ve všech oblastech výuky chemie [26]. Při výuce biochemie si většinou vystačíme s modely počítačovými (znázorňování struktury proteinů nebo nukleových kyselin, interakce enzymů s reagujícími látkami, animace skládání nebo denaturace proteinů a další).

V zahraničí jsou však dostupné i fyzické modely proteinů. Tyto modely se jmenují *toobers*, původně vznikly jako dětská hračka, postupně si je vysokoškolští a středoškolští učitelé přizpůsobili pro výuku biochemie (obr. 1 [27]). O tom, že *toobers* slouží např. ve Spojených státech amerických jako dobrá učební pomůcka, svědčí i jejich zařazení do Wiskonsinské přírodovědné olympiády (kombinace chemie, biologie, zeměpisu a počítačových technologií). Studenti vytvářejí s pomocí článků o významných proteinech z internetové databáze PDB (Protein Data Bank) nejprve virtuální (v programu RasMol) a poté fyzické modely proteinů. Tímto způsobem modelují např. proteiny draslíkové pumpy nebo pracují s modelem proteinového

motivu zinkového prstu. Díky těmto úlohám, které jsou formulované jako badatelsky orientované, se tak studenti seznámí nejen se strukturou a principy skládání proteinů, ale i s jejich funkcí v organismu [28].



Obr. 1 *Toobers* – model proteinu používaný v zahraničí

Toobers jsou asi metr dlouhé umělohmotné pruty, které se snadno ohýbají a drží tvar díky hliníkové výztuze probíhající jejich středem. Hliníkový drát je obalen pěnovým plastem, do něž je možné zapíchnout napínáčky (Obr. 1). Díky těmto vlastnostem lze toobers použít jako schematický model znázorňující prostorové uspořádání proteinů [29]. Barevné napínáčky reprezentují postranní řetězce aminokyselin, pěnový prut zase základní řetězec polypeptidu. Při práci s toobers se využívá pěti skupin barevných napínáčků představujících skupiny aminokyselin podle povahy jejich postranního řetězce. Tak získáme postranní řetězce hydrofilní, hydrofobní, kyselé, bazické a zvláště bývají vyznačeny cysteiny. Modely proteinů se potom skládají na základě interakce postranních řetězců aminokyselin, vzniká tak model terciární struktury proteinů.

Práce s těmito modely je zaměřena na vysvětlení základních principů skládání proteinů:

- Samotný “toober“ (umělohmotný prut) představuje páteř polypeptidového řetězce proteinu tvořenou především peptidovými vazbami. Atomy základního řetězce však nejsou v modelu vyznačeny.
- Prostorové uspořádání konkrétního proteinu určují převážně postranní řetězce jednotlivých aminokyselin, z nichž je protein složen. Ty jsou představovány různobarevnými napínáčky zapíchnutými do prutů.
- Postranní řetězce aminokyselin mezi sebou interagují pomocí slabých nekovalentních vazeb (vodíkové můstky, hydrofobní interakce, solné můstky),

nebo prostřednictvím kovalentní disulfidové vazby (disulfidový můstek mezi postranními řetězci dvou cysteinů). Cystein má proto mezi ostatními aminokyselinami speciální postavení a v modelu toobers je představován jinak barevnými napínáčky než ostatní aminokyseliny.

- Výsledná struktura proteinu závisí na pořadí aminokyselin v základním polypeptidovém řetězci (což si mohou studenti při modelování proteinu snadno ověřit).

Díky tomu, že studenti ručně manipulují s modelem proteinového řetězce a ve výsledku vidí určitou 3D strukturu, kterou sami sestavili, mohou si skládání proteinů daleko lépe představit a pochopit ho, než když pouze sledují obrázky nebo poslouchají výklad [30].

Toobers mají široké možnosti využití ve výuce. Kromě základního skládání krátkých peptidů (cca 15 aminokyselin) mohou posloužit i k modelování interakcí dvou proteinů, např. k demonstrování interakcí protilátky s antigenem nebo ke skládání složitějších molekul, jako jsou inzulin nebo úseky  $\beta$ -globinu. Studenti mohou tvořit primární, sekundární, terciární a spojením několika modelů i kvartérní struktury proteinů. Modely toobers lze využít i v biologii při výuce genetiky. Je například možné složit model molekuly inzulinu podle genetického kódu genu pro inzulin [27]. Byla vytvořena i taková úloha (pro vysokoškolské studenty), při níž studenti modelují konformační změnu hemaglutininu viru chřipky způsobenou změnou pH [31].

Tim Herman a jeho kolegové testovali přínos použití fyzických modelů proteinů pro výuku biochemie jak na střední, tak i vysoké škole. Ověřili v praxi, že práce s fyzickými modely velmi efektivně vysvětluje základní chemické principy, které řídí spontánní skládání proteinů do vyšších prostorových struktur. Zaznamenali, že studenti měli mnohem větší zájem o probíranou látku, pokud pracovali nejen s počítačovými, ale i fyzickými modely, a že daleko lépe dané problematice porozuměli [31].

Ukazuje se tedy, že použití fyzických modelů by bylo vhodné a efektivní i při výuce biochemie. V České republice však nejsou takové modely k dostání. (Toobers je možné koupit v internetových obchodech a nechat je dovézt z USA. Takový nákup je však velmi drahý a i kdyby s modely měla pracovat jen jedna polovina třídy při laboratorních pracích, tak je cena pro běžnou výuku příliš vysoká.) Jedním z cílů této práce proto bylo vytvořit podobný model, který by měl stejné vlastnosti jako toobers, ale dal by se snadno vyrobit z materiálů dostupných u nás.

## 4 Praktická část

### 4.1 Dotazníkové šetření

V rámci této rigorózní práce byl sestaven dotazník pro středoškolské učitele chemie, kteří se zúčastnili semináře *Lidský organismus a zdraví* na katedře Učitelství a didaktiky chemie UK v červnu 2011. Jedním z prezentovaných materiálů byla diplomová práce *Nové materiály na podporu výuky biochemie na SŠ, Proteiny* [1]. Učitelům byly materiály představeny a poskytnuty pro jejich výuku. Následně obdrželi zúčastnění učitelé dotazník, v němž měli obdržené materiály ohodnotit. Jednalo se o materiály zaměřené na výuku proteinů – animace denaturace a vysolování proteinů, 3D modely proteinů, ppt. prezentace a doplňující text podrobně vysvětlující téma proteiny a plakát kódovaných aminokyselin. Cílem oslovení učitelů bylo zjistit, zda jim dané výukové materiály vyhovují. Učitelé byli tázáni, zda budou tyto materiály používat v praxi, zda by jim vyhovovaly nějaké úpravy nebo jaké další materiály by pro výuku biochemie přivítali. Z více než třiceti oslovených učitelů odpovědělo dvanáct. Kompletní znění dotazníku a odpovědi učitelů jsou uvedené v Příloze 1. Zde se budu věnovat pouze informacím, které jsou podstatné pro tuto práci.

Z odpovědí učitelů chemie vyplývá, že současné vzdělávací plány poskytují dostatek času pro výuku témat aminokyseliny a proteiny. Někteří učitelé mu věnují i více než deset vyučovacích hodin, zatímco jiní třeba jen tři, časová dotace tedy závisí na konkrétní škole a učiteli. Většina dotázaných učitelů zařazuje do výuky proteinů jak demonstrační, tak i studentské experimenty. Pouze 17% učitelů uvedlo, že na pokusy nemá čas.

Nejčastěji používanou učební pomůckou pro výuku biochemie je podle dotazníku powerpointová prezentace (tu využívá 97% dotázaných) a učebnice (67%), s texty, grafy, tabulkami nebo didaktickými hrami pracují učitelé relativně málo (17% respondentů). Pracovní listy používá polovina dotázaných učitelů.

Výukové materiály, na které byl dotazník zaměřen, hodnotili učitelé vesměs velmi kladně, většina z nich uvedla, že je v budoucnu zařadí do svých hodin biochemie. Jediná připomínka byla k termínu vratná denaturace (v materiálech je tak označena animace vysolování proteinů). Tento termín považuje jedna paní učitelka za odborně i didakticky



nesprávný. S tím souhlasím a v diplomové práci i v dané animaci jsem vysvětlila, že vysolování je proces vratný, nedochází při něm k narušení prostorového uspořádání proteinů a nejedná se tedy o denaturaci (pokud ji sledujeme na molekulární úrovni). Termín vratná denaturace byl použit proto, že se s ním studenti běžně setkávají ve středoškolských učebnicích chemie (např. Jak porozumět organické chemii [32], nebo Přehled středoškolské chemie [33]). Smyslem bylo, aby si studenti spojili termín, který znají ze svých učebnic, s tím, co viděli v animaci o vysolování.

Závěrečná otázka dotazníku zjišťovala, jaké další materiály by učitelé potřebovali pro výuku témat aminokyseliny a proteiny. Většina z učitelů považuje materiály, které má k dispozici, za dostatečné, někteří z nich by uvítali další jednoduché pokusy s proteiny. Jedna paní učitelka by ocenila program na interaktivní tabuli, v němž by studenti tvořili vlastní bílkoviny podle genetické informace a mohli také zkoumat možné účinky různých mutací. Jiná by zase uvítala více “lékařské a kuchyňské“ biochemie.

Vzhledem k tomu, že učitelé zařazují do výuky biochemie studentské experimenty a návody na další laboratorní úlohy by zřejmě využili, bylo cílem této práce připravit jednoduché experimenty s proteiny, které by mohli studenti běžně ve škole provádět. Mikrobiologická práce s proteiny je pro standardně vybavené školní laboratoře nedostupná, mimo jiné také z časových důvodů. Nově připravené laboratorní úlohy proto ukazují prostorové uspořádání proteinů na zjednodušeném fyzickém modelu proteinu. Úlohy jsou postavené tak, aby respektovaly zásady badatelsky orientované výuky, která byla blíže popsána v úvodu této práce.

## 4.2 Materiály připravené v rámci této práce

### 4.2.1 Seznam připravených materiálů

#### 1. *Jak namočit magický písek*

- Krátký experiment demonstrující chování hydrofobních látek ve vodném prostředí a změnu jejich chování v prostředí nepolárního rozpouštědla. Pokus je velmi jednoduchý a krátký a nevyžaduje žádné speciální pomůcky kromě hydrofobního písku (k sehnání pod označením *magický písek*, je možné si ho připravit i doma nebo ve škole).

- Materiál obsahuje metodický text pro učitele (zahrnuje podrobnou teoretickou část popisující princip vzniku hydrofobních interakcí, jejich sílu a význam) a pracovní list pro studenty s doplňujícími otázkami (hydrofobní interakce a polarita látek obecně) s jejich autorským řešením.

## **2. *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání***

- Laboratorní práce, při které se studenti seznámí s prostorovým uspořádáním proteinů a prostřednictvím vlastní činnosti poznají základní principy skládání proteinů. Studenti pracují s jednoduchými modely proteinů představujícími základní řetězec proteinu a postranní řetězce aminokyselin. Aminokyseliny však nejsou zastoupeny jednotlivě, barevně jsou odlišeny skupiny aminokyselin s postranními řetězci s podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi (hydrofilní, hydrofobní, kyselé a zásadité postranní řetězce). Cílem úlohy je složit model proteinu do takového tvaru, který odpovídá základním principům skládání proteinů. Modely proteinů v zahraničí označované jako *toobers* je možné koupit přes internet, studenti si je však mohou vyrobit i sami.
- Materiál obsahuje metodickou část pro učitele s návodem na výrobu modelu proteinů a pracovní list rozdělený na dvě části – teoretickou, kde studenti získávají potřebné informace pro následující práci s modely proteinů, a praktickou, podle níž jednotlivé modely skládají. K pracovnímu listu je přiloženo autorské řešení s fotografiemi dvou modelů proteinů. Fotografie mohou pomoci učitelům, který dosud s modely proteinů nepracoval a neví přesně, jak by mohly výsledné struktury vypadat. Jako motivační úvod hodiny slouží obrázky několika proteinů s velmi odlišnou strukturou, které jsou vloženy do krátké powerpointové prezentace. Zde jsou také odkazy na dvě animace ukazující pohyb dvou proteinů (ATP-syntázy a kinezinu) v buňkách.

## **3. *Jak poškodit protein***

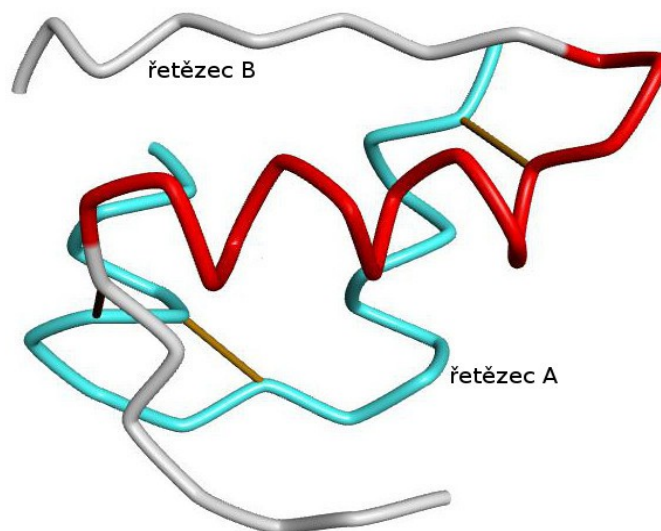
- Tato laboratorní práce je zaměřena na objasnění principu denaturace a vysolování proteinů. Na základě vlastních experimentů studenti rozhodnou, zda je vaření vaječného bílku a srážení mléčné bílkoviny kaseinu kyselinou citronovou denaturace nebo vysolování, zda se jedná o procesy vratné nebo

nevratné. S pomocí modelu polypeptidového řetězce složeného do určitého prostorového uspořádání, hydrofobního písku a pokusů s denaturací a vysolováním vaječného bílku se studenti pokusí popsat a vysvětlit princip těchto dvou dějů.

- Materiál obsahuje metodickou část pro učitele, která zahrnuje dva texty (*Jak pracovat s proteiny* a *Elektrostatické interakce*), s jejichž pomocí studenti připravují materiál pro vlastní pokusy a vysvětlují princip vysolování proteinů. Součástí je také pracovní list pro studenty, do něhož zaznamenávají výsledky svých experimentů a závěry, které z nich vyvodí.

#### **4. Modelování molekuly inzulínu**

- Na rozdíl od předchozích úloh je toto praktikum vhodné do semináře chemie nebo biologie, je nadstavbové, rozšiřující, pro studenty však možná nejzajímavější. Pracují opět s modely proteinů, tentokrát však vytvářejí model molekuly inzulínu podle jeho aminokyselinové sekvence a obrázků jeho prostorového uspořádání. Tato laboratorní práce navazuje na úlohu *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, kdy se studenti učí pracovat s modely proteinů (formulují pravidla skládání proteinů).
- Materiál obsahuje metodickou část pro učitele, která je rozšířena o teoretické informace o inzulínu, jeho struktuře, výrobě a využití. Dále také pracovní list, v němž studenti získají dostatek informací pro samostatné složení molekuly inzulínu (najdou zde popis a obrázky struktury inzulínu). Součástí materiálu je také krátká powerpointová prezentace s obrázky sloužícími jako motivační úvod praktika, s obrázky struktury inzulínu (Obr. 2) a také s animací rotace molekuly inzulínu.



Obr. 2: Obrázek modelu inzulínu použitý v pracovním listu pro studenty. Vyznačena je struktura řetězce B a disulfidové vazby vyskytující se v molekule inzulínu.

#### 4.2.2 Charakteristika a ukázky jednotlivých úloh

Všechny úlohy byly připravovány tak, aby se v nich objevovaly prvky badatelsky orientované výuky. Neobsahují přesné návody, jak mají studenti při své práci postupovat. Na začátku stojí určitá otázka (např. Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání?), na kterou hledají studenti během své práce odpověď.

Laboratorní práce začíná motivační částí, což je buď jednoduchý demonstrační experiment (např. denaturace kaseinu šťávou z citronu), nebo různé obrázky (např. obrázky modelů různých proteinů nebo schémata působení inzulínu v buňkách). Učitel pokládá studentům otázky, které jim danou problematiku přiblíží, ukáží jim, že se jedná o témata, která se jich přímo dotýkají (otázky jsou uvedeny v metodických částech pro učitele). Cílem je přivést studenty k myšlence, že prostorové uspořádání je klíčové pro správnou funkci proteinů. Bez správně složených proteinů by v organismech nefungovalo takřka nic. Denaturace, narušení jejich struktury je zase velmi důležité pro naši výživu.

Dále pak získávají studenti teoretické podklady pro praktickou část laboratorní práce. Formulují vlastní hypotézy o předpokládaném průběhu práce a navrhují postupy své práce. Úlohy jsou určeny pro studenty vyšších ročníků, kteří mají většinou dostatek

chemických znalostí, pouze si je nejsou schopni spojit s danou problematikou. K tomu jim slouží pracovní listy, které jsou součástí materiálu. Úkoly v pracovních listech vycházejí z dosavadních znalostí studentů, dovedou je až k tomu, že samostatně formulují svoji teorii o skládání proteinů (interakce postranních řetězců aminokyselin v polypeptidovém řetězci). Čeští studenti většinou nejsou zvyklí na metodu badatelsky orientované výuky a někteří se dožadují přesných pracovních postupů. Proto je dobré, když jim učitel pomůže shrnout, co se v teoretické části dozvěděli, k čemu došli, jak budou dále postupovat. Nemusí jim to však sdělovat přímo on, může např. vybrat skupiny, které budou své postupy a hypotézy představovat ostatním a ve společné diskuzi pak dojdou k jednotnému postupu. Tato část praktika je z hlediska badatelsky orientované výuky velmi důležitá. Příprava vlastního postupu a formulace hypotézy je základem této metody.

Praktickou činnost si tedy studenti plánují samostatně a samostatně by ji měli i provádět. Učitel pouze kontroluje, aby studenti pracovali bezpečně, odpovídá na dotazy. Pokud vidí, že se skupina vydává úplně špatným směrem, může jí opět pomocí návodných otázek nasměrovat.

Laboratorní práce jsou zakončeny prezentací výsledků a závěrů jednotlivých skupin. V této fázi studenti hodnotí, zda byla jejich původní hypotéza správná, nebo zda je potřeba ji upravit. Na tuto část práce by si měl učitel vždy nechat dostatek času. Obhajování výsledků a ověřování počátečních hypotéz je klíčové i při vědecké práci, jejíž postupy a metody se snaží badatelsky orientovaná výuka studentům přibližovat.

V následujících kapitolách jsou laboratorní úlohy detailněji popsány. Tabulky 2 – 5 uvádějí časový rozvrh laboratorních prací, rozepisují roli učitele a studentů a potřebné pomůcky a chemikálie v jednotlivých fázích výuky.

#### **4.2.2.1 *Jak namočit magický písek***

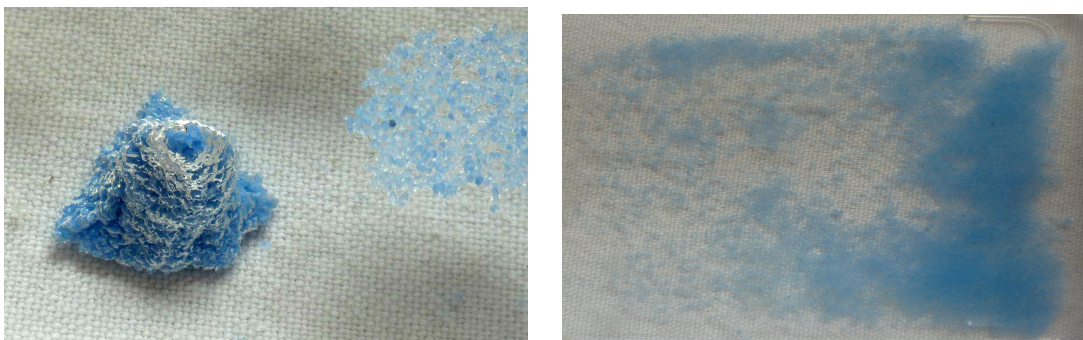
(Kompletní úlohy bez pracovních listů jsou umístěny v Příloze 2. Pracovní listy jsou umístěny na přiloženém CD.)

V první úloze zkoumají studenti hydrofobní interakce, konkrétně slabé vazby držící pohromadě zrnka hydrofobního písku ve vodě. Studenti pozorují chování hydrofobního písku ve vodě a navrhují, jaká rozpouštědla by mohli použít, aby shluky zrněk tohoto

písku ve vodě narušili. Samotný experiment je velmi jednoduchý a tato laboratorní práce je vhodná spíše pro mladší studenty (druhý stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých středních škol).

Do této rigorózní práce byla úloha zařazena díky možnosti uplatnění při výuce biochemie – konkrétně denaturace proteinů. Při testování materiálů byla použita jako demonstrační experiment v motivační části laboratorní práce *Jak poškodit protein*.

Při testování materiálu byli studenti nejdříve vyzváni, aby pozorovali chování hydrofobního písku ve vodě a následně navrhli, jak by mohli shluky hydrofobního písku ve vodě porušit. Nejdříve museli přemýšlet o tom, jaké síly drží zrnka hydrofobního písku ve vodě pohromadě (nevěděli, že se jedná o hydrofobní písek). Když společnou diskuzí došli k závěru, že jsou to hydrofobní interakce, snadno navrhli jak shluky rozpustit (např. použitím acetonu). Poté prováděli denaturaci bílkovin vaječného bílku, měli zjistit rozdíly mezi denaturací a vysolováním. Pro vysvětlení principu denaturace jim posloužil také experiment s hydrofobním pískem. Analogie rozpouštění shluků hydrofobního písku ve vodě s denaturací proteinů je následující: Zrnka písku s hydrofobním povrchem odpuzují molekuly vody. Po vhození do vody se zrnka písku shlukují k sobě, aby minimalizovaly kontakt s okolní vodou. Po přidání acetonu se tyto interakce naruší, jednotlivá zrnka písku interagují s molekulami acetonu přítomnými ve vodě a shluky se rozpadají (Obr. 3). Prostorové uspořádání proteinů je mimo jiné také stabilizováno hydrofobními interakcemi (postranní řetězce hydrofobních aminokyselin se snaží umístit v centru proteinu). Molekuly hydrofobního rozpouštědla narušují tyto interakce a destabilizují tak strukturu proteinu, což může vést k jeho denaturaci. Rozvolněný polypeptidový řetězec pak interaguje s ostatními denaturovanými řetězci, jejich hydrofobní části se shlukují a vzniká sraženina.



Obr. 3: Shluky hydrofobního písku ve vodě a jejich rozpouštění v acetonu.

**Tab. 2 Rozvrh laboratorní úlohy Magický písek**

Tabulky u jednotlivých úloh ukazují části laboratorních prací a jejich přibližnou délku. Stručně popisují, co mají v jednotlivých částech provádět studenti a co učitel, zahrnují také pomůcky potřebné pro danou část vyučovací hodiny.

<b>Fáze laboratorní práce</b>	<b>Čas (min)</b>	<b>Činnosti studentů</b>	<b>Činnost učitele</b>	<b>Pomůcky a chemikálie</b>
Motivace – demonstrační pokus (chování hydrofobního a normálního písku ve vodě)	10	Pozorují demonstrační pokus, diskutují o něm.	Provádí demonstrační pokus, pokládá otázky.	Hydrofobní a obyčejný písek, voda, dvě kádinky
Teoretická příprava	5	Navrhují, jaká rozpouštědla mohou smočit hydrofobní písek.	Pokládá doplňující otázky.	Žádné
Praktická část – chování hydrofobního písku ve vodě a v hydrofobních rozpouštědlech	15	Pozorují rozdíly v chování hydrofobního písku ve vodě a v jimi navrženém rozpouštědle. Manipulují se shluky hydrof. písku ve vodě.	Kontroluje praktickou činnost, pokládá doplňující otázky.	Hydrofobní písek, aceton, případně další hydrofobní rozpouštědla, kádinky, skleněné tyčinky, laboratorní lžičky
Shrnutí poznatků z praktické činnosti	10	Vyplňují úlohy v PL zaměřené na polaritu látek.	Odpovídá na případné dotazy, vysvětluje význam hydrofobních interakcí.	PL
Závěr	5	Shrnují, co zjistili o vlastnostech hydrofobních látek.	Případně opravuje závěry studentů.	Žádné

Pracovní list je v tabulkách označen PL.

#### 4.2.2.2 Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání?

Studenti získávají představu o prostorovém uspořádání proteinů při práci s fyzickými modely proteinů. Při testování materiálů byly použity doma vyrobené modely proteinů, v zahraničí (v USA) jsou tyto modely k dostání, jmenují se *mini toobers* (Obr. 4 [27]). Modely představují základní polypeptidový řetězec (ocelový nebo hliníkový drát obalený pěnovým plastem) s postranními řetězci aminokyselin (ty představují barevné napínáčky). Atomy a vazby základního řetězce nejsou na modelu patrné, prostorové uspořádání proteinu se modeluje jen na základě interakcí postranních řetězců aminokyselin. Struktura proteinů je v této úloze ukázána také na obrázcích lidského inzulínu (vytvořených v programu DS Visualizer), ATP-syntázy, kolagenu a kinezinu. Studenti tak vidí více možných zobrazení proteinů a svoji představu si nevytvářejí pouze na základě zjednodušeného fyzického modelu.



Obr. 4: Model proteinu vyrobený doma a originální *mini toober*

Motivační částí této úlohy jsou právě obrázky ATP-syntázy, kolagenu a kinezinu. Studenti jsou vyzváni, aby odhadli, o jaké chemické látky se jedná. Následně mají popsat, v čem vidí hlavní rozdíl mezi těmito třemi naprosto odlišnými sloučeninami, které však patří do jedné skupiny chemických látek. Učitel by měl dbát na to, aby zaznělo, že prostorové uspořádání je klíčové pro správnou funkci proteinu.

Úkolem studentů je formulovat hypotézu popisující hlavní principy skládání proteinů (z pohledu postranních řetězců aminokyselin). Po vyřešení několika úkolů v pracovním listě zaměřených na chemickou povahu aminokyselin vyskytujících se v proteinech (např. rozdělení aminokyselin do čtyř skupin podle chemické povahy jejich postranních



řetězců; viz. ukázka třetí úlohy uvedena v následujícím odstavci) formulují studenti svoji teorii *Jak se skládají různé skupiny aminokyselin v prostoru?* Tu pak testují při práci s modely proteinů.

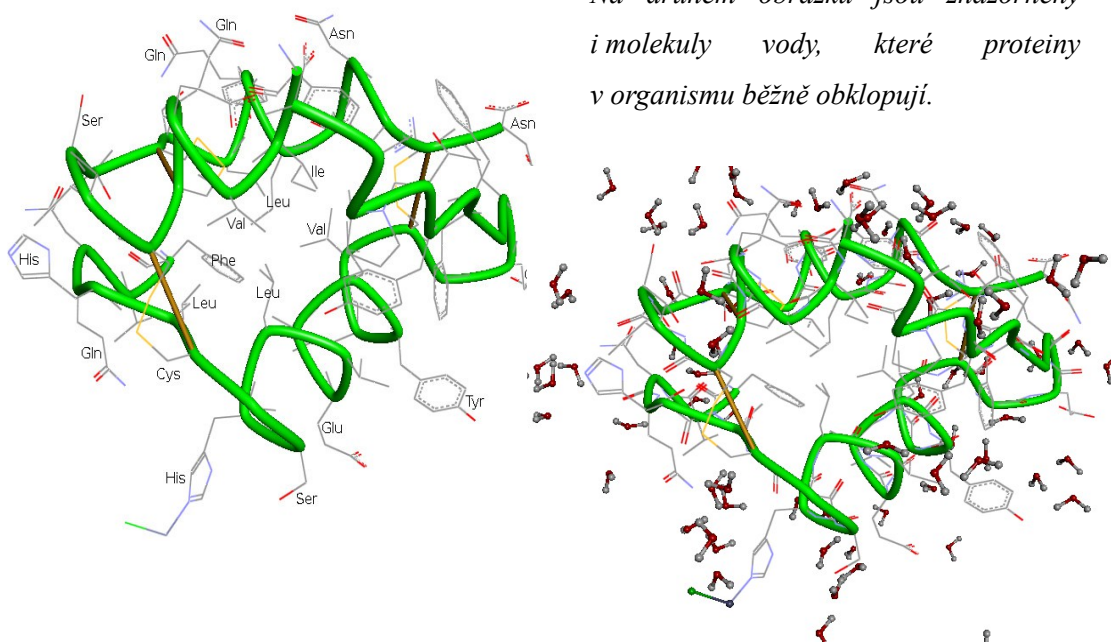
### Ukázka výukového materiálu

3) Na následujících obrázcích uvidíte části lidského inzulínu, proteinu sestávajícího z 51 aminokyselin. Protein je znázorněn ve svém přirozeném prostorovém uspořádání.

**Prohlédněte si pečlivě tuto molekulu a pokuste se formulovat, jak se v prostoru skládají různé skupiny aminokyselin** (skupiny, které jste vymysleli v 1. úloze).

(Základní řetězec je znázorněn jako zelená páska, struktury kolem jsou postranní řetězce aminokyselin. Kyslíky jsou červené, síra žlutá, dusík modrý, uhlíky šedé.)

Na druhém obrázku jsou znázorněny i molekuly vody, které proteiny v organismu běžně obklopují.



**Vaše hypotéza: Jak se skládají různé skupiny aminokyselin v prostoru?**

Samotná praktická činnost spočívá v modelování různých úseků polypeptidových řetězců buď podle zadaných sekvencí jednotlivých skupin aminokyselin, nebo podle modelu vytvořeného učitelem, případně si sekvenci určují studenti sami (viz následující ukázka úkolů 1 a 5).

## Ukázka části pracovního listu

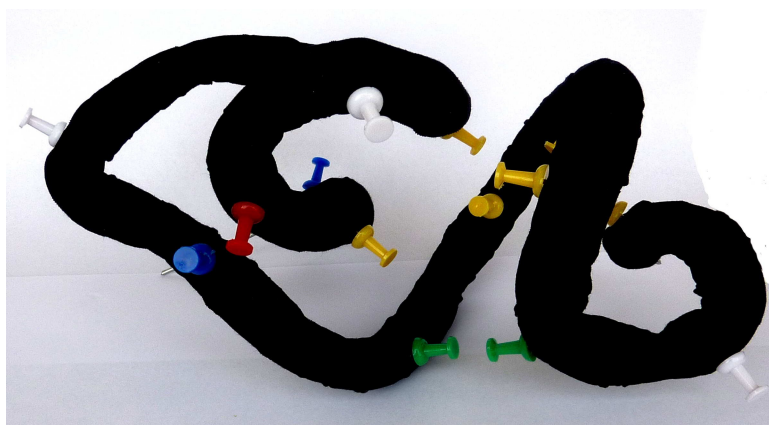
### Úkol č. 1:

Připevněte napínáčky na základní řetězec v následujícím pořadí barev: ž-b-z-ž-ž-ž-z-m-b-č-ž-b-č-ž-m.

**Pokuste se složit protein tak, aby výsledná struktura odpovídala chemickým zákonitostem.** Předpokládejte, že daný protein se nachází ve vodném prostředí. Nezapomeňte, že výsledná struktura musí být stabilizována existujícími chemickými vazbami nebo interakcemi.

Až složíte svůj protein, porovnejte ho s tím, co vytvořili vaši sousedé. Dohodněte se na jedné stejné struktuře. Tu pak budete prezentovat před třídou a zdůvodňovat, proč jste ji složili právě tímto způsobem.

- Podarilo se vám složit protein podle vaší hypotézy o skládání proteinů v prostoru?
- Nebo jste museli svoji hypotézu přehodnotit? Jak případně?



Jedna z možností, jak složit protein podle dané sekvence.

### Úkol č. 5:

Složte základní řetězec bez napínáček do určité struktury. Připevněte do této struktury napínáčky, opět tak, aby jejich pořadí odpovídalo chemickým zákonitostem. Poté vyměňte libovolné dva napínáčky.

- Odpovídá prostorové uspořádání i teď chemickým zákonitostem?
- Jakou situaci známou z živých organismů má podle vás tento experiment demonstrovat?

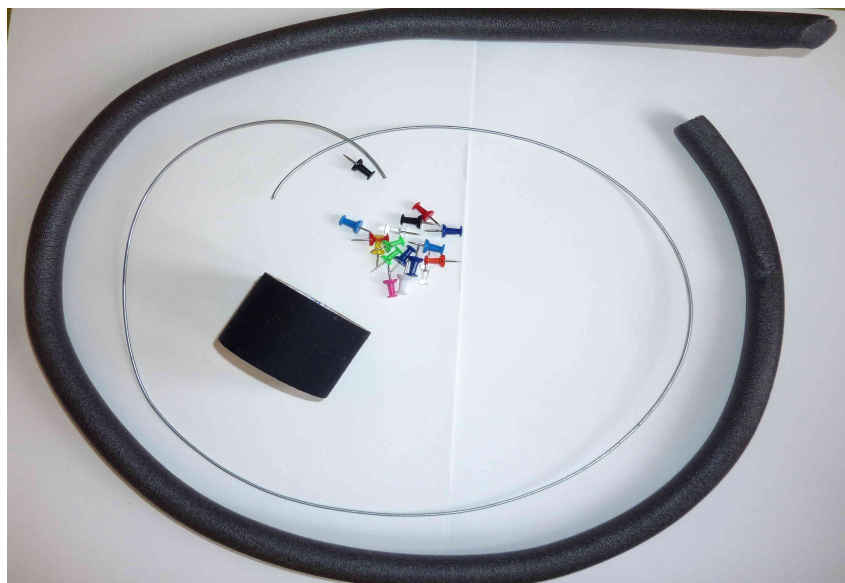
Při modelování jednotlivých úseků polypeptidového řetězce se studenti učí pracovat s modelem proteinů. Uplatňují tak “v praxi“ zásady o skládání proteinů, ke kterým dospěli při řešení úloh z teoretické části pracovního listu. Zároveň jsou však úlohy postavené tak, že nutí studenty přemýšlet i o dalších aspektech skládání proteinů. Diskutují o tom, zda je možné, aby se jeden protein vyskytoval v organismu ve více prostorových uspořádáních, jaký efekt na výslednou strukturu bude mít záměna některých aminokyselin, zda je možné z jakékoliv sekvence aminokyselin složit nějakou funkční strukturu. Zde má učitel prostor, aby studenty upozornil na pojem nativní struktura, na různé mutace proteinů, případně na to, že i struktura proteinů prodělala dlouhou evoluci.

Prezentace výsledků je při této laboratorní práci snadná, stačí ukázat svoji strukturu a být schopen obhájit, proč je složena právě do takového tvaru, zda jsou všechny interakce postranních řetězců aminokyselin v pořádku. Na dvě vyučovací hodiny je však v tomto materiálu relativně hodně úkolů, takže učitel musí myslet na to, aby dal studentům prostor pro prezentaci jejich práce. Není nutné, aby každá skupina splnila všechny úkoly.

### **Výroba modelů proteinů**

Jak již bylo uvedeno modely proteinů jsou k dostání v zahraničí, jsou však velmi drahé a pro potřeby celé třídy pro většinu škol nedostupné. Je poměrně snadné vyrobit podobné modely doma (ty, které byly použity pro tuto práci, jsou dokonce trvanlivější než ty originální, jen se s nimi trochu hůře manipuluje).

Výroba je detailně popsána v metodické části pro učitele. Základem modelu je ocelový drát, který je potřeba obalit nějakým pěnovým materiálem. Je možné použít např. izolační trubky značky Mirelon, které se dají koupit buď duté, nebo plné. Plné fungují pro výrobu modelů lépe, stačí prostrčit drát skrz cca 1 m dlouhou pěnovou trubku a model je hotov. Je možné použít také dutou pěnovou trubku a upevnit ji k drátu kobercovou páskou. Jako postranní řetězce aminokyselin poslouží barevné napínáčky (Obr. 5).



Obr. 5: Materiál potřebný pro výrobu modelu proteinu. Izolační trubka, ocelový drát, kobercová páska, barevné napínáčky.

**Tab. 3 Rozvrh laboratorní úlohy Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání**

Fáze laboratorní práce	Čas (min)	Činnosti studentů	Činnost učitele	Pomůcky a chemikálie
Motivace – obrázky prostorového uspořádání různých proteinů	10	Pozorují obrázky proteinů, diskutují o struktuře proteinů.	Ukazuje obrázky, ptá se na rozdíly mezi nimi, na význam struktury proteinů.	Powerpoint. prezentace
Teoretická příprava – PL zaměřený na vlastnosti aminokyselin a jejich vliv na skládání proteinů	30	Vyplňují PL, jednotlivé úlohy řeší samostatně, poté s učitelem.	Kontroluje práci s PL, rozebírá se studenty jednotlivé úlohy.	PL
Příprava na praktickou část	5	Poslouchají výklad učitele.	Seznamuje studenty s modely proteinů, neposkytuje však návod na práci s nimi (ten vyplyne studentům při teoretické přípravě).	Modely proteinů
1. úloha	10	Skládají model proteinu podle zadané sekvence,	Kontroluje samostatnou činnost jednotlivých	Modely proteinů, PL

Praktická část – práce s modely proteinů			ověřují, zda je možné model složit podle základních pravidel skládání proteinů.	pracovních skupin, ptá se, proč studenti složili model do určité struktury.	
	2. - 5. úloha	30	Skládají modely proteinů podle zadání jednotlivých úloh, prezentují své struktury před spolužáky, vysvětlují svůj postup.	Kontroluje samostatnou činnost studentů, pokládá doplňující otázky.	Modely proteinů, PL
Závěr		5	Shrnují, co se při práci naučili, jaké jsou hlavní principy skládání proteinů.	Pokládá doplňující otázky.	Žádné

#### 4.2.2.3 *Jak poškodit protein*

Cílem praktické činnosti studentů při této úloze je uvést rozdíly mezi procesy denaturace a vysolování proteinů. Tato laboratorní práce je formulovaná jako badatelsky orientovaná, studenti pracují samostatně podle vlastního postupu, samostatně vyhodnocují výsledky svých experimentů.

Laboratorní práce začíná třemi demonstračními pokusy – tepelná denaturace bílkovin vaječného bílku, denaturace mléčných bílkovin citronovou šťávou a rozpouštění shluků zrněk hydrofobního písku ve vodě (souvislost s denaturací proteinů je uvedena v popisu první laboratorní úlohy – *Jak namočit magický písek*, kap. 4.2.2.1.) Studenti diskutují o pozorovaných jevech, navrhnou, jakou chemikálii lze použít pro rozpouštění shluků hydrofobního písku ve vodě, uvažují, zda jsou úvodní demonstrační experimenty vratné nebo nevratné.

Studenti následně obdrží různé chemikálie (kyselinu chlorovodíkovou, aceton, citronovou šťávu, fyziologický roztok, koncentrovaný roztok síranu amonného), vajíčka, laboratorní sklo, hydrofobní písek a modely proteinů. Dále mají k dispozici dva texty:

*Jak pracovat s proteiny a Elektrostatické interakce.* Nejedná se o návody, jsou to stručné texty, které by měly studentům pomoci při přípravě roztoku proteinů vaječného bílku a při vysvětlování rozdílu mezi denaturací a vysolováním.

Učitel práci studentů neřídí, pouze ji kontroluje, odpovídá na případné dotazy, může studenty navést, jak dál. Např.: *Jak ověříte, zda je tento proces vratný nebo nevratný? Co se stane, když do zkumavky ještě přilijí vodu? Vzpomeňte si na modelování proteinů a uvědomte si, jaké síly drží pohromadě shluky hydrofobního písku ve vodě.*

Pokud se zdá, že některé skupiny nepostupují správně, nepřišly na to, jaké experimenty provést, aby protein jednou denaturovaly a pak vysolovaly, mohou jim své experimenty předvést jiné skupiny. Ty tak získají prostor pro prezentaci a vysvětlení svého postupu, což je v tomto typu laboratorní práce žádoucí.

V závěru laboratorní práce je dobré výsledky shrnout – překreslit např. na tabuli tabulku, kterou mají studenti v pracovních listech (uvedena níže) a jednotlivé skupiny do ní pak zapíšou nebo doplní svoje závěry týkající se denaturace a vysolování. Samotné experimenty jsou velmi jednoduché, jejich vysvětlení a popsání rozdílů mezi denaturací a vysolováním už je náročnější. Proto je nutné věnovat závěrečné části – shrnutí výsledků a společné diskuzi – dostatek času.

Na úplný závěr této laboratorní práce se pro lepší vysvětlení principu denaturace a vysolování hodí také flash animace, které byly vytvořeny v rámci mé diplomové práce [1] a jsou dostupné na adrese [www.studiumchemie.cz](http://www.studiumchemie.cz). Tyto animace zpracovávají denaturaci proteinů acetonem a tepelnou denaturaci a vysolování proteinů síranem amonným.

## Ukázka části pracovního listu

### ***Vaše experimenty a pozorování:***

*Všechny své experimenty zaznamenejte do následující tabulky (nemusíte ji vyplnit celou, záleží na tom, kolik experimentů provedete a jak je provedete).*

<b><i>experiment</i></b> <i>(stručně popsat, např. jaké látky jste smíchali dohromady)</i>	<b><i>pozorování</i></b> <i>(změna barvy, skupenství, uvolnění plynu atd..)</i>	<b><i>závěr</i></b> <i>(souvislost s denurací nebo vysolováním, vysvětlení pozorování)</i>

**Tab. 4 Rozvrh laboratorní úlohy *Jak poškodit protein***

<b>Fáze laboratorní práce</b>	<b>Čas (min)</b>	<b>Činnost studentů</b>	<b>Činnost učitele</b>	<b>Pomůcky a chemikálie</b>
Motivace – demonstrační pokus (denaturace proteinů vaječného bílku a mléka)	15	Pozorují demonstrační pokusy a diskutují o nich.	Provádí demonstrační pokusy, pokládá badatelskou otázku.	Vaječný bílek, 1% roztok NaCl, mléko, citronová šťáva, kádinky, vroucí voda, skleněné tyčinky; možno použít i hydrofobní písek a aceton.
Příprava na praktickou činnost – práce s textem	10	Studují předložený text, navrhnou postup své práce.	Poskytuje studentům text a seznamuje je s materiálem pro jejich laboratorní činnost.	Text <i>Jak pracovat s proteiny</i>

Praktická část – denaturace a vysolování proteinů	30	Provádějí experimenty (denuraci a vysolování proteinů různými činidly).	Kontroluje praktickou činnost, pokládá návodné otázky, zodpovídá dotazy.	Vaječný bílek, 1% roztok NaCl, koncentrovaný roztok (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , aceton, citronová šťáva, 1M HCl, zkumavky, skleněné tyčinky, kádinka, smotek vaty, nálevka
Práce s textem – vysvětlení principu vysolování	5	Studují předložený text, hledají souvislosti s vlastními experimenty.	Poskytuje studijní materiál.	Text <i>Elektrostatické interakce</i>
Prezentace výsledků	20	Prezentují své pokusy před spolužáky.	Pokládá návodné otázky, vybírá skupiny, které budou prezentovat své experimenty.	Viz materiál k praktické části
Závěr	10	Zapisují svá vysvětlení pozorovaných jevů na tabuli, diskutují o názorech ostatních.	Shrnuje hlavní myšlenky a upozorňuje studenty na hlavní rozdíly mezi denurací a vysolováním.	Žádné

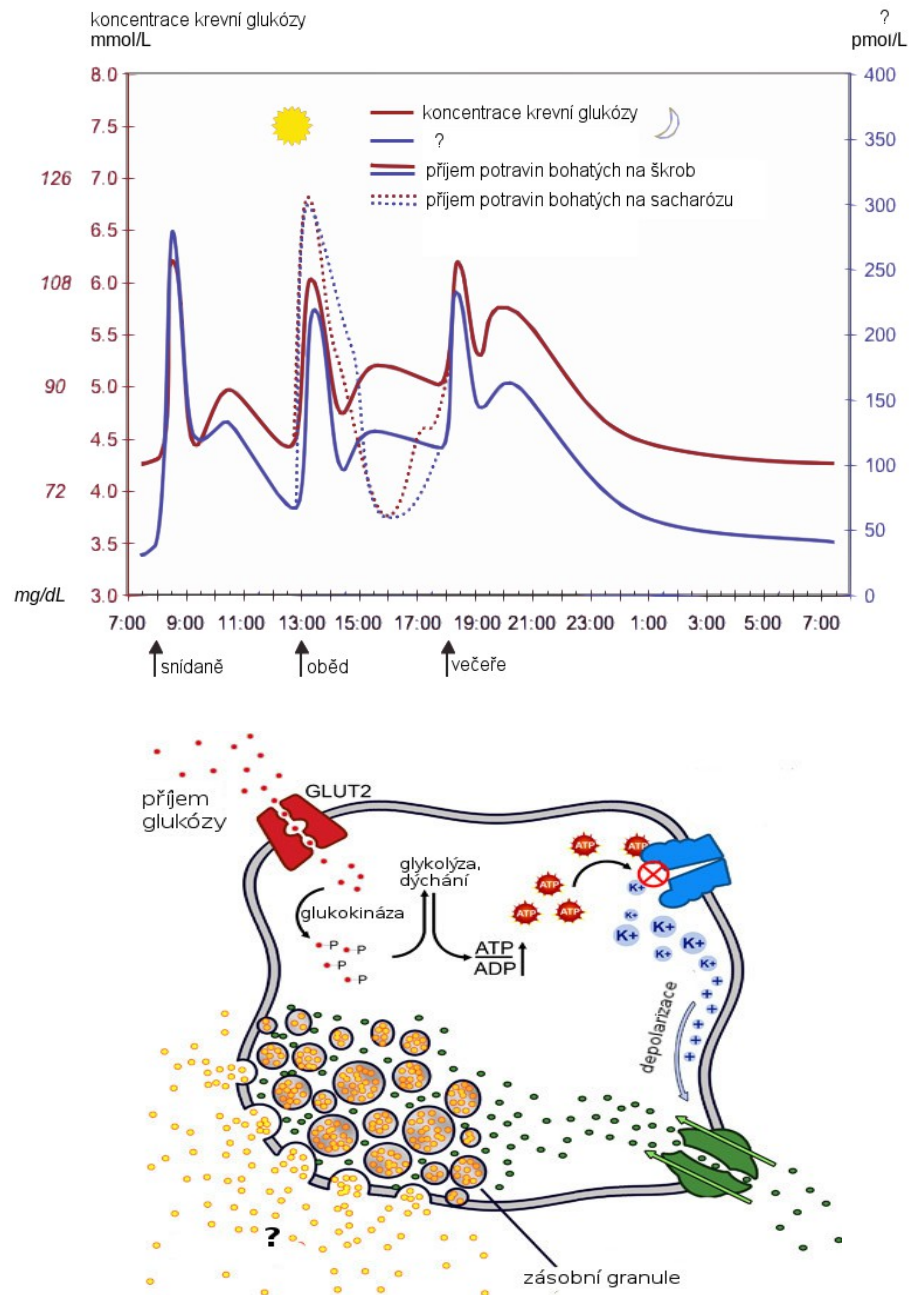
#### 4.2.2.4 Modelování molekuly inzulínu

Tato úloha je do celého materiálu zařazena jako nadstavbová, rozšiřující. Studenti si při ní vyzkouší vymodelovat molekulu inzulínu podle jeho aminokyselinové sekvence. Cílem této práce je, aby si studenti ověřili, zda základní principy skládání proteinů, ke kterým dospěli v úloze *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, platí i pro skutečné molekuly.

Motivační částí této úlohy jsou čtyři obrázky, schémata, v nichž se skrývá molekula inzulínu. Studenti mají za úkol odhadnout, o jakou látku se jedná. Obrázky ukazují strukturu inzulínu (která studentům maximálně napoví, že neznámá látka bude protein), některé metabolické dráhy, jichž se inzulín jako hormon v buňkách účastní a graf závislosti koncentrace krevního inzulínu na denním příjmu potravy (Obr. 6). Metodická



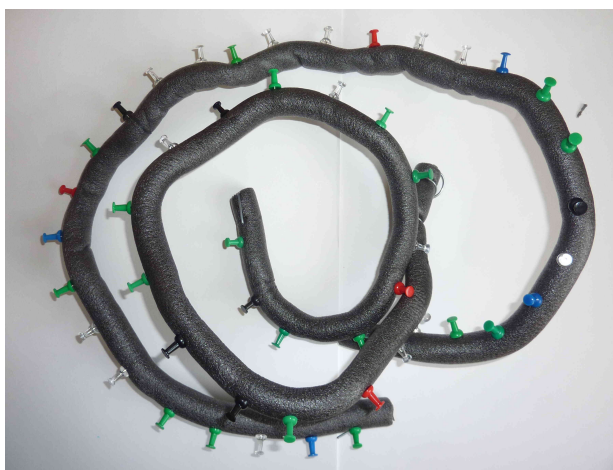
část pro učitele také obsahuje text, v němž je podrobně popsána role inzulínu v organismu a hlavně jeho výroba a využití v medicíně. Na začátku této laboratorní práce má učitel prostor, aby studenty seznámil s inzulínem, jeho významem pro lidskou společnost a využívání geneticky modifikovaných organismů při jeho výrobě.



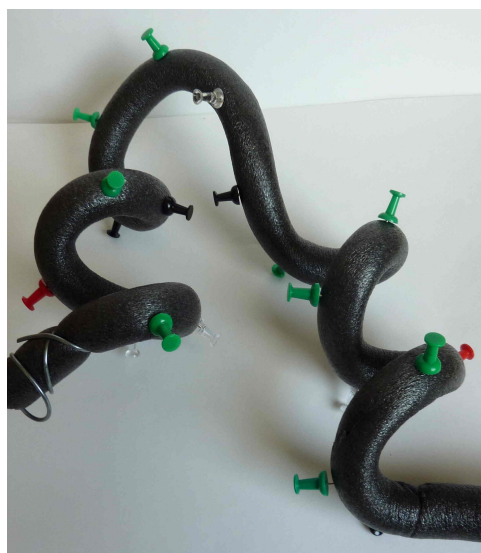
Obr. 6: Ukázka z motivační části úlohy modelování inzulínu. Studenti mají odhalit, jaká látka se skrývá pod otazníky.

Samotná praktická část spočívá v modelování molekuly inzulinu, respektive jeho řetězců A a B (Obr. 7 - 9). Studenti modelují protein s pomocí pracovního listu, kde je uvedena aminokyselinová sekvence obou jeho řetězců (studenti si ji musejí převést do sekvence jednotlivých skupin aminokyselin – nepolární, polární, kyselé, zásadité a cystein), několik obrázků struktury inzulinu a také popis této molekuly. Je zde uvedeno, jaké základní prvky sekundární struktury se v molekule vyskytují, kde začínají a kde končí, ve kterých místech leží kovalentní vazba mezi řetězci A a B. Součástí materiálu pro učitele je také animace rotace modelu molekuly inzulinu, na niž studenti velmi dobře vidí jeho prostorové uspořádání.

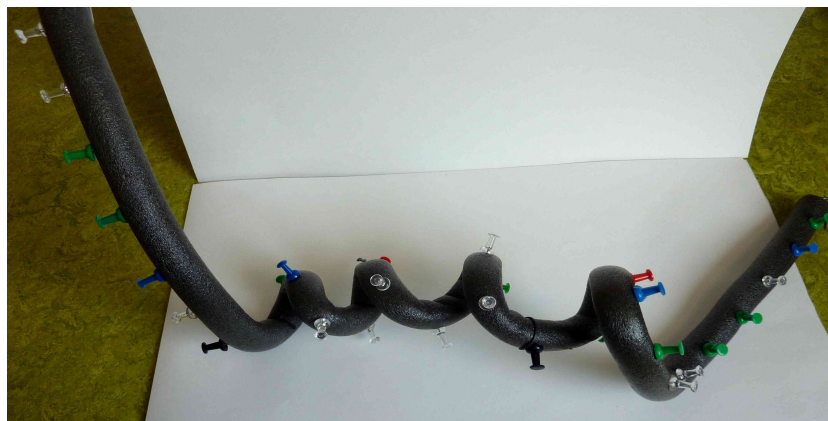
Studenti si při této práci tedy procvičí manipulaci s modely proteinů, rozšíří si své znalosti o inzulinu, ověří si, zda jsou schopni podle teoretických pravidel o skládání proteinů vymodelovat skutečnou molekulu.



Obr. 7: Model inzulinu připravený na skládání.



Obr. 8: Řetězec A molekuly inzulinu, černé napínáčky představují postranní řetězce cysteinu.



Obr. 9: Řetězec B molekuly inzulínu. Bílé napínáčky představují hydrofobní postranní řetězce aminokyselin.

**Tab. 5 Rozvrh laboratorní úlohy Modelování molekuly inzulínu**

Fáze laboratorní práce	Čas (min)	Činnost studentů	Činnost učitele	Pomůcky a chemikálie
Motivace – <i>Jaká látka se skrývá za obrázky?</i> (inzulín)	8	Pozorují obrázek, navrhnou, jakou látku asi představuje.	Ukazuje obrázek, pokládá otázky týkající se inzulínu.	Powerpoint. prezentace
Příprava na praktickou činnost	7	Studují PL, poslouchají výklad učitele, řeší první část úlohy – přepis sekvence aminokyselin do sekvence typů aminokyselin podle povahy postranního řetězce.	Představuje studentům inzulín z hlediska jeho struktury, ukazuje obrázky, poskytuje PL.	Powerpoint. prezentace, PL
Praktická část – skládání modelu molekuly inzulínu	20	Tvoří model molekuly inzulínu.	Pomáhá s modelováním inzulínu.	Modely proteinů, PL
Závěr	10	Zkoumají model inzulínu – Splňuje základní pravidla skládání proteinů? Popisují jeho strukturu.	Ukazuje na modelu inzulínu některé principy skládání proteinů.	Modely inzulínu

### 4.3 Testování materiálů na středních školách

Vytvořené úlohy byly postupně ověřovány na několika středních školách v Praze.

První ověřování proběhlo na Gymnáziu Nad Alejí v Praze v červnu roku 2013 ve třetím ročníku čtyřletého gymnázia. Při tomto ověřování nebyli studenti testováni, ale šlo především o to zjistit, jsou-li ručně vyrobené modely proteinů použitelné pro výuku a je-li možné částečně pojmout úlohu *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání* jako badatelsky orientovanou. Zajímalo mě, zda studenti dokáží s modely pracovat a zda je úloha na skládání proteinů dobře připravená. Chtěla jsem najít odpovědi především na tyto otázky:

- Rozumí studenti zadání?
- Jsou schopni pracovat samostatně s pracovním listem?
- Jsou schopni formulovat svoji teorii skládání proteinů?
- Podaří se jim na základě této teorie složit model proteinu do takového tvaru, aby byly interakce postranních řetězců aminokyselin v souladu s chemickými zákonitostmi?

Výsledky tohoto testování jsou zpracovány v kapitole 4.4.1.

Další stupeň testování materiálů byl realizován na SZŠ 5. května a na Gymnáziu J. Patočky v Praze. Jeho cílem bylo zjistit, do jaké míry jsou nově vytvořené úlohy pro studenty přínosné. Úlohy *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání* a *Jak poškodit protein* byly testovány v rámci dvou dvouhodinových výukových celků. Úloha s hydrofobním pískem byla zařazena jako motivační část druhé zmíněné laboratorní práce (viz 4.2.2.1).

Na SZŠ se laboratorních prací zúčastnili studenti maturitního ročníku. Testování probíhalo krátce před maturitami, čímž byla velmi ovlivněna docházka, ale i soustředění studentů. Testy, které studenti vyplňovali při laboratorní práci, proto nebyly zařazeny do této práce. Někteří studenti totiž absolvovali pouze jednu ze dvou laboratorních prací, někteří se ani nepokusili testy vyplnit. Úlohy zde však byly odučeny a na základě těchto hodin byly materiály dále upravovány.

Na Gymnáziu J. Patočky se laboratorní práce konaly ve třetím ročníku čtyřletého gymnázia a to v celé třídě (28 studentů; tato třída neměla v rozvrhu klasické laboratorní práce, jichž se účastní jen polovina studentů). Aminokyseliny a proteiny už měli

studenti částečně probrané, prostorovým uspořádáním ani denaturací se však podrobněji v hodinách chemie (ani biologie) nezabývali. Cílem testování bylo zjistit, co znali studenti před absolvováním těchto laboratorních prací, co si z této práce zapamatovali a jak své vlastní práci porozuměli. Vyplňovali proto před začátkem první laboratorní práce a po skončení té druhé test zaměřený na prostorové uspořádání proteinů, povahu proteinogenních aminokyselin a denaturaci a vysolování proteinů.

#### **4.3.1 Průběh pilotního nasazení materiálu *Jak získávají proteiny své***

##### ***prostorové uspořádání***

První dvě hodiny byly věnovány prostorovému uspořádání proteinů. Vedoucí laboratorní práce nejprve ukázal studentům obrázky modelů různých proteinů (ATP- syntáza, kolagen a kinezin). Studenti diskutovali o tom, o jaké látky se jedná, co je spojuje a v čem se liší. Studenti došli k otázce, jaký význam má složité prostorové uspořádání proteinů a jak proteiny toto uspořádání získávají. Byli seznámeni s modely proteinů a vyzváni, aby se zamysleli, jak spolu mohou postranní řetězce aminokyselin interagovat.

Na pomoc při hledání odpovědi na otázku, jak získávají proteiny své prostorové uspořádání, obdrželi studenti pracovní list s několika úkoly týkajícími se fyzikálně-chemických vlastností proteinogenních aminokyselin. Posledním úkolem bylo formulovat hypotézu, jak se budou skládat jednotlivé skupiny aminokyselin ve vodném prostředí.

Studenti své hypotézy zapsali, prodiskutovali je s učitelem a dospěli k několika společným pravidlům skládání proteinů. Podle těchto pravidel potom pracovali s modely proteinů a skládali polypeptidové úseky, jejichž aminokyselinové sekvence měly uvedené v pracovním listě. Své modely předváděli jednotlivé pracovní skupiny ostatním a vysvětlovali, proč složili model právě takovým způsobem. Na konci hodiny byla ještě shrnuta základní pravidla pro skládání proteinů.

### 4.3.2 Průběh pilotního nasazení materiálu *Jak poškodit protein*

Druhá laboratorní práce byla zaměřena na denaturaci a vysolování proteinů. Studentům byly nejprve ukázány tři demonstrační pokusy – zalití vajíčka rozklepnutého do kádinky vroucí vodou, okyselení mléka citronovou šťávou a vznik a následné rozpuštění shluků hydrofobního písku ve vodě (viz 4.2.2.3). Studenti debatovali o tom, co tyto pokusy ukazují, jak spolu mohou souviset.

Poté jim byl představen cíl jejich práce – zjistit, jaký je rozdíl mezi denurací a vysolováním a popsat princip těchto procesů. Studenti dostali k dispozici různé laboratorní sklo, aceton, jednomolární kyselinu chlorovodíkovou, jednoprocentní roztok chloridu sodného, šťávu z citronu, koncentrovaný roztok síranu amonného. Měli pracovat s bílkovinami představenými vaječným bílkem zředěným fyziologickým roztokem. Na SZŠ 5. května obdrželi studenti roztok proteinů vaječného bílku již hotový, ale v průběhu práce se ukázalo, že je dost času na to, aby si ho studenti připravili sami. Studenti Gymnázia J. Patočky proto dostali celé vajíčko, vatu, 1% NaCl a následující text, který jim pomohl si roztok samostatně připravit.

#### ***Jak pracovat s proteiny***

*Proteiny, které chceme zkoumat, je vhodné nejprve převést do roztoku. Měli bychom proto vědět, zda jsou rozpustné ve vodě nebo ne. Globulární, neboli kulovité proteiny bývají rozpustné ve vodě, zatímco proteiny fibrilární, vláknité, nikoliv.*

*V čem proteiny rozpouštět? Určitě není vhodná destilovaná voda. Proteiny jsou velmi citlivé na změny vnějšího prostředí. Nejstabilnější bývají při neutrálním pH a fyziologické iontové síle (té odpovídá iontová síla fyziologického roztoku - 1% NaCl).*

*Získáváme-li protein z rostlinného nebo živočišného materiálu, měli bychom se také zbavit různých nečistot a neproteinových složek daného materiálu (případně jiných, třeba nerozpustných proteinů). Toho je možné dosáhnout různými metodami. Chceme-li získat proteiny z buněčného materiálu, musíme nejdřív buňky mechanicky rozrušit. Poté můžeme využít centrifugaci, kdy se nám různé části buněk usazují na dně zkumavky podle své hmotnosti. Další metodou vhodnou pro čištění materiálu a oddělení nerozpustných částí je filtrace. Roztok daného organického materiálu však musíme nejprve řádně protřepat, aby se náš protein rozpustil a nezachytil na filtru. Podle povahy organického materiálu vybíráme různé filtry – ne všechno je vhodné filtrovat přes filtrační papír, někdy stačí třeba smotek vaty.*

*Ve výsledku bychom měli získat čirý roztok našeho proteinu, se kterým se nám už bude dobře pracovat.*

*Následující tabulka uvádí některé příklady proteinů rozpustných a nerozpustných ve vodě.*

<i>proteiny rozpustné ve vodě</i>	<i>proteiny nerozpustné ve vodě</i>
<i>albuminy krevního séra</i>	<i>kolagen</i>
<i>fibrinogen</i>	<i>keratin</i>
<i>ovalbumin</i>	<i>fibroin</i>
<i>hemoglobin</i>	<i>elastin</i>
<i>imunoglobuliny</i>	<i>fibrin</i>

Studenti mohli také pracovat s hydrofóbním pískem a s modely proteinů. K dispozici měli také text o elektrostatických interakcích (uvedený níže), který jim pomáhal objasnit proces vysolování. Nejprve měli za úkol rozvrhnout si, jaké experimenty provedou a zaznamenat svůj plán do pracovního listu. Poté, co představili svůj plán vedoucímu laboratorní práce, mohli začít pracovat. Jednotlivé experimenty zaznamenávali do pracovního listu. Asi polovina studentů byla schopna začít hned samostatně pracovat. Ostatní se dožadovali návodu na laboratorní práce, nechtěli se smířit s tím, že žádný nedostanou. Vedoucí praktika jim pomáhal návodnými otázkami. Ptal se jich, jak ověřit, zda je děj vratný nebo nevratný, s jakým množstvím roztoku proteinu by měli pracovat, aby jim vystačil pro více experimentů, jak poznají, že se proteiny v roztoku třeba nějak nemění samovolně, zda to opravdu souvisí s přidanými chemikáliemi atd.. Studentům nakonec nedělalo problémy provést několik experimentů, při nichž proteiny denaturovali nebo síranem amonným vysolili. Někteří nevěděli, jak dokázat, který proces je vratný a nevratný, ale nakonec na to všichni přišli (někteří opět s návodnými otázkami vedoucího praktika).

Výsledky tohoto testování jsou uvedeny v kapitole 4.4.2.

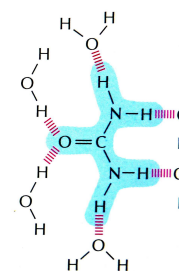
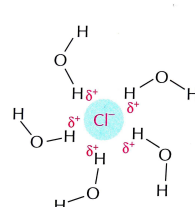
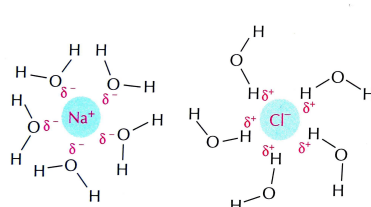
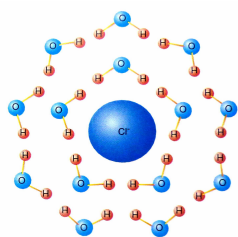
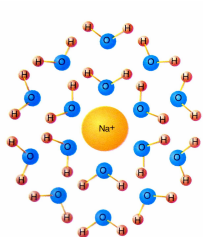
### ***Elektrostatické interakce***

*Opačně nabitě částice jsou vzájemně přitahovány tzv. elektrostatickými interakcemi. Tyto vazby patří do skupiny slabých vazebných interakcí a jsou velmi důležité pro stabilizaci a správnou funkci biomolekul.*

*Mezi elektrostatické interakce řadíme také hydrataci iontů ve vodném prostředí. Voda, jakožto polární rozpouštědlo, je přitahována jak ke kladně tak k záporně nabitým iontům.*

Kolem těchto částic vytváří tzv. solvatační obal (anglicky solvent znamená rozpouštědlo; viz obrázky). Voda tak vlastně zmenšuje přitažlivé síly mezi záporně a kladně nabitými ionty a tím iontové sloučeniny rozpouští.

Zvláštní význam má hydratace iontů v nasycených roztocích různých iontů, kde voda solvatuje, tedy vlastně rozpouští, přednostně ty nejrozpuštěnější ionty. Ostatní, původně rozpustné, se pak mohou z roztoku vysrážet.



Solvatace iontů

Interakce, které může voda tvořit s rozpouštěnými látkami.

Na konci praktika byli studenti vyzváni, aby zapsali své závěry na tabuli (dva sloupce – v jednom závěry týkající se denaturace, ve druhém ty popisující vysolování). Na SZŠ 5. května studenti pouze o svých výsledcích diskutovali, ale většina z nich se do diskuze nezapojila, konečné vysvětlení zůstalo na vedoucím praktika. Když studenti gymnázia zapisovali na tabuli, k čemu dospěli, byli nuceni to jasně a stručně formulovat. Zúčastnili se všechny skupiny, protože kontrolovaly a případně doplňovali, co na tabuli chybí. Nakonec proběhla živá diskuze, protože někteří studenti nesouhlasili se závěry těch ostatních. S pomocí vedoucího praktika pak studenti dospěli ke společnému vysvětlení průběhu procesů denaturace a vysolování.

### 4.3.3 Průběh pilotního nasazení materiálu *Modelování molekuly inzulinu*

Úloha *Modelování molekuly inzulinu* byla následně testována samostatně na Gymnáziu Nad Alejí v září 2014 v biologickém semináři pro studenty třetího ročníku čtyřletého studia. Studenti znali částečně aminokyseliny a proteiny, prostorové uspořádání, interakce postranních řetězců aminokyselin nebo jejich chemickou povahu však ještě neprobírali. Součástí ověřování materiálu byl opět test, který studenti psali před laboratorní prací a poté v další hodině v následujícím týdnu. Paní profesorka se rozhodla



zařadit tuto práci do biologického semináře (momentálně zaměřeného na genetiku), protože rozšiřuje znalosti studentů o inzulínu, ale hlavně přibližuje studentům vznik proteinů, ukazuje souvislost mezi genetickým kódem a prostorovým uspořádáním proteinů.

Studenti předtím nikdy nepracovali s modely proteinů. Původně hodinová laboratorní práce byla proto prodloužena na dvě vyučovací hodiny. V první hodině byli studenti seznámeni s modely proteinů, na několika úkolech z laboratorní práce *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání* si vyzkoušeli, jak se s nimi pracuje.

Druhá hodina byla věnována modelování molekuly inzulínu. Nejprve studenti poznávali, jaká látka se skrývá ve schématu, které jim vedoucí praktika ukázal. Při té příležitosti se dozvěděli o tom, jak se inzulín v současné době vyrábí, jak se získával dříve, jaká je jeho přesná úloha v organismu. Poté dostali pracovní listy s aminokyselinovou sekvencí obou řetězců inzulínu, s několika obrázky struktury inzulínu a s popisem, jak je molekula inzulínu uspořádána. K tomu jim vedoucí praktika na projektoru pustil animaci rotace modelu molekuly inzulínu, aby si mohli jeho prostorové uspořádání lépe představit.

Nejprve si museli studenti přepsat sekvenci aminokyselin do sekvence jednotlivých skupin aminokyselin. Tuto část práce je potřeba provést pečlivě, což se studentům mnohdy nepodařilo. Chybu pak našli většinou až při samotném modelování inzulínu, kdy jim vycházel úplně jiný tvar než ostatním, nebo jim základní řetězce nešlo složit podle základních pravidel skládání proteinů. Modelování inzulínu bylo pro studenty zpočátku obtížné, protože v jedné z předchozích hodin sestavovali model DNA. Umísťovali proto postranní řetězce aminokyselin vždy do středu  $\alpha$ -šroubovice. Vedoucí praktika jim musel vysvětlit, že šroubovice u proteinů vypadá jinak, postranní řetězce aminokyselin směřují naopak ven. (Tato informace byla poté doplněna i do pracovního listu pro studenty.) Pak už bylo sestavování modelu snadnější a většina skupin dospěla nakonec alespoň k přibližnému modelu inzulínu (Obr. 10). V závěru vyučovací hodiny byla jedna skupina vyzvána, aby shrnula hlavní principy skládání proteinů a na svém modelu ukázala, zda tato pravidla splňují i reálné molekuly proteinů. Studenti byli prací zaujati, líbilo se jim, že zkoušejí vytvořit látku, kterou mají každý ve svém těle a je pro ně velmi důležitá.



Obr. 10: Model inzulinu vytvořený studenty  
Gymnázia Nad Alejí.

## 4.4 Výsledky ověřování materiálů

### 4.4.1 Výsledky první fáze ověřování

Pilotní nasazení materiálů na Gymnáziu Nad Alejí v Praze v červnu roku 2013 a dále pak na SZŠ 5. května, kde si studenti vyzkoušeli některé z nově připravených materiálů, nebylo monitorováno formou dotazníků nebo testů. Průběh těchto laboratorních prací byl však sledován a použit k úpravě materiálů.

Důležitým zjištěním bylo, že studenti jsou schopni pracovat s ručně vyrobenými modely proteinů, jsou dokonce schopni si je sami během patnácti minut vyrobit (Obr. 11). Zároveň se však ukázalo, že není vhodné vyrábět modely proteinů přímo při laboratorní práci *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, protože to zabere příliš mnoho času. Ten pak chybí při plnění úkolů v pracovním listě a hlavně v závěru hodiny, kdy mají studenti prezentovat své výsledky a kde má zůstat prostor pro shrnutí základních poznatků z tohoto praktika.



Obr. 11: Studenti Gymnázia Nad Alejí vyrábějí modely proteinu z plné a z duté izolační trubky a z ocelového drátu.

Při laboratorní práci *Jak poškodit protein* na SZŠ 5. května se ukázalo, že není úplně vhodné poskytnout studentům hotový roztok proteinů vaječného bílku ve fyziologickém roztoku (1% NaCl). Někteří studenti tím byli zmateni a nebylo jim úplně jasné, co mají vlastně ve zkumavce – zda už denaturovaný protein, nebo rozpuštěné bílkoviny. Studenti Gymnázia J. Patočky si roztok připravovali sami (rozpuštěním vaječného bílku ve fyziologickém roztoku a přefiltrováním přes smotek vaty), což lépe splňovalo jeden z hlavních požadavků na badatelsky orientovanou výuku, tedy že mají stále vědět co dělají a proč to dělají. Dalším důležitým poznatkem ze SZŠ 5. května bylo, že závěry studentů týkající se denaturace a vysolování proteinů je dobré zaznamenat např. do jednoduché tabulky na tabuli, aby byly všem na očích a aby všichni studenti měli možnost uvést svůj názor na průběh těchto procesů. Tyto zkušenosti byly začleněny do metodické části pro učitele.

#### 4.4.2 Výsledky druhé fáze ověřování

Studenti Gymnázia J. Patočky a Gymnázia Nad Alejí vypracovávali před začátkem a po skončení laboratorních prací testy, jejichž cílem bylo odhalit, co už studenti znali, co nového se dozvěděli, co si ze své práce zapamatovali a jak jí porozuměli. Výsledky testů jsou níže zpracovány formou grafů. Jim předchází zadání použitých testů.

Test k laboratorním pracím *Jak získávají proteiny prostorové uspořádání* a *Jak poškodit protein* (Gymnázium J. Patočky)

1. část (charakteristika a vlastnosti polárních a nepolárních látek):

Rozhodněte, zda se jedná o správné (+) nebo špatné (-) tvrzení. **Pokud nevíte, napište nevíím:**

- 1) Hydrofobní látky jsou rozpustné v nepolárních rozpouštědlech.
- 2) Hydrofobními interakcemi jsou propojeny např. molekuly vody.
- 3) Aceton a ethanol jsou rozpouštědla schopná rozpustit hydrofobní látky.
- 4) Hydrofobní látky jsou např. tuky, cukry a bílkoviny.
- 5) Hydrofobní interakce jsou podobně jako vodíkové můstky slabé nekovalentní vazby.
- 6) Bílkoviny jsou hydrofobní, proto se nerozpouštějí ve vodě.

2. část (prostorové uspořádání proteinů)

Rozhodněte, zda se jedná o správné (+) nebo špatné (-) tvrzení. **Pokud nevíte, napište nevíím.**

- 1) Základní řetězec proteinů se skládá z karboxylových kyselin.
- 2) Prostorové uspořádání je u všech proteinů skoro stejné (šroubovice a skládané listy), nesouvisí s jejich funkcí.
- 3) Aminokyseliny v proteinech se liší svými postranními řetězci, které mohou být polární i nepolární.
- 4) Při skládání proteinů ve vodném prostředí se hydrofilní aminokyseliny shlukují v centru proteinu.
- 5) Vodíkové vazby jsou klíčové pro skládání všech proteinů.
- 6) Disulfidové vazby se podílejí na stabilizaci základního řetězce proteinů.
- 7) Mutace, při níž dojde k záměně jen jedné aminokyseliny v proteinu, může

protein poškodit a učinit nefunkčním.

- 8) Pořadí aminokyselin v základním řetězci proteinu nesouvisí s jeho prostorovým uspořádáním.
- 9) Peptidová vazba vzniká spojením dvou aminokyselin a přitom se odštěpuje vodík.
- 10) Každý protein zaujímá v organizmu mnoho prostorových struktur v závislosti na své velikosti a funkci.

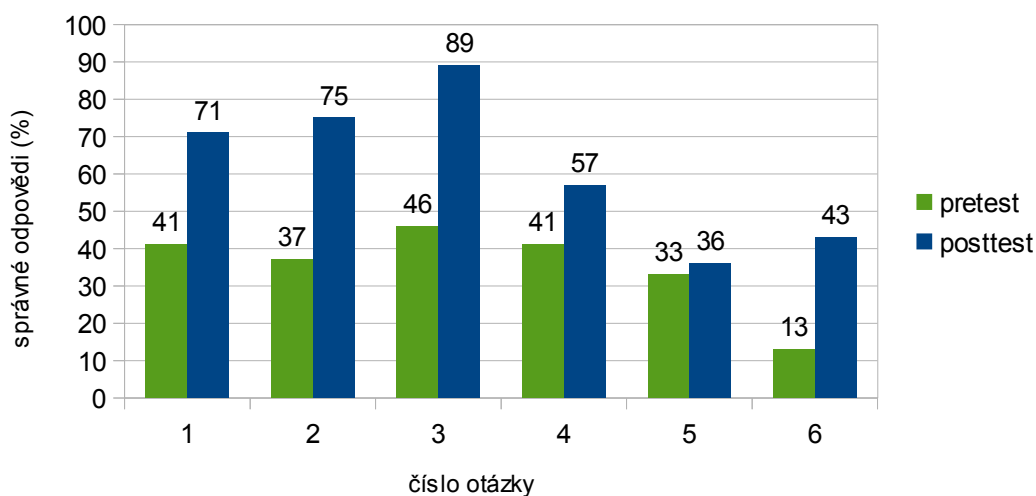
### 3. část (denaturace a vysolování proteinů)

Vyberte **správná** tvrzení o denuraci a vysolování proteinů:

- 1) Při denuraci dochází k rozpouštění proteinu v důsledku přidání denuračního činidla.
- 2) Denurace je nevratný proces, který protein zničí.
- 3) Vysolování je nevratný proces, který protein zničí.
- 4) Denurovaný protein ztrácí svoji výživovou hodnotu.
- 5) Při vysolování se protein vysráží z roztoku, ale jeho struktura a funkce zůstane zachována.
- 6) Denurační činidla poškozují 3D strukturu proteinů, ty ale zůstávají plně funkční.
- 7) Vysolování je opačný proces k denuraci.
- 8) Mezi denurační činidla patří teplo, těžké kovy, aceton nebo kyselina chlorovodíková.
- 9) Při denuraci zůstává zachován základní řetězec proteinů.

Obou laboratorních prací se zúčastnilo 28 studentů třetího ročníku čtyřletého gymnázia. Pretest obdrželi před začátkem první laboratorní práce, po skončení druhé dostali stejný test znovu (posttest). Pretest nebyl se studenty nijak rozebírán, posttest psali v odstupu čtrnácti dnů. Rozdíl v úspěšnosti v pretestu a posttestu je uveden v následujících grafech. Z důvodu větší přehlednosti jsou výsledky rozděleny na tři části (Obr. 12 – 14). Testy byly vyhodnoceny tak, že byly sečteny všechny správné odpovědi pro jednotlivé otázky (správně označeno plus nebo minus, případně správně zakroužkovaná možnost ve třetí části testu) a bylo spočítáno, kolik procent všech odpovědí bylo správných.

### Charakteristika a vlastnosti polárních a nepolárních látek



Obr. 12: Procenta správně zodpovězených otázek první části testu na Gymnáziu J. Patočky

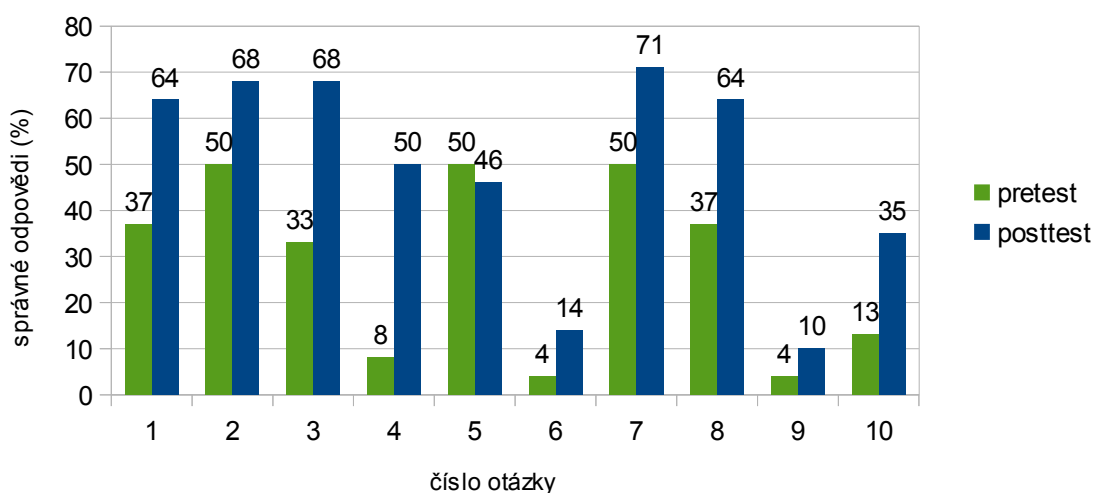
První část pretestu zabývající se vlastnostmi polárních a nepolárních látek řešili studenti relativně úspěšně (Obr. 12). Toto téma pro ně nebylo úplně nové. Počet správných odpovědí však nepřesáhl u žádné otázky 50%. Nejhůře odpovídali studenti na 6. otázku, kdy měli odhadnout polaritu bílkovin. Správnou možnost vybralo jen 13% z nich.

Posttest dopadl lépe, studenti se zlepšili ve všech otázkách. Ve druhé, třetí a šesté otázce se zlepšili velice výrazně (zlepšení vždy okolo 40%). Byly to otázky týkající se vysvětlení pojmu hydrofobní látka nebo zkoumající rozpustnost hydrofobních látek. Nejméně se studenti zlepšili v řešení páté otázky – v prvním i druhém testu odpovídalo správně jen asi 30% studentů. Tato otázka se zabývala silou hydrofobních interakcí. Nejlépe odpovídali studenti v posttestu na 3. otázku, týkající se polarity rozpouštědel acetonu a ethanolu. V řešení této otázky se také nejvýrazněji zlepšili oproti pretestu (aceton používali studenti při své práci).

Druhá část testování byla zaměřena na prostorové uspořádání proteinů (Obr. 13). Pretest i posttest řešili studenti velmi nevyrovnaně, jejich celková úspěšnost se u jednotlivých odpovědí dosti lišila. Na některé otázky znali odpověď téměř všichni (to platí zvláště

pro posttest), některé otázky jim činili velké potíže i po absolvování laboratorních prací. V pretestu byli studenti relativně úspěšní v odpovídání na otázku 2 (zda se liší prostorové uspořádání u různých proteinů), 5 (význam vodíkových vazeb pro stabilizaci struktury proteinů) a 7 (zda může mutace ovlivnit strukturu a funkci proteinu). Naopak na 4. otázku (interakce postranních řetězců aminokyselin při skládání proteinů), 6. otázku (význam disulfidových vazeb), 9. otázku (vznik peptidové vazby) a 10. otázku (variabilita prostorového uspořádání každého proteinu v organismu) neznal správnou odpověď téměř nikdo.

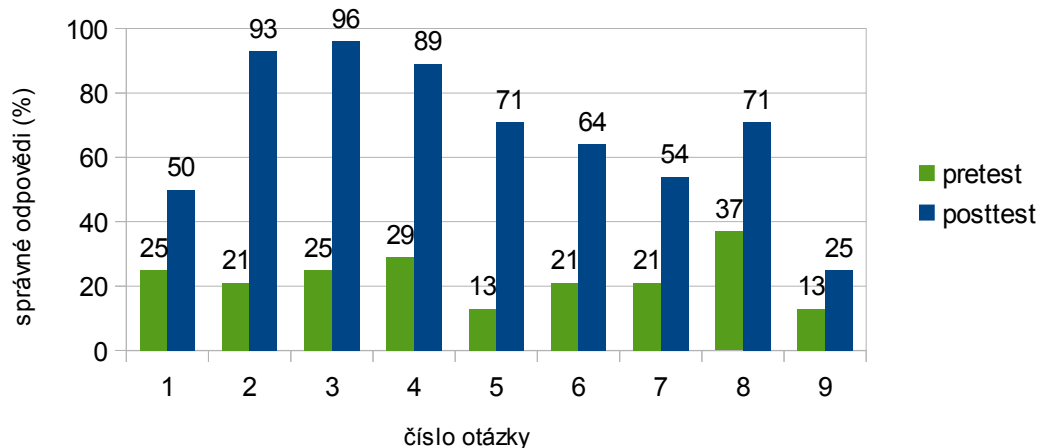
### Prostorové uspořádání proteinů



Obr. 13: Procenta správně zodpovězených otázek druhé části testu na Gymnáziu J. Patočky

Při řešení posttestu se studenti zlepšili v devíti otázkách z deseti. Výsledky páté otázky (význam vodíkových vazeb) byly nepatrně horší při druhém testu, v obou testech odpovídalo na tuto otázku správně kolem poloviny studentů. Nejvíce se studenti zlepšili v řešení třetí a čtvrté otázky. Třetí otázka byla zaměřena na vlastnosti aminokyselin v proteinech, čtvrtá na interakce postranních řetězců aminokyselin. Šestou a devátou otázku vyřešilo správně velmi málo studentů i při druhém testu.

## Denaturace a vysolování proteinů



Obr. 14: Procenta správně zodpovězených otázek třetí části testu na Gymnáziu J. Patočky

Ve třetí části testu byl zaznamenán největší rozdíl mezi pretestem a posttestem (Obr. 14). V pretestu činily v podstatě všechny otázky studentům značné potíže. Relativně lépe odpovídali na 8. otázku (a to pouze 37% studentů), která se týkala denaturačních činidel. Počet správných odpovědí nepřekročil u ostatních otázek 30%. Při hodnocení posttestu bylo zjištěno značné zlepšení téměř ve všech otázkách. Ve druhé, třetí, čtvrté a páté otázce se počet správných odpovědí při zvýšil oproti prvním testu o více než 60% (ve druhé otázce dokonce až o 72%), tyto otázky řešila po absolvování laboratorních prací správně téměř celá třída. Pouze poslední otázka zůstávala nejasná většině i při druhém testu (správně ji vyřešilo pouze 25% studentů). Studenti v ní měli odhalit, že tvrzení *Při denaturaci zůstává zachován základní řetězec proteinů*, je správné.

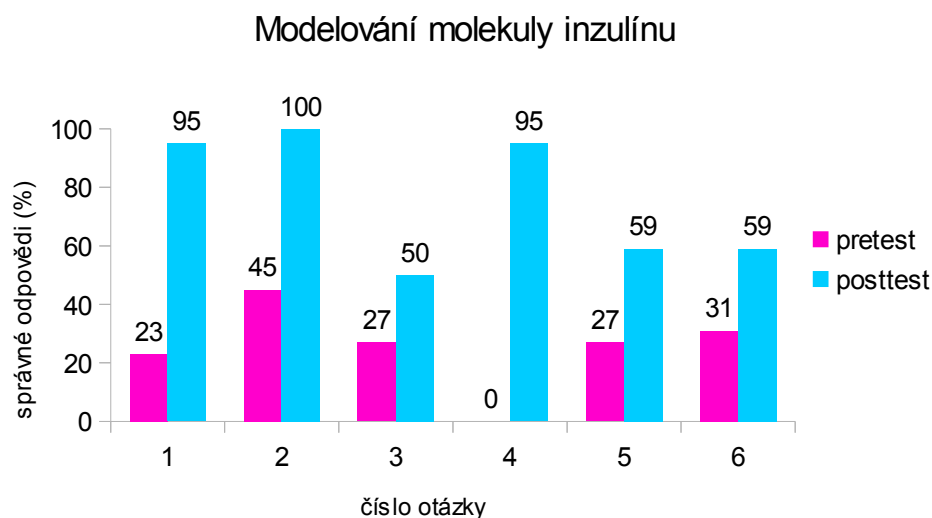
Dále byl testován vliv laboratorní práce *Modelování inzulínu* na osvojení učiva týkající se proteinů.



## Test k laboratorní práci *Modelování inzulínu*

1. Do jaké skupiny chemických sloučenin řadíme inzulín?
2. Jakou funkci plní inzulín v organismu?
3. Jak se v současnosti získává většina inzulínu potřebného pro léčbu cukrovky?
4. Na základě fyzikálně chemických vlastností můžeme kódované aminokyseliny rozdělit do 4 skupin. Uveďte, o jaké skupiny se jedná.
5. Jak ovlivňují postranní řetězce aminokyselin prostorové uspořádání proteinu?
6. Vyjmenujte chemické interakce a vazby, které stabilizují prostorové uspořádání proteinů.

Laboratorní práce se zúčastnilo 11 studentů třetího ročníku čtyřletého studia. Test obdrželi před začátkem laboratorní práce, podruhé jej psali o týden později. Rozdíl v úspěšnosti v prvním a druhém testu je uveden v následujícím grafu. Test byl obodován následovně – za zcela správnou odpověď dostal student jeden bod, za částečně správnou odpověď půl bodu.



Obr. 15: Procenta správných odpovědí při testování úlohy Modelování molekuly inzulínu na Gymnáziu Nad Alejí.

Testování úlohy *Modelování inzulínu* ukazuje na přínos tohoto materiálu pro osvojení daného učiva. Před laboratorní prací neznala většina studentů správnou odpověď na

žádnou z otázek testu (Obr. 15). Nejlépe řešili studenti druhou otázku – *Jakou funkci plní inzulin v organismu* (ve druhém testu odpověděli správně všichni, v prvním jen 45% studentů). Zlepšení oproti prvnímu testu bylo velmi výrazné u první, druhé, ale hlavně čtvrté otázky, kdy se počet správných odpovědí zvedl z žádné na 95% správných odpovědí. V této úloze měli studenti uvést čtyři skupiny, do kterých můžeme rozdělit aminokyseliny podle jejich fyzikálně chemických vlastností. Nejméně studentů odpovědělo správně na třetí otázku – *Jak se v současnosti získává inzulin pro léčbu cukrovky?* Studenti odpovídali většinou jen částečně správně (častá odpověď byla, že z bakterií, což bylo ohodnoceno polovinou bodu).

## 5 Diskuze

Skupina učitelů, kteří absolvovali v roce 2011 seminář Lidský organismus a zdraví na katedře Učitelství a didaktiky chemie UK, vyplňovala dotazník týkající se materiálů na podporu výuky biochemie (konkrétně aminokyselin a proteinů) na středních školách. Tyto materiály byly připraveny v rámci mé diplomové práce *Nové materiály na podporu výuky biochemie na SŠ, Proteiny* [1]. Pomocí dotazníku bylo zjištěno, že učitelé mohou věnovat tématu aminokyseliny a proteiny relativně dost času (někteří i více než deset vyučovacích hodin) a že zařazují do svých hodin demonstrační i studentské experimenty. Z odpovědí učitelů také vyplynulo, že teoretických podkladů k tématu aminokyseliny a proteiny mají dostatek a ocenili by především prakticky zaměřené úlohy.

V rámci této rigorózní práce byly proto připraveny a ve školách otestovány materiály na praktickou výuku biochemie. Jsou to tři laboratorní úlohy zabývající se prostorovým uspořádáním proteinů (jejich skládáním a denaturací) a jedna doplňková laboratorní úloha zaměřená na pozorování hydrofobních interakcí. Úlohy obsahují řadu prvků BOV (popsané v úvodu této práce). V této kapitole budou diskutovány závěry vyplývající z ověřování materiálů a také jejich souvislost s teoretickými poznatky o BOV, jednou z hlavních metod moderního vyučování přírodovědných předmětů, která se začíná objevovat i v českých školách.

V současné době se pomalu mění pojetí přírodovědného vzdělávání, můžeme pozorovat několik paralelních trendů. Za prvé je to snaha o přiblížení přírodovědných předmětů vědeckým disciplinám [9]. Za druhé potřeba zvýšit motivaci studentů, nadchnout je pro přírodní vědy, aby o ně neztráceli zájem a nepovažovali je za příliš obtížné a neperspektivní [2, 3]. Za třetí je v moderním přístupu ke vzdělání velký důraz kladen na učení s porozuměním probírané látce. Důležité je začleňovat nové poznatky do těch, které už studenti znají, tak, aby mezi nimi viděli souvislosti. Pak budou studenti schopni používat své znalosti k řešení nových problémů, neztratí se jim ve chvíli, kdy zapomenou jejich přesné znění [34].

Jednou z vyučovacích metod, která má potenciál plnit tyto potřeby vzdělávání, je BOV. Mnoho autorů ji hodnotí velmi kladně, pomáhá podle nich rozvíjet kritické čtení, logické uvažování, přemýšlení mimo rámec jednoho předmětu, organizační

a komunikativní dovednosti nebo schopnost spolupracovat. BOV by měla také přiblížit studentům vědeckou praxi a díky tomu, že je pro ně zajímavá, poutavá, mohla by je nalákat ke studiu přírodovědných disciplin [2, 8, 12, 14, 17, 20, 22].

Podle některých autorů není však efektivita BOV prokázána. Konstruktivistický přístup (základ BOV) je náročný jak pro učitele, tak pro studenty, kterým může činit zpočátku velké problémy. To se ukázalo i při testování badatelsky orientovaných úloh připravených v rámci této práce. Materiály neposkytují studentům návody na laboratorní činnost. Studenti obdrží laboratorní náčiní, doprovodný, odborně psaný text, který jim má některé fáze jejich práce objasnit, shlédnou demonstrační pokusy, o nichž diskutují, absolvují určitou teoretickou přípravu. Vlastní experimenty si plánují na základě těchto materiálů samostatně. Asi polovina studentů byla při ověřování materiálů schopná pracovat od začátku samostatně, další se dožadovali návodu. Se samostatnou prací začali až poté, co jim vedoucí praktika radil prostřednictvím různých návodných otázek. Studenti nebyli pravděpodobně na takový způsob práce zvyklí. Ale už v průběhu první laboratorní práce se jim to zalíbilo, prováděli pokusy se zaujetím a v závěru hodiny živě diskutovali o vysvětlení pozorovaných jevů. Byli schopni se novému způsobu výuky přizpůsobit.

BOV klade velký důraz na samostatnost studentů. Pokud opravdu pracují samostatně a plánují si své experimenty (nebo obecněji své učení) sami, měli by v každé chvíli vědět, co dělají a proč to dělají. Když při tom udělají chybu, mohou se k ní snadno vrátit. Význam tohoto tvrzení jsme pocítili při testování materiálu na SZŠ 5. května. Studenti měli pracovat s roztokem bílkovin vaječného bílku, který dostali již připravený. Mnozí v závěru hodiny uváděli, že při denaturaci se protein rozpouští. Tento závěr byl chybný, studentům nebylo zřejmě úplně jasné, s čím vlastně od začátku pracovali (zda už počáteční roztok neobsahoval denaturované proteiny). Při testování materiálu na další škole bylo tomuto nežádoucímu jevu zamezeno tím, že si studenti roztoky připravovali sami a věděli proto přesně, jaké látky jejich roztoky obsahují.

Při zařazování badatelských úloh do výuky je potřeba zvážit různé faktory. Nejen, zda je téma pro bádání vhodné, ale hlavně, jak jsou připraveni studenti. Zda mají dostatek znalostí a dovedností pro samostatnou práci. Pokud nemají zkušenosti např. s prací v laboratoři, je nutné zpočátku zvolit jednoduché úlohy, na nichž si třeba jen procvičí základní laboratorní techniku. Důležité však je začleňovat co nejčastěji i do běžných

hodin jednotlivé prvky BOV (tj. pokládání otázek, předpovídání výsledků např. demonstračních experimentů, spolupráci, obhajování určitého postoje, vyhledávání informací, seznamování se s vědeckými metodami). Tím budeme studenty připravovat na BOV, nebo obecněji na samostatnou činnost podobnou vědeckému bádání [2, 11].

Podstatnou část připravených materiálů tvoří práce s modely proteinů. S podobnými modely se studenti u nás nesetkávají (např. v USA se při výuce používají). Modely jsou velmi zjednodušené, což je vhodné z didaktického hlediska, kdy jasně ukazují prostorové uspořádání polypeptidového řetězce a zároveň zdůrazňují základní vlastnosti postranních řetězců aminokyselin. Taková představa je důležitá pro správné pochopení principů skládání proteinů v prostoru i jejich stability. Samotná práce s modely je pro studenty velmi motivační, protože se strukturou proteinů se většinou seznamují jen teoreticky. Studenti, kteří absolvovali ověřování těchto materiálů, už třeba téma proteiny v hodinách chemie probírali. O skládání proteinů však nevěděli téměř nic, neměli představu, jak vlastně proteiny vypadají. Poté, co si studenti uvědomili rozdíly mezi jednotlivými skupinami aminokyselin a navrhli, jak by mohly tyto skupiny navzájem interagovat, byli schopni skládat modely proteinů, vytvářet z nich různé prostorové struktury v závislosti na jejich aminokyselinové sekvenci. Pomocí této praktické činnosti si snadno zapamatovali, jak se liší aminokyseliny v proteinech a jak mohou navzájem interagovat. Získali také alespoň základní představu o struktuře proteinů.

Výhodou těchto modelů je také to, že je možné je relativně snadno a levně vyrobit doma či ve škole.

Počáteční fáze ověřování materiálů byla zaměřena právě na to, zda budou studenti schopni s modely pracovat a zda je zvládnou i sami vyrobit. Přestože výroba modelů je časově náročnější (výroba jednoho modelu trvala studentům přibližně patnáct minut) a vyžaduje určitou zručnost, studenti dvou středních škol si je sami připravili a pak ještě stihli vymodelovat několik struktur podle sekvencí aminokyselin v pracovním listu. Přesto se ukázalo, že vhodnější je mít modely na hodinu už připravené, protože pak zbývá dost času na samotnou práci s nimi a hlavně na závěrečnou diskuzi o skládání proteinů a o tom, co modely proteinů vlastně ukazují.

Dalším důležitým zjištěním počáteční fáze ověřování materiálů byla skutečnost, že studenti rozumí zadání badatelsky zaměřených úloh a dokáží podle nich samostatně pracovat, ač někdy s pomocí návodných otázek vedoucího praktika. Studenti velmi

dobře spolupracovali, byli motivováni k samostatné práci. To však nemuselo být pouze zásluhou předložených materiálů. Laboratorní práce byly pro ně výjimečné už tím, že je vedl jiný pedagog než jejich učitel chemie a práce také nebyly známkovány. Celkově byly hodiny organizovány úplně jinak, než jsou studenti zvyklí. To už však souvisí s badatelskou metodou. Studenti byli velmi povzbuzeni tím, že mohou pracovat samostatně, někteří se dožadovali dalších chemikálií, aby mohli více látkami provést denaturaci nebo vysolení proteinů. Jak už však bylo uvedeno, tento způsob práce nevyhovoval zpočátku všem, i když nakonec se všem pracovním skupinám podařilo nějakým způsobem odpovědět na počáteční badatelskou otázku.

Při ověřování materiálu *Modelování inzulinu* se ukázala další z výhod badatelsky orientovaných úloh. Jejich použití je totiž velmi široké. Úloha je postavena tak, aby mohla být použita buď k upevnění učiva, nebo ve fázi úvodní, motivační. Při testování ji absolvovali studenti, kteří ještě biochemii, tedy ani aminokyseliny a proteiny neprobírali. Byla však zařazena do biologického semináře, momentálně zaměřeného na genetiku. Přestože studenti tuto problematiku ještě neznali, byli schopni úlohu řešit. Do genetického semináře se dobře hodila, protože tam se právě učili o proteosyntéze a dalších osudech proteinů. Přitom se jedná o úlohu zaměřenou vysloveně chemicky a připravenou především pro hodiny chemie. Badatelsky zaměřená výuka však snadno dokáže propojit biologii a chemii, pohybuje se mezi různými předměty.

Pro osvojení učiva denaturace proteinů byla použita běžná úloha – denaturace a vysolování proteinů vaječného bílku. Tato úloha však byla postavena jako badatelsky orientovaná. Studenti, kteří ji testovali, se tomuto tématu věnovali již v dřívějších hodinách. Jejich úspěšnost při řešení pretestu byla však velmi nízká. Téma probírali pouze teoreticky a velmi stručně. Po provedení vlastních experimentů, které si sami naplánovali a v závěru o nich živě diskutovali, se v řešení posttestu velmi výrazně zlepšili. Pro BOV nemusíme vymýšlet nové, složité úlohy, naopak, tato metoda může oživit a zefektivnit ty běžné a zdánlivě třeba příliš jednoduché (mohou být jednoduché na provedení, ale ne na vysvětlení, zvláště, mají-li k němu studenti dospět samostatně). Přestože některé výzkumy naznačují, že efektivita BOV není prokázána a že tento způsob výuky může přinášet různé problémy, výsledky testování připravených materiálů se shodují s většinovým názorem, že badatelské aktivity mají své místo minimálně při výuce přírodovědných předmětů.

Do jaké míry byla práce s připravenými materiály a především s modely proteinů efektivní, bylo zjišťováno pomocí dvou testů (jeden zaměřený na úlohy *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, *Jak poškodit protein* a částečně také *Jak namočit magický písek*) které byly vyučovány během dvou dvouhodinových laboratorních prací; druhý testoval poslední nadstavbovou úlohu týkající se modelování molekuly inzulinu. Testování bylo úspěšné a naznačilo, že materiály byly pro pochopení problematiky přínosné. Po absolvování laboratorních prací se studenti obou škol výrazně zlepšili v řešení téměř všech otázek obou testů.

Velmi výrazně se při testování ukázala výhoda praktické činnosti ve výuce chemie, což samozřejmě odpovídá základům didaktiky chemie [15, 24]. Přestože byli studenti dobře seznámeni s vlastnostmi hydrofobních a hydrofilních látek již před testovanou laboratorní prací, neznali vlastnosti konkrétních (ale významných) rozpouštědel acetonu a ethanolu. Před praktikem byla schopna správně odhadnout jejich polaritu a ní plynoucí rozpouštěcí vlastnosti necelá polovina třídy, po absolvování laboratorních prací, kdy studenti s acetonem pracovali, to bylo 86% studentů. Použití rozpouštědla v tomto kontextu jim pomohlo vytvořit si obecnou představu o jeho chemické povaze.

Dobré výsledky zaznamenala při testování zejména práce s modely proteinů. Studenti sice již proteiny probírali, nezabývali se však zjevně podrobněji jejich strukturou a jejím významem pro funkci proteinů. V pretestu řešili studenti relativně dobře obecné otázky týkající se skládání proteinů (např. *Liší se nějak prostorové uspořádání různých proteinů*, nebo *Může mutace nějak poškodit protein?*). Na detailnější otázky však správně odpovědět nedokázali (např. *Jakou roli hraje sekvence a typ aminokyseliny v základním řetězci proteinu?*). Laboratorní práce s modely proteinů je však nejen bavila, ale pomohla jim se i výrazně zlepšit v řešení těchto otázek. Stejný efekt byl pozorován i při testování úlohy *Modelování inzulinu*. Zde se však jednalo o mladší studenty, kteří proteiny ještě příliš neprobírali. Pretest byl pro ně proto velmi těžký. Po absolvování praktika byli však schopni charakterizovat proteinogenní aminokyseliny a popsat základní principy skládání proteinů, posttest vyřešila správně většina studentů. Modely proteinů, použité při testovaných laboratorních pracích, mají však i jeden nedostatek. Neznázorňují vodíkové vazby stabilizující prostorové uspořádání proteinů. Základní řetězec proteinu v modelu představuje celistvý prut, v němž nejsou vyznačeny jednotlivé atomy. Takže např. sekundární struktura může být vymodelována, ale

vodíkové vazby, které ji drží pohromadě, zde patrné nejsou. To je velká nevýhoda tohoto zjednodušeného modelu. Učitel by měl při jejich používání klást větší důraz na výskyt a význam vodíkových vazeb, které jsou pro správné uspořádání proteinů klíčové. Proto je dobré ukazovat studentům i jiná znázornění proteinů, k dispozici jsou např. 3D modely proteinů (viz [1]) nebo obrázky struktury proteinů (některé jsou součástí pracovních listů).

Celkové výsledky testování úloh s modely proteinů však potvrdily i závěry zahraničních výzkumů [30, 31], že práce s fyzickými modely látek zvyšuje motivovanost studentů a pomáhá jim lépe pochopit základní chemické principy.

Ověřování a testování připravených materiálů prokázalo, že materiály jsou připravené k použití do běžné výuky, že tyto badatelsky zaměřené úlohy studenty motivují k práci a pomáhají jim zafixovat základní poznatky o procvičovaném tématu.



## 6 Závěr

Jedním z cílů této rigorózní práce bylo zhodnotit klady a zápory badatelsky orientované výuky, která se stává v posledních letech v České republice velmi oblíbenou. Přestože některé zahraniční výzkumy poukazují na to, že efektivita této metody nebyla nikdy spolehlivě prokázána a že její zařazení do běžné výuky může být spíše škodlivé, naprostá většina české i zahraniční literatury se shoduje, že tato metoda zvyšuje motivovanost ke studiu přírodovědných předmětů, otevírá studentům svět vědy a pomáhá jim lépe porozumět probírané látce (ve srovnání s tradičními metodami výuky). Její zařazení do běžné výuky nejen přírodovědných předmětů je tedy velmi vhodné, což potvrdilo i testování materiálů připravených pro tuto rigorózní práci.

Materiály zahrnují čtyři laboratorní úlohy, obsahující základní prvky BOV, zaměřené na strukturu proteinů (a také na slabé vazebné interakce). Materiály se skládají z metodických částí pro učitele a pracovních listů (a dalších doplňujících materiálů – textů, obrázků, animací) doprovázejících studenty při jejich samostatné práci. Úlohy jsou postavené převážně na práci s modely proteinů, se kterými se dosud studenti českých škol v hodinách biochemie nesetkávali. Tyto modely ukazují strukturu proteinů, kterou studenti tvoří podle interakcí postranních řetězců aminokyselin. Vyznačují tedy význam primární struktury proteinů a zároveň nechávají nahlédnout do složitého prostorového uspořádání proteinů.

Laboratorní úlohy byly otestovány na několika středních školách. Testování prokázalo, že materiály jsou přínosné pro výuku biochemie, že pomáhají studentům lépe pochopit skládání proteinů, přibližují jim jejich strukturu a také její poškození – denaturaci. Při testování se také ukázalo, že studenti i učitelé vítají práci s modely proteinů, jsou schopni si je vyrobit ve školách a zapojit je nejen do výuky biochemie, ale například i do hodin biologie.

## Literatura

[1] Fendrychová, A. Nové materiály na podporu výuky biochemie na SŠ, Proteiny. Diplomová práce na PřF UK v Praze, katedra učitelství a didaktiky chemie. 2010.

[2] Mokrejšová, O., Moderní výuka chemie. Praha: Triton. 2009, ISBN 978-80-7387-234-2

[3] Papáček, M. Badatelsky orientované přírodovědné vyučování – cesta pro biologické vzdělávání generací Y, Z a alfa? In: Scientia in educatione. 2010, 1, 33-49

[4] Papáček, M. Limity a šance zavádění badatelsky orientovaného vyučování přírodopisu a biologie v České republice. Didaktika biologie v České republice 2010 a badatelsky orientované vyučování, sborník příspěvků. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta. 2010, 165 str., ISBN 978-80-7394-210-6

[5] ČŠI TIMSS 2011: Tomášek, V. a kol. Národní zpráva TIMSS 2011. Praha: Česká školní inspekce. 2012, ISBN 978-80-905370-4-0

[6] Mandíková, D., Palečková, J. Výsledky českých žáků ve výzkumu PISA 2009 – zhoršení v matematice i přírodních vědách. In: Matematika – Fyzika – Informatika. 2011/2012, 21

[7] Rámcový vzdělávací program pro gymnázia. Praha: VÚP. 2007, ISBN 978-80-87000-11-3

[8] Nezvalová, D. Inovace v přírodovědném vzdělávání. Olomouc: Danuše Nezvalová a kol. 2010, ISBN 978-80-244-2540-5

[9] Harlen, W. Taking IBSE into Secondary Education, Report on the conference, York, UK. 2010 [online], dostupné na: <http://www.sazu.si/files/file-147.pdf>, cit. 31. 3. 2015

[10] Čtrnáctová, H.; Cídllová, H. a kol. Úroveň vybraných chemických dovedností žáků základních škol a gymnázií. In: Chem. Listy. 2013, 107, 897-905

Pacák, J. Jak porozumět organické chemii. Praha: Karolinum, 1997. ISBN 80-7184-261-3

[11] Deters, M. K. Students opinion regardin inquiry based labs. In: Journal of Chemical Education. 2005, 82, 8

[12] Stuchlíková, I. O badatelsky orientovaném vyučování. Didaktika biologie

v České republice 2010 a badatelsky orientované vyučování, sborník příspěvků. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta. 2010, 129-135, 165 str., ISBN 978-80-7394-210-6

[13] Osborne, J., Dillon, J. Science Education in Europe: Critical Reflections. London: Nuffield Foundation, 2008

[14] Věda není žádná věda [online]: <http://www.vedaneniveda.cz/projekt-veda-neni-zadna-veda-zakladni-informace>, cit. 26. 1. 2015

[15] Pachman, E.; Hofmann, V. Obecná didaktika chemie. Praha: SPN. 1981, 14, 459-81

[16] Dostál, J. Badatelsky orientovaná výuka jako trend soudobého vzdělávání. In: e-Pedagogium. 2013, 3, 81-93

[17] Gallagher-Bolos, J.; Smithenry, D. Teaching Inquiry-Based Chemistry. Portsmouth: Heinemann. 2004

[18] Worth, K.; Duque, M.; Saltiel, E. Designing and Implementing Inquiry-Based Science Units for Primary Education. Montrouge: Pollen. [online] 2009, cit. 31. 3. 2015

[19] Bárta, M. Jak (ne)vyhodit školu do povětří. Brno: Didaktis. 2004, ISBN 80-86285-99-5

[20] Ryplová, R.; Reháková, J. Přínos badatelsky orientovaného vyučování (BOV) pro environmentální výchovu: Případová studie implementace BOV do výuky na ZŠ. In: Envigogika. 2011, VI, 3

[21] Kirschner, P. A.; Sweller, J.; Clark, R. E. Why Minimal Guidance During Instruction Does Not Work: An Analysis of the Failure of Constructivist, Discovery, Problem-Based, Experiential, and Inquiry-Based Teaching. In: Educational Psychologist. 2006, 41(2), 75–86

[22] Geier, R. a kol. Standardized Test Outcomes for Students Engaged in Inquiry-Based Science Curricula in the Context of Urban Reform. In: Journal of research in science teaching. 2008, 45/8, 922–939

[23] Činčera, J. Význam nezávislých expertních center pro šíření badatelsky orientované výuky v České republice. In: Scientia in educatione. 2014, 5(1)

[24] Solárová, M. Význam praktické výuky chemie a školní vzdělávací program. Praha: Národní institut pro další vzdělávání. 2007, ISBN 80-86956-03-2

[25] Hofstein, A. The laboratory in chemistry education: Thirty years of experience with developments, implementation, and research. In: Chemistry education: research and practice. 2004, 5/3, 247-264

[26] Marek, M. Molekulární modely ve výuce organické chemie na gymnáziu. Rigorózní práce na PedF UK v Praze, katedra chemie a didaktiky chemie. 2013

[27] 3D Molecular design [online]:  
<http://www.3dmoleculardesigns.com/Teacher-Resources/Modeling-Mini-Toobers.htm>,  
cit. 26. 1. 2015

[28] Graper, G., PDB Education corner: Wisconsin High School Science Olympiad, Protein Modeling Event. In: RCSB PDB Newsletter. 2005, 26

[29] Martz, E., Toobers in Science Education [online]:  
<http://www.umass.edu/molvis/toobers/>, cit. 26. 6. 2014

[30] White, B. A Simple and Effective Protein Folding Activity Suitable for Large Lectures. In: CBE—Life Sciences Education. 2006, 5, 264-269

[31] Herman, T. a kol. Tactile Teaching: Exploring Protein Structure/Function Using Physical Models. In: Biochemistry and Molecular Biology Education. 2006, 34/4, 247-254

[32] Pacák, J. Jak porozumět organické chemii. Praha: Karolinum, 1997. ISBN 80-7184-261-3

[33] Vacík, J. a kol. Přehled středoškolské chemie. Praha: SPN, 1995. ISBN 80-85937-08-5

[34] Bransford, D. J. a kolektiv. How People Learn: Brain, Mind, Experience, and School. Washington: National Academy Press. 2000, kap. 2, ISBN 0-309-50145-8

### **Literatura použitá pro přípravu výukových materiálů:**

Alberts, B. a kol. Základy buněčné biologie. Ústí nad Labem: Espero Publishing. 1998, ISBN 80-902906-0-4

Anděl, M., Brunerová, L., Polák, J. Světová epidemie diabetes mellitus, Kořeny zapuštěné hluboko ve vývoji civilizace. In: Vesmír. 2009, 88, 696

Atkins, P., De Paula, J. Fyzikální chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. 2013, kap. 17, ISBN 978-80-7080-830-6

Beta Cell Biology [online]:

[http://www.betacell.org/content/articleview/article\\_id/8/page/1/glossary/0/](http://www.betacell.org/content/articleview/article_id/8/page/1/glossary/0/),

cit. 27. 1. 2015

California State Univerzity [online]:

[http://www.csun.edu/~al9628/coursework/695/discrepant\\_magicsand/discrepant\\_event\\_magicsand.html](http://www.csun.edu/~al9628/coursework/695/discrepant_magicsand/discrepant_event_magicsand.html), cit. 15. 1. 2013

Campbell Univerzity [online]:

[http://web.campbell.edu/faculty/nemecz/308\\_lect/lect6/lect6.html](http://web.campbell.edu/faculty/nemecz/308_lect/lect6/lect6.html), cit. 27. 1. 2015

Housecroft, C. E., Sharpe, A. G. Anorganická chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. 2014, kap. 2, ISBN 978-80-7080-872-6

Next Big Future [online]: <http://nextbigfuture.com/2009/02/hydrophobic-sand-details-waterproof.html>, cit. 15.1. 2013

Nobelprize.org [online]:

<http://www.nobelprize.org/educational/medicine/insulin/discovery-insulin.html>,

cit. 27. 1. 2015

RCSB PDB [online]: <http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=14>,

cit. 27. 1. 2015

Veselovský: Veselovský, Z. Obecná ornitologie. Praha: Academia. 2001, ISBN 80-200-0857-8

3D Molecular Design [online]: <http://www.3dmoleculardesigns.com/Teacher-Resources/Modeling-Mini-Toobers.htm>, cit. 13.1. 2015

### **Obrázky použité pro přípravu materiálů**

Beta Cell Biology [online]:

[http://www.betacell.org/content/articlepanelview/article\\_id/1/panel\\_id/2](http://www.betacell.org/content/articlepanelview/article_id/1/panel_id/2), cit 27. 1. 2015

Wikipedia [online]: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:InsulinMonomer.jpg>,  
cit. 27. 1. 2015

Wikipedia [online]: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Inzulin>, cit 27. 1. 2015

Wikiskripta [online]: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Glucose-insulin-day-english.svg>, cit 27. 1. 2015

## **Animace použité v materiálech pro studenty**

Pohyb kinezinu [online]: Dostupné na <http://www.youtube.com/watch?v=y-uuk4Pr2i8>, cit 13. 4. 2015

Rotace ATP-syntázy [online]: Dostupné na <https://www.youtube.com/watch?v=J8lhPt6V-yM>, cit 13. 4. 2015

## Přílohy

### Příloha 1: Jednotlivé body dotazníku a jejich vyhodnocení

Dotazník byl předložen skupině učitelů, kteří absolvovali v roce 2011 seminář Lidský organismus a zdraví na katedře Učitelství a didaktiky chemie Univerzity Karlovy. Bylo osloveno více než třicet učitelů, odpovědělo pouze dvanáct z nich.

1. Vyberte svoji aprobaci.

aprobace	chemie a biologie	chemie a matematika	biologie	chemie	chemie a fyzika
množství učitelů	7	4	1	0	0

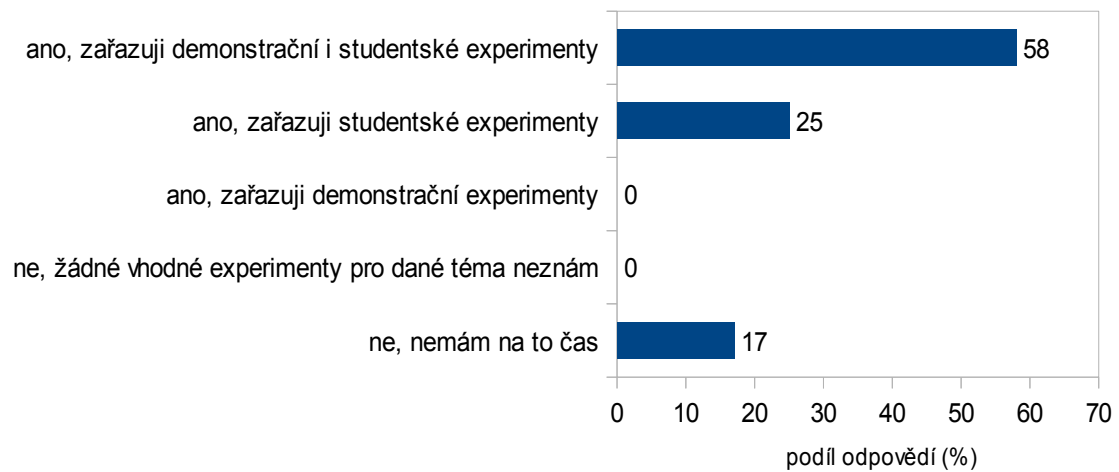
2. Vyberte typ školy, na které učíte.

typ školy	gymnázium osmileté	gymnázium čtyřleté	SOŠ	gymnázium šestileté	SOU	SPŠ	lyceum
množství učitelů	6	3	3	0	0	0	0

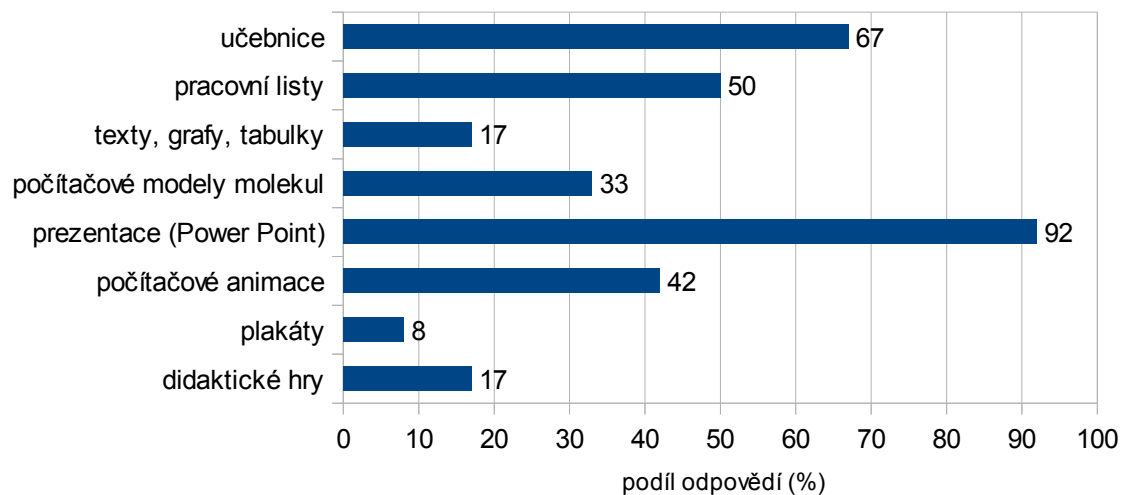
3. Kolik hodin věnujete v rámci výuky biochemie tématům aminokyseliny a proteiny?

počet hodin	3	4	5	6	7	8	10	10 a více
množství učitelů	1	2	3	2	1	1	1	1

#### 4. Zařazujete do výuky proteinů experimenty?

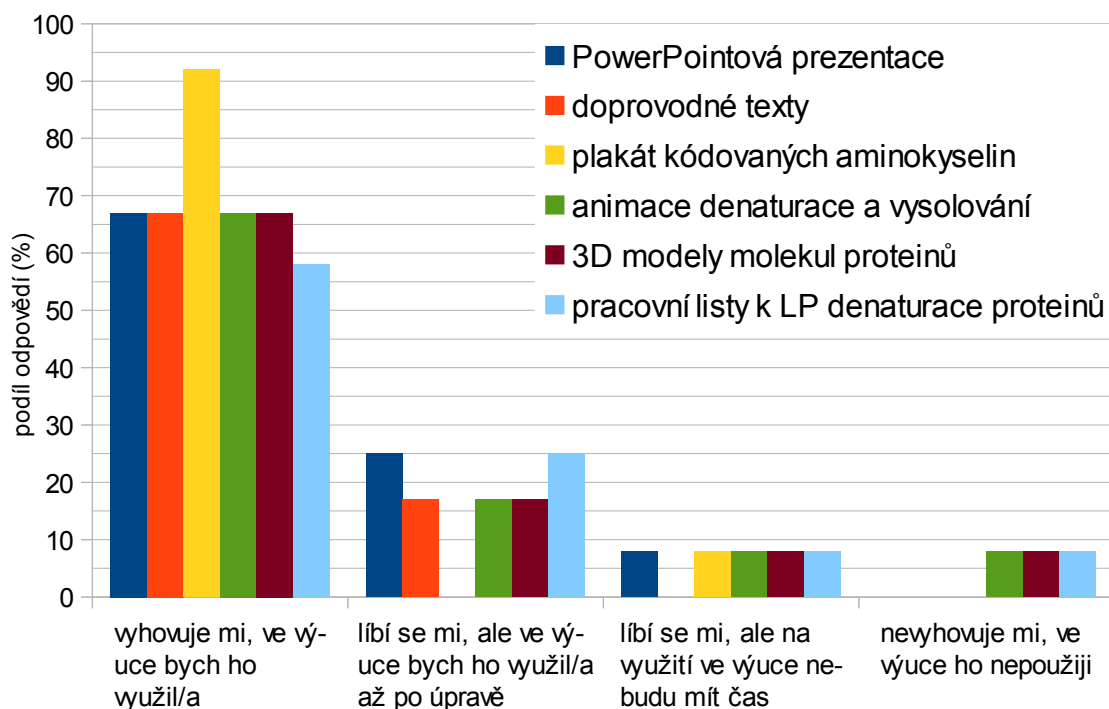


#### 5. Z daných materiálů vyberte ty, které používáte při výuce biochemie.





6. Ohodnořte materiály, které jste obdrželi na semináři Lidský organismus a zdraví - proteiny.



7. Vysvětlete, prosím Vás, stručně, co Vám na daném materiálu nevyhovuje, jak byste si ho museli před použitím upravit.

- Některé věci jsou moc podrobné. Ale animace i prezentace po zkrácení jsou velmi dobře použitelné. A na laboratorní cvičení použiji listy k práci - mám dost prostoru.
- Nelze jednoznačně napsat. Jde spíš o novinku, kterou musím ozkoušet, vhodně zařadit do souvislostí v rámci mých příprav, ověřit. Vždyť seminář byl na konci roku, kdy už výuka končila...
- Nelíbí se mi po odborné a didaktické stránce termín vratná denaturace pro proces vysolování; oprava: snižování rozpustnosti bílkovin provázené srážením:
  - a) soutěž o hydratační obal (např. vysolování, líh)
  - b) denurací - vratné (t., formalín...) - nevratné.
    - Sama si nejsem jistá, zda neexistuje vratná denaturace, ale pro studium SŠ by tohle černobílé rozlišení stačilo.
    - Pro mé studenty příliš náročné, nebo již materiály mám svoje, příliš mnoho

materiálu, musím pracovat se stručnějším z důvodu časových.

- Z časovým možností je potřeba provést menší úpravu z hlediska množství textu u doprovodného materiálu. Pracovní listy je nutné převést do takové podoby, která je obdobná pro jiné laboratorní práce - pro snadnější orientaci.
- Prezentace pro výuku si vytvářím sama, již vytvořené prezentace si upravuji podle svých potřeb. Doprovodné texty jsou užitečným zdrojem rozšiřujících informací, které lze dle okolností použít.

8. Jaké další materiály byste ještě přivítali pro Vaši výuku biochemie, konkrétně aminokyselin a proteinů?

- Manuál jednoduchých pokusů, případně film s pokusy.
- Více kuchyňské" a "lékařské" biochemie. Např. náměty viz knížka Proč se klepou řízky nebo Molekulární gastronomie, dále pak interakce léků s proteiny.
- Nabídnutý materiál zpracoval snad všechny aspekty probíraného tématu. Snad by bylo pěkné, kdy by si žáci mohli na Smart Board vyrobit vlastní bílkovinu na základě genetické informace. Daly by se sledovat i účinky různých mutací...
- Žádné, stačí ty, které mám, a ty vaše, které určitě použiji.
- Na zařazování laboratorních cvičení na toto téma doposud nebyl dostatek času. Předpokládám změnu se zavedením nového ŠVP. Předpokládám, že jednoduše proveditelné pokusy budu v budoucnu používat.

## **Příloha 2: Výukové materiály**

Tato příloha obsahuje jednotlivé materiály, které byly připraveny a testovány v rámci této rigorózní práce. Jsou zde však uvedeny pouze metodické části jednotlivých materiálů, pracovní listy jsou z důvodu formátování vhodného pro použití ve výuce umístěny pouze na přiloženém CD, stejně tak powerpointové prezentace a další doplňkové materiály.

### **1. Úloha: Jak namočit magický písek**

Krátký experiment demonstrující chování hydrofobních látek ve vodném prostředí a změnu jejich chování v prostředí nepolárního rozpouštědla. Pokus je velmi jednoduchý a nevyžaduje žádné speciální pomůcky kromě hydrofobního písku (k sehnání pod označením *magický písek*, je možné si ho připravit i doma nebo ve škole).

Téma hydrofobní látky je možné zařadit například do obecné chemie v rámci tématu chemická vazba nebo na úvod biochemie v souvislosti s biochemickými makromolekulami, s jejich prostorovým uspořádáním a chováním ve vodném prostředí (spolu s dalšími slabými vazebnými interakcemi).

Tato laboratorní úloha je postavena jako samostatná laboratorní práce pro studenty nižších ročníků (nižší gymnázium, základní škola). Pro vyšší ročníky je vhodné zařadit tento pokus jako demonstrační, např. jako součást motivačního úvodu laboratorní práce *Denaturace a vysolování proteinů* (navazující laboratorní práce).

**Téma:** Hydrofobní interakce

**Zařazení do RVP:** obor Chemie – Obecná chemie - chemická vazba a vlastnosti látek; Organická chemie, nebo Biochemie

**Úroveň:** střední škola (téma Hydrofobní interakce spadá do skupiny slabých vazebných interakcí, vyskytuje se v různých oblastech chemie, viz zařazení do RVP)

## **Organizační forma výuky: LP**

**Doba trvání: 1 VH**

**Cíl:** Student vysvětlí princip vzniku hydrofobních interakcí. Charakterizuje látky, které se daných interakcí zúčastňují, uvede příklady výskytu hydrofobních interakcí.

### **Pomůcky a chemikálie:**

- experiment s hydrofobním pískem: hydrofobní písek; laboratorní vana (nebo průhledná plastová miska např. od zmrzliny); lžička; větší injekční stříkačka, brčko nebo plastový sáček; kádinka; filtrační papír; aceton
- demonstrační experiment: 2 kádinky; obyčejný písek; hydrofobní písek; voda
- příprava hydrofobního písku: jemný, čistý písek; silikonová impregnace (na stany, obuv, deštníky, ...); trouba; plech

Poznámka k pomůckám: Hydrofobní písek je možné koupit např. na těchto internetových stránkách: <http://www.darkyla.cz/hydrofobni-pisek> (cit. 3.10.2014)

<http://www.giftex.cz/originalni-darek-pro-milacka/hydrofobni-pisek.html>

(cit. 3.10.2014)

### **Teorie:**

#### ***Hydrofobní látky***

Hydrofobní, neboli vodu odpuzující látky, jsou látky nepolární. To znamená, že v jejich molekulách nenajdeme permanentní elektrické dipóly. Elektrický náboj je v jejich molekulách rovnoměrně rozprostřen.

Jednoduše můžeme odhadnout polaritu dané látky podle elektronegativity jednotlivých atomů, které jsou k sobě v jejich molekulách vázané. Teorie je taková, že pokud je rozdíl elektronegativit mezi dvěma atomy ve vazbě menší než 0,4, jedná se o vazbu nepolární. Dva atomy s více odlišnými elektronegativitami (rozdíl větší než 0,4) tvoří vazby polární, případně iontové. Vyskytují-li se v molekule pouze vazby nepolární, jedná se o látku nepolární.

S polárními látkami to není tak snadné, protože i molekula obsahující samé polární vazby může být ve výsledku nepolární. Záleží na geometrii molekuly. Výsledný

dipólový moment (součet dipólových momentů jednotlivých vazeb) se může rovnat nule. Nerovnoměrné rozdělení elektrického náboje mezi jednotlivými atomy může být v rámci celé molekuly rozloženo rovnoměrně a molekula je nepolární.

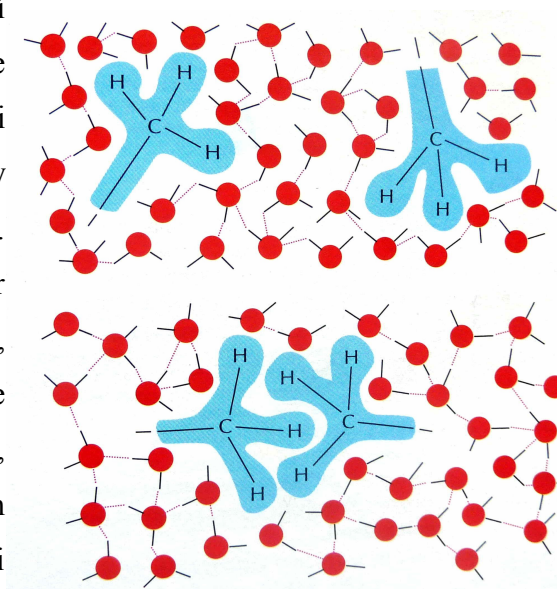
V některých molekulách se vyskytují polární i nepolární vazby. Jejich charakter je pak hydrofobní i hydrofilní (to jsou například tenzidy obsažené v čistících prostředcích).

K vytvoření hydrofobní interakce však samotné hydrofobní látky nestačí. Abychom mohli mluvit o hydrofobní interakci, je třeba umístit nepolární látku do vody nebo vodného roztoku nějaké jiné polární látky. Pak teprve se hydrofobní látka začne chovat hydrofobně.

Proč však nepolární látky odpuzují vodu? Molekuly vody, jakožto polární částice, s molekulami nepolární látky, kterou do vody ponoříme, neinteragují pomocí vodíkových vazeb. Nepolární látka není totiž schopna tvořit H-můstky a začlenit se tak do struktury vody, chybí jí také permanentní dipóly, které by přitahovaly částečné náboje na vodíku a kyslíku v molekulách vody. Vodíkové můstky spojující molekuly vody jsou řádově silnější než interakce, které by mohly vzniknout mezi molekulami vody a molekulami hydrofobní látky. Ty se shlukují k sobě a minimalizují tak styk s vodou (viz obrázek). Díky tomu je celý systém stabilnější. Nelze tedy říci, že hydrofobní látky odpuzují vodu nebo se jí bojí. Jde spíše o to, že pro molekuly vody je energeticky výhodnější tvořit vazby mezi sebou, čímž v podstatě dotlačí molekuly hydrofobní látky k tomu, aby se shlukovaly.

Shluky zaujmají v ideálním případě tvar koule (z těles má relativně nejmenší povrch, takže styk s vodou je minimální), pokud se vyskytují ve 2D prostoru, tak tvar kruhu, např. olej na vodě. Chování hydrofobních látek ve vodě pozorujeme v životě velmi často, třeba když se snažíme bez saponátu umýt mastnou pánev.

Které látky jsou hydrofobní (nepolární)? Jedná se o látky tvořené stejnojadernými dvouatomovými molekulami (např. jód,  $I_2$ ), nebo látky složené z molekul s atomy



*Vznik hydrofobní interakce.*

s blízkými elektronegativitami. Velkou a významnou skupinu hydrofobních látek tvoří uhlovodíky a některé jejich deriváty. Praktické může být také vědět, jak je možné hydrofobní látky rozpouštět. V takovém případě je třeba použít nějaké nepolární rozpouštědlo, jako je třeba benzín, benzen nebo ether, tedy různá organická rozpouštědla.

### ***Síla hydrofobních interakcí***

Hydrofobní interakce patří mezi slabé vazebné interakce. Přestože samy o sobě jsou slabší než např. H-můstky, jejich síla spočívá ve velkém množství takto interagujících skupin atomů. Ve velkých molekulách jako jsou proteiny hrají stejně významnou roli jako zmíněné H-můstky. Jejich síla závisí na teplotě systému nebo tvaru a charakteru nepolárních látek, které hydrofobní interakce vytvářejí.

### ***Význam hydrofobních interakcí v biochemii***

Pro živé systémy jsou hydrofobní interakce nezbytné. Podílejí se na vzniku a stabilizaci biologických membrán, odpovídají za správné prostorové uspořádání biologických makromolekul (např. proteinů), ovlivňují interakce signálních molekul (např. hormonů) s membránami a interakce antigenů a protilátek, využívají se také v některých biochemických metodách (např. chromatografie s hydrofobní interakcí).

### ***Co je tzv. magický písek a k čemu slouží?***

Při výrobě “magického“ písku se běžný písek obalený vrstvou čistého oxidu křemičitého vystavuje párám organické látky trimethylsilanolu. Vzniká tak hydrofobní vrstva obsahující methylové skupiny, díky níž je písek vodou nesmáčivý, je hydrofobní. Původně byl tento písek vyráběn pro čištění ropných skvrn na moři. Idea byla taková, že se na skvrnu nasype dostatečné množství písku, ten nasákne ropou a ponoří se na dno moře, odkud už bude snadné jej vytěžit. Tato technika se však neujala kvůli vysoké ceně hydrofobního písku. Své využití by mohl najít v arktických oblastech, protože nezamrzá. Může se také přidávat do květináčů jako provzdušňovací prostředí pro rostliny. Uplatnění by mohl nalézt i ve stavebnictví, jako izolant různých potrubí před spodní vodou. Je to také zábavná hračka pro děti.

**Motivační úvod hodiny:** Hodina začíná jednoduchým demonstračním experimentem, kdy učitel nalije do kádinky s normálním pískem a do kádinky s hydrofobním pískem vodu. Studenti pozorují, že hydrofobní písek zůstal, na rozdíl od toho běžného, suchý. K tomu vznese učitel otázku – *Jak namočit “magický“ písek? V čem se asi liší od normálního písku?*

### **Experiment – postup:**

Do laboratorní vany nebo plastové misky nalijeme vodu. Syplme do ní hydrofobní písek – ideální je použít mikrotenový sáček s ustřiženým jedním rohem (jako při zdobení cukroví) nebo laboratorní lžičku, abychom získali zajímavé tvary písku ve vodě. Pokud písek lžičkou vyndáme z vody, zjistíme, že je suchý.

Poté slijeme větší část vody (sléváme přes filtrační papír, abychom nevylili i písek) tak, aby písek zůstal ponořený, ale v kádince zbylo minimum vody (opatrně, jakmile se písek dostane na povrch vody, je těžké jej znovu ponořit). Necháme studenty, aby vymysleli, jak by bylo možné písek namočit, co bychom měli přidat. Můžeme jim připomenout, že voda je rozpouštědlo a že patří do určité skupiny rozpouštědel (polárních). Sami by měli přijít na to, že musíme přidat nějaké nepolární rozpouštědlo. Dáme jim k dispozici aceton. Necháme studenty, aby přilili takové množství, až se písek namočí (jeho shluky ve vodě se rozpustí).

### **Závěr VH:**

Součástí materiálů k tomuto experimentu je pracovní list pro studenty. Uvádí stručný postup a obsahuje také několik otázek a úkolů týkajících se daného experimentu a hydrofobních interakcí obecně. Poslední otázka směřuje k významu hydrofobních interakcí v biochemii. Uvádí, že tyto interakce jsou klíčové pro správné prostorové uspořádání proteinů.

K tomu je možné poukázat na souvislost tohoto experimentu s denaturací proteinů. V buňkách, tedy v podstatě ve vodném prostředí, je terciární struktura proteinů stabilizována mimo jiné hydrofobními interakcemi. Pokud se proteiny dostanou do styku s hydrofobními rozpouštědly, jejich prostorové uspořádání se naruší a zbude jen struktura primární (protein je denaturován). Hydrofobní zbytky aminokyselin, které byly u správně složeného proteinu uzavřeny uvnitř molekuly proteinu a izolovány tak

od okolní vody, se v hydrofobním prostředí dostávají na povrch. Tam pak interagují jak s nepolárním rozpouštědlem tak s hydrofobními zbytky aminokyselin dalších molekul denaturovaných proteinů a tvoří sraženinu. Je to podobné jako přidávání acetonu k hydrofobnímu písku ve vodě. Aceton proniká do shluků hydrofobního písku a, pokud je ho v roztoku dostatek, písek se v něm jakoby rozpustí, namočí se.

### **Příprava hydrofobního písku:**

Hydrofobní písek je možné koupit (je však relativně drahý), ale i jednoduše vyrobit. Stačí k tomu obyčejný písek, silikonová impregnace (na boty, stany, oděvy), plech a trouba.

Písek propláchneme, rozprostřeme na plech a hodinu pečeme v troubě na 200°C (kvůli vysušení). Po zchladnutí jej důkladně postříkáme impregnací z jedné strany, pak počkáme, až uschne, promícháme, znovu postříkáme impregnací, celý proces několikrát opakujeme, dokud nemáme pocit, že jsou zrnka písku celá obalena impregnací. Necháme do druhého dne zaschnout.

Tato úprava je však krátkodobá, impregnace drží na zrnkách písku relativně krátce, voda ji postupně smyje. Doma připravený hydrofobní písek vydrží maximálně na jednu laboratorní práci.

### **Literatura:**

Atkins, P., De Paula, J. Fyzikální chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. 2013, kap. 17, ISBN 978-80-7080-830-6

California State Univerzity:

[http://www.csun.edu/~al9628/coursework/695/discrepant\\_magicsand/discrepant\\_event\\_magicsand.html](http://www.csun.edu/~al9628/coursework/695/discrepant_magicsand/discrepant_event_magicsand.html), cit. 15. 1. 2013

Housecroft, C. E., Sharpe, A. G. Anorganická chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. 2014, kap. 2, ISBN 978-80-7080-872-6

Next Big Future: <http://nextbigfuture.com/2009/02/hydrophobic-sand-details-waterproof.html>, cit. 15.1. 2013



## 2. Úloha: Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání

Laboratorní práce, při které se studenti seznámí s prostorovým uspořádáním proteinů 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 fyzikálně-chemickými vlastnostmi (hydrofilní, hydrofobní, kyselé a zásadité postranní řetězce). Cílem úlohy je složit model proteinu do takového prostorového uspořádání, které odpovídá základním principům skládání proteinů.

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

**Téma:** Prostorové uspořádání proteinů

**Zařazení do RVP:** obor Chemie – Biochemie

**Úroveň:** 3. nebo 4. stupeň čtyřleté SŠ

**Organizační forma výuky:** LP

**Doba trvání:** 2 VH

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

**Pomůcky:** modely proteinů mini toobers (viz např.:

<http://education.pdb.org/olympiad/mini.html>); do každé pracovní skupiny digitální fotoaparát (případně mobilní telefon s fotoaparátem)

### **Výroba modelu proteinů:**

Podobný model jako toobers je možné vyrobit ve škole nebo doma. Budete k tomu potřebovat pěnovou izolační trubku např. značky Mirelon (izolační trubky lze sehnat duté i plné, použít je možné obě), dobře lepící leukoplast nebo textilní kobercovou lepící pásku, ocelový pozinkovaný vázací drát (průměr cca 1,8 mm), barevné napínáčky. Varianta s dutou izolační trubkou: 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 leukoplastí po celé délce. Leukoplast je třeba hodně utahovat, aby vázací drát nevyběhl z izolační trubky v místě rozříznutí (oba kraje izolační trubky tiskneme pevně k sobě).

Varianta s plnou izolační trubkou: Plnou izolační trubku si nastříháme na úseky dlouhé přibližně 1m, stejně tak vázací drát. Vázací drát se pokusíme co nejlépe narovnat a poté ho pomalu nasuneme podélně do plné izolační trubky. Snažíme se přitom, aby co nejméně vylézal ven. Pokud trubku na některých místech proděravíme příliš, můžeme ji jednoduše oblepit kobercovou páskou. Na koncích drát, který kouká z izolační trubky, ohneme kleštěmi, aby se v trubce neposouval.

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 postranní řetězce), 2 modré (zásadité postranní řetězce) 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-syntázy, kolagenu a kinezinu (protein podobný miosinu). Jejich struktura je na první pohled velmi odlišná.

Učitel položí studentům následující (nebo obdobné) otázky:

- 1 Pozná někdo z vás, jaké látky vám ukazují? *Proteiny.*

- 2 Kde se můžeme s podobnými látkami setkat? *Jsou součástí všech živých organismů.*
- 3 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.*
- 4 Pokuste se tyto látky porovnat. V čem vidíte základní rozdíl? *Odlišné prostorové uspořádání.*
- 5 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- syntáza je enzymový komplex, který katalyzuje vznik ATP z ADP a  $P_i$ . Kolagen je vláknitý protein tvořící hlavní stavební jednotku pojivových tkání. Kineziny 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.*

Na závěr ukáže učitel studentům jeden model proteinu, podobný těm, které budou sami při hodině sestavovat, aby získali představu, k čemu mají při své práci směřovat.

**Otázka, na kterou budou studenti během LP hledat odpověď:**

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

**Shromažďování dat:**

Učitel by měl vybědnout 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 poskytnou odbornou literaturu zpracovávající dané téma.

Co je potřeba vědět, abychom mohli pochopit skládání proteinů:

- Chemické složení proteinů.
- Jak vypadají aminokyseliny, které se v proteinech vyskytují.
- 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. Jednotlivé úlohy pracovního listu by měl učitel probírat se studenty postupně, jak je studenti řeší. Úlohy na sebe navazují a je dobré, když studenti znají správné řešení, než postoupí dál.

#### **Praktická část LP:**

Studenti se rozdělí do pracovních skupin (dvojic). Každá skupina obdrží od učitele jeden model proteinu (mini toober, nebo vlastnoručně vyrobený model) 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 5 cm od sebe. Postupně budou studenti řešit několik úkolů z pracovního listu.

	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. Každé 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 diskuze, při níž studenti vysvětlují svůj postup skládání.

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

- 4. Hydrofobní postranní řetězce se shlukují tak, aby bylo zamezeno jejich kontaktu s okolním vodným prostředím.**
- 5. Hydrofilní postranní řetězce naopak interagují s okolní vodou, tvoří s ní H - můstky, takže se vyskytují na povrchu proteinu.**
- 6. Kyselé a zásadité postranní řetězce se budou také spíše nacházet na povrchu proteinu. Navzájem mohou tvořit solné můstky.**
- 7. Cysteinové zbytky propojují peptidový řetězec kovalentní disulfidovou vazbou.**

Součástí pracovního listu je autorské řešení, kde jsou fotografie dvou modelů proteinů pro lepší představu učitele.

### **Úkol č. 2:**

Druhý úkol už by měl být pro studenty snadnější (ted' 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 srpovitá anemie). 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.

Ve čtvrtém úkolu má učitel studentům ukázat nějakou strukturu proteinu, studenti mají složit svůj základní řetězec stejně. Do hotové struktury mají umístit napínáčky tak, aby jejich pořadí odpovídalo pravidlům práce s modely proteinů. Je lepší, aby si učitel strukturu předem připravil a to tak, že nejprve si určí pořadí napínáčků, složí výslednou strukturu a zní teprve odstraní napínáčky. Tak si bude jist, že jeho struktura je reálná a studenti budou schopni do ní doplnit napínáčky.

### **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 dvojice skupin, jak bylo uvedeno výše).

V úplném závěru může učitel vyzvat studenty, aby popsali, jak a kde v organismu proteiny vznikají (z hodin biologie by měli mít určitou představu). Učitel je může upozornit na to, že většina proteinů se do svého nativního stavu skládá samovolně již během syntézy na ribosomech, některé k tomu však potřebují speciální proteiny, chaperony. Složení do nativního stavu trvá od 20 sekund až po několik minut.

**Upozornění:** V modelu toobers nejsou vyznačeny vodíkové vazby, stabilizující např.

sekundární strukturu proteinu. Vodíkové vazby jsou však pro skládání většiny proteinů velmi důležité a učitel by na jejich přítomnost měl studenty upozornit. Zmínka o nich je i v teoretické části pracovního listu. Pokud však v závěru práce zbude čas, mohl by učitel ukázat studentům další zobrazení proteinů, může použít např. 3D modely proteinů dostupné na internetovém portálu [www.studiumchemie.cz](http://www.studiumchemie.cz).

#### **Literatura:**

<http://www.3dmoleculardesigns.com/Teacher-Resources/Modeling-Mini-Toobers.htm>, cit. 13.1. 2015

### **3. Úloha: Denaturace a vysolování proteinů**

Tato laboratorní práce je zaměřena na vysvětlení rozdílů mezi denaturací a vysolováním proteinů. Na základě vlastních experimentů studenti rozhodnou, zda je vaření vaječného bílku a srážení mléčné bílkoviny kaseinu kyselinou denaturace nebo vysolování, zda se jedná o procesy vratné nebo nevratné. S pomocí modelu polypeptidového řetězce složeného do určitého prostorového uspořádání, hydrofobního písku a pokusů s denaturací a vysolováním vaječného bílku se studenti pokusí popsat a jednoduše vysvětlit princip těchto dvou procesů.

Tato úloha navazuje na laboratorní práci *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání?* zaměřenou na skládání proteinů. Lze ji však se studenty provést i samostatně. V tom případě jim však model proteinu při práci moc nepomůže a je zbytečné jim jej dávat. Bez znalostí slabých vazebných interakcí a alespoň základních znalostí o struktuře proteinů se však studenti při této laboratorní práci neobejdou.

**Téma:** Denaturace a vysolování proteinů

**Zařazení do RVP:** obor Chemie – Biochemie

**Úroveň:** 3. nebo 4. ročník čtyřleté SŠ

**Organizační forma výuky:** LP

**Doba trvání:** 2 VH

**Cíl:** Student vysvětlí princip denaturace a vysolování proteinů. Popíše, které vazby se narušují při denaturaci, jak probíhá vysolování.

**Pomůcky** (pro jednu pracovní skupinu):

kádinky (alespoň 3ks), zkumavky (min. 2ks), skleněná tyčinka, laboratorní lžička, vata, nálevka, model proteinu, hydrofobní písek, vajíčko

**Chemikálie:**

roztok NaCl (1%), koncentrovaný roztok  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (síran amonný se lépe rozpouští po zahřátí), aceton, destilovaná voda

**Pomůcky pro demonstrační pokusy:**

vajíčko, mléko, citron, kahan, 2 velké Petriho misky, skleněná tyčinka, pánvička s troškou oleje, kádinka s vodou, hydrofobní písek (viz laboratorní práce *Jak namočit magický písek*), aceton

**Motivační úvod hodiny:**

Tuto laboratorní práci zahájí učitel třemi demonstračními pokusy. Nejdříve vezme vejce, vyklepne jej do Petriho misky a položí studentům následující dotazy:

1. Jaké je chemické složení jednotlivých částí ptačího vejce? *Bílek – 89% voda, sušina z 92% bílkoviny (zbytek sacharidy a minerální látky), hlavní bílkovinou je ovalbumin, velmi hodnotná bílkovina, protože obsahuje všechny esenciální aminokyseliny, dále ovotransferin, glykoprotein přenášející ionty železa, mědi, manganu a niklu, také má baktericidní účinky, a mnoho dalších proteinů s antibakteriálními a enzymatickými vlastnostmi. Žloutek – sušina a voda v poměru 1:1, sušina tvořena lipidy a proteiny (v poměru asi 1:2). Proteinovou část zastupují lipoproteiny, glykoproteiny a fosfoproteiny. Mastné kyseliny v lipidech jsou ze 66% nenasycené (kyselina olejová, linolová a linolenová), zbytek tvoří kyseliny nasycené (kyselina palmitová a stearová). Dalším*



významným tukem je cholesterol, který tvoří 1 – 2% hmotnosti žloutku. Žloutek obsahuje také vitaminy – vit. C, A a vitamin D3. Ostatní vitaminy jsou zastoupeny ve velmi malém množství. Zbarvení žloutku způsobují barviva – xantofyly (lutein, karoten, kryptoxantin a zeaxantin).

2. K čemu slouží žloutek, k čemu slouží bílek? Žloutek zajišťuje výživu ptačího embrya, bílek jeho ochranu jak mechanickou, tak chemickou – ochrana před patogeny.

Poté vezme učitel pánvičku s olejem, nahřeje ji nad kahanem, nalije do ní vejce a usmaží jej. (Případně může zalít vroucí vodou vejce rozklepnuté do kádinky). Položí další dotaz:

- Myslíte, že teď ještě může žloutek plnit svoji funkci? A co bílek? Žloutek plní svoji vyživovací funkci i po upečení, i když už není schopen vyživovat zárodek. Bílek svoji funkci ztrácí.

Pak učitel nalije do druhé Petriho misky trochu mléka. Pomalu k němu přikapává šťávu z citronu. Studenti pozorují vznik sraženiny. Učitel se zeptá:

1. Co se podle vás v mléku sráží? Mléčná bílkovina kasein.
2. Jaká je příčina srážení mléčné bílkoviny kaseinu? Snížení pH roztoku, okyselení kyselinou citronovou, šťávou z citronu.

Učitel vysvětlí studentům, že existují dva významné procesy, kterými je možné proteiny srážet. Denaturace a vysolování. Denaturace je, na rozdíl od vysolování, proces nevratný. Cílem jejich dnešní práce bude rozhodnout, zda v úvodu hodiny viděli denuraci nebo vysolování, zda byly tyto procesy vratné nebo nevratné a také vysvětlit, jak tyto procesy probíhají, objasnit jejich podstatu. Svoje tvrzení budou muset podložit svými experimenty.

Motivační část zakončí učitel třetím demonstračním pokusem s hydrofobním pískem. Vezme kádinku s vodou a nasype do ní hydrofobní písek. Ten voda nesmáčí, proto v ní vytváří zajímavé struktury. Učitel vyzve studenty, aby navrhli, jak by bylo možné shluky tohoto zvláštního písku ve vodě rozpustit. Studenti by měli sami přijít na to, že budou potřebovat nějaké nepolární rozpouštědlo, např. aceton. Po přilítí acetonu do kádinky s hydrofobním pískem ve vodě se shluky hydrofobního písku rozpustí a písek se namočí.

Učitel upozorní studenty, že vysvětlení tohoto experimentu by jim mohlo pomoci při vysvětlování procesu denaturace proteinů.

Analogie (kterou učitel prozradí studentům až na závěr, pokud na ni nepřijdou sami) s denaturací proteinů je následující: Hydrofobní rozpouštědla působí na proteiny jako denaturační činidla. Pronikají do částí proteinů, které jsou stabilizovány hydrofobními interakcemi, a tyto části narušují. Podobně aceton proniká do shluků hydrofobního písku ve vodě a rozpouští je. Jako by tvořil solvatační obal kolem jednotlivých zrněk hydrofobního písku a bránil jim tak ve tvorbě shluků.

**Otázky, na které budou studenti hledat při své práci odpovědi:** Jaké jsou rozdíly mezi denaturací a vysolováním? Jak tyto procesy probíhají, co se při nich s proteiny stane?

**Co budou mít studenti pro svoji práci k dispozici:**

- Pro svoji samostatnou laboratorní činnost dostanou studenti kromě vajíčka, které si přinesou, 1% roztok NaCl (s označením *fyziologický roztok*), koncentrovaný roztok  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , aceton a pokud možno destilovanou vodu. K tomu patříčné laboratorní nádobí (viz pomůcky) a smotek vaty.
- Další pomůckou budou modely proteinu s nimiž studenti pracovali v předchozí laboratorní práci. Modely by měly být složené tak, aby postranní řetězce aminokyselin v podobě barevných napínáčků správně interagovaly (viz laboratorní práce *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*).
- Studentům by mohl posloužit při jejich bádání i hydrofobní písek, který se ve vodě po přidání acetonu chová trochu podobně jako proteiny při denaturaci. Hydrofobní prostředí jej “rozpouští“, takže je najednou smáčivý. Dojde k narušení hydrofobních interakcí mezi jednotlivými zrnky písku. Narušení hydrofobních interakcí v molekule proteinu je jeden ze závěrů, ke kterým by studenti při vysvětlování denaturace měli dospět.
- Doprovodné texty *Jak pracovat s proteiny* a *Elektrostatické interakce*.
- Studenti by také měli použít svoje pracovní listy a poznámky z laboratorní práce *Jak namočit magický písek* a *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, pokud tato praktika absolvovali.

### **Praktická část LP:**

- Prvním krokem by mělo být převedení proteinů vaječného bílku do 1% roztoku NaCl. Pokud mají studenti na laboratorní práci málo času, může jim učitel poskytnout hotový roztok vaječného bílku (je však lepší, když si ho studenti připraví sami, lépe si pak uvědomují, s čím přesně pracují). Studenti nedostanou k této laboratorní práci žádný postup, návod, jak mají pracovat. Kromě pracovního listu jim pro tuto část práce poslouží text *Jak pracovat s proteiny*.
- Při další činnosti by měli studenti postupovat samostatně, pouze s návodnými otázkami a úkoly v pracovním listu. Učitel v této fázi vyučovacího procesu slouží jako kontrola, aby si studenti v laboratoři nějak neublížili, také jako konzultant, když studenti potřebují poradit se svým postupem, s interpretací výsledků atd. Neměl by práci studentů řídit a příliš ovlivňovat. Pokud však uvidí, že se jejich práce nechýlí k žádnému výsledku, může jim pomoci různými návodnými otázkami.
- Po určitém čase, cca po 15 minutách (záleží na tom, jak jsou studenti daleko, kolik mají ještě času do konce hodiny), učitel samostatnou práci ukončí. Vytvoří dvojice z pracovních skupin s tím, že jedna pracovní skupina z dvojice bude mít za úkol předvést té druhé vše, co zjistila o denaturaci, druhá bude prezentovat vše o vysolování. Každá skupina ukáže té druhé nějaký experiment a podá své vysvětlení, jak daný proces probíhá. Druhá skupina pak bude mít za úkol porovnat jejich práci se svojí vlastní a zhodnotit ji. Obě skupiny by se měly shodnout na nějakém společném závěru, vybrat jeden experiment pro denaturaci a jeden pro vysolování, který by mohly ukázat před celou třídou.
- Na konci hodiny zapíší studenti své závěry o principech denaturace a vysolování do jednoduché tabulky na tabuli (tabulka se dvěma sloupci, rozdíl mezi denurací a vysolováním) a o svých úsudcích společně diskutují.
- V úplném závěru hodiny by měl učitel, nebo některý ze studentů shrnout hlavní principy denaturace a vysolování a rozdíl mezi těmito dvěma procesy. Studenti mohou navrhnout různá denaturační činidla – účinek tepla, extrémního pH a hydrofobního rozpouštědla viděli v úvodu hodiny, možná je napadne i něco dalšího.

- Na úplný závěr této laboratorní práce se pro lepší vysvětlení principu denaturace a vysolování hodí také flash animace, které jsou dostupné na adrese [www.studiumchemie.cz](http://www.studiumchemie.cz). Tyto animace zpracovávají denaturaci proteinů acetonem a tepelnou denaturaci a vysolování proteinů síranem amonným.

Vysvětlení principu vysolování by mohlo činit studentům potíže. Pro usnadnění slouží text *Elektrostatické interakce*.

Všichni studenti by měli v závěrech svých pracovních listů uvést, že denaturace je proces nevratný, při němž se narušují slabé vazebné interakce v molekulách proteinů, ale základní řetězec zůstává zachován. Vysolování je naopak proces vratný, dochází pouze k tomu, že vodu v roztoku vyváží molekuly soli a na rozpouštění proteinu už žádná voda nezbude.

#### Experimenty, které by měly vést k nalezení odpovědi na úvodní otázku:

<b>experiment</b> (stručně popsat, např. jaké látky jste smíchali dohromady)	<b>pozorování</b> (změna barvy, skupenství, uvolnění plynu atd..)	<b>závěr</b> (souvislost s denaturací nebo vysolováním, vysvětlení pozorování,)
<i>Přikapávání acetonu k roztoku vaječného bílku.</i>	<i>Po přidání acetonu vzniká bílá sraženina.</i>	<i>Proběhla denaturace ovalbuminu v důsledku přilítí denaturačního činidla – acetonu.</i>
<i>Rozpouštění sraženiny vzniklé po přilítí acetonu. Přilévání vody, dokud se sraženina nerozpustí.</i>	<i>Po přidání nadbytku vody se sraženina nerozpustila.</i>	<i>Denaturace je proces nevratný, sraženina, která po přidání denaturačního činidla vznikne, je shluk proteinových vláken, která ztratila všechny vyšší prostorové struktury, zůstal jen základní řetězec, primární struktura proteinu.</i>
<i>Přikapávání nasyceného roztoku síranu amonného k roztoku vaječného bílku.</i>	<i>Po přidání nasyceného roztoku síranu amonného vzniká sraženina.</i>	<i>Proběhlo vysrážení vaječných proteinů z roztoku v důsledku solvatace iontů síranu amonného přítomnými molekulami vody. Tento proces se nazývá vysolování.</i>
<i>Rozpouštění sraženiny</i>	<i>Po přidání nadbytku</i>	<i>Vysolování je proces vratný,</i>

<i>vzniklé po přidání síranu amonného. Přilévání vody, dokud se sraženina nerozpustí.</i>	<i>vody se sraženina rozpustila, roztok byl opět čirý.</i>	<i>sraženina se rozpustí v nadbytku vody, protože v roztoku bude dostatek molekul vody pro solvataci iontů síranu amonného i molekul proteinu. Struktura proteinu se vysolováním nenarušuje.</i>
<i>Roztok vaječného bílku ve zkumavce jsme zahřívali nad kahanem.</i>	<i>Vznikla sraženina.</i>	<i>Sraženina vznikla v důsledku tepelné denaturace proteinu.</i>
<i>Rozpouštění sraženiny vzniklé po zahřívání roztoku vaječného bílku nad kahanem. Přilévání vody, dokud se sraženina nerozpustí</i>	<i>Sraženina se v nadbytku vody nerozpouští.</i>	<i>Tepelná denaturace je proces nevratný. Vlivem vysoké teploty dochází k narušení vyšších struktur proteinu, zůstane jen neuspořádaný základní řetězec.</i>

Text č. 1:

### ***Jak pracovat s proteiny***

*Proteiny, které chceme zkoumat, je vhodné nejprve převést do roztoku. Měli bychom proto vědět, zda jsou rozpustné ve vodě nebo ne. Globulární, neboli kulovité proteiny bývají rozpustné ve vodě, zatímco proteiny fibrilární, vláknité, nikoliv.*

*V čem proteiny rozpouštět? Určitě není vhodná destilovaná voda. Proteiny jsou velmi citlivé na změny vnějšího prostředí. Nejstabilnější bývají při neutrálním pH a fyziologické iontové síle (té odpovídá iontová síla fyziologického roztoku - 1% NaCl). Získáváme-li protein z rostlinného nebo živočišného materiálu, měli bychom se také zbavit různých nečistot a neproteinových složek daného materiálu (případně jiných, třeba nerozpustných proteinů). Toho je možné dosáhnout různými metodami. Chceme-li získat proteiny z buněčného materiálu, musíme nejdřív buňky mechanicky rozrušit. Poté můžeme využít centrifugaci, kdy se nám různé části buněk usazují na dně zkumavky podle své hmotnosti. Další metodou vhodnou pro čištění materiálu a oddělení nerozpustných částí je filtrace. Roztok daného organického materiálu však musíme nejprve řádně protřepat, aby se náš protein rozpustil a nezachytil na filtru. Podle povahy organického materiálu vybíráme různé filtry – ne všechno je vhodné filtrovat*

*přes filtrační papír; někdy stačí třeba smotek vaty.*

*Ve výsledku bychom měli získat čirý roztok našeho proteinu, se kterým se nám už bude dobře pracovat.*

*Následující tabulka uvádí některé příklady proteinů rozpustných a nerozpustných ve vodě.*

<i>proteiny rozpustné ve vodě</i>	<i>proteiny nerozpustné ve vodě</i>
<i>albuminy krevního séra</i>	<i>kolagen</i>
<i>fibrinogen</i>	<i>keratin</i>
<i>ovalbumin</i>	<i>fibroin</i>
<i>hemoglobin</i>	<i>elastin</i>
<i>imunoglobuliny</i>	<i>fibrin</i>

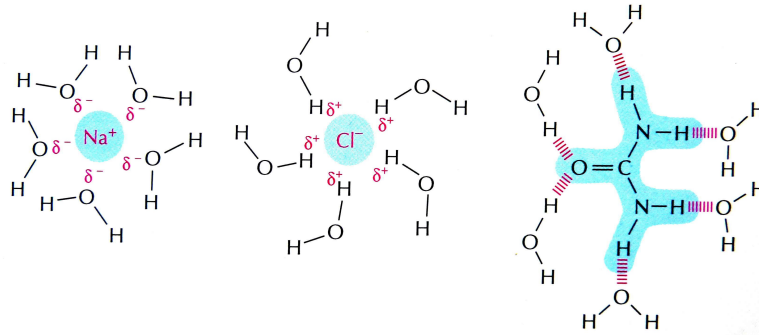
Text č. 2:

### ***Elektrostatické interakce***

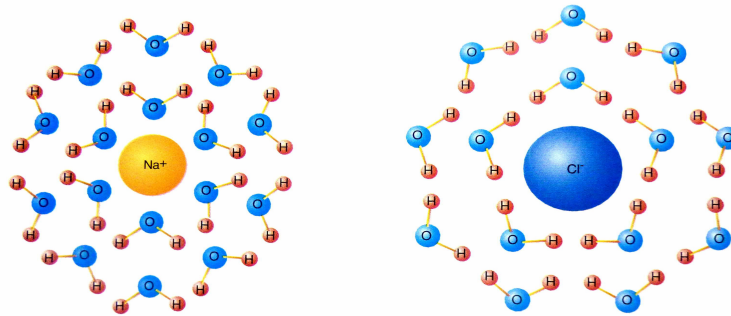
*Opačně nabité částice jsou vzájemně přitahovány tzv. elektrostatickými interakcemi. Tyto vazby patří do skupiny slabých vazebných interakcí a jsou velmi důležité pro stabilizaci a správnou funkci biomolekul.*

*Mezi elektrostatické interakce řadíme také hydrataci iontů ve vodném prostředí. Voda, jakožto polární rozpouštědlo, je přitahována jak ke kladně tak k záporně nabitým iontům. Kolem těchto částic vytváří tzv. solvatační obal (anglicky solvent znamená rozpouštědlo; viz obrázky). Voda tak vlastně zmenšuje přitažlivé síly mezi záporně a kladně nabitými ionty a tím iontové sloučeniny rozpouští.*

*Zvláštní význam má hydratace iontů v nasycených roztocích různých iontů, kde voda solvatuje, tedy vlastně rozpouští, přednostně ty nejrozpustnější ionty. Ostatní, původně rozpustné, se pak mohou z roztoku vysrážet.*



*Interakce, které může voda tvořit s rozpouštěnými látkami.*



*Solvatace iontů*

#### **Literatura:**

Alberts B. a kol., Základy buněčné biologie, Espero Publishing, Ústí nad Labem, 1998, ISBN 80-902906-0-4

Veselovský: Veselovský, Z. Obecná ornitologie. Praha: Academia. 2001, ISBN 80-200-0857-8

#### **4. Úloha: Modelování molekuly inzulinu**

Práce s modely proteinů, při níž studenti vytvoří model molekuly inzulinu podle jeho aminokyselinové sekvence a obrázků prostorového uspořádání inzulinu. Tato laboratorní úloha navazuje na úlohu *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*, kdy se studenti učí pracovat s modely proteinů (formulují pravidla skládání proteinů).

**Téma:** Prostorové uspořádání proteinů

**Zařazení do RVP:** obor Chemie – Biochemie

**Úroveň:** 3. nebo 4. stupeň čtyřleté SŠ

**Organizační forma výuky:** LP

**Doba trvání:** 1 VH

**Cíl:** Studenti vytvoří model molekuly inzulínu a ověří tak, zda je jejich hypotéza o skládání proteinů správná a platí i pro reálné molekuly proteinů.

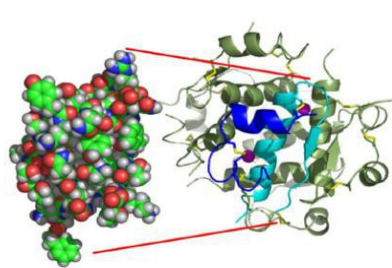
**Pomůcky:** do každé pracovní skupiny dva základní řetězce modelů proteinů (viz úloha *Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*), 17 žlutých napínáčků (reprezentujících aminokyseliny s hydrofobním postranním řetězcem), 20 bílých napínáčků (aminokyseliny s polárním postranním řetězcem), 6 zelených napínáčků (cysteiny), 4 červené napínáčky (aminokyseliny s kyselým postranním řetězcem) a 4 modré napínáčky (aminokyseliny s bazickým postranním řetězcem)

#### **Motivační úvod hodiny:**

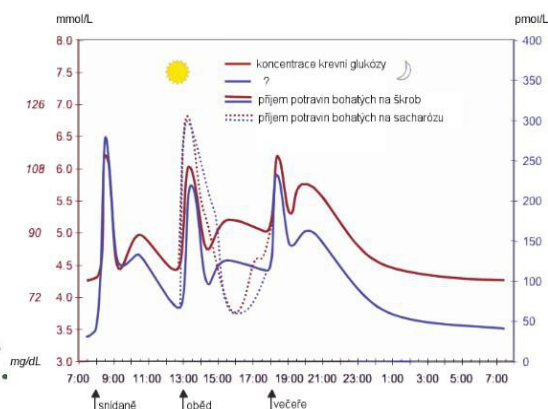
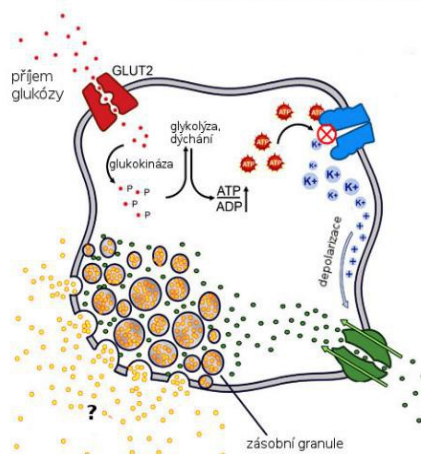
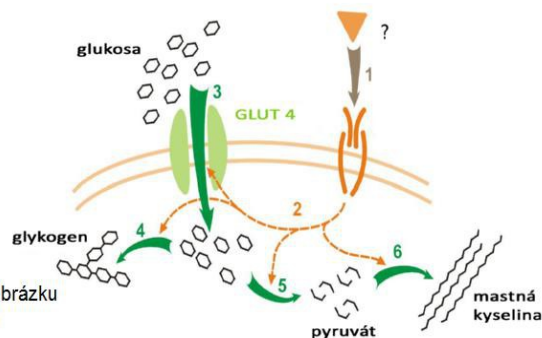
Jako motivační část úlohy slouží obrázek s několika znázorněními inzulínu – model molekuly inzulínu, schéma přeměny glukózy na glykogen za účasti hormonu inzulínu, schéma uvolnění inzulínu v reakci na příjem glukózy a graf závislosti koncentrace krevní glukózy na koncentraci inzulínu v krvi (obrázek je součástí přiložené ppt. prezentace). Obrázky jsou popsány, slovo inzulín je však nahrazeno otazníkem. Úkolem studentů je odhadnout, o jakou látku se jedná.

Studenti třetího nebo čtvrtého ročníku střední školy by měli bez problému poznat, že se jedná o inzulín. Obrázky mohou učitelé posloužit k tomu, aby stručně probral chemické zařazení a strukturu inzulínu a jeho funkci v organismu.





Jaká látka se skrývá na prvním obrázku a za otázníky na těch ostatních?



Až studenti odhalí, že se jedná o inzulín, může jim učitel položit následující otázky:

- 6 Do jaké skupiny chemických látek řadíme inzulín? *Proteiny (s 51 aminokyselinami se inzulín řadí mezi velmi malé proteiny).*
- 7 Do jaké skupiny biologicky aktivních látek byste ho zařadili? *Proteinové hormony produkované Langerhansovými ostrůvky slinivky břišní.*
- 8 Jaká je jeho funkce v organismu? *Snižování hladiny krevní glukózy. Jeho antagonistou je další polypeptidový hormon glukagon.*
- 9 Jakým způsobem se inzulín připravuje pro medicínské účely? *Dříve se izoloval převážně z vepřových slinivek břišních, v současné době se připravuje pomocí geneticky modifikovaných bakterií nebo kvasinek.*

V návaznosti na tyto otázky mohou studenti diskutovat o diabetu a využití geneticky modifikovaných organismů. Např. jaké výhody může přinést příprava inzulínu pomocí transgenních mikroorganismů (viz Teorie).

### Skládání molekuly inzulínu:

Pokud jsou studenti seznámeni s modely proteinů a znají základní pravidla pro jejich

skládání, měli by být schopni vyrobit relativně věrný model molekuly inzulinu. Pracovní list k této úloze obsahuje sekvenci řetězce A i B. Je to sekvence konkrétních aminokyselin, kterou si studenti musí nejprve převést do sekvence skupin postranních řetězců aminokyselin. Učitel by jim proto měl poskytnout ideálně vzorce všech aminokyselin, podle nichž studenti odvodí, které aminokyseliny patří do skupiny polárních, nepolárních, kyselých nebo zásaditých aminokyselin.

Přehled rozdělení aminokyselin do skupin podle jejich fyzikálně chemických vlastností, který neuvádí jejich charakteristiky je umístěn ve složce prezentace\_inzulin, která je součástí tohoto materiálu. Najdete tam také tabulku, v níž jsou jednotlivé skupiny popsány.

V pracovním listu mají studenti také několik obrázků prostorového uspořádání inzulinu a vysvětlení, co je to  $\alpha$ -helix a jak vypadá. Pracovní list také uvádí místa, kde jsou řetězce A a B propojeny disulfidovou vazbou a kde začínají a končí  $\alpha$ -helixy. Tyto informace jsou dostačující pro to, aby studenti složili model inzulinu. Studentům se zřejmě napoprvé nepodaří vymodelovat inzulin přesně, to však pro tuto úlohu není podstatné. Důležité je, že když dodrží strukturu šroubovice (3 – 4 aminokyseliny na jednu otáčku), a spojí řetězce disulfidovými vazbami ve správných místech, uvidí jasně hydrofobní jádro, tvořené postranními řetězci hydrofobních aminokyselin a disulfidové vazby propojující polypeptidové řetězce. Ověří si, zda je jejich hypotéza o skládání proteinů, ke které dospěli v předchozí úloze (*Jak získávají proteiny své prostorové uspořádání*), správná a že platí i pro reálné molekuly proteinů.

K lepší představě o tom, jak molekula inzulinu vypadá může studentům posloužit animace rotace molekuly inzulinu, která je součástí příložené ppt. prezentace. Pokud má učitel k dispozici program pro zobrazování modelů biomakromolekul (např. DS Visualizer), může studentům ukázat molekulu inzulinu v takovém programu a dle libosti s ní pohybovat. Ideální je nastavit zobrazení Spin, při němž program automaticky s molekulou otáčí. Soubor DSV je součástí souboru s ppt. prezentací a je s prezentací asociován. Má-li učitel ve svém počítači nainstalován program pro zobrazování proteinů, stačí, klikne-li na obrázek inzulinu v prezentaci a počítač automaticky otevře program s modelem molekuly inzulinu.

Aminokyselinová sekvence inzulínu je následující:

řetězec A: Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn

řetězec B: Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr

Tomu odpovídá tato sekvence skupin postranních řetězců aminokyselin (P – polární, H – hydrofobní, K – kyselé, B – bazické postranní řetězce; C – cystein):

řetězec A: P-H-H-K-P-C-C-P-P-H-C-P-H-P-P-H-K-P-P-C-P

řetězec B: H-H-P-P-B-H-C-P-P-B-H-H-K-H-H-P-H-H-C-P-K-B-P-H-H-P-P-H-B-P

### **Teorie:**

Inzulín je malý protein fungující v organismu jako molekulový posel. Je to jeden z nejdůležitějších hormonů, který nese informaci o množství glukózy v krvi. Zajišťuje vychytávání glukózy z krve a její uskladnění v podobě glykogenu a tuků. Je produkován Langerhansovými ostrůvky slinivky břišní.

Díky své malé velikosti (polypeptidový řetězec se skládá jen z 51 aminokyselin) se inzulín rychle pohybuje v krvi a může působit na orgány a svalové buňky po celém těle. Jakožto proteinový hormon komunikuje s buňkami prostřednictvím jejich povrchových receptorů.

Malá velikost je výhodná z hlediska pohybu v těle, ale pro buňku je náročné vyrobit malý protein, jehož struktura by byla stabilní. Inzulín proto vzniká z proinzulínu, proteinu s delším řetězcem, který se snadno složí do svého prostorového uspořádání. Molekula inzulínu je z něj poté enzymaticky vystřižena.

Inzulín je velmi intenzivně zkoumán díky své roli při léčbě diabetu, ale také díky své velikosti je dobrým modelovým proteinem. Jako první ze všech proteinů byl osekvenován (v roce 1955), byl prvním proteinem, který byl připravován pomocí mikroorganismů. Inzulín v laboratořích produkují geneticky modifikované bakterie *E. coli* nebo kvasinky, do jejichž genomu je přidán lidský gen pro syntézu inzulínu. Dříve se inzulín extrahoval z vepřových nebo hovězích slinivek. Lidské tělo rozpoznává vepřový i hovězí inzulín, protože se liší jen v jedné, respektive dvou aminokyselinách, jejich prostorové uspořádání je stejné. Velká výhoda přípravy inzulínu pomocí geneticky upravených mikroorganismů však spočívá v tom, že vzniklý inzulín je

totožný s lidským. Touto cestou je dokonce možné připravit inzulin s výhodnějšími vlastnostmi. Lze tak vyrobit inzulin rychle vstřebávaný, jehož účinek je okamžitý (jako inzulin, který se ze slinivky uvolní hned po přijetí potravy) nebo naopak pomalu uvolňovaný do krevního oběhu (po dobu 24 hodin, což simuluje bazální sekreci inzulinu v našem těle, ta je nezávislá na příjmu potravy). Těchto vlastností je dosaženo záměnou několika aminokyselin v základním řetězci molekuly inzulinu. I na tomto příkladu je vidět, jak je struktura proteinů klíčová pro jejich funkci.

### **Struktura inzulinu**

Inzulin se skládá ze dvou polypeptidových řetězců (jeden tvoří 21 aminokyselin, druhý 30) spojených navzájem dvěma disulfidovými můstky (spojení A7-B7 a A20-B19, což znamená, že sedmá, resp. dvacátá aminokyselina na řetězci A je spojena se sedmou, resp. devatenáctou aminokyselinou řetězce B). Třetí disulfidový můstek propojuje první řetězec (spojení A6-11). Na molekule inzulinu lze dobře ukázat  $\alpha$ -helix, základní prvek sekundární struktury proteinů. Řetězec A je tvořen dvěma helixy (A1-8, A12-20), řetězec B jedním centrálním helixem (B8-19).

Ve struktuře inzulinu je dále výrazné hydrofobní jádro tvořené zbytky hydrofobních aminokyselin. Hydrofobní jádro a tři disulfidové vazby se výrazně podílejí na stabilizaci struktury molekuly inzulinu. Zbytky aminokyselin vyskytující se na povrchu molekuly inzulinu interagují s vazebnými místy inzulinových receptorů na povrchu buněk. Tyto aminokyseliny a interakce jsou detailně zkoumány, protože interakce s receptory je klíčová pro správnou funkci inzulinu v organismu. Mutace některé z aminokyselin, vyskytujících se v té části povrchu proteinu, která se váže na receptor, může vazbu na daný receptor znemožnit. Takový inzulin je pro organismus nefunkční.

### **Literatura:**

Anděl, M., Brunerová, L., Polák, J. Světová epidemie diabetes mellitus, Kořeny zapuštěné hluboko ve vývoji civilizace. In: Vesmír. 2009, 88, 696

Beta Cell Biology:

[http://www.betacell.org/content/articleview/article\\_id/8/page/1/glossary/0/](http://www.betacell.org/content/articleview/article_id/8/page/1/glossary/0/),

cit. 27. 1. 2015

Campbell Univerzity:

[http://web.campbell.edu/faculty/nemecz/308\\_lect/lect6/lect6.html](http://web.campbell.edu/faculty/nemecz/308_lect/lect6/lect6.html), cit. 27. 1. 2015

Nobelprize.org:

<http://www.nobelprize.org/educational/medicine/insulin/discovery-insulin.html>,

cit. 27. 1. 2015

RCSB PDB: <http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=14>, cit. 27. 1. 2015

### **Obrázky:**

Beta Cell Biology:

[http://www.betacell.org/content/articlepanelview/article\\_id/1/panel\\_id/2](http://www.betacell.org/content/articlepanelview/article_id/1/panel_id/2), cit 27. 1. 2015

Wikipedia: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Inzulin>, cit 27. 1. 2015

Wikipedia: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:InsulinMonomer.jpg>, cit 27. 1. 2015

Wikiskripta: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Glucose-insulin-day-english.svg>, cit 27. 1. 2015