

об'єктів, гербарних зразків, колекцій, моделей, муляжів, зображень, відеоматеріалів. Мета такої діяльності – розвиток в учнів умінь спостерігати, описувати біологічні об'єкти та власні спостереження, виділяти істотні ознаки біологічних об'єктів, виконувати малюнки біологічних об'єктів; формування навичок користування мікроскопом, розв'язування пізнавальних завдань тощо. Прийоми виконання лабораторних досліджень та оформлення їх результатів визначаються учителем з урахуванням вимог програми, вікових особливостей та рівня сформованості навчальних умінь в учнів 6 класу.

Наприклад, результатом спостережень за допомогою мікроскопа за інфузоріями можуть бути усна розповідь, письмовий опис, відповіді на запитання. Виконання лабораторних досліджень фіксується в класному журналі на сторінці «Зміст уроку». Приклад запису: «Амеба, інфузорія – одноклітинні твариноподібні організми. Лабораторне дослідження: спостереження за інфузоріями». Програмою не передбачено оцінювання лабораторних досліджень, оскільки їх мета – здобуття нових знань у процесі діяльності та формування спеціальних умінь.

Практичні роботи виконуються з метою формування практичних умінь і навичок. На виконання практичної роботи виділяється окремий урок, який передбачає такі орієнтовні етапи: визначення мети і завдань уроку, пояснення вчителя (теоретичні аспекти теми практичної роботи), демонстрування учителем операції у цілому і окремих дій, пробне виконання операцій окремими учнями, спостереження іншими, виконання роботи всіма учнями, допомога вчителя

тим, хто має проблеми, аналіз помилок, проговорювання вголос прийомів виконання операцій та їх послідовності, тренувальні вправи із закріплення навичок й умінь. Виконавши практичну роботу, учні в зошитах оформляють звіт про роботу або підсумки. Виконання практичних робіт оцінюється в усіх учнів, при цьому оцінюванню підлягають перш за все практичні уміння, визначені метою роботи: уміння налаштувати мікроскоп, виготовляти мікропрепарат, порівнювати, тобто знаходити спільні та відмінні ознаки біологічних об'єктів, уміння розрізнити отруйні гриби, визначати, які кімнатні рослини можна вирощувати в приміщенні з певними характеристиками середовища.

З метою стимулювання пізнавальної діяльності учнів у програмі запропоновано орієнтовні теми *проектів*, мета яких – формування умінь знаходити необхідну інформацію про живі організми в різних джерелах (у тому числі з використанням інформаційно-комунікаційних технологій). Проекти розробляють окремі учні або групи учнів у процесі вивчення навчальної теми. Форма представлення результатів проекту може бути різною: у вигляді повідомлень, презентації, виготовлення буклетів, планшетів, альбомів тощо. Проект може бути колективним і виконуватись на уроці. Для захисту проєктів може бути виділено окремий урок або частину відповідного за змістом уроку.

Розподіл годин у програмі є орієнтовним. Учителю може аргументовано вносити зміни до розподілу годин, відведених програмою на вивчення окремих тем, змінювати послідовність вивчення питань у межах теми, пропонувати власну тематику проєктів та дослідницького практикуму.

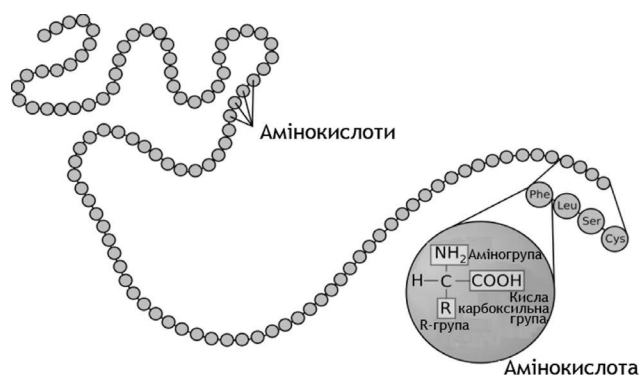
КОНСТИТУЦІЯ БІЛКІВ

Володимир КОВТУНЕНКО, доктор хімічних наук, професор Київського національного університету імені Тараса Шевченка;
Людмила ВЕЛИЧКО, доктор педагогічних наук, професор, завідувач лабораторії хімічної і біологічної освіти Інституту педагогіки НАПН України

У структурі білкових макромолекул можна розрізнити кілька рівнів організації. Поняття *конституція білкової молекули* збігається з поняттям *первинна структура* й означає послідовність амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі. Саме первинна структура кодується відповідним геном і найбільшою мірою визначає властивості сформованого білка (мал. 1).

Історія визначення первинної структури білків. Думка про те, що білки є лінійними ланцюгами із залишків альфа-амінокислот, була висловлена одночасно в 1902 р. двома дослідниками на 74-й конференції Товариства німецьких науковців та лікарів у Карлових Варах. На ранковому засіданні Франц Гоф-

© Ковтуненко В. О., Величко Л. П., 2014



Мал. 1. Первинна структура білка як послідовність амінокислотних залишків у ланцюзі

мейстер, ґрунтуючись на своїх дослідженнях біуретової реакції білків, зробив повідомлення. А кількома годинами пізніше відбувся ви-

ступ Еміля Фішера, який навів багато хімічних фактів на підтримку моделі пептидного зв'язку. Заради справедливості слід сказати, що ще в 1882 р. ідея амідного зв'язку в білках була висловлена французьким хіміком Е. Грімо, але тоді вона не здобула визнання. Незважаючи на ці дані та пізніше доведення, що гідролізати розщеплених білків утворюють тільки олігопротеїни, думка про білки як лінійні полімери амінокислот без розгалужень не була прийнята одразу. Деякі добре відомі учені сумнівались у тому, що ковалентні зв'язки настільки сильні, щоб тримати такі довгі молекули разом. Г. Штаудінгеру довелося долати подібні упередження в 1920-х роках, переконуючи скептиків, що каучук складається з макромолекул. Для пояснення властивостей білків з'явилося кілька альтернативних гіпотез.

Колоїдна гіпотеза протеїнів стверджувала, що білки є колоїдними ансамблями маленьких молекул. Вона була спростована в 1920-х роках проведеними Т. Сведбергом дослідженнями білків на ультрацентрифугах, які засвідчили, що білки мають сталу, відтворювану молекулярну масу. Пізніше це підтвердили й електрофоретичні вимірювання А. Тізельса: протеїни є індивідуальними молекулами. Інша, циклольна (cyclol) гіпотеза, стверджувала, що лінійний поліпептид відчуває хімічне циклольне перегрупування $C=O + HN \rightarrow C(O)-N$, яке зшиває ланцюг амідних груп, формуючи двовимірну структуру. Первинні структури протеїнів пропонувалися різними дослідниками, як, наприклад, дикетопіперазинова модель чи пірол/піперидинова теорія.

Хоча ці теорії не мали багато прихильників, вони були остаточно спростовані, коли Ф. Сангер успішно визначив послідовність амінокислот у інсуліні, а М. Перутц і Д. Кендрю провели кристалографічне визначення міоглобіну та гемоглобіну.

Зазвичай білки є лінійними полімерами – поліпептидами. У всіх видах живих організмів, а їх налічується понад 1 млн, міститься близько $10^{10} - 10^{12}$ різних білків.

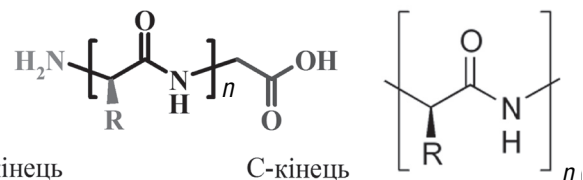
Розмір білка. Він може вимірюватися за числом амінокислот або в одиницях молекулярної маси – дальтонах, Да (частіше, через великі розміри молекули, в похідних одиницях – кілодальтонах, кДа). Найвідомішим індивідуальним білком є титин (компонент саркомер'язів), що містить понад 29 тис. амінокислот і має молекулярну масу 3 МДа; найбільший внутрішньоклітинний білковий комплекс – комплекс ядерної пори хребетних – має молекулярну масу близько 125 МДа (мал. 2).



Мал. 2. Порівняння розмірів білків.
Зліва направо: антитіло (IGG), гемоглобін, інсулін (гормон), аденілаткіназа (фермент) і глютамінсинтетаза (фермент)

Проте загалом складно говорити про найбільший розмір білкового комплексу, тому що часто вони мають дуже обмежений час життя, крім того, весь цитоскелет клітини або позаклітинна матриця цілого організму може вважатися єдиним комплексом. Найменший білок також непросто визначити, багато білків, що мають ензиматичну активність, не перевищують за розміром кілька десятків амінокислот, багато пептидних гормонів мають ще менші розміри. Інколи найменшим білком вважать єдину невелику амінокислоту пролін, що має самостійну каталітичну активність.

Ланцюг. Первинна структура утримується найміцнішим типом хімічного зв'язку – ковалентним. Користуючись категоріями полімерного рівня організації матерії, зазначимо, що на відміну від синтетичних полімерів у білків категорія регулярності є визначальною щодо самого ланцюга (пептидний зв'язок це забезпечує). Для білків поняття «ступінь полімеризації» має відносне значення і стосується винятково числа пептидних зв'язків. Поняття розгалуженості ланцюга в білковій макромолекулі не має сенсу за відсутності такого.



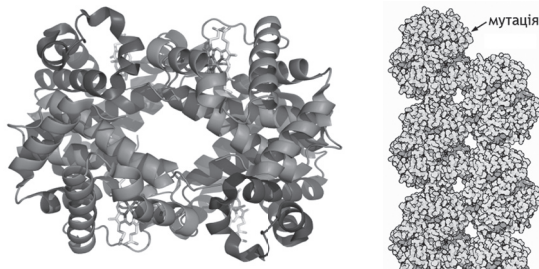
Білкові молекули мають початок і кінець. Кінці поліпептидного ланцюга визначаються як карбоксильний термінал (С-кінець) та аміно-термінал (N-кінець) і зумовлені природою вільних груп на кожному з кінців макромолекули. Підрахунок залишків завжди починається в N-кінця (NH_2 -групи), де аміногрупа не включена до пептидного зв'язку.

У білках постійно трапляється замісник у альфа-положенні до карбоноїльної функції. Щодо інтегральної нерегулярності структури білків, то вона визначається саме розмаїттям бічних груп у альфа-положенні. Виділення повторюваної ланки ланцюга біополімеру не має сенсу, бо саме амінокислотна послідовність у кожному конкретному випадку є унікальною й визначає його біологічні властивості. Відомі нині факти дають змогу з обережністю ствер-

джувати, що в жодному з досліджуваних білків не було виявлено регулярних, часто повторюваних послідовностей амінокислот. У рідкісних випадках одна й та сама амінокислота трапляється в ланцюзі біополімеру понад три рази підряд.

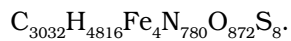
Для кожного білка характерні постійний склад і точне значення молекулярної маси. Кожний білок має унікальну послідовність цих бічних груп, що й визначає його біологічні властивості. Ці твердження можна проілюструвати на прикладі гемоглобіну.

Гемоглобін – це ферумовмісний металопротеїн, який транспортує кисень до червоних кров'яних клітин хребетних і до тканин деяких безхребетних. Гемоглобін крові є тим білком, що транспортує кисень з легень або зябер до інших органів і тканин тіла, де кисень вивільнюється для клітинного вжитку (мал. 3).



Мал. 3. Гемоглобін

Брутто-формулу порівняно невеликого білка гемоглобіну можна записати так:



Розглядаючи можливі видові зміни біополімерів, учені виявили, що А-ланцюг в інсулінах людини, свині, собаки, кроля та кашалота ідентичний. Заміна хоча б однієї амінокислоти на іншу може драматично вплинути на його функцію. Наприклад, у гемоглобіні, що має чотири поліпептидні ланцюги із загальною кількістю амінокислотних залишків 574, заміна однієї специфічної амінокислоти в одному з ланцюгів (а саме глутаміну в шостій позиції β-ланцюга замінено на валін) спричиняє утворення зміненої макромолекули гемоглобіну, яку ідентифікують у хворих на серпоподібну клітинну анемію (мал. 4).

●●●-Val-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Glu-Lys-●●●



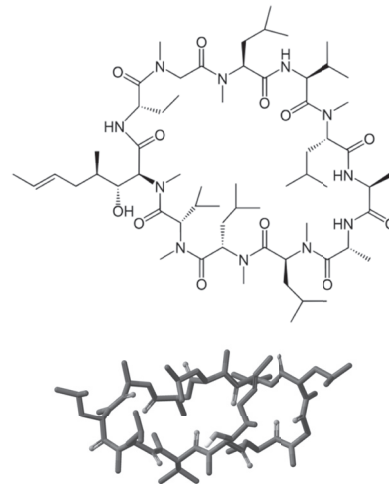
●●●-Val-His-Leu-Thr-Pro-Val-Glu-Lys-●●●

Мал. 4. Зміни конституції молекули гемоглобіну.

Верхній рядок – фрагмент амінокислотної послідовності в макромолекулі гемоглобіну А здорової людини; *нижній рядок* – фрагмент тієї самої послідовності в макромолекулі гемоглобіну у хворого на серпоподібну клітинну анемію

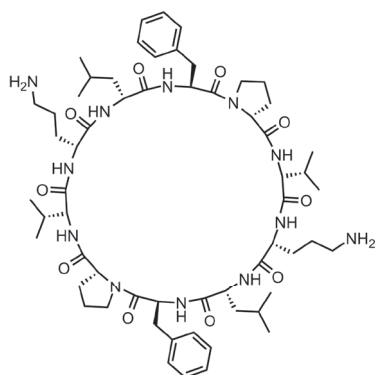
Циклічні форми. Окрім лінійних форм (вони домінують) білки можуть мати і форми циклів. Циклічні пептиди (або циклічні білки) мають поліпептидні ланцюги, в яких аміно- та карбоксильна термінально замкнуті одна на одну, таким чином зв'язуючись пептидним зв'язком, який формує циклічний ланцюг. Низку циклічних пептидів було виявлено в природі, вони можуть містити в ланцюзі від кількох до сотень амінокислотних залишків. Циклічні пептиди можуть бути класифіковані згідно з видами зв'язків, що формують цикл. Гомомерні циклічні пептиди, як наприклад циклоспорин А, мають цикли, утворені лише з нормальних пептидних зв'язків (тобто між альфа-карбоксилем одного залишку до альфа-аміну іншого).

Циклоспорин (cyclosporine) є циклічним нерибосомальним пептидом з 11 амінокислот і містить одну D-амінокислоту, яка інколи (достатньо рідко) трапляється в природі (мал. 5). Циклоспорин утворюється під дією нерибосомальної пептидсинтетази, яка називається циклоспорин синтетаза. Субстратами цього ферменту є L-валін, L-лейцин, L-аланін, гліцин, 2-аміномасляна кислота, 4-метилтреонін і D-аланін.

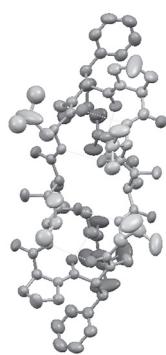


Циклоспорин – імунодепресантний лікарський засіб, широко використовуваний під час пересадки органів з метою зниження активності імунної системи пацієнтів та уникнення тим самим ризику відторгнення органа. Вперше виділений з грибів *Tolipocladium inflatum* дослідниками фірми Сандоз в 1969 р. Окрім трансплантології циклоспорин також використовують при псоріазі, численних дерматитах, ревматоїдних артритах та інших хворобах.

Грамїцидин. Декапептид грамїцидин – антибіотик тиротрицинової групи. Грамїцидинів є кілька – це А, В, CD і D, що є лінійними пептидами, в той час як грамїцидин С – циклічний декапептид (мал. 6, 7). Виробляється споровою паличкою *Bacillus brevis* var. G.-В., яка є грам-позитивною бактерією. У промисловості добувають синтетичним шляхом.



Мал. 6. Граміцидин С
цикло(-Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro)₂



Мал. 7. Кристалічна
структура модифікованого
граміцидину С

Граміцидин С (Gramicidin S або Gramicidin Soviet) – циклодекапептид, утворений двома ідентичними пентапептидами, приєднаними голова-до-хвоста і може бути формально записаний як цикло(-Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro)₂. Це свідчить, що цикл утворено з п'яти різних амінокислот, кожна з яких наявна в структурі двічі. Цікаво, що в білку використовуються дві амінокислоти, які є незвичними складниками пептидів: орнітин, а також неприродний стереоізомер фенілаланіну. У природі синтезується під дією граміцидин С синтетази.

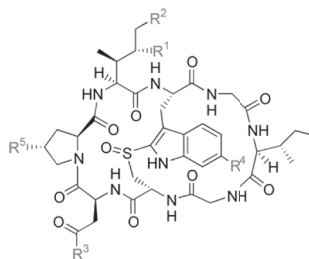
Граміцидин С було відкрито в СРСР Г. Ф. Гаузе та М. Г. Бразниковою у 1942 р. Він відіграв важливу роль у порятунку багатьох життів на фронтах Другої світової війни. Пізніше був витіснений новими антибактеріальними засобами й незаслужено забутий. Має бактериостатичну (перешкоджає розмноженню бактерій) і бактерицидну (знищує бактерії) дії. Ефективний щодо грибів, стрептококів і стафілококів, а також збудників анаеробної інфекції та інших мікроорганізмів, переважно проти грам-позитивних бактерій. У мікроорганізмів не розвивається резистентність до цього антибіотика.

У 1944 р. за посередництва Міжнародного комітету Червоного Хреста граміцидин С передали до Англії для точного встановлення його структури. Англійський хімік R. Syngе за допомогою паперової хроматографії підтвердив, що ця сполука є оригінальним антибіотиком поліпептидної будови. Пізніше вчений здобув Нобелівську премію за свої праці в галузі хроматографії. Кристалічна структура остаточно була встановлена D. Hodgkin та G. Schmidt. Важливість граміцидину С і дослідження антибіотиків врятувало Г. Ф. Гаузе від переслідувань у період лисенківщини в СРСР, тоді як багато його колег були засуджені.

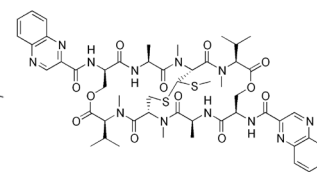
Біциклічні форми. Біциклічні пептиди, такі як аматоксини аманітин (amanitin) і фаллоїдин (phalloidin) містять сполучну місткову групу між двома з бічними ланцюгами. У аматоксинів цей місток формується як тіоетерний між між

залишками Trp і Cys. Інші біциклічні пептиди включають ехіноміцин (echinomycin), тріостин (triestin) і целогентин (Celogentin C). Процеси, завдяки яким циклічні пептиди формуються в клітинах, ще повністю не з'ясовано. Одна цікава властивість циклічних пептидів проте відома – це те, що вони надзвичайно стійкі, завдяки чому можуть залишатись непошкодженими в травному тракті людини. Ця особливість робить циклічні пептиди привабливими для дизайнерів ліків на основі білків, які використовуються як скафолди (робочі платформи). Включення таких платформ до будь-якого білкового домену медичного значення дало б змогу створити оральні лікарські форми білкової природи. Це особливо важливо для доставляння до органів тих ліків білкової природи, які без модифікації одразу руйнуються.

Аматотоксини. Ці сполуки мають подібну структуру, циклічні й складаються з 8 амінокислот (мал. 8). Аматотоксини – група не менш як із 10 токсичних сполук, виявлених у багатьох отруйних грибах, більш відомих як *Amanitaphalloides* і багатьох інших представників роду *Amanita*. Були вперше виділені у 1941 р. Н. О. Wieland та R. Hallermayer у Мюнхенському університеті.



Мал. 8. Аматотоксини



Мал. 9. Ехіноміцин

Усі аматотоксини є довгими олігопептидами з 35 протеїногенних амінокислот, з яких фінальні 8 амінокислот були розкриті проліл олігопептидазою. Нині відомо 10 аматотоксинів (табл.).

Таблиця

Представники аматотоксинів

Назва	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
α-Аманітин	ОН	ОН	NH ₂	ОН	ОН
β-Аманітин	ОН	ОН	ОН	ОН	ОН
γ-Аманітин	Н	ОН	NH ₂	ОН	ОН
ε-Аманітин	Н	ОН	ОН	ОН	ОН
Аманулін	Н	Н	NH ₂	ОН	ОН
Amanullinicacid	Н	Н	ОН	ОН	ОН
Аманінамід	ОН	ОН	NH ₂	Н	ОН
Аманін	ОН	ОН	ОН	Н	ОН
Проамінулін	Н	Н	NH ₂	ОН	Н

Ехіноміцин. Ехіноміцин – пептидний антибіотик. Він інтеркалює в ДНК в два специфічні сайти, таким чином блокуючи зв'язування гіпоксія індукуючого фактора 1-альфа (HIF1alpha).