

KONSPEKT LEKCJI Z WYKORZYSTANIEM GRY DEGRADATOR

– szkoły podstawowe (12-15 lat)

Autorzy: Jakub Tomaszewski, Mikołaj Cup

BioCentrum Edukacji Naukowej BioCEN,

Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie

Gra DEGRADATOR jest narzędziem edukacyjnym, które pozwala wdrożyć uczniów na różnym etapie nauczania w rolę białek w komórce, ich losy oraz sposoby regulacji ilości danego białka w danym momencie. Informacje merytoryczne zawarte w poniższych materiałach, jak również w materiałach dostępnych w samej grze, są obszernie i przeznaczone przede wszystkim dla nauczyciela prowadzącego zajęcia. Rolą edukatora jest dostosowanie tych treści do poziomu odbiorców tak, aby nie były dla nich przytłaczające, ale jednocześnie odpowiadały na pytania stawiane przez nich na obecnym etapie nauki biologii. Poziomy gry powyżej 3 wykraczają poziomem ponad materiał szkoły podstawowej. Proponujemy wykorzystać je opcjonalnie jako szczególny przykład ogólnych mechanizmów rządzących biologią i omówić za ich pomocą różne aspekty równowagi panującej w komórce.

Gra DEGRADATOR składa się z 10 poziomów, w każdym uczestnik mierzy się z innym zadaniem, które pogłębia jego zrozumienie działania systemu ubikwityna - proteasom.

Sala lekcyjna powinna być wyposażona w projektor multimedialny oraz komputer, na którym będzie wyświetlana prezentacja oraz gra. Uczniowie powinni mieć do swojej dyspozycji komputer, laptop, telefon komórkowy lub inne urządzenie mobilne z dostępem do Internetu. Konspekt przewidywany jest na 90 minut zajęć, ale z uwagi na różnice w programach nauczania w różnych placówkach oświatowych możliwe jest przeprowadzenie lekcji w czasie 45 minut. Lekcja jest dostosowana również dla uczniów o specjalnych potrzebach, którzy nie mogą wziąć udziału w rozgrywce. Każdy etap gry został opisany, a materiały znajdują się w plikach do pobrania w zakładce „Dla edukatorów” na stronie internetowej gry (link na str. 2).

Przykładowy scenariusz lekcji

1. Wstęp merytoryczny
2. Rozwiązanie poziomów 1 i 2
3. Wspólne rozwiązanie quizu na poziomie 3
4. Wstęp merytoryczny do poziomów 4 i 5
5. Rozwiązywanie poziomów 4 i 5
6. Wspólne rozwiązanie quizu na poziomie 6
7. Wstęp merytoryczny do poziomów 7 i 9
8. Wspólne rozwiązanie quizu na poziomie 10

Przed przystąpieniem do zajęć nauczyciel powinien zapoznać się z materiałami edukacyjnymi do gry DEGRADATOR dostępnych w zakładce „Dla edukatorów” pod linkiem: <https://degradator-gra.pl>, w szczególności z „Wielką Encyklopedią Degradacji Białek”. Materiały zawarte w „Wielkiej Encyklopedii Degradacji Białek” są polecane także uczniom, jednak zapoznanie się z nimi nie jest konieczne przed rozpoczęciem zajęć.



❖ **POZIOM PIERWSZY I DRUGI** - zapoznanie z zasadami gry

Gracz porusza za pomocą kursora/dotyku (w zależności czy gra na komputerze czy na urządzeniu mobilnym) enzymem - ligazą ubikwityny E3. Celem jest stworzenie czteroskładnikowego kompleksu ubikwityna – enzym E2 – enzym E3 - substrat. Cztery reszty ubikwityny dołączone do cząsteczki białka są wystarczającym sygnałem do jego degradacji przez proteasom. Gracz w trakcie pierwszego poziomu musi poprawnie zdegradować cztery białka w czasie 3 minut. W drugim etapie gracz ma za zadanie ponownie złożyć kompleks enzymatyczny kierując ligazą E3, doprowadzając do degradacji czterech białek w ciągu 3 minut. Jednakże na tym

etapie musi pamiętać o tym, że ubikwityna na enzymie E2 jest pośrednio odnawiana w komórce w wyniku energii pochodzącej z hydrolizy ATP. Dlatego złapanie cząsteczki ATP umożliwia regenerację ubikwityny na pobliskim enzymie E2. Kolejnym utrudnieniem w tym poziomie jest pojawienie się dodatkowego substratu, którego nie rozpoznaje ligaza E3.

Przed przystąpieniem do zadania, proponujemy poruszyć następujące tematy:

Środowisko wewnętrzne komórki i rola białek

Na początku lekcji należy upewnić się, że uczniowie pamiętają podstawowe informacje dotyczące budowy komórki i składu cytoplazmy. Szczególnie ważną informacją jest to, że cytozol jest gęstym, wodnym roztworem zawierającym wiele różnych rodzajów białek. Pomimo, że białka nie różnią się od siebie gołym okiem to mają różnorodną budowę i pełnią mnóstwo różnych funkcji. W zależności od swojego kształtu, białko może być strukturalną podporą i utrzymywać kształt komórki, w której się znajduje (np. aktyna), ale może także pełnić funkcję **katalizatora**, czyli umożliwiać zachodzenie reakcji chemicznych swoich substratów. W środowisku cytoplazmy, jednym z najważniejszych mechanizmów umożliwiających zachodzenie reakcji enzymatycznych jest dyfuzja, czyli swobodny ruch białek i ich substratów. Należy podkreślić, że natrafienie enzymu na substrat jest wydarzeniem całkowicie losowym - z tego właśnie powodu w grze DEGRADATOR, wszystkie składniki cytoplazmy poza ligazą, którą steruje ręcznie gracz, poruszają się chaotycznie we wszystkich kierunkach. Zwiększenie szansy na zajście danej reakcji enzymatycznej może odbywać się wyłącznie poprzez zwiększenie stężenia substratu, enzymu, lub podniesienie temperatury (czyli przyspieszenie dyfuzji).

Następnie należy upewnić się, że uczniowie rozumieją pojęcie **homeostazy**. Homeostaza to “równowaga przepływów”, czyli prostszym językiem stan, w którym zużywane jest tyle samo danej rzeczy, ile jest produkowane. W stanie homeostazy nie zachodzi sytuacja nadprodukcji i zalegania nadmiaru produktów, ani też nie dochodzi do żadnych niedoborów. Każdy organizm i każda komórka go budująca bezustannie dąży do homeostazy energetycznej, cieplnej, wodnej i pośród wielu innych także białkowej. Gdy w komórce pojawia się niedobór danego rodzaju białka,

na przykład heksokinazy (niezbędnej do pozyskiwania energii z cukru - glukozy), cząsteczki tego białka są produkowane w większej ilości. Potrzeby życiowe komórki i budowanego przez nią organizmu zmieniają się bezustannie, wobec czego po jakimś czasie wytworzone wcześniej białka mogą przestać być potrzebne. Jest to jedna z sytuacji, kiedy białka takie mogą być przeznaczane do degradacji w proteasomach, czyli do recyklingu. Zbędne lub uszkodzone cząsteczki białka są cięte na pojedyncze aminokwasy, z których powstały. Odzyskane w ten sposób aminokwasy zostaną ponownie wykorzystane do budowy nowej, innej cząsteczki białka, która w danej chwili jest bardziej potrzebna.

Natura enzymów i kompleksów enzymatycznych

Enzymy katalizują reakcje chemiczne dzięki swojej charakterystycznej budowie. Należy w tym miejscu uwrażliwić uczniów, że w świecie przyrody fizyczna struktura jest jedyną determinantą funkcji - jest to prawda zarówno na poziomie genów i białek, jak i na poziomie całych tkanek i organizmów. Białka enzymatyczne dopasowują się do swoich substratów za pomocą kształtu swojej powierzchni, którą wpasowują się w substraty jak rękawiczka dopasowująca się do ręki. Miejsce wiązania substratu/-ów przez enzym nazywa się "centrum aktywne" i zazwyczaj znajduje się w zagłębieniu lub rowku na powierzchni enzymu. Po związaniu cząsteczki substratu przez enzym, enzymy mogą rozcinać ją na mniejsze fragmenty poprzez naprężanie jej wiązań chemicznych lub ułatwiać tworzenie nowych wiązań chemicznych poprzez zbliżanie dwóch cząsteczek substratu do siebie z odpowiednio dużą siłą. Enzymy są kluczowe dla życia na Ziemi, ponieważ działają **selektywnie** (lub **swoiście, specyficznie**) - oznacza to, że jeden enzym pasuje tylko do jednego zestawu substratów i potrafi przeprowadzać tylko jedną reakcję chemiczną. Dzięki temu ilością poszczególnych enzymów, komórka jest w stanie regulować intensywność zachodzenia różnych reakcji chemicznych. Enzymy, poza swoimi substratami, potrafią łączyć się również z innymi białkami w tzw. kompleksy, czyli zespoły. Związanie się dwóch lub więcej białek ze sobą jest w niektórych sytuacjach niezbędne do przeprowadzenia reakcji katalizy. Może zaistnieć sytuacja, w której jedno białko w kompleksie odpowiada za cięcie substratu na dwie części, natomiast drugie decyduje o specyficzności - czyli o tym, jaki substrat zostanie przecięty.

Mechanizm degradacji białek w komórce

Należy zwrócić szczególną uwagę na to, że procesy syntezy i degradacji białek są ze sobą w stałej równowadze, a ich zaburzenie prowadzi do rozwoju chorób związanych z nadmiernym niszczeniem lub gromadzeniem się białka.

Gra DEGRADATOR skupia się na niszczeniu białek poprzez system ubikwityna - proteasom (ang. ubiquitin-proteasome system - UPS), jednak to nie jest jedyny mechanizm, który pozwala na usuwanie białek. Istotną rolę pełnią także mechanizmy jak autofagia oraz eksportowanie (wyrzucanie) białek na zewnątrz komórki poprzez pęcherzyki zewnątrzkomórkowe. Informacje odnośnie tych mechanizmów zostały przedstawione w “Wielkiej Encyklopedii Degradacji Białek” oraz w konspekcie dla szkół ponadpodstawowych.

Oś gry stanowi system UPS. Jest to bardzo wydajny, selektywny oraz szybki system niszczenia białek. Pełni on kluczową funkcję w regulacji podziału komórek, apoptozy, nowotworzenia oraz reakcji zapalnych, będąc odpowiedzialnym za degradację 80-90% białek w komórce. Za odkrycie mechanizmów degradacji białek przez system UPS Aaron Ciechanover, Avram Hershko oraz Irwin Rose w 2004 r. otrzymali Nagrodę Nobla (dowiedz się więcej na:

<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2004/popular-information/>; materiał dostępny w jęz. angielskim).



Ubikwitynacja działa jako molekularny “pocałunek śmierci” oznaczając białka skierowane do degradacji. Należy pamiętać, że samo pojawienie się ubikwityny na białku niekoniecznie od razu kieruje białko do degradacji. Pojedyncza ubikwitynacja rzadko prowadzi do takiego efektu, a proteasom zazwyczaj rozpoznaje łańcuchy ubikwityny. Ubikwitynacja może również pełnić inne funkcje regulatorowe, na przykład wpływać na lokalizację białek wewnątrz komórki.

ATP - uniwersalny nośnik energii w komórce

Należy podkreślić, że procesy degradacji białek w komórce wymagają nakładów energii pochodzącej z rozpadu ATP. ATP jest uniwersalnym nośnikiem energii w komórce. Aby lepiej zrozumieć tę koncepcję możemy porównać to do paliwa (ATP), które jest niezbędne dla silnika (enzym), który porusza samochodem (reakcja chemiczna). Należy na to szczególnie uczulić uczniów, ponieważ procesy niszczenia białek podczas trawienia w przewodzie pokarmowym nie wymagają dostarczenia energii. Stąd, degradacja białek wewnątrz komórki ma inny charakter niż tylko “rozbijanie” białek na aminokwasy. Podstawową różnicą jest selektywność degradacji wewnątrzkomórkowej i nieselektywność trawienia.

❖ **POZIOM TRZECI** - krótki QUIZ podsumowujący

Podczas quizu gracz utrwała wiedzę zdobytą podczas wykonywania zadań z poprzednich poziomów.

❖ **POZIOM CZWARTY I PIĄTY** – przedstawienie nowoczesnego leku typu PROTAC umożliwiającego selektywną degradację

Gracz musi zdegradować cztery białka w ciągu 3 minut, których z reguły nie rozpoznaje bohater gry. Jednakże dzięki złapaniu cząsteczki PROTAC, nasza ligaza E3 będzie mogła wiązać nowe substraty. W poziomie piątym gracz ma do dyspozycji różne związki PROTAC, które umożliwiają ubikwitynację różnych substratów za pomocą tej samej ligazy E3.



Związek typu PROTAC. Widoczna część wiążąca się z enzymem E3 (po lewej) oraz z nowym substratem (po prawej).

Terapie celowane

Obecnie trendem w medycynie są terapie celowane, mające na celu selektywne wyłączenie konkretnych cząsteczek w patologicznie zmienionej komórce. Głównym założeniem, które przyświeca terapii celowanej jest tworzenie leków, które uderzają konkretnie w chorą komórkę, maksymalnie oszczędzając zdrowe tkanki. Wyłączenie

lub degradowanie wadliwych cząsteczek białka jest obietnicą skutecznej i bezpieczniejszej terapii. Wiele rodzajów terapii celowanych jest obecnie wprowadzanych do zalecanej praktyki lekarskiej. Inne, jak te oparte o mechanizmy celowanej degradacji białek, są intensywnie badane w celu wprowadzenia do medycyny w przyszłości.

Jednymi z takich cząsteczek są kleje molekularne (ang. molecular glues) oraz cząsteczki chimeryczne kierujące do proteolizy (ang. PROteolytic TArgeting Chimeras - PROTAC). **Kleje molekularne są to aktywatory systemu degradacji, dzięki czemu białka rozpoznawane przez enzym E3 są wydajniej degradowane.** Cząsteczki PROTAC działają natomiast jak przejściówki, dzięki którym możemy podłączyć urządzenie posiadające europejską wtyczkę, do amerykańskiego gniazdka elektrycznego. Ponieważ ligaza E3 jest swoista substratowo (łączy się ze ściśle określonym białkiem przeznaczonym do degradacji) to, aby zmusić ją do ubikwitynacji innego białka, musimy użyć “przejściówki”. **Dlatego PROTAC zmienia substrat reakcji, ale nie wpływa na jej wydajność.** Stąd możemy wykorzystać cząsteczki PROTAC, gdy chcemy pozbyć się konkretnego białka z komórki. Grupą chorób intensywnie badaną pod kątem możliwości terapeutycznego zastosowania PROTAC są nowotwory, w których dochodzi do nadmiernego wytwarzania białek promujących wzrost nowotworu i inwazyjność. Zastosowanie PROTAC potencjalnie umożliwia niszczenie tych białek i spowolnienie wzrostu nowotworu, przez co może on stać się bardziej podatny na konwencjonalne leczenie.

❖ **POZIOM SZÓSTY – DZIEWIĄTY** - podstawy enzymatyki oraz kontrola szlaków biologicznych

Gracz ponownie musi zdegradować wskazane białka w określonym czasie. Jednakże w tej konkurencji będą mu przeszkadzały enzymy deubikwitynujące, które odcinają przyłączone reszty ubikwityny, co zmniejsza szansę na ich degradację w proteasomie. W wyższych poziomach gracz zapozna się z ich inhibitorami oraz auto-ubikwitynacją ligazy E3, czyli kolejnego punktu kontrolnego szlaku degradacji białek.

Podstawowe zagadnienia z dziedziny enzymatyki

Związki, które przyspieszają pracę enzymów są nazywane aktywatorami. Należą do nich poznane wcześniej kleje molekularne. Związki, które spowalniają reakcje enzymatyczne są nazywane inhibitorami. Inhibitory są powszechnie używane w medycynie jako leki, np. popularny lek przeciwzapalny - kwas acetylosalicylowy (aspiryna) - jest trwałym inhibitorem enzymu (cyklooksygenazy), który jest odpowiedzialny za powstawanie reakcji zapalnej. W grze podczas rozwiązywania poziomu 8, gracz natrafia na inhibitory enzymów deubikwitynujących, które “zamrażają” go.

Szlaki biologiczne mają wiele punktów kontrolnych

Ponieważ szlaki biologiczne są ściśle kontrolowane, możemy mówić o pewnej równowadze dynamicznej między ubikwitynacją i deubikwitynacją.

Enzymy deubikwitynujące (ang. DeUBiquitinating enzymes - DUBs) są jednymi z takich punktów kontrolnych. Tną wiązania między ubikwityną a białkiem, przez co nie jest ono degradowane. Jak wiele mechanizmów regulacyjnych w biologii, działają one w równowadze z ligazami E3, które mają za zadanie dołączać reszty ubikwityny do białek. W grze DEGRADATOR, DUBs są naszym przeciwnikiem, który uniemożliwia skierowanie białka do degradacji w proteasomie. Nadmiar aktywności DUBs może być przyczyną chorób. W niektórych rodzajach nowotworów mogą one hamować ubikwitynację cząsteczek sygnałowych promujących wzrost komórek nowotworowych, co napędza rozwój nowotworu. Niemniej, pełnią bardzo wiele istotnych funkcji w czasie podziału komórki, przez co grają niezbędną rolę np. w regeneracji tkanek oraz wzroście organizmu. Gorąco zachęcamy do przedstawienia komiksu o DUBs, który jest zamieszczony na stronie internetowej gry (link na str. 2) w zakładce „Dla edukatorów”.

Kolejnym punktem kontrolnym jest “samobójstwo” ligazy E3 - **auto-ubikwitynacja**.

Ligazy E3 mogą ulegać degradacji na dwa sposoby: poprzez proces samokatalizowany (auto-ubikwitynacja) lub za pośrednictwem modyfikacji katalizowanej przez inne ligazy. W kontekście tego mechanizmu, warto zwrócić uwagę również na nieproteolityczne funkcje auto-ubikwitynacji. Przykładem takiej

funkcji jest aktywacja ligaz E3, co podkreśla złożoność i wielofunkcyjność procesu ubiquitynacji w regulacji działania białek.

POZIOM DZIESIĄTY - Quiz podsumowujący grę DEGRADATOR

Quiz podsumowuje wiedzę zdobytą podczas gry oraz zawartą w „Wielkiej Encyklopedii Degradacji Białek”.

Efekty Kształcenia

Uczeń:

1. określa funkcję oraz budowę białek w komórce;
2. określa sposób zachodzenia reakcji chemicznych w cytoplazmie oraz rozumie rolę składu cytoplazmy dla jej przebiegu;
3. wyjaśnia na przykładach pojęcia szlaku metabolicznego (obrot białek);
4. porównuje selektywną degradację białek wewnątrzkomórkową od trawienia zewnątrzkomórkowego;
5. określa rolę oraz istotę obrotu białek w komórce;
6. wymienia rodzaje mechanizmów usuwania białek z komórki;
7. wykazuje związek budowy ATP z jego rolą biologiczną oraz określa jego rolę dla zachodzenia reakcji w komórce;
8. przedstawia charakterystyczne cechy budowy enzymu;
9. wyjaśnia istotę katalizy enzymatycznej;
10. przedstawia teorię swoistości substratowej enzymu;
11. przedstawia sposoby regulacji aktywności enzymów (aktywacja, inhibicja);
12. wyjaśnia mechanizm sprzężenia zwrotnego ujemnego w regulacji przebiegu szlaków metabolicznych (auto-ubiquitynacja);
13. rozumie patomechanizmy chorób związanych z nieodpowiednim obrotem białek w komórce.